

PEMANFAATAN EKSTRAK ETANOL BIJI MANGGA HARUMANIS (*MANGIFERA INDICA L*) UNTUK MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *EDWARDSIELLA TARDA*

*THE USE OF ETHANOL EXTRACTED MANGO (*MANGIFERA INDICA L*) SEED TO INHIBIT THE GROWTH OF *EDWARDSIELLA TARDA**

Destriman Laoi¹, Iesje Lukstyowati², and Henni Syawal²

¹Mahasiswa Magister Ilmu Kelautan, Universitas Riau.

²Dosen Magister Ilmu Kelautan, Universitas Riau

Email:destriman_laoli@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Juli sampai bulan November 2018. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bahan bioaktif yang terkandung di dalam ekstrak etanol biji mangga harumanis (*M.indica L*), sensitivitas ekstrak etanol biji mangga harumanis, yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. tarda* dan *Lethal* dosis₅₀ ekstrak etanol biji mangga harumanis terhadap ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) berukuran 7-9 cm. Biji mangga di ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Dosis ekstrak etanol biji mangga yang digunakan adalah 10000, 9000, 8000, 7000, 6000, 5000, 4000, 3000, 2000, 1000 ppm, dan Oxytetracyclin sebagai control. Hasil uji fito kimia ekstrak etanol biji mangga adalah tanin, flavonoid, terpenoid, dan saponin. Hasil Uji kromatografi lapis tipis dengan nilai R_f tanin 0,78 cm, flavonoid 0,48 cm., terpenoid 0,56 cm, dan saponin 0,44 cm. Ekstrak etanol biji mangga mampu menghambat bakteri *E. tarda* hingga dosis 200 ppm dengan rata-rata zona hambat 6,44 mm, Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ekstrak etanol biji mangga harumanis dengan rata-rata 278 CFU/mL. Hasil uji toksisitas LD₅₀ ekstrak etanol biji mangga harumanis terhadap ikan patin (*P. hypophthalmus*) dengan metode perendaman adalah pada dosis 140,74 ppm.

Kata kunci: *Mangifera indica L.*, *Edwardsiella*, Anti-bacteria, LD₅₀

ABSTRAC

The research was from July to November 2018. The purpose of this study was to determine the inhibitor of mango seed (*M.indica L*), an antimicrobial to *Edwardsiella tarda*. The range of solution against to catfish (*Pangasius hypophthalmus*) using 7-9 cm. Mango seed were extracted using maceration method with ethanol solvent. The treatment was done by giving mango seed ekstrak with dosage of 10000, 9000, 8000, 7000, 6000, 5000, 4000, 3000, 2000, and 1000 ppm. The result research in phytochemicals test which consisted of R_f tanin 0,78 cm, flavonoid 0,48 cm., terpenoid 0,56 cm and saponin 0,44 cm. Mango seed extract inhibit the growth of *E. tarda* bacteria until the dosage of 200 ppm at the average inhibit the growth of *E. tarda* bacteria until the result of toxicity LD₅₀ test of mango seed extract on Patin (*P. hypophthalmus*), using soaking method was at the dosage of 140,74 ppm.

Keywords: *Mangifera indica L.*, *Edwardsiella*, Anti-bacteria, LD₅₀

1. Pendahuluan

Keberhasilan dalam usaha budidaya ikan adalah mendapatkan produksi budidaya yang tinggi hal ini bisa tercapai apabila kondisi kesehatan ikan baik, Oleh karena itu masalah kesehatan ikan sangat penting untuk ditangani secara serius. Jika tidak diikuti dengan penerapan manajemen budidaya yang baik, maka berbagai

macam penyakit akan muncul dan menyebabkan kerugian bagi pembudidaya. Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan adalah penyakit *Edwardsellosis* yang disebabkan oleh bakteri *Edwardsiella tarda*.

Edwardsiella tarda merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri ini dilaporkan telah menyerang ikan air tawar dan ikan air laut. Salah

satu jenis ikan yang diserang adalah ikan-ikan *catfish* dan telah dilaporkan menyerang budidaya di Amerika (Sari *et al.*, 2014). Penyakit *Edwardsellosis*, yang disebabkan oleh bakteri *E. tarda* dapat menyebabkan mortalitas yang tinggi dan menyebabkan kerugian ekonomi yang besar, baik di alam maupun di lingkungan kolam dapat menyebabkan kematian ikan lebih dari 50% (Plumb, 1997).

Selama ini pencegahan dan pengobatan terhadap serangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri dilakukan dengan menggunakan antibiotika seperti *methicilin*, *cloramphenicol*, dan *tetracycline*. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten, menimbulkan residu antibiotik pada ikan, dan akhirnya dapat berpengaruh terhadap manusia yang mengkonsumsi ikan tersebut (Kordi, 2004). Sehubungan dengan permasalahan tersebut maka perlu dicarikan bahan alternatif yang aman dan dapat digunakan untuk pengendalian *E. tarda*. Salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi serangan bakterial adalah dengan menggunakan antimikroba yang berasal dari bahan alami tumbuhan (Wardani *et al.*, 2012).

Tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antimikroba salah satunya adalah biji mangga harumanis (*M. indica* L). Menurut Prihandani *et al.*, (2016), ekstrak biji mangga mengandung senyawa saponin, flavonoid, dan tanin, mempunyai daya anti bakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Shigella sp.*, dan *Escherichia coli*. Ekstrak biji mangga memiliki kandungan fitokimia yang tinggi, yaitu tanin, (Legesse dan Shimelis, 2012). Rajan *et al.*, (2012) dan Kabuki *et al.*, (2000) menyatakan, bahwa biji mangga harumanis yang tumbuh di Indonesia dapat dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai bahan obat. Menurut Munawwarah *et al.*, (2017) ekstrak etanol biji mangga dengan konsentrasi 60% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dengan zona hambat hingga 13,67 mm. Sedangkan menurut Zulhipri *et al.*, (2011) ekstrak biji mangga efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi sebesar 2000 µg/mL dan *Staphylococcus* dengan konsentrasi 250 µg/mL. Berdasarkan uraian di atas maka diperlukan penelitian untuk mengamati kandungan aktif senyawa metabolit sekunder ekstrak biji mangga harumanis dengan etanol dan juga mengamati daya hambat ekstrak biji mangga terhadap pertumbuhan bakteri *E. tarda*.

2. Metode Penelitian

Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Agustus – November 2018 Lokasi penelitian untuk uji zona hambat, *minimum inhibitory concentration* (MIC) dan uji LD₅₀ dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau, sedangkan ekstraksi dan uji fitokimia biji mangga dilakukan di Laboratorium Organik dan Bahan Alam Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau.

Bahan Dan Alat

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji mangga Harumanis yang dibeli di Pasar Pagi Arengka Pekanbaru, Isolat bakteri *E. tarda* yang digunakan berasal dari Karantina Ikan Sultan Syarif Kasim II Pekanbaru. Untuk uji LD₅₀ digunakan ikan Jambal siam (*P.hypophthalmus*) berukuran 7-9 cm diperoleh dari Berkah Farm Jalan Delima Pekanbaru. Peralatan yang digunakan adalah Timbangan Analitik, Autoclave, Erlenmeyer, Laminar Flow, Hot Plate, Mikropipet, Gelas Ukur, Lampu Bunsen, Vortex, Akuarium, Cawan Petri, Magnetik Stirer, Inkubator dan Jarum Ose.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan menggunakan metode cakram KIRBY-BAUER dan *disk blank* 6 mm untuk melihat zona hambat dari ekstrak biji mangga terhadap bakteri *E.tarda* dianalisis secara deskriptif, untuk mengurangi tingkat kekeliruan maka dilakukan ulangan sebanyak 3 kali. Dosis perlakuan ekstrak biji mangga mengacu pada Cappucino dan Sherman dalam Silaban (2008) sebagai berikut :

K: Kontrol (*Oxyteta cyclin*) dengan dosis 30 µg/disk. P1: Ekstrak etanol biji mangga harumanis dosis 10000 ppm. P2 : dosis 9000 ppm. P3 : dosis 8000 ppm. P4 :dosis 7000 ppm. P5 : dosis 6000ppm. P6 : dosis 5000ppm. P7 : dosis 4000 ppm. P8 : dosis 3000ppm. P9 : dosis 2000 ppm dan P10 : dosis 1000ppm.

Tanin

Uji Tanin (Sangi *et al.*, 2008) pengujian dilakukan dengan melarutkan ekstrak kedalam metanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ sebanyak 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kebiruan atau hijau.

Flavonoid

Uji flavonoid, caranya adalah dimasukkan 10 tetes ekstrak etanol biji mangga harumanis, kemudian ditambahkan logam Mg dan asam HCl pekat kedalam lapisan air. Jika terjadi

perubahan warna maka positif menandakan adanya senyawa flavonoid (Harbone 2006 dalam taher dan Tamrin 2011).

Terpenoid

Bahan uji dilarutkan dengan kloroform, setelah itu ditambahkan dengan asam asetat anhidrat sebanyak 0,5 ml selanjutnya ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Adanya terpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan, sedangkan adanya steroid ditandai dengan terbentuknya cincin biru kehijauan (Padmasari *et al.*, 2013).

Saponin

Ditimbang sampel ekstrak etanol biji mangga harumanis sebanyak 60 mg masukkan pada tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan aseton sebanyak 2ml, lalu ditambahkan air panas 3ml. Selanjutnya larutan didinginkan dan dikocok selama 10 detik. Terbentuknya buih selama kurang 1-10 cm dan tidak hilang bila ditambahkan 1 tetes HCl 2n menandakan bahwa ekstrak yang diuji mengandung saponin. (Harborne 1987)

Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak dilarutkan dengan etanol 96% p.a, ditotolkan sepanjang plat dengan menggunakan pipet mikro dan pembanding yang dipakai dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ialah kuersetin. Hasil KLT diangin-anginkan dan diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm dengan butanol: asam asetat:air (Andriani, 2011). Hasil KLT berupa noda atau bercak yang berpendar kuning kehijauan pada sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm dan teridentifikasi sebagai harga Rf (*Retention factor*) yang dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut (Indrowati dan Soegihardjo, 2005):

$$Rf = \frac{\text{jarak yang di tempuh senyawa dari titik asal}}{\text{jarak yang di tempuh pelarut dari titik asal}}$$

