

POTENSI EKSTRAK BAWANG PUTIH *Allium sativum* UNTUK MENGINAKTIFASI KOI HERPESVIRUS (KHV) PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)

Potency of Garlic Extract Against Koi Herpesvirus (KHV) in Common Carp

S. Nuryati, D. Puspitaningtyas dan D. Wahjuningrum

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

ABSTRACT

Prevention of koi herpesvirus (KHV) infection using chemicals or medicines was ineffective way. In this study garlic extract was used to prevent KHV infection. Virus suspension of 0.1 ml and garlic extract of 0.1 ml in different dosage, i.e., 100, 200 and 300 ppt, was injected into common carp body. Hemoglobin concentration, red and white blood cell numbers, and leukocyte number were counted. The results of study showed that administration of 300 ppt of garlic extract could produce higher survival rate (67.5%), good blood parameters and clinical symptoms compared to other treatments.

Keywords: garlic, KHV, common carp

ABSTRAK

Upaya penanggulangan wabah Koi Herpesvirus (KHV) menggunakan bahan-bahan kimia atau obat-obatan adalah tidak efektif. Pada penelitian ini dilakukan pemberian ekstrak bawang putih untuk menanggulangi infeksi KHV. Suspensi virus sebanyak 0,1 ml ditambahkan dengan 0,1 ml ekstrak bawang putih dengan berbagai konsentrasi, yaitu 100, 200 dan 300 ppt, disuntikkan ke dalam tubuh ikan mas. Kadar hemoglobin, jumlah sel darah merah dan sel darah putih jenis dan jumlah leukosit diamati. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak bawang putih sebanyak 300 ppt menghasilkan kelangsungan hidup (67,5%) yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya, dan begitu pula dengan gambaran darah serta gejala klinisnya.

Kata kunci: bawang putih, KHV, ikan mas

PENDAHULUAN

Ikan mas adalah ikan konsumsi yang banyak digemari oleh masyarakat Indonesia, sedangkan ikan koi adalah jenis ikan hias yang banyak menarik perhatian para peminat ikan hias. Namun sejak Maret 2002, pembudidaya ikan mas dan koi di Indonesia menghadapi wabah penyakit yang serius akibat Koi Herpes Virus (KHV) (Sunarto *et al.* 2004). Patogenisitas KHV sangat tinggi dan penyebarannya sangat cepat, sehingga dianggap sebagai salah satu penyakit yang paling serius dalam budidaya ikan air tawar.

Informasi ilmiah tentang KHV masih sangat terbatas, karena kasus penyakit tersebut dilaporkan pertama kali pada tahun 1998 di Israel. Beberapa karakteristik dari patogen tersebut masih belum diketahui secara detail, seperti: virulensi, jenis ikan

yang berpotensi sebagai perantara (*carrier*), media penularan, mekanisme penularan dan penyebaran, masa inkubasi, teknik diagnosa yang cepat dan tepat, parameter lingkungan yang turut menstimulir timbulnya peledakan, kekebalan tubuh alamiah inang, *maternal immunity* dan potensi herbal terapi (Sunarto *et al.* 2004).

Upaya penanggulangan wabah KHV telah dilakukan dengan menggunakan bahan-bahan kimia atau obat-obatan, namun terbukti tidak efektif. Obat-obatan tersebut hanya membantu mengatasi infeksi sekunder oleh bakteri, fungi atau parasit. Ketidakefektifan pengobatan tersebut dikarenakan patogenisitas KHV di dalam tubuh ikan berlangsung antar sel sehingga tidak perlu keluar sel dan masuk ke dalam sistem sirkulasi tubuh inang untuk penyebarannya. Oleh karena itu, sifat dari

virus herpes tergolong *highly cell associated* dan bersifat laten, yaitu seumur hidup berada dalam tubuh inangnya (Arvin, 1996).

Salah satu cara untuk mengobati dan mencegah infeksi penyakit adalah dengan menggunakan bahan-bahan alami. Para pembudidaya ikan mas dan koi sudah mulai menggunakan bahan-bahan alami seperti ekstrak bawang putih, ekstrak mengkudu (*pace*) dan cacahan buah maja untuk melawan KHV, meskipun penggunaannya belum dikaji ataupun diteliti dari segi ilmiah. Keberhasilan yang diperoleh cukup variatif, meskipun beberapa pembudidaya cukup puas dengan upaya tersebut. Dengan demikian diperlukan informasi tentang potensi bahan alami tersebut, termasuk ekstrak bawang putih untuk menginaktivasi KHV pada ikan mas.

