

POTENSI TANAMAN HERBAL SEBAGAI ANTIMIKROBIAL PADA IKAN LELE SANGKURIANG (*Clarias sp.*)*Potency of Herbal Plants as Antimicrobial in Catfish (*Clarias sp.*)*Nora Simatupang¹, Dwi Anggraini²¹Mahasiswa Peneliti, ²Mahasiswa Peneliti*Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian
Universitas Sriwijaya, Indralaya, Ogan Ilir 30662***ABSTRACT**

Motile aeromonad septicemia (MAS) is caused by the bacterium *Aeromonas hydrophila*. The use of plant (natural materials) from herbal plants such as garlic, lime, turmeric and *mengkudu* can be as an alternative way to inhibit the activity of *A. hydrophila* by their active substances which have potency as an antibacterial and immunostimulant. The aim of this study was to analyze the potential of using a mixture of herbal plants to control of *A. hydrophila* in catfish sangkuriang (*Clarias sp.*). There were split in two kind of doses namely, preventive garlic;lemon 0,625% and turmeric;mengkudu 1,5%. The preventive treatment was given for two weeks before challenging test. The curative treatment was performed on one week after challenging test. Challenging test was carried out by intramuscularly injecting of 0,1 mL *A. hydrophila* (10^5 cfu/ml) into the fish. The results of in vitro at doses of 5% of each extract showed antimicrobial. In the in vivo test, extracts of garlic and lime showed antimicrobial at a doses of 0.625%, while turmeric and *mengkudu* extracts effective inhibited in a doses of 1,5%.

Key word: *Herbal plants, antimicrobial, catfish sangkuriang*

PENDAHULUAN

Produksi perikanan budidaya secara keseluruhan diproyeksikan meningkat. Untuk mencapai target produksi sesuai dengan yang diharapkan, berbagai permasalahan menghambat upaya peningkatan produksi. Salah satu permasalahan yang terkait, antara lain kegagalan produksi akibat serangan wabah penyakit ikan yang bersifat patogenik dari golongan bakteri (Yanuhar, 2005). Penyakit yang sering berkembang pada kegiatan akuakultur, salah satunya

dalam budidaya intensif ikan lele (*Clarias batrachus*) dan ikan patin (*Pangasius sp.*) adalah penyakit bercak merah atau sering dikenal dengan *Motile Aeromonad Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri gram negatif yang bersifat *pathogen* pada ikan. Bakteri *A. hydrophila* menyebabkan penyakit menular pada beberapa jenis ikan air tawar diantaranya ikan mas (*C. carpio*), patin (*Pangasius sp.*), lele

(*Clarias batrachus*), betutu (*O. marmorata*) dan gurame (*O. gouramy*). Penularannya sangat cepat dapat berlangsung melalui perantara air, kontak badan, kontak dengan peralatan tercemar atau karena pemindahan ikan yang telah terinfeksi *A. hydrophila* dari satu tempat ke tempat lainnya (Gufran dan kordi, 2004). Upaya pencegahan dan pengobatan yang lazim dilakukan pada ikan-ikan yang terkena penyakit bakterial adalah menggunakan obat-obatan kimia seperti *malachite green*, formalin dan hidrogen peroxida (Nuryati *et al.*, 2008). Akan tetapi penggunaan bahan kimia cenderung tidak ramah lingkungan dan ada yang bersifat karsinogenik. Seiring dengan adanya kecenderungan yang memperhatikan masalah keamanan pangan dan lingkungan maka diharapkan adanya metode pencegahan penyakit bakterial yang bersifat aman bagi pembudidaya, ramah lingkungan dan murah melalui pemanfaatan tanaman herbal. Beberapa tanaman herbal yang dapat dimanfaatkan sebagai antimikrobia yaitu bawang putih (*Allium sativum*), jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), kunyit (*Curcuma domestica*) dan mengkudu (*Morinda citrifolia*).