Uji Sensitivitas Ekstrak Etanol Biji Mangga Harumanis terhadap *Edwardsiella tarda*

Pengamatan zona hambat dengan menggunakan metode cakram Kirby-bauer dengan *disk blank* yang berdiameter 6 mm. Tahap awal inokulan bakteri *E. tarda* yang telah ditumbuhkan pada media TSB selama 24 jam, diambil sebanyak 100 µL dengan kepadatan 10⁸CFU/mL menggunakan mikropipet secara aseptik *dilaminar flow*. Kemudian disebar merata pada media TSA padat dengan menggunakan *spreader glass* hingga rata, selanjutnya *disk blank* diberi ekstrak etanol biji mangga sebanyak 50 µL menggunakan mikropipet sesuai dengan dosis yang telah ditentukan, didiamkan selama ±3 menit agar

seluruh permukaan *disk blank* menyerap merata oleh larutan ekstrak biji mangga harumanis kemudian masing-masing *disk blank* yang telah diberi larutan ekstrak biji mangga di tanam pada media TSA yang telah diberi inokulan *E. tarda*, yang dilakukan secara aseptik *dilaminar flow*. *Disk blank* yang sudah ditanam di TSA diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 28°C. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan zona hambat yang terbentuk, yaitu dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk dari batas pinggiran yang tidak ditumbuhi oleh bakteri dengan menggunakan jangka sorong (Affandi *et al.*, 2009).

Uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Uji MIC dilakukan untuk mengetahui dosis minimum dari larutan ekstrak etanol biji mangga harumanis untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. tarda*. Dosis yang digunakan berdasarkan hasil uji sensitivitas, yaitu dosis yang menghasilkan zona hambat terkecil sampai dosis yang tidak menghasilkan zona hambat. Selanjutnya, dosis tersebut dilakukan pengenceran hingga didapatkan berbagai dosis. Masing-masing dosis yang telah ditentukan ditambahkan 100 µL bakteri *E. tarda* dengan kepadatan bakteri 10⁸ sel/mL, kemudian divortex agar homogen. Selanjutnya, suspensi bakteri diambil sebanyak 100 µL untuk ditumbuhkan pada media TSA dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C dalam inkubator. Setelah 24 jam, pertumbuhan koloni bakteri diamati dan dihitung jumlah koloni bakteri sesuai dengan kaidah statistik, yaitu cawan yang berisi 30-300 koloni bakteri (Waluyo, 2008).

Uji Toksisitas LD50 Ekstrak Etanol Biji Mangga Harumanis terhadap Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*)

Uji toksitas LD₅₀ diawali dengan mempersiapkan ikan uji Ikan patin (*P. hypophthalmus*) berukuran 7-9 cm sebanyak 12 ekor yang di masukkan 10 ekor perwadah. Akuarium yang digunakan berukuran 40 x 30 x 30 cm sebanyak 12 akuarium, diisi air dengan volume 10 L dan dilarutkan dengan ekstrak etanol biji mangga (*M. indica* L) sesuai dengan konsentrasi uji MIC dan kontrol. Ikan uji dipelihara selama 24 jam untuk mengamati tingkah laku ikan, gejala klinis, dan mortalitas ikan mencapai 50%. Data yang didapatkan ditabulasikan dan dalam pengujian tersebut akan ditentukan LD₅₀ dengan perhitungan Reed dan Muench dalam Hermita dan Radji (2008) sehingga diketahui dosis toksik 50% pada populasi ikan uji. Cawan perhitungan koloni bakteri sesuai dengan kaidah statistik yaitu cawan yang berisi 30-300 koloni bakteri (Waluyo, 2008).

3. Hasil dan Pembahasan

Uji fitokimia adalah suatu analisis yang digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam tanaman.

Tabel 4. Hasil Skrining Bioaktif Ekstrak Etanol Biji Mangga harumanis

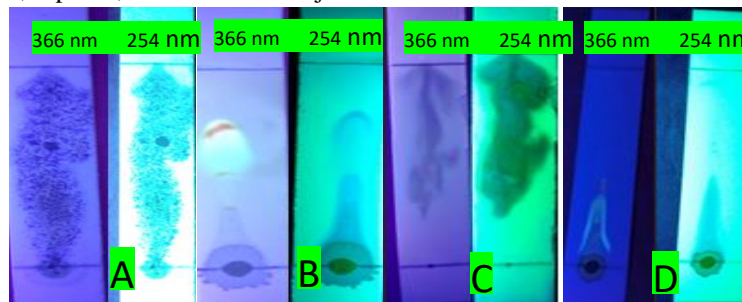
No	Senyawa	Reagen	Identifikasi	Hasil Uji	Ket
1	Tanin	FeCl ₃ 1%	Larutan Biru	Biru kehitaman	+
2	Flavonoid	Sianidin Test	Kuning kemerahan	Merah muda	+
3	Terpenoid	Liberman-Burchard	Merah ungu	Merah ungu	+
4	Saponin	H ₂ O	Berbuih	Berbusa	+

Tabel 1. menunjukkan hasil uji fitokimia ekstrak biji mangga harumanis (*M. indica* L) positif memiliki kandungan tanin, flavonoid, terpenoid, dan saponin yang dapat dilihat pada perubahan warna yang telah dilarutkan. Pada hasil pengujian tanin menunjukkan perubahan warna biru kehitaman, flavonoid ditunjukkan dengan kuning kemerahan, terpenoid menunjukkan hasil perubahan warna merah dan endapan berwarna ungu pekat dan saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang terbentuk. Sejalan dengan penelitian Prihandani *et al.*, (2016) ekstrak etanol biji mangga harumanis mengandung senyawa metabolit, yaitu tanin, saponin, dan flavonoid. Biji

Mangga juga mengandung senyawa metabolit sekunder, seperti terpenoid dan fenolik (Zulhipri *et al.*, 2011).

Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Biji Mangga harumanis

Kromatografi Lapis Tipis bertujuan untuk memisahkan senyawa yang terdapat dalam ekstrak atau menentukan jumlah komponen yang terpisah pada biji mangga. Analisis ini ditandai dengan melihat noda yang ada pada plat KLT. Hasil Kromatografi Lapis Tipis dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil KLT sinar UV 366 nm dan 254 nm. A. Tanin, B. Flavonoid, C. Terpenoid dan D. Saponin

Jenis senyawa yang teridentifikasi adalah tanin dengan nilai R_f sebesar 0,78 cm, flavonoid dengan nilai R_f 0,48 cm., terpenoid dengan nilai R_f 0,56 cm. dan saponin dengan nilai R_f 0,44 cm. Menurut (Alen *et al.*, 2017) bahwa analisis penentuan golongan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak, yaitu menggunakan KLT dengan prinsip adsorpsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Eluen yang baik adalah eluen yang bisa memisahkan senyawa

dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas (Harborne, 1987).

Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Mangga Harumanis terhadap Bakteri *E. tarda*

Hasil uji daya hambat ekstrak etanol biji mangga harumanis dengan dosis 10000 ppm hingga 1000 ppm memiliki kemampuan menghasilkan zona hambat yang berbeda terhadap

pertumbuhan bakteri *E. tarda*. Rata-rata diameter zona hambat berkisar antara 19,07-9,36 mm, di lanjutkan dengan dosis 900-200 ppm, memiliki diameter zona hambat sebesar 8,87-6,44 mm

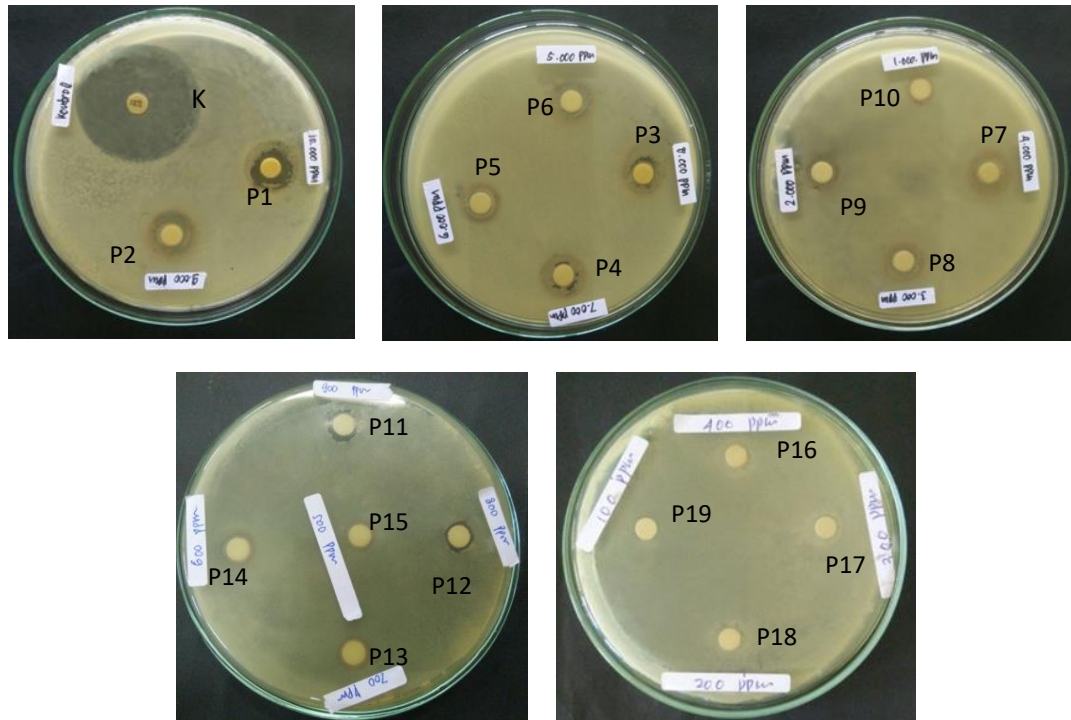
dimana dosis 100 ppm tidak menghasilkan zona hambat terhadap bakteri *E. tarda*. Lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengamatan zona hambat ekstrak etanol biji mangga harumanis terhadap bakteri *Edwardsiella tarda*

Perlakuan	Dosis (ppm)	Ulangan (mm)			Rata-rata (mm)
		1	2	3	
Kontrol (<i>Oxytetracyclin</i>) 30 µg		31,35	31,34	31,32	31,33
P1	10000	18,96	19,10	19,15	19,07
P2	9.000	16,41	15,95	16,59	16,31
P3	8.000	14,15	14,09	14,12	14,12
P4	7.000	13,32	13,27	13,31	13,30
P5	6.000	12,85	12,86	12,82	12,84
P6	5.000	12,52	12,51	12,55	12,52
P7	4.000	11,62	11,64	11,59	11,61
P8	3.000	10,90	10,89	10,87	10,88
P9	2.000	10,26	10,27	10,30	10,27
P10	1.000	9,39	9,34	9,37	9,36
P11	900	8,86	8,89	8,86	8,87
P12	800	8,37	8,38	8,37	8,37
P13	700	7,94	7,92	7,91	7,92
P14	600	7,61	7,60	7,61	7,60
P15	500	7,53	7,53	7,51	7,52
P16	400	7,10	7,12	7,13	7,11
P17	300	6,87	6,89	6,91	6,89
P18	200	6,45	6,46	6,43	6,44
P19	100	-	-	-	-

Berdasarkan Tabel 2. menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji mangga harumanis dengan dosis 10000 ppm hingga 200 ppm dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.tarda*, hal ini dapat dilihat dari zona hambat terbesar dihasilkan pada dosis 10000 ppm dengan rata-rata zona hambat sebesar yaitu 19,07 mm, Dosis 10000 ppm ekstrak etanol biji mangga merupakan dosis yang sangat kuat karena dapat menghambat pertumbuhan *E. tarda* dengan zona hambat sebesar 19,07. Hal ini sesuai pendapat Susanto (2012)

menyatakan ada dua kriteria zona hambat atau nilai sensitifitas bakteri terhadap anti mikroba bila zona hambat terbentuk $\geq 10-15$ mm merupakan daya hambat yang tergolong kuat, daya hambat atau nilai sensitivitas bakteri $\geq 6-10$ mm ; bila zona hambat yang terbentuk $\geq 6-10$ mm tergolong sedang. sedangkan dosis terendah, yaitu 200 ppm dengan rata –rata zona hambat sebesar 6,44 mm, sedangkan pada dosis 100 ppm tidak terbentuk zona hambat. Zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Zona hambat bakteri *E. tarda* terhadap ekstrak etanol biji mangga. Keterangan: K. *Oxytetracyclin*, P₁. 10000 ppm, P₂. 9000 ppm, P₃. 8000 ppm, P₄. 7000 ppm, P₅. 6000 ppm, P₆. 5000 ppm, P₇. 4000 ppm, P₈. 3000 ppm, P₉. 2000 ppm, P₁₀. 1000 ppm, P₁₁. 900 ppm, P₁₂. 800 ppm, P₁₃. 700 ppm, P₁₄. 600 ppm, P₁₅. 500 ppm, P₁₆. 400 ppm, P₁₇. 300 ppm, P₁₈. 200 ppm, dan P₁₉. 100 ppm.

Terbentuknya zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *E. tarda* dipengaruhi oleh ekstrak etanol biji mangga harumanis yang mengandung senyawa antibakteri, yaitu tanin, flavonoid, terpenoid dan saponin, sehingga mempercepat terjadinya difusi dan menghasilkan zona hambat yang semakin luas. Sesuai pendapat Lorain (2005) menyatakan semakin besar konsentrasi antimikroba, maka semakin cepat terjadinya difusi, sehingga daya antibakteri akan semakin besar dan diameter zona hambat akan semakin luas.

Bahana ktif yang terkandung dalam ekstrak etanol biji manga harumanis tersebut mampu membunuh bakteri *E. tarda* dengan cara mendenaturasi protein merusak membran sel. Mekanisme zat aktif larutan biji manga harumanis membunuh bakteri dengan cara melarutkan lemak

pada dinding sel bakteri sehingga mampu merusak membrane sel bakteri, kemudian mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesa enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme dan kondisi ini pada akhirnya menyebabkan kematian pada bakteri (Mariyono dan Sundana 2002).

Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dilakukan berdasarkan hasil uji sensitivitas ekstrak biji mangga harumanis dengan dosis yang menghasilkan zona hambat minimum, yang selanjutnya dilakukan pengenceran hingga diperoleh dosis 300 ppm, 200 ppm, dan 100 ppm. Uji MIC bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimum yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil uji MIC dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Edwardsiella tarda* setelah diberi ekstrak biji mangga harumanis

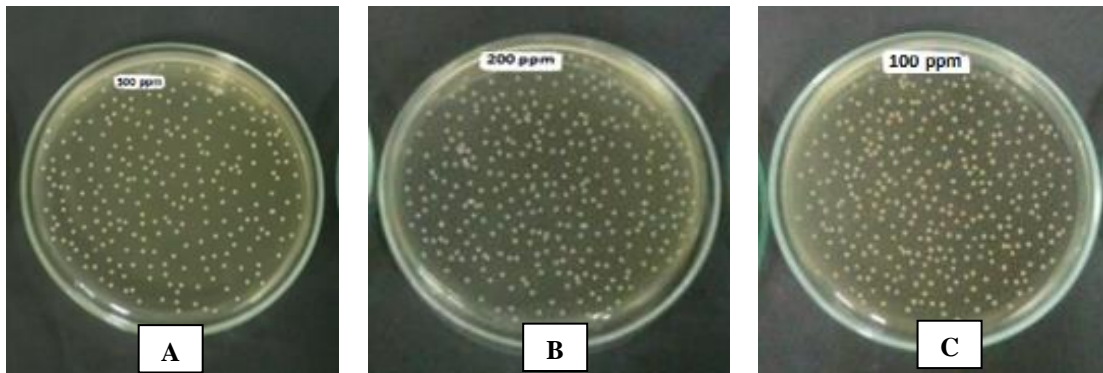
Dosis Ekstrak (ppm)	Ulangan			Rerata Jumlah Koloni Bakteri (CFU/mL)
	1	2	3	

300	276	281	279	278
200	324	331	340	331
100	343	367	381	363

Tabel 3. menunjukkan jumlah koloni yang tumbuh pada dosis 300-100 ppm berkisar antara 278-363 CFU/mL. Dosis 300 ppm memiliki rata-rata jumlah koloni bakteri 278 CFU/mL dan dapat dikatakandosis minimum yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. tarda*. Menurut Telaumbanua (2018), dosis 0,1% merupakan dosis minimum larutan biji mangga yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri

A. hydrophila, dengan jumlah pertumbuhan koloni sebanyak 270,66 CFU/mL.

Menurut Harmita dan Radji (2008), bahwa perhitungan jumlah koloni bakteri dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh dimedia tumbuh pada cawan petri yang pertumbuhannya berkisar antara 30-300 koloni per cawan petri. Lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Jumlah koloni bakteri *E. tarda* yang diberi berbagai dosis ekstrak biji mangga A) 300 ppm; B) 200 ppm ; C) 100 ppm

Menurut Soleha (2015), menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang digunakan maka akan semakin cepat bakteri mati. Beberapa senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak biji mangga harumanis adalah tanin, flavonoid, terpenoid, dan saponin.

Mekanisme biologis dapat terjadi akibat reaksi antara senyawa lipid dan asam amino dengan gugus alkohol pada flavonoid, sehingga dinding sel mengalami kerusakan dan mengakibatkan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Senyawa ini kemudian akan bereaksi dengan DNA pada inti sel bakteri sehingga inti sel bakteri akan mengalami kerusakan dan lisis (Dewi, 2010). Aktivitas biologis senyawa flavonoid bekerja dengan cara merusak dinding sel bakteri (Arun *et al.*, 2010). Terpenoid mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghalangi masuknya RNA-asam amino pada lokasi asam amino, sehingga

bakteri tidak dapat berkembang biak (Roihanah, 2013).

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA *topoisomerase* sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009). Menurut Akiyama *et al.* (2001), Mikroorganisme yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Hal tersebut disebabkan oleh kapasitas pengikat besi yang kuat oleh tanin.

Uji Toksisitas Lethal Dosis₅₀ (LD₅₀) Ekstrak Etanol Biji Mangga Harumanis terhadap Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*)

Uji toksisitas ekstrak etanol biji mangga harumanis dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi larutan yang dapat menyebabkan kematian 50% selama 24jam, dari 30 ekor ikan

patin yang diujikan dengan kosentrasi hasil MIC yaitu 300 ppm, 200 ppm dan 100 ppm dan kontrol

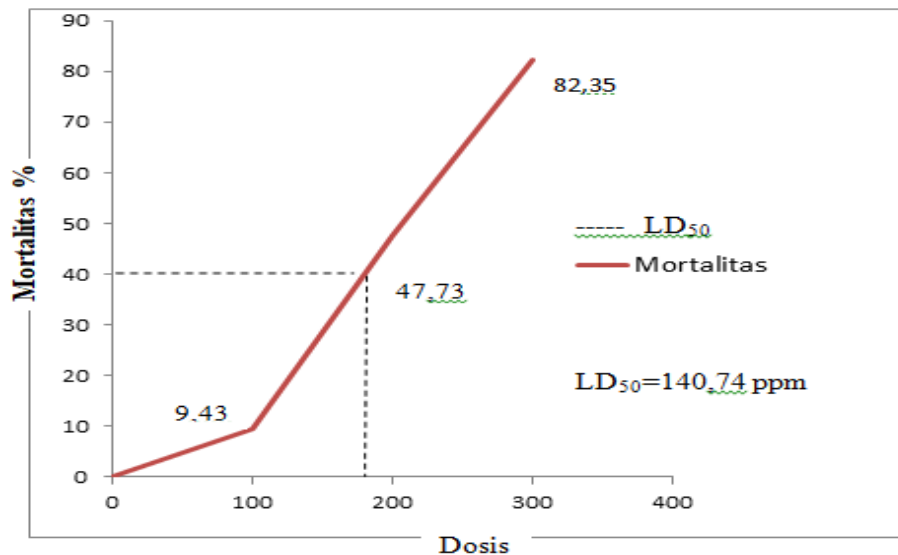
didapatkan LD₅₀ sebesar 140,74 ppm. Hasil uji toksisitas dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji LD₅₀ ikan patin terhadap ekstrak biji mangga Menurut Metode Reed and Muench (1938) selama 24 jam

Dosis (ppm)	Mati	Hidup	Akumulasi			Ratio Kematian	% Kematian	LD ₅₀ (ppm)
			Mati	Hidup	Total			
0	0	30	0	78	78	0/78	0,00	
100	5	25	5	48	53	5/53	9,43	
200	16	14	21	23	44	21/44	47,73	140.74
300	21	9	42	9	51	42/51	82,35	

Tabel 4. menunjukkan perhitungan LD₅₀ ekstrak etanol biji mangga harumanis terhadap ikan patin adalah dosis 140,74 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak biji mangga tidak bersifat racun bagi pertumbuhan ikan patin pada dosis di bawah

140,74 ppm. semakin tinggi dosis pemberian ekstrak etanol biji manggaharumanis maka semakin meningkat pula mortalitas pada ikan uji. Lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Tingkat mortalitas ikan Patin selama 24 jam

Menurut Telaumbanua (2018), perendaman ikan patin dalam larutan biji mangga selama 24 jam menunjukkan nilai LD₅₀ sebesar 2115 ppm, jika dibandingkan dengan ekstrak etanol biji mangga memiliki nilai LD₅₀ lebih rendah, yakni 140,74 ppm. Hal ini diduga karena perbedaan pengolahan biji mangga yang menggunakan ekstrak etanol dengan larutan senyawa murni.

Mortalitas ikan uji (Jambal siam) yang terjadi disebabkan oleh senyawa fitokimia dari ekstrak biji mangga, salah satunya adalah saponin. Adanya saponin menimbulkan buih di dalam air, sehingga ikan mengalami kesulitan untuk mendapatkan oksigen. Menurut Lukistyowati (2012), saponin merupakan golongan senyawa glikosida yang dapat menimbulkan busa

biladikocok di dalam air dan menyebabkan hemolisis eritrosit, serta dapat bersifat racun pada hewan akuatik/ikan. Saponin masuk ke dalam peredaran darah melalui insang, ketika mengambil oksigen dari air sehingga menyebabkan ikan kekurangan darah dan dapat menyebabkan kematian. Menurut Tompo *et al.*, (2010), senyawa saponin dalam konsentrasi tinggi yang melewati batas toleransi tubuh ikan dapat menimbulkan keracunan bahkan sering mematikan.

Hasil pengamatan yang dilakukan selama uji toksisitas LD₅₀ terhadap ikan patin terjadi perubahan tingkah laku. Terganggunya lingkungan akibat ekstrak biji mangga telah menyebabkan ikan menjadi stres, sehingga respon yang terlihat menjadi berbeda tergantung pada sensitivitas dan

daya tahan ikan uji. Kondisi normal ikan patin sebagai organisme uji dalam penelitian ini pergerakannya aktif dan lincah. Setelah dilakukan perendaman ekstrak biji mangga. Tingkah laku ikan umumnya pergerakkan ikan pasif dan tidak beraturan, ikan tidak responsive terhadap rangsangan dari luar.

4. Kesimpulan

Kandungan ekstrak etanol biji manggharumanis (*M. indica* L) menunjukkan adanya senyawatanin, flavonoid, terpenoid, dan saponin. Larutan ekstrak etanol biji mangga harumanis mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. tarda* pada dosis 10000-200 ppm, dengan rata-rata diameter zona hambat berkisar antara 19,07-6,44 mm, dosis *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Larutan ekstrak etanol biji manggharumanis, yaitu 300 ppm dengan rata-rata jumlah koloni bakteri 278 mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. tarda*, nilai LD₅₀ larutan ekstrak etanol biji manggharumanis terhadap ikan patin (*P. hypophthalmus*) dengan cara perendaman selama 24 jam padadosis 140,74ppm.

Daftar Pustaka

- Affandi, A., A. Fauzia, dan S.D. Lesmana. 2009. Penentuan Dosis Hambat Minimal dan Dosis Bunuh Minimal Larutan Povidon Iodium 10% terhadap *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA) dan *Staphylococcus aureus* Sensitif Metisilin (MSSA). Fakultas Kedokteran Bagian Mikrobiologi Universitas Riau. 6 hlm.
- Akiyama, H., K. Fuji., O. Yamasaki., T. Oono, dan K. Iwatsuki. 2001. Antibacterial Action of Several Tannin against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48: 487–491.
- Andriani, A. 2011. Skrining Fitokimia dan Uji Penghambatan Aktivitas Alpha Glukosidase Pada Ekstrak Etanol dari Beberapa Tanaman yang Digunakan Sebagai Obat Antidiabetes. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia.
- Arun, P., K.G. Purushotham, J. Jayarani, dan V. Kumari. 2010. In Vitro Antibacterial Activity and Flavonoid Contents of *Lawsoniainermis* (Henna). *International Journal PharmTech Research*. Vol. 2 No. 2 1178-1181
- Dewi, A. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Sirih Merah (*Piper betle L.varrebrum*). [Skripsi]. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. 37 hlm.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Penerjemah. Edisi Kedua. Bandung. Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari : *Phytochemical Methods*.
- _____. 2006. Metode Fitokimia. Edisi ke 2. Terjemahan Kosasih padwaminata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Harmitadan M. Radji. 2008. Buku Ajar Analisis Hayati. Edisi 3. Penerbit Buku Kedokteran EGC : Jakarta.
- Indrowati, M dan C.J. Soegihardjo. 2005. Materi pembelajaran Biologi (Biokimia) : Deteksi Flafonoid Ekstrak Daun Kluwih (*Artorpus Altilis* Park). *Bioedukasi* 2 (2) : 61-64.
- Kabuki, T., H. Nakajima, M. Arai, S. Ueda, Y. Kuwabara, and S. Dosako. 2000. Characterization of Novel Antimicrobial compounds from Mango (*Mangifera indica* L.) kernel seeds. *Food Chem* 71:61-66.
- Kordi, MG. 2004. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Dahara Press, Semarang 101 hlm.
- Legesse MB., and A. E. Shimelis. 2012. Functional and Physicochemical Properties of Mango Seed Kernels and Wheat flour and their Blends for Biscuit Production. *African Journal of Food Science and Technology* 3: 193–203.
- Lukistyowati, I. 2012. Studi Efektivitas Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) untuk Mencegah Penyakit *Edwardsiellosis* Pada Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). *Berkala Perikanan Terubuk* 40(2): 56-74.
- Mariyono dan Sundana. 2002. Teknik Pencegahan dan Pengobatan Penyakit Bercak Merah pada Ikan air tawar yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Buletin Teknik Pertanian*. Badan Litbang Pertanian. Jakarta 36.
- Munawwarah, Z., A. Wafa dan M. Nurul. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Mangga (*Mangifera indica* L) terhadap *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Pharmasipha*, Volume.1.(1): 1-5.

- Nuria, M.C., A. Faizatun, dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC
- Padmasari, P D., Astuti, K W., Warditiani, N K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*). Jurnal Farmasi Udayana 2 (4): 1-4.
- Plumb, J. A. 1997. Infectious diseases of striped bass and other Morone culture (ed. By Harrel, R.M.) pp.271-313.
- Prihandani, S.S., M.N. Susan, Adriani, dan P. Masniari. 2016 Efektivitas Ekstrak Biji Mangga Harumanis terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Shigella sp.*, dan *Escherichia coli*. Jurnal Veteriner 17(1): 45-50.
- Rajan S., H. Suganya, T. Thirunala sundari, and S. Jeeva. 2012. Antidiarrhoeal Efficacy of Mangifera Indica seed Kernel on Swiss Albino Mice. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 630-633.
- Roihanah, S., Sukoso., dan S. Andayani. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang *Holothuria sp.* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang.
- Sangi, M., M.R.J. Runtuwene., H.E.I. Simbala., V.M.A., Makang, 2008, Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara, *Chem., Prog.*, 1(1): 77-83.
- Sari, D.R., Prayitno, S.B., Sarjito. 2014. Pengaruh Perendaman Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Kelulus hidupan dan Histologi Ginjal Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) yang Diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*. *J. of Aquac. and Tech.* 3(4): 126-13.
- Silaban, G.M.P. 2008. Sensitivitas Bakteri *Vibrio sp.* Dan *Pseudomonas sp.* Terhadap Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia L.*). [Skripsi]. Pekanbaru: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. 57 hlm
- Soleha, T.U. 2015. Uji Kepekaan terhadap Antibiotik. *Juke Unila* 5(9): 119-123. 5 hlm
- Susanto, D., Sudrajat dan Ruga. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea prosula Miq*) sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Journal Mulawarman Scientific.* Vol. 11 (2): 181-190.
- Telaumbanua, S. 2018. Sensitivitas Larutan Biji Mangga Harumanis terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau.
- Tompo, A., Tjaronge dan S, Tahe. 2010. Pengaruh Pemberian Saponin dengan Dosis yang Berbeda sebagai Obat Bius pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos forsskal*) Umpan. *Jurnal Bidang Biologi Perikanan.* Maros: Balai Riset Budidaya Perikanan Air Payau.
- Waluyo, L. 2008 Teknik metode Dasar Mikrobiologi Teknik Pengenceran dan Penhitungan Bakteri. Malang: UMM Press.
- Wardani R. K., Wahju. T dan Budi, 2012. Uji Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper rocatum*) Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophilasecara In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Ilmu Kelautan* 4:59-64.
- Zulhipri., B. Yusnetty, R. Reza, J. Siti. 2011. Profil Fitokimia Dan Uji Antibakteri Biji Mangga Arumanis (*M. indica. linn*). *Jurnal Mesomeri, Volume1.* 9-13.