

KAJIAN BIODESINFEKTAN DARI EKSTRAK SENTIGI (*Pemphis acidula*) SEBAGAI ALTERNATIF PENGGANTI KLORIN DALAM INDUSTRI PENGOLAHAN UDANG

Linawati Hardjito^{*)} dan Doharni Wina Harianja^{**)}

ABSTRAK

Sentigi (*Pemphis acidula*) merupakan tanaman obat tradisional yang berasosiasi dengan mangrove. Kulit batangnya digunakan sebagai obat sariawan oleh penduduk Pulau Pari. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas ekstrak sentigi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Vibrio carchariae*. Penelitian juga melaporkan *Lethal Concentration 50* (LC_{50}) ekstrak metanol terhadap *Artemia salina* dan efektivitas ekstrak dalam mereduksi jumlah bakteri pada udang. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak metanol kulit batang sentigi dengan rendemen sebesar 15,9% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *E. coli* dan *V. carchariae*. Pada konsentrasi antara 50-60 ppm, ekstrak metanol sentigi dapat menghambat pertumbuhan bakteri setara dengan penggunaan klorin ($Ca(OCl)_2$) 10 ppm. Ekstrak metanol sentigi memiliki toksisitas yang rendah terhadap *Artemia salina* dengan LC_{50} (24 jam) sebesar 94 ppm. Konsentrasi efektif penggunaan ekstrak sentigi sebagai bahan desinfektan pengganti klorin adalah 50-60 ppm. Penelitian lanjut sedang dilakukan untuk mengidentifikasi (struktur elusidasi) bahan antibakteri yang dikandung ekstrak metanol sentigi.

ABSTRACT: Study on *Pemphis acidula* extract as biodisinfectant in shrimp processing industry. By: Linawati Hardjito and Doharni Wina Harianja

Sentigi (Pemphis acidula) is an ethnomedicinal plant which associated with mangroves. Its stem bark is used in Indonesia to treat stomatitis aftosa rekuren. Its extracts were examined their antibacterial activities against Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Vibrio carchariae. The paper also reported Lethal Concentration 50 (LC_{50}) of methanol extract against Artemia salina and the effectiveness of extract to reduce the number of bacteria in shrimp. The results described that the methanol extract with the yield of 15.9% inhibited the growth of S. aureus, E. coli and V. carchariae. At concentration between 50-60 ppm, methanol extract inhibited the bacterial growth equivalent to 10 ppm of chlorine ($Ca(OCl)_2$). Methanol extract exhibited low toxicity against Artemia salina with LC_{50} (24 hours) of 94 ppm. The effective concentration of methanol extract as biodisinfectant was between 50-60 ppm. Identification through structure elucidation of active compound is in progress.

KEYWORDS: *Pemphis acidula*, ethnomedicinal plant, antibacteria, biodisinfectant

PENDAHULUAN

Klorin merupakan desinfektan yang umum digunakan di industri pengolahan udang yang telah mendapat rekomendasi dari FDA (*Food and Drug Administration*). Namun saat ini, CCFAC (*Codex Committee on Food Additives and Contaminants*) merekomendasikan kepada FAO/WHO untuk mengkaji ulang resiko penggunaan klorin bagi kesehatan konsumen, karena klorin memiliki efek negatif yaitu korosif terhadap peralatan dan mengiritasi kulit serta berpotensi merusak sistem pernafasan pada manusia dan binatang. Rekomendasi ini

memungkinkan pelarangan penggunaan klorin pada proses pengolahan udang di masa depan. Untuk mengantisipasi hal tersebut, diperlukan bahan alami alternatif pengganti klorin.

Sentigi (*P. acidula*) merupakan tanaman asosiasi mangrove yang kulit batangnya digunakan sebagai obat sariawan oleh penduduk Pulau Pari. Oleh masyarakat aborigin, Australia, sentigi digunakan untuk mengobati sakit gigi (Aboriginal Art Online, 2004). Penelitian mengenai komponen bioaktif dari sentigi belum banyak dilakukan. Masuda *et al.* (2001) menemukan bahwa ekstrak daun sentigi mengandung

^{*)} Departemen Teknologi Hasil Perairan, FPIK, IPB

^{**)} Alumni Departemen Teknologi Hasil Perairan, FPIK, IPB

empat jenis galloyl flavonol glikosida yang dinamakan kuersetin atau kemferol dengan aktivitas antioksidan yang menghambat oksidasi metil linoleat. Berdasarkan penggunaan tradisional, diduga ekstrak sentigi mengandung bahan aktif yang dapat berfungsi sebagai antimikroba yang dapat dijadikan alternatif sebagai desinfektan dalam industri pengolahan udang. Sampai saat ini belum ada penelitian yang melaporkan tentang aktivitas antimikroba ekstrak sentigi.