Bawang putih sebagai obat herbal saat ini telah banyak dilakukan, baik pada

manusia maupun pada hewan. Menurut Lukistyowati dan Kurniasih (2011), zat aktif alisin dalam bawang putih mampu meningkatkan daya tahan tubuh dan menyembuhkan berbagai penyakit pada manusia dan hewan vertebrata khususnya terhadap serangan bakteri *A. hydrophilla*. Selain tanaman herbal bawang putih, buah jeruk nipis efektif sebagai immunostimulan yang merupakan senyawa kimia, obat atau bahan lain yang mampu meningkatkan mekanisme respon spesifik dan non spesifik ikan. Beberapa faktor nutrisi seperti vitamin B dan C terbukti mengandung efek immunostimulan (Sarwono, 1994).

Kunyit (*Curcuma domestica*) mengandung kurkuminoid yang berperan aktif sebagai antimikrobia. Kurkuminoid merupakan senyawa hasil isolasi dari tanaman kunyit yang berbentuk serbuk atau tepung berwarna kuning oranye (Anggarawal *et al.*, 2003) kurkumin telah diketahui memiliki aktivitas biologis yang luas sebagai antiinfeksi. Senyawa aktif kurkumin sudah terbukti efektifitasnya dalam mencegah infeksi pada ikan. Hasil penelitian Samsundari (2007) menunjukkan bahwa pengujian secara *in vivo* ekstrak kunyit di atas 2,5% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* pada ikan mas (*C. Carpio*).

Tanaman herbal yang mengandung antimikrobal lainnya adalah mengkudu. Berbagai penelitian telah membuktikan adanya aktivitas antibakteri dari mengkudu *acubin*, *asperuloside* dan *alizarin* serta komponen *antraquinon* mempunyai aktivitas antibakteri (Winarti, 2005).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2013 di Laboratorium Budidaya Perairan, Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Indralaya.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Akuarium 50 cm x 35 cm x 40 cm, instalasi aerasi, selang, ember, *scop net*, penggaris, timbangan digital, *aluminium foil*, kertas putih, kapas, kain kasa, oven, *autoclave*, erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi, *beaker glass*, gelas ukur, labu ukur, *centrifuge*, *magnetit stiller*, *hot plate*, tabung mikrotube 1.5 ml, mikroskop, termometer, pH meter, kaca preparat, mikropipet, tip, ose, spuit suntik 1 cc, batang penyebar, kertas what man

no.42, isolasi, *cutter*, blender, saringan, kain lap, masker, corong, pinset, bunsen.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lele sangkuriang (*Clarias* sp.) dengan panjang rata-rata $12 \pm 0,3$ cm dan bobot rata-rata $16 \pm 0,35$ gram yang berasal dari Balai Benih Ikan Lokal Tanjung Putus, Indralaya Utara Ogan Ilir, bawang putih (*Allium sativum*), jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), kunyit (*Curcuma domestica*), mengkudu (*Morinda citrifolia*), bakteri *Aeromonas hydrophila* yang berasal dari Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan di Lingkungan Serang, Banten. media bakteri TSA (*Trypticase Soy Agar*) dan TSB (*Trypticase Soy Broth*), akuades steril, Na-Sitrat 3,8%, larutan Turk's, pewarna Giemsa, garam, alkohol 70%, methanol, kaporit dan pelet komersil.

Metodologi Penelitian

Pembuatan ekstrak

Masing-masing bahan tanaman herbal dibersihkan dengan air bersih dan dikeringkan. Bahan tersebut dipotong-potong menjadi beberapa bagian kecil dan kemudian dihaluskan hingga menjadi ekstrak kasar menggunakan blender. Masing-masing ekstrak kasar bahan

tanaman herbal disaring menggunakan saringan. Setelah didapat ekstrak kentalnya, kemudian diukur dan dilarutkan menggunakan akuades steril sesuai konsentrasi yang dibutuhkan yaitu masing-masing 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Masing-masing konsentrasi bahan digunakan dalam uji *in vitro* dan *in vivo*.

Uji *in vitro*

Uji *in vitro* yang dilakukan terdiri dari yaitu isolat murni bakteri *A. hydrophila*, secara aseptik diambil sebanyak satu ose dan dibiakkan dalam media TSB 10 ml. Setelah umur media 24 jam, sebanyak 0,1 ml bakteri ditransfer menggunakan mikropipet ke media TSB 90 ml dan dikultur kembali selama 24 jam. Selanjutnya setelah umur 24 jam bakteri dipanen dan diencerkan dengan kepadatan 10^5 cfu. ml⁻¹ (teknik kultur bakteri diulang saat akan penginfeksi ikan uji). Selanjutnya, disiapkan media TSA dalam cawan petri sebagai tempat hidup bakteri *A. hydrophila*. Sebanyak 0,1 ml bakteri dengan kepadatan 10^5 cfu. ml⁻¹ dikultur dalam media TSA.

Pengujian bakteri dilakukan dengan metode kertas cakram berupa kertas whatman no 42 berdiameter 6 mm dengan daya serap 15µm. Sebelum digunakan kertas cakram disterilkan

menggunakan *autoclave* selama 20 menit, selanjutnya direndam dalam masing-masing ekstrak bahan dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% selama \pm 15 menit. Kertas cakram diambil secara aseptik dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah ditebar bakteri *A. hydrophila* kemudian diinkubasi selama 24 jam untuk selanjutnya diukur zona hambatnya

Uji *in vivo*

Uji *in vivo* dilakukan dengan satu macam perlakuan yaitu pencegahan, kontrol positif, dan kontrol negatif. Pemberian pakan ikan uji secara *at satiation* yaitu pagi dan sore hari yaitu pada pukul 08.00 dan 16.00 WIB serta dilakukan penyiponan dan pergantian air untuk menjaga kualitas air.

Persiapan wadah dan adaptasi ikan uji

Akuarium yang digunakan untuk pemeliharaan berukuran 50×35×40 cm³. Sebelum digunakan, akuarium direndam menggunakan larutan desinfektan berupa kaporit sebanyak 20 ppm selama 24 jam, setelah itu dibilas sampai bersih dan diisi air sebanyak 20 liter kemudian diaerasi. Dinding akuarium dilapisi plastik hitam untuk menghindari stress pada ikan uji. Padat tebar ikan uji, masing-masing

akuarium diisi 20 ekor. Ikan diadaptasi di akuarium selama 24 jam.

Uji konsentrasi ekstrak

Uji konsentrasi ekstrak dilakukan dua tahap yaitu tahap pertama merupakan uji pendahuluan menggunakan dosis 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% selanjutnya tahap kedua 0,31%, 0,625%, 1,5%, dan 3,0%. Ikan yang mati selama uji pendahuluan dicatat untuk menentukan LD₅₀. Selanjutnya, hasil uji pendahuluan digunakan untuk menentukan dosis yang efektif dan aman untuk kehidupan ikan uji.

Perendaman (*dipping*)

Perendaman dilakukan setelah ikan diadaptasi selama 24 jam yaitu masing-masing ekstrak segar tanaman herbal dicampurkan ke dalam media pemeliharaan hingga homogen. Dosis yang digunakan pada setiap perlakuan berbeda-beda yaitu pada perlakuan ekstrak bawang putih dan jeruk nipis 0,625% dan kunyit dan mengkudu 1,5%. Dosis tersebut merupakan hasil uji konsentrasi yang aman bagi ikan lele yang diperoleh dari uji pendahuluan. Selama perendaman ikan uji, media pemeliharaan tidak dilakukan penyiponan dan pemberian pakan selama 24 jam. Setelah tahap

perendaman selesai, dilakukan penyiponan dan pergantian air sebanyak 80% dan ikan uji mulai diberi pakan lalu dipelihara selama 24 jam.

Penginfeksian ikan uji

Sebelum penginfeksian bakteri terhadap ikan uji terlebih dahulu dilakukan kultur bakteri seperti yang dilakukan pada uji *in vitro*. Selanjutnya hasil kultur bakteri disuntikkan ke ikan secara *intra muscular* dengan dosis 0,1 ml. ekor⁻¹. Ikan uji dipelihara selama lima hari dan diamati gejala klinisnya berupa aktivitas renang, respon makan, dan morfologi tubuh ikan.

Parameter yang Diamati

Pengukuran kadar hematokrit menurut Amlacher (1970)

Darah dihisap menggunakan tabung mikrohematokrit berlapis heparin dengan sistem kapiler. Fungsi heparin adalah untuk mencegah pembekuan darah di dalam tabung (Amlacher, 1970). Setelah darah mencapai $\frac{3}{4}$ bagian tabung, kemudian salah satu ujung tabung disumbat dengan *critoseal*. Tabung kapiler yang telah berisi darah kemudian disentrifuse dengan kecepatan putaran 6000 rpm selama 5 menit. Pengukuran dilakukan dengan membandingkan

volume benda darah terhadap volume seluruh darah menggunakan skala hematokrit.

Preparat segar ulas darah

Pembuatan preparat segar ulas darah yaitu darah segar yang baru diambil dari ikan ditetaskan pada preparat objek, diratakan dan diamati dibawah mikroskop. Darah ikan uji diambil secara *intra muscular* sebanyak 0,1 cc dengan spuit suntik. Kemudian ditetaskan satu tetes ke atas salah satu ujung kaca preparat dan ulas dengan menggunakan kaca preparat dengan cara mendorong ke depan. Kemudian preparat dikeringkan

dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40 kali. Darah ikan yang diamati berupa perbedaan gambaran darah ikan perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif.

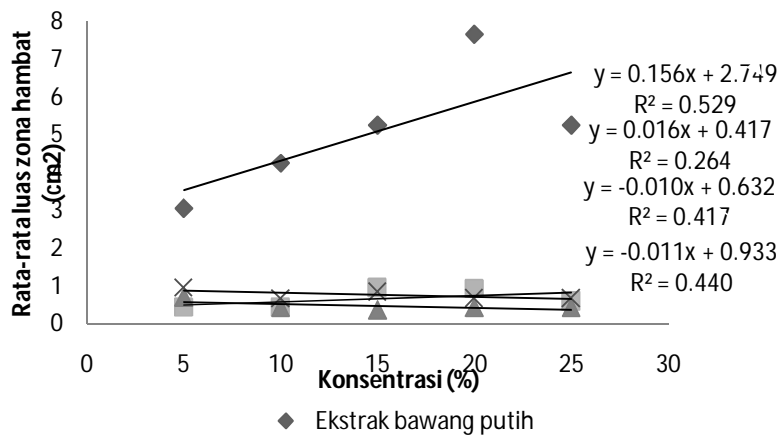
Kualitas air

Pengukuran parameter kualitas air meliputi suhu, pH, DO dan Amonia (NH₃). Pengukuran dilakukan sebanyak 2 kali selama penelitian yaitu awal dan akhir.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji *In vitro*

Hasil Uji Invitro dalam penelitian ini disajikan pada gambar 1 berikut :



Gambar 1. Luas zona hambat masing-masing ekstrak terhadap bakteri *A. hydrophila*

Berdasarkan gambar 1, terlihat bahwa pada dosis 5% terdapat zona hambat terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. Ekstrak bawang putih dengan dosis 20% memberikan luas zona hambat bakteri terbesar dibandingkan dengan dosis yang lainnya. Luas zona hambat disebabkan oleh kandungan sulfur pada bawang putih yang tinggi, dan juga kandungan unsur kimianya, salah satunya *allicin*. *Allicin* merupakan zat yang memiliki sifat bakterisida dan juga menghambat beberapa enzim secara *in vitro*. *Allicin* dalam dosis yang tinggi dapat menjadi racun bagi sel dan menyebabkan rasa panas pada kulit atau gangguan pada usus (Lukistyowati dan Kurniasih, 2011).

Faktor yang mempengaruhi luasnya zona hambat diduga jumlah *allicin* dalam ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 20% lebih banyak dibandingkan konsentrasi yang lainnya. Menurut Lukistyowati dan Kurniasih (2011) bawang putih memiliki kandungan *allicin* berupa *Disulphide, di-2-propenyl* (CAS)/ *Diallyl disulphide* ($C_6H_{10}S_2$) sebesar 16,95%.

Ekstrak jeruk nipis, kunyit dan mengkudu pada masing-masing konsentrasi tidak menunjukkan luas zona hambat yang signifikan, namun pada

dosis 5% kandungan zat aktif pada masing-masing tanaman herbal tersebut mampu menekan pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Ekstrak jeruk nipis mampu menghambat pertumbuhan bakteri diduga faktor kandungan vitamin C dan B yang dikandungnya (Sarwono, 1994), sedangkan ekstrak kunyit dan mengkudu mampu menekan pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* diduga faktor masing-masing zat aktifnya yaitu kurkuminoid (Rukmana, 1994) dan *acubin, asperuloside, alizarin* serta *antraquinon* terbukti mempunyai aktivitas antibakteri (Winarti, 2005).

Uji *in vivo*

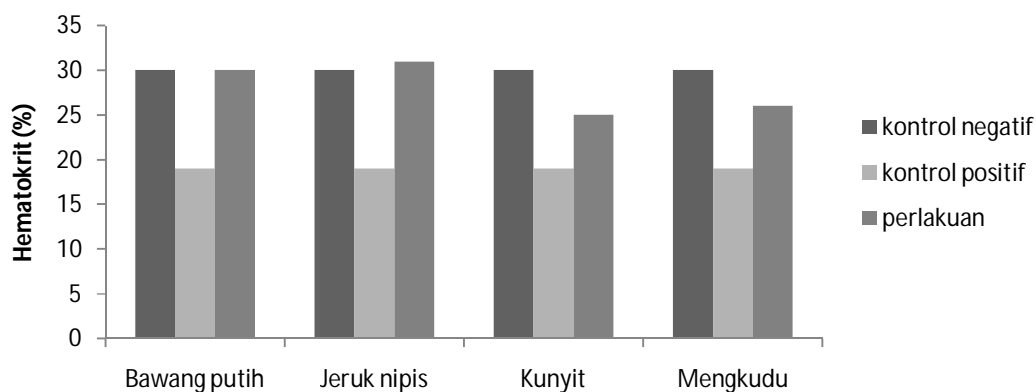
Gejala klinis pasca penginfeksi

Hasil penelitian menunjukkan adanya gejala klinis ikan yang terserang *A. hydrophila* berupa terjadinya penurunan aktifitas renang dan nafsu makan menurun. Menurut Sartika (2011) gejala awal dari terserang infeksi *A. hydrophila* adalah ikan tidak nafsu makan, berada di permukaan air dengan posisi vertikal. Faktor yang mempengaruhi penurunan nafsu makan diduga ikan stres sehingga respon saraf bekerja untuk meningkatkan sistem imun tubuh yang memungkinkan terjadinya gangguan fisiologis ikan,

Hematologi

Pada Gambar 2. kadar hematokrit menggambarkan banyaknya sel darah yang dalam plasma darah. Ikan yang terinfeksi *pathogen* mampu menurunkan

metabolisme tubuh, nafsu makan dan aktifitas renang. Nilai hematokrit ikan yang rendah menyebabkan jumlah eritrosit rendah terhadap cairan darah.



Gambar 2. Persentase kadar hematokrit

Menurut Sartika (2011), nilai hematokrit yang lebih kecil dari 22% menunjukkan bahwa ikan mengalami anemia dan kemungkinan terinfeksi penyakit. Hasil penelitian Abdullah (2008) menyatakan bahwa nilai hematokrit ikan lele (*Clarias batrachus*) akan mengalami penurunan jika terinfeksi bakteri *pathogen*. Pada penelitian ini uji hematokrit menunjukkan pengaruh yang signifikan, diduga pengaruh tersebut disebabkan oleh perlakuan perendaman ikan uji terhadap ekstrak bawang putih, jeruk nipis, kunyit dan mengkudu. Kadar hematokrit ikan uji yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* menghasilkan nilai

hematokrit yang lebih tinggi dibandingkan ikan kontrol positif yaitu masing-masing bawang putih 30%, jeruk 222 nipis 31%, kunyit 25% dan mengkudu 26%, sedangkan nilai hematokrit ikan uji kontrol positif adalah 19%. Ikan yang diberi perlakuan, diduga relatif lebih tahan terhadap serangan penyakit MAS dibandingkan ikan kontrol positif. Persentase nilai hematokrit pada ikan uji kontrol negatif adalah sebesar 30%. Affandi dan Tang (2002) menyatakan bahwa kisaran nilai hematokrit ikan lele pada kondisi normal sebesar 30,8-45,5%.