BAHAN & METODE

Penyediaan suspensi KHV

Penyediaan suspensi KHV berdasarkan metode Hameed *et al.* (1997) dengan menggerus organ ikan mas yaitu insang, hati atau ginjal yang terinfeksi KHV sebanyak 2 gram dan disuspensikan dalam 8 ml larutan fisiologis. Suspensi organ disaring dengan kain kasa dan disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm dan 8000 rpm berturut-turut masing-masing selama 5 menit. Supernatan yang dihasilkan diambil dan disaring dengan kertas milipore 0,45 μm sehingga didapatkan konsentrasi virus dengan konsentrasi 20% atau setara dengan 40 $\mu\text{g/ml}$ virus. Setiap 1 ml larutan virus ditambahkan 0,1 ml antibiotik 10.000 IU penisilin dan 10.000 μg streptomycin.

Pembuatan ekstrak bawang putih cair

Proses pembuatan ekstrak bawang putih cair didasarkan pada metode Bogin dan Abrams (1976). Bawang putih sebanyak 50 gram ditambahkan dengan akuades steril 100 ml kemudian diblender selama 20 menit. Dari semua hasil yang diperoleh disentrifuse selama 30 menit sehingga didapat 100 ml cairan dan endapan. Cairan tersebut setara dengan 2 gram bahan basah dengan konsentrasi 50 gr/100 ml (500 ppt). Untuk

mendapatkan larutan bawang putih dengan konsentrasi 100, 200 dan 300 ppt dilakukan pengenceran terhadap larutan baku (500 ppt).

Penyuntikan ikan mas dengan campuran bawang putih dan virus

Suspensi virus sebanyak 0,1 ml ditambahkan dengan 0,1 ml ekstrak bawang putih masing-masing dengan berbagai konsentrasi sesuai perlakuan, yaitu 100, 200 dan 300 ppt. Campuran yang dihasilkan disuntikkan ke dalam tubuh ikan mas dan dilakukan pengamatan terhadap gambaran darah dan dihitung tingkat kelangsungan hidupnya selama 10 hari pasca penyuntikan. Gambaran darah yang diamati meliputi kadar hemoglobin, jumlah sel darah merah dan sel darah putih serta jenis dan jumlah leukosit.

Proses pemeliharaan ikan uji berupa ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang berukuran 8-10 cm dilakukan dalam akuarium berukuran 50 x 40 x 40 cm. Sebelum pedilakukan penyuntikan, ikan uji diadaptasikan terhadap lingkungan laboratorium selama 4 – 7 hari dengan pemberian pakan berupa pelet apung pada pagi dan sore hari. Untuk menjaga kualitas air dilakukan penyiponan setiap hari. Dalam masa adaptasi juga dilakukan pengamatan terhadap respon dan nafsu makan ikan, tingkah laku ikan serta ciri morfologi luarnya.

HASIL & PEMBAHASAN

Kelangsungan hidup

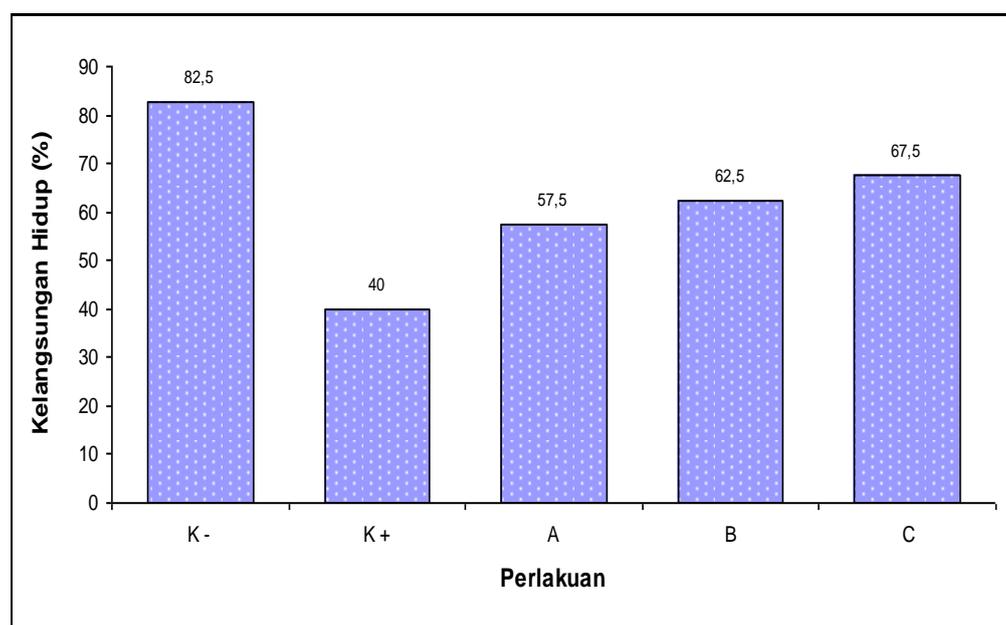
Nilai kelangsungan hidup ikan uji cenderung semakin meningkat sejalan dengan peningkatan konsentrasi bawang putih yang diberikan. Ikan yang hanya disuntik KHV mengalami kematian yang paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Kondisi ikan yang mati tersebut mempunyai ciri-ciri banyak lendir pada permukaan tubuhnya serta pendarahan pada bagian bawah mulut dan sisi tubuhnya. Kelangsungan hidup ikan kontrol negatif mencapai 82,5% dan tercatat paling tinggi dibandingkan perlakuan lainnya karena ikan hanya disuntik dengan akuades steril yang tidak berpengaruh terhadap ikan. Pemberian bawang putih sebanyak 300 ppt pada ikan