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengekstrak zat aktif dari sentigi; menguji aktivitas ekstrak sentigi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Vibrio carchariae*; menentukan *Lethal Concentration 50* (LC_{50}) ekstrak metanol sentigi terhadap *Artemia salina* Leach; dan menguji keefektifan ekstrak metanol sentigi dalam mereduksi jumlah bakteri pada udang.

BAHAN DAN METODE

Ekstraksi Zat Aktif Antibakteri

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dalam berbagai pelarut organik dengan kepolaran yang berbeda (de Spoza *et al.*, 2004). Bahan yang digunakan untuk membuat ekstrak adalah bubuk kulit batang sentigi (*P. acidula*) yang diambil dari Pulau Pari, Kepulauan Seribu, DKI Jakarta. Sebanyak 100 g bubuk kulit batang sentigi diekstrak secara bertingkat menggunakan masing-masing 250 mL kloroform, etil asetat kemudian metanol dengan cara maserasi selama 24 jam. Hasil maserasi difiltrasi dengan kertas saring sehingga didapatkan filtrat dan residu. Filtrat kemudian dikeringkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C.

Penapisan Awal Antibakteri dari Ekstrak Sentigi

Penapisan awal aktivitas antibakteri ekstrak kulit batang sentigi dilakukan dengan metode agar difusi. Bakteri yang digunakan sebagai target adalah *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Vibrio carchariae*. Media penyegaran bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dibuat dengan melarutkan 1 g pepton, 0,5 g *yeast extract* dan 1,5 g NaCl ke dalam 100 mL akuades pH 7. Media penyegaran *V. carchariae* dibuat dengan melarutkan 0,5 g pepton, 0,2 g *yeast extract*, 2,0 g NaCl dan 0,2 mL *trace element* ke dalam 100 mL akuades pH 7. Komposisi *trace element* media pertumbuhan *Vibrio carchariae* terdiri dari Na_2EDTA 4,36 g/L, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 3,15 g/L, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0,01 g/L, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0,01 g/L, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0,180 g/L, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0,006 g/L, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,02 g/L. Sterilisasi media dilakukan pada suhu 121°C selama 15 menit.

Media padat yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah media *Mueller Hinton* yang dibuat dengan cara melarutkan 3,8 g serbuk media ke dalam 100 mL akuades pH 7. Sebanyak 15 µL bakteri uji dengan OD_{550nm} antara 0,6–0,8 diinokulasikan ke dalam 15 mL media *Mueller Hinton*. Selanjutnya media dihomogenisasi dengan menggunakan *vortex* dan dituangkan ke dalam cawan petri steril dalam kondisi aseptik. Setelah media memadat, ekstrak kasar sebanyak 300 µg/kertas cakram diletakkan pada cawan petri. Sebagai kontrol, digunakan kloramfenikol sebanyak 15 µg/kertas cakram.

Media yang telah mengandung ekstrak dan bakteri target selanjutnya diletakkan di refrigerator selama ± 15 menit agar ekstrak terdifusi secara sempurna pada media agar kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 12 jam. Aktivitas antibakteri diamati dengan mengukur zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang berisi ekstrak atau kloramfenikol.

Penentuan Dosis Ekstrak Sentigi sebagai Pengganti Klorin

Ekstrak sentigi yang terpilih untuk percobaan lanjut adalah ekstrak metanol (yang seterusnya disebut ekstrak). Penentuan dosis efektif sebagai antibakteri dilakukan pada media cair dengan menggunakan tiga bakteri target yang sama. Media yang digunakan adalah media cair yang sama dengan media untuk penyegaran bakteri. Ekstrak metanol dilarutkan dalam akuades untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak 20, 40, 60 dan 80 ppm. Klorin dipakai sebagai kontrol pada konsentrasi 10 ppm. Sebanyak 15 mL media cair yang telah diberi ekstrak atau klorin, selanjutnya diinokulasi dengan 15 µL bakteri uji (OD_{550nm} 0,75) dan dihomogenisasi menggunakan *vortex*. Sebelum inkubasi media yang telah mengandung bakteri diukur *Optical Density* (OD) nya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm. Bakteri diinkubasikan selama 12 jam pada suhu 37 °C dan diukur kembali OD_{550nm} nya. OD_{550nm} pada jam ke-12 dikurangi OD_{550nm} awal merupakan parameter pertumbuhan bakteri.

Penentuan Toksisitas Ekstrak terhadap *Artemia salina*

Uji toksisitas ekstrak metanol dilakukan dengan penentuan LC_{50} (24 jam) terhadap *A. salina* (Carballo *et al.*, 2002). Sebanyak 0,6 g kista *A. salina* ditetaskan dalam 250 mL air laut yang telah disaring (salinitas 20 ppt, pH 8,0–8,5) selama 48 jam dengan aerasi. Temperatur air berkisar antara 28–30°C dengan intensitas cahaya sekitar 2000 lux. Setelah 48 jam, larva *A. salina* yang telah menetas dipanen dan digunakan untuk pengujian toksisitas.

Masing-masing duapuluh ekor larva *A. salina* dimasukkan ke dalam botol berisi 30 mL air laut yang mengandung ekstrak kasar metanol (bubuk) pada konsentrasi 0, 50, 100, 200, 400, 800 ppm. Sebagai kontrol positif digunakan klorin dengan konsentrasi 10 ppm. Larva dibiarkan berkontak langsung dengan bahan yang akan diuji sesuai dengan prinsip penentuan LC₅₀. Setelah 24 jam, jumlah *A. salina* yang mati dihitung dan LC₅₀ ditentukan dengan Metode Grafik (Fox, 2004).

Penentuan Total Plate Count (TPC)

Penentuan TPC dilakukan berdasarkan SNI 01-2339-1991. Sampel udang (*P. monodon*) dibeli dalam keadaan hidup. Pada uji ini, seluruh sampel udang dikupas dan dipotong kepalanya. Kemudian, sampel dicuci dan direndam selama 5 menit pada air yang mengandung ekstrak 20 dan 40 ppm atau klorin 10 ppm. Sebagai pembanding dibuat perlakuan udang yang tidak dicuci dan yang dicuci dengan air saja tanpa perendaman dalam ekstrak. Setelah perendaman, sebanyak 1 g sampel dari tiap perlakuan dilarutkan dan dihomogenisasi dengan menggunakan vortex dalam 9 mL garam fisiologis steril 0,85%. Pengenceran dilakukan antara 10⁻¹ sampai 10⁻² untuk mendapatkan jumlah koloni antara 30-300/cawan petri. Larutan tersebut diambil 1 mL dan dituangkan ke dalam cawan petri steril, kemudian ditambah 15 mL media Plate Count Agar (PCA). Selanjutnya cawan yang telah diinokulasi, diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 35°C dan dihitung jumlah koloni yang terbentuk.

HASIL DAN BAHASAN

Ekstraksi dan Penapisan Antibakteri

Rendemen hasil ekstraksi kulit batang sentigi disajikan pada Tabel 1. Rendemen dihitung dari perbandingan antara bobot ekstrak kasar yang dihasilkan dengan bobot awal bahan yang digunakan

dan dinyatakan dalam persen (%). Tabel 1 menunjukkan bahwa rendemen paling tinggi diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan pelarut metanol yaitu sebesar 15,9%. Hasil ini menunjukkan bahwa kulit batang sentigi banyak mengandung senyawa yang bersifat polar.

Pada pengujian antibakteri digunakan tiga bakteri uji yaitu *S. aureus* mewakili jenis bakteri gram positif, *E. coli* mewakili jenis bakteri gram negatif dan *V. carchariae* mewakili jenis bakteri yang umum ditemukan pada udang. Hasil uji aktivitas antibakteri dari ketiga jenis ekstrak (kloroform, etil asetat dan metanol) ditunjukkan pada Tabel 2 dan Gambar 1. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol masing-masing pada konsentrasi 300 µg/kertas cakram memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat yang hampir sama yaitu sekitar 3 mm. Ekstrak kloroform tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Bila dibandingkan dengan aktivitas kloramfenikol ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol memiliki aktivitas antibakteri yang lebih rendah. Hal ini disebabkan karena kloramfenikol adalah antibiotik murni sedangkan kedua ekstrak merupakan ekstrak kasar. Untuk mendapatkan data perbandingan yang lebih akurat perlu dilakukan pemurnian ekstrak.

Zat antibakteri yang terkandung dalam kulit batang sentigi dapat dikategorikan bersifat polar, ditunjukkan dengan diameter zona hambat terbesar yang dihasilkan oleh ekstrak metanol. Selain memiliki rendemen yang besar (15,9%), ekstrak metanol juga memiliki spektrum antibakteri yang luas yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif. Penelitian tentang bahan aktif dari ekstrak sentigi belum banyak dilakukan. Salah satu penelitian terkait adalah yang dilaporkan oleh Masuda *et al.* (2001) yang menyatakan bahwa ekstrak daun sentigi mengandung empat jenis galloyl flavonol glikosida. Zat tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan yang

Tabel 1. Rendemen hasil ekstraksi kulit batang sentigi
Table 1. Yield of sentigi extracts

Jenis pelarut/ Solvent	Bobot kering bahan/ Material dry weight (g)	Bobot ekstrak kasar/ Extract weight (g)	Rendemen/ Yield (%)
Kloroform/ <i>Chloroform</i>	100	0.21	0.2
Etil asetat/ <i>Ethyl acetate</i>	100	0.41	0.4
Metanol/ <i>Methanol</i>	100	15.86	15.9

Tabel 2. Aktivitas antibakteri ekstrak sentigi pada konsentrasi 300 µg/kertas cakram dan kloramfenikol pada konsentrasi 15 µg/kertas cakram
 Table 2. Antibacterial activity of sentigi and chloramphenicol at concentration of 300 µg/paper disc and 15 µg/paper disc, respectively

Ekstrak/ Extract	Bakteri uji dan zona hambat yang dihasilkan/ Target bacteria and diameter of inhibition zone (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>V. carchariae</i>
Kloroform/ Chloroform	0	0	0
Etil asetat/ Ethyl acetate	3	3	3
Metanol/ Methanol	4	4	4
Kloramfenikol/ Chloramphenicol	14	14	14



Gambar 1. Aktivitas antibakteri dari ekstrak sentigi terhadap (a) *Escherichia coli*, (b) *Vibrio carchariae*, (c) *Staphylococcus aureus*. 1: Kloramfenikol, 2: Ekstrak kloroform, 3: Ekstrak etil asetat, 4: Ekstrak metanol.

Figure 1. Antibacterial activity of sentigi extracts against (a) *Escherichia coli*, (b) *Vibrio carchariae*, (c) *Staphylococcus aureus*. 1: Chloramphenicol, 2: Chloroform extract, 3: Ethyl acetate extract, 4: Methanol extract.

menghambat oksidasi metil linoleat. Untuk membuktikan apakah ada keterkaitan antara zat antibakteri yang ditemukan pada penelitian ini dengan flavonol glikosida yang dikandung oleh sentigi, perlu dilakukan pemurnian dan identifikasi melalui penentuan struktur.

Zat antibakteri dari ekstrak sentigi yang bersifat polar sangat menguntungkan karena untuk aplikasi biodesinfektan dalam proses pencucian udang, ekstrak harus larut dalam air yang merupakan medium pencucian udang dan memiliki spektrum antibakteri yang luas seperti layaknya desinfektan komersial. Dengan rendemen yang tinggi akan memungkinkan pengembangan skala komersial. Berdasarkan pertimbangan tersebut, ekstrak metanol digunakan untuk percobaan selanjutnya dalam penentuan dosis efektif dan uji toksisitas.

Dosis Ekstrak Sentigi sebagai Pengganti Klorin

Pada penentuan dosis ekstrak sentigi sebagai desinfektan, klorin (Ca(OCl)₂) digunakan sebagai

kontrol positif. Pada industri pengolahan udang, klorin digunakan pada berbagai tahap yaitu pencucian pertama setelah penerimaan bahan baku pada konsentrasi 100–200 ppm, pencucian kedua setelah pemotongan kepala pada konsentrasi 50–150 ppm, pencucian ketiga setelah sortasi yaitu antara 10–25 ppm dan pencucian keempat setelah penimbangan pada konsentrasi 5–10 ppm. Data penggunaan klorin diperoleh dari perusahaan pengolahan udang di Banyuwangi, Jawa Timur dan Cirebon, Jawa Barat. Berdasarkan data tersebut, pada penelitian ini konsentrasi klorin yang digunakan adalah 10 ppm, karena semakin rendah konsentrasi maka semakin aman produk udang yang dihasilkan.

Hasil uji daya hambat ekstrak pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri target yang dinyatakan sebagai rata-rata selisih OD_{550 nm} setelah inkubasi 12 jam dengan OD awal disajikan pada Tabel 3. Persen penghambatan dihitung dari selisih OD_{550 nm} 12 jam dengan 0 jam dari media tanpa perlakuan dikurangi dengan selisih OD_{550 nm} 12 jam dengan 0 jam dari media dengan perlakuan dibagi selisih

Tabel 3. Daya hambat ekstrak metanol sentigi dan klorin terhadap pertumbuhan bakteri
Table 3. Inhibitory activity of sentigi methanol extract and chlorine against bacterial growth

No	Perlakuan/ Treatment	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>V. carchariae</i>	
		Selisih OD _{550 nm} 12 jam dengan 0 jam/Difference between OD _{550 nm} 12 hours and 0 hours	Persen penghambatan/Inhibitory level (%) ^{*)}	Selisih OD _{550 nm} 12 jam dengan 0 jam/Difference between OD _{550 nm} 12 hours and 0 hours	Persen penghambatan/Inhibitory level (%) ^{*)}	Selisih OD _{550 nm} 12 jam dengan 0 jam/Difference between OD _{550 nm} 12 hours and 0 hours	Persen penghambatan/Inhibitory level (%) ^{*)}
1	Tanpa perlakuan (tanpa ekstrak dan tanpa klorin)/ Without extract and chlorine	0.6110	-	0.4200	-	0.3805	-
2	Ekstrak 20 ppm/ Extract at 20 ppm	0.4670	23.6	0.2905	30.8	0.2395	37.1
3	Ekstrak 40 ppm/ Extract at 40 ppm	0.4175	31.7	0.2205	47.5	0.1770	53.5
4	Ekstrak 60 ppm/ Extract at 60 ppm	0.3165	48.2	0.1640	60.9	0.0880	76.9
5	Ekstrak 80 ppm/ Extract at 80 ppm	0.2455	59.8	0.1145	72.7	0.0230	94.0
6	Klorin 10 ppm/ Chlorine at 10 ppm	0.3655	40.2	0.1805	57.0	0.1375	63.9

^{*)} - Selisih OD_{550 nm} 12 jam dengan 0 jam media tanpa perlakuan (1) dikurangi selisih OD_{550 nm} 12 jam dengan 0 jam pada media dengan perlakuan (2,3,4,5 atau 6) dibagi selisih OD_{550 nm} 12 jam dengan 0 jam pada media tanpa perlakuan (1), dikalikan 100/
- Difference between OD_{550 nm} 12 hours and 0 hour of media without extract or chlorine (1) subtracted by difference between OD_{550 nm} 12 hours and 0 hour of extract treated media (2,3,4,5 or 6) divided by difference between OD_{550 nm} 12 hours and 0 hour of media without extract or chlorine (1), multiplied by 100.

OD_{550 nm} 12 jam dengan 0 jam dari media tanpa perlakuan dikalikan 100. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak ternyata meningkatkan daya hambat terhadap pertumbuhan ketiga bakteri. Penggunaan klorin pada konsentrasi 10 ppm setara dengan konsentrasi ekstrak antara 40–60 ppm. Walaupun membutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan klorin, ekstrak sentigi memiliki potensi yang bagus untuk dikembangkan sebagai desinfektan pengganti klorin karena ekstrak sentigi dapat digunakan tanpa harus memurnikan dan sebagai bahan alam ekstrak memiliki beberapa keunggulan antara lain ramah lingkungan (*biodegradable*), dihasilkan dari sumberdaya terbarukan dan bersifat tidak toksik yang dibuktikan melalui uji toksisitas.

Toksisitas Ekstrak *Pemphis acidula* terhadap *Artemia salina*

Uji toksisitas terhadap *A. salina* dilakukan untuk mengetahui toksisitas akut ekstrak metanol terhadap makhluk hidup selain bakteri melalui penentuan LC₅₀ (24 jam). LC₅₀ adalah konsentrasi yang menyebabkan kematian (dihasilkan dari kontak tunggal atau terbatas) pada 50% hewan percobaan (Bennett, 2003). Jumlah artemia yang digunakan adalah 20 ekor yang ditumbuhkan pada media 30 mL. Mortalitas *A. salina* disajikan pada Tabel 4.

Hasil uji toksisitas ekstrak metanol sentigi terhadap *A. salina* menunjukkan bahwa jumlah *A. salina* yang mati meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Kontrol klorin 10 ppm menyebabkan semua *A. salina* yang diuji mati sebelum 24 jam. Nilai LC₅₀ ditentukan dengan menggunakan Metode Grafik (Fox,

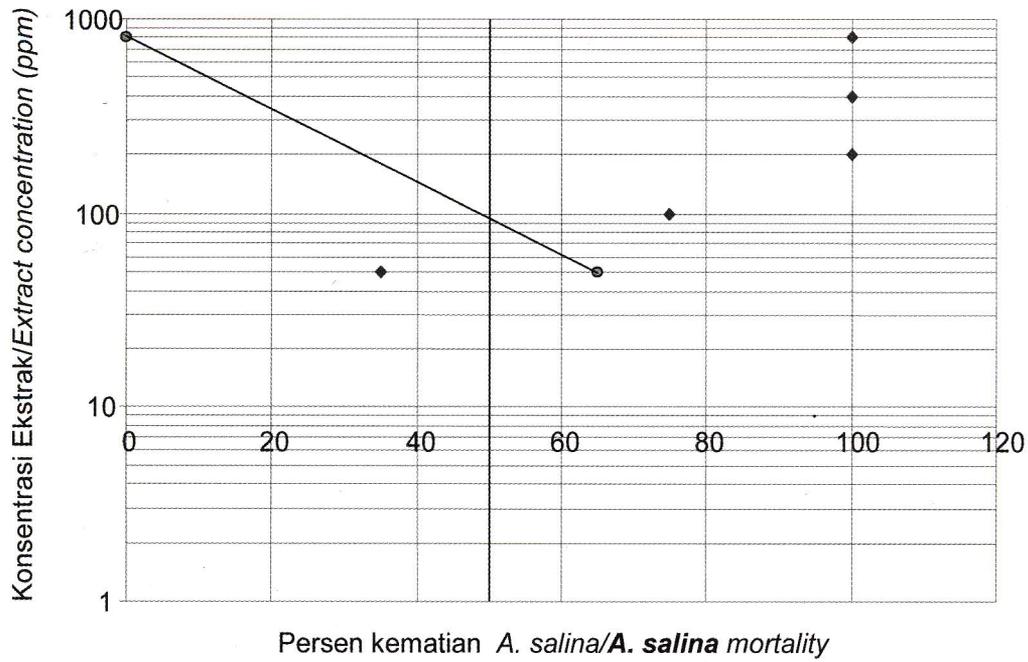
2004) yang memetakan hubungan antara data persen kematian *A. salina* (sumbu x) dengan konsentrasi ekstrak kasar (sumbu y). Hubungan konsentrasi ekstrak kasar dengan rata-rata jumlah *A. salina* yang mati dapat dilihat pada Gambar 2.

Sumbu y berupa skala logaritma dimana konsentrasi 0 sebagai kontrol tidak dipetakan sehingga nilai sumbu y dimulai dari konsentrasi ekstrak terkecil. Pada nilai sumbu x = 50%, ditarik garis vertikal sejajar sumbu y. Nilai persen kematian tertinggi yang terletak di sebelah kanan garis vertikal, dicerminkan terhadap garis tersebut sehingga terpetakan satu titik di sebelah kiri garis vertikal. Nilai persen kematian terendah yang terletak di sebelah kiri garis vertikal, dicerminkan terhadap garis tersebut sehingga terpetakan satu titik di sebelah kanan garis vertikal. Kedua titik yang baru tersebut dihubungkan dengan sebuah garis lurus. Perpotongan garis lurus tersebut dengan garis vertikal x = 50% merupakan nilai LC₅₀.

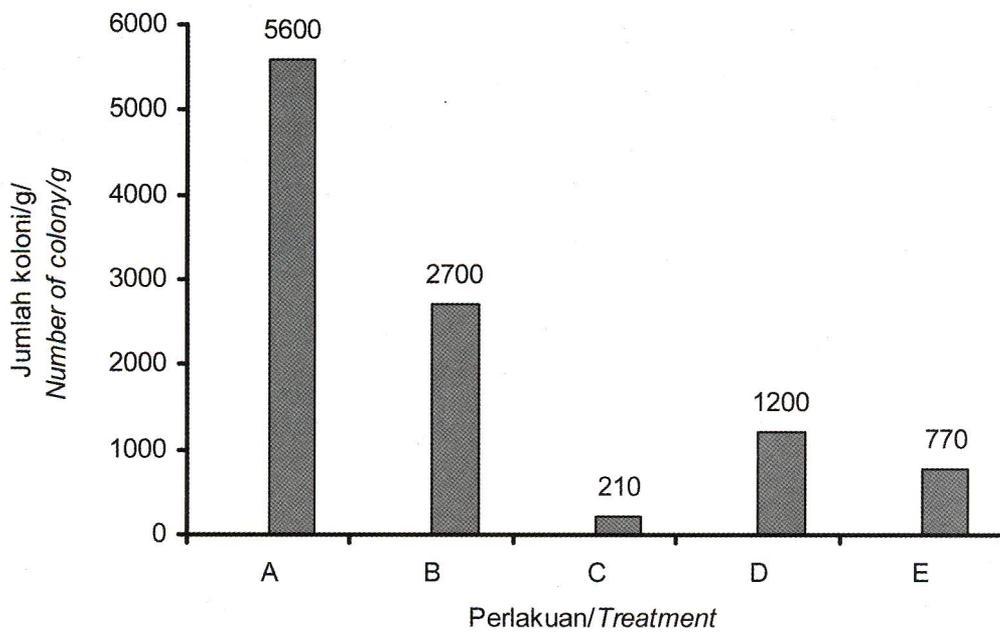
Dengan Metode Grafik didapatkan nilai LC₅₀ (24 jam) dari ekstrak metanol sentigi sebesar 94 ppm. Dengan kata lain, 50% *A. salina* yang diuji, mati setelah 24 jam bila ditumbuhkan pada media yang mengandung ekstrak 94 ppm. Berdasarkan tingkat toksisitas bahan terhadap organisme akuatik (Helfrich *et al.*, 1996), ekstrak sentigi termasuk dalam kategori bertoksisitas rendah, karena terletak dalam kisaran 10-100 ppm. Hasil Tabel 4 menunjukkan bahwa klorin jauh lebih toksik daripada ekstrak sentigi. Klorin pada konsentrasi 10 ppm setara dengan ekstrak sentigi pada konsentrasi 200 ppm. Ditinjau dari aspek toksisitas ekstrak sentigi potensial untuk digunakan sebagai biodesinfektan pada pabrik pengolahan khususnya udang sebagai pengganti klorin. Sentigi

Tabel 4. Mortalitas *Artemia salina* pada berbagai konsentrasi ekstrak sentigi
 Table 4. Mortality of *Artemia salina* exposed to various concentration of sentigi extract

Konsentrasi ekstrak/ Extract concentration	Jumlah <i>Artemia salina</i> yang mati/ Mortality of <i>Artemia salina</i>			Persen kematian/ Mortality (%)
	Ulangan 1/ 1 st Experiment	Ulangan 2/ 2 nd Experiment	Rata-rata/ Average	
0 ppm	0	0	0	0
50 ppm	6	7	7	35
100 ppm	15	14	15	75
200 ppm	20	20	20	100
400 ppm	20	20	20	100
800 ppm	20	20	20	100
Klorin/Chlorine 10 ppm	20	20	20	100



Gambar 2. Hubungan antara konsentrasi ekstrak sentigi dengan persentase kematian *Artemia salina*.
 Figure 2. The correlation between extract concentration of sentigi and *Artemia salina* mortality.



Gambar 3. Hasil uji TPC udang *P. monodon* yang direndam pada larutan klorin dan ekstrak sentigi. A: tanpa dicuci, B: dicuci dengan air, C: dicuci dengan air dan klorin 10 ppm, D: dicuci dengan air dan ekstrak sentigi 20 ppm, E: dicuci dengan air dan ekstrak sentigi 40 ppm.
 Figure 3. TPC result of *P. monodon* dipped in chlorine and sentigi extract. A: unwashed, B: washed with water, C: washed with water and 10 ppm chlorine, D: washed with water and 20 ppm sentigi extract, E: washed with water and 40 ppm sentigi extract.

memiliki toksisitas yang jauh lebih rendah dibandingkan klorin.

Total Plate Count (TPC)

Uji TPC merupakan cara yang paling sensitif untuk menghitung jumlah mikroba hidup yang terdapat dalam suatu produk. Pengenceran dilakukan antara 10^{-1} sampai 10^{-2} untuk mendapatkan jumlah koloni antara 30–300/cawan petri (Fardiaz, 1993). Pada penelitian ini ekstrak sentigi digunakan pada konsentrasi 20 dan 40 ppm, dan klorin 10 ppm. Hasil penentuan TPC disajikan pada Gambar 3.

Dari hasil uji TPC, terlihat bahwa pencucian dengan ekstrak sentigi pada konsentrasi 20 ppm memberikan penurunan jumlah bakteri per gram udang sebesar 79,5% dibandingkan dengan yang tidak dicuci. Pencucian dengan ekstrak konsentrasi 40 ppm memberikan penurunan jumlah bakteri per gram udang sebesar 86,2% dibandingkan dengan yang tidak dicuci. Pencucian dengan klorin 10 ppm memberikan penurunan jumlah bakteri per gram udang sebesar 96,3% dibandingkan dengan yang tidak dicuci. Pencucian hanya dengan air memberikan penurunan jumlah bakteri per gram udang sebesar 51,2% dibandingkan dengan yang tidak dicuci. Hasil ini sesuai dengan hasil uji daya hambat (Tabel 3) yang menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak sentigi sebesar 40 ppm menghasilkan daya hambat yang lebih rendah dari penggunaan klorin 10 ppm. Untuk itu penggunaan ekstrak sentigi dapat ditingkatkan sampai 50–60 ppm, yang mana konsentrasi ini masih aman ditinjau dari aspek toksisitas.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kulit batang sentigi mengandung bahan antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif *S. aureus* dan gram negatif *E. coli* dan *V. carchariae* yang bersifat polar dengan rendemen sebesar 15,9%. Pada konsentrasi antara 50–60 ppm, ekstrak metanol sentigi dapat menghambat

pertumbuhan bakteri setara dengan penggunaan klorin 10 ppm. Ekstrak metanol sentigi memiliki toksisitas yang rendah terhadap *Artemia salina* dengan LC_{50} (24 jam) sebesar 94 ppm. Konsentrasi efektif penggunaan ekstrak sentigi sebagai bahan desinfektan pengganti klorin adalah 50–60 ppm. Untuk aplikasi dan kajian keamanan ekstrak sentigi perlu dilakukan identifikasi (struktur elusidasi) senyawa aktif yang dikandung dalam ekstrak metanol.

DAFTAR PUSTAKA

- Aboriginal Art Online. 2004. Traditional aboriginal bush medicine. <http://www.aboriginalartonline.com/culture/medicine-2.html>
- Bennett, S.M. 2003. Insecticides. <http://www.thepiedpiper.co.uk/th13.htm>
- Carballo, J., Hernandez-Inda, Z.L., Perez, P. and Garcia-Gravalos, M.D. 2002. A comparison between two brine shrimp assays to detect *in vitro* cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnol* Sep 23: 2(1): 17.
- de Spoza, G.C., Haas, A.P.S., von Poser, G.L., Schapoval, E.E.S. and Elisabetsky, E. 2004. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *J. Ethnopharmacology*, 90, p. 135–143.
- Dewan Standardisasi Nasional. 1991. *Standar Nasional Indonesia Penentuan Total Aerobic Plate Count* (SNI 01-2339-1991). Jakarta. DSN.
- Fardiaz, S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Jakarta. PT. Raja Grafindo Persada.
- Fox, R. 2004. Field and laboratory exercise: Toxicity bioassay. <http://www.lander.edu/rsfox/306toxicLab.html>
- Helfrich, L.A., Weigmann, D.L., Hipkins, P. and Stinson, E.R. 1996. Pesticides and aquatic animals: A Guide to reducing impacts on aquatic systems. <http://www.ext.vt.edu/pubs/waterquality/420-013/420-013.pdf>
- Masuda, T., Iritani, K., Yonemori, S., Oyama, Y. and Takeda, Y. 2001. Isolation and antioxidant activity of galloyl flavonol glycosides from the seashore plant, *Pemphis acidula*. http://www.jsbba.or.jp/e/e_05/bbb6506e.html