Hasil pengamatan preparat segar ulas darah menunjukkan adanya

perbedaan kepadatan eritrosit antara ikan kontrol negatif, perlakuan, dan kontrol positif. Ikan uji kontrol negatif memiliki jumlah sel darah yang padat, sedangkan ikan dengan perendaman ekstrak masing-masing tanaman herbal menghasilkan gambar sel darah yang lebih meningkat dari ikan uji kontrol positif. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan zat aktif pada masing-masing ekstrak efektif untuk mencegah serangan bakteri *A. hydrophila* terhadap ikan uji. Abdullah (2008) jumlah eritrosit dalam darah ikan lele yang normal adalah $3,18 \times 10^6$ sel/ml. Tinggi rendahnya jumlah eritrosit dalam darah ikan disebabkan ikan dalam keadaan stres. Menurut Affandi & Tang (2002), stres bisa disebabkan oleh kondisi lingkungan yang buruk dan tidak nyaman bagi kehidupan ikan, seperti kondisi oksigen perairan yang kurang, kelebihan CO₂ di dalam air, dan pH ekstrim. Namun pada penelitian ini kisaran kualitas air hasil pengukuran akhir diperoleh nilai berbagai parameter fisika kimia air adalah pH 6,89, suhu 26 °C, DO 5,18 ppm dan amoniak 0,03. Kisaran kualitas air tersebut masih berada dalam batas aman untuk kelangsungan hidup dan pertumbuhan ikan.

KESIMPULAN

Bahan alami yang berasal dari tanaman herbal yaitu bawang putih, jeruk nipis, kunyit dan mengkudu berpotensi sebagai antimikrobal terhadap bakteri *A. hydrophila*. Hasil penelitian secara *in vitro* dan *in vivo*, ekstrak bawang putih dan jeruk nipis menunjukkan s 223 antimikrobal pada dosis 0,62% sedangkan ekstrak kunyit dan mengkudu pada dosis 1,5%.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Yusuf. 2008. Efektifitas ekstrak daun paci-paci (*Leucas lavandulaefolia*) untuk pencegahan dan pengobatan infeksi penyakit *mas motile aeromonad septicaemia* ditinjau dari patologi makro dan hematologi ikan lele dumbo (*Clarias* sp.). Skripsi. Program studi teknologi dan manajemen akuakultur. Departemen Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Affandi R dan U.M Tang. 2002. Fisiologi Hewan Air. Universitas Riau Press. Riau.
- Amlacher E. 1970. Textbook of fish disease. Conroy D.A., R.L. Herman (Eds.) TFH Publ. Neptune. New York. 302p
- Anggarawal B.B., A, Kumar., MS, Anggarawal., and S, Shishodia., 2003. Curcumin derived from

- turmeric (*Curcuma longa*). A Spice for all seasons, phytochemical in cancer Chemoprevention.8(28):1-9.
- Effendie, M.I. 2002. Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta.
- Gufan, H dan Kordi, K. 2004. Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan. Rineka Cipta dan Bina Adiaksara. Jakarta.
- Lukistyowati, I. Dan Kurniasih. 2011. Kelangsungan hidup ikan mas (*Cyprinus carpio* L) yang diberi pakan ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) dan di infeksi bakteri *Aeromonas hidrophylla*. 16(1):144-160
- Nuryati, S., Suparman dan Hadiroseyani. 2008. Penggunaan ekstrak daun paci-paci (*Leucas* sp.) untuk pencegahan penyakit mikotik pada ikan gurame (*Osphronemus gouramy* Lac.) Jurnal Akuakultur Indonesia. Vol 7 No. 2 hal 205-212.
- Rukmana, R. 1994. Kunyit. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
- Samsundari, S. 2007. Pengujian ekstrak temulawak dan kunyit terhadap resistensi bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menyerang ikan mas (*Cyprinus carpio*). Naskah Publikasi Penelitian Pengembangan IPTEK. Lembaga Penelitian Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Sartika. 2011. Patologi dan penyakit ikan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB.
- Sarwono B. 1994. Jeruk Nipis. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
- Winarti, C. 2005. Peluang pengembangan minimum fungsional dari buah mengkudu (*Morinda citrifolia*). Jurnal Litbang Pertanian. 24(4) : 149-155.
- Yanuhar, U. 2005. Peran molekul adhesi untuk diagnostik dan vaksin bakteri patogen. Makalah Seminar Nasional Aplikasi Bioteknologi Akuakultur. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.