yang diinfeksi KHV menghasilkan kelangsungan hidup yang lebih baik dibandingkan ikan yang disuntik cairan bawang putih dengan konsentrasi lebih yang rendah (100 dan 200 ppt). Dengan demikian, penambahan bawang putih dapat meningkatkan kelangsungan hidup ikan yang terinfeksi KHV. Ditinjau dari gejala klinis, ikan yang disuntik dengan 300 ppt cairan bawang putih memiliki gejala klinis terinfeksi KHV dengan tingkat yang ringan. Hal tersebut menunjukkan infeksi KHV masih terjadi pada ikan meskipun dengan penambahan ekstrak bawang putih. Diduga pemberian ekstrak bawang putih 300 ppt belum mampu sepenuhnya untuk mendenaturasi semua protein virus dan mencegah terjadinya replikasi virus. Akan tetapi bawang putih terbukti mampu menginaktivasi KHV pada ikan mas.

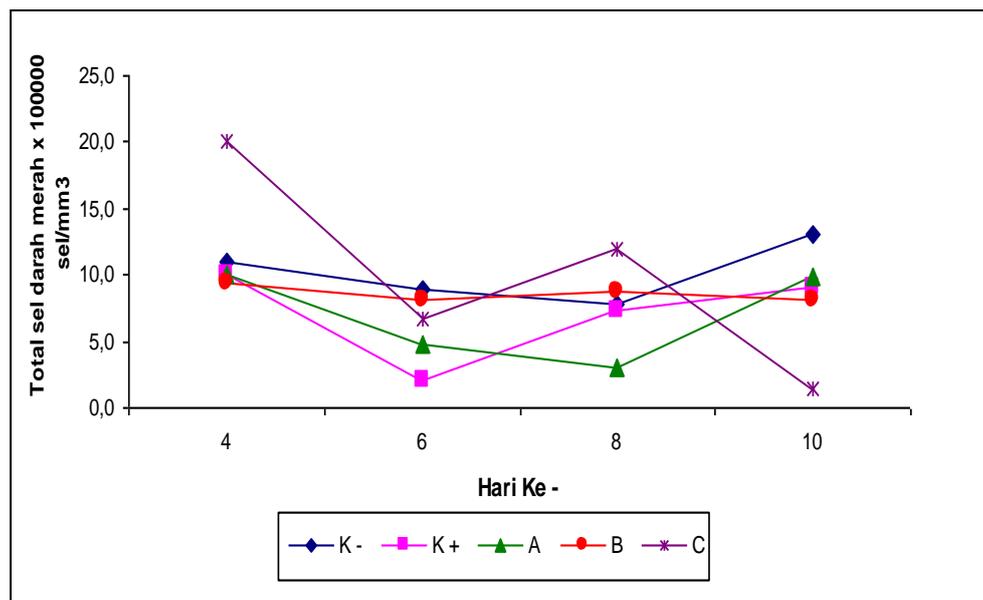
Gambaran darah

Pengamatan gambaran darah ikan selama penelitian meliputi sel darah merah, hemoglobin, sel darah putih dan diferensial leukosit. Pada kontrol negatif yaitu ikan disuntik akuades steril, jumlah eritrosit umumnya relatif stabil, kenaikan jumlah eritrosit pada hari ke-10 masih dalam kisaran normal. Pada ikan yang disuntik virus, jumlah eritrosit dan kadar hemoglobinnya menurun sampai hari ke-4 kemudian

meningkat terus sampai hari ke-10. Hal tersebut dikarenakan ikan mengalami anemia, sedangkan kadar hemoglobin yang menurun disebabkan karena kadar oksigen dalam darah menurun. Hemoglobin berfungsi mengikat oksigen yang kemudian akan digunakan untuk proses katabolisme sehingga dihasilkan energi (Lagler *et al.* 1977). Kadar hemoglobin terkait dengan jumlah sel darah merah, akan tetapi belum tentu berkorelasi sama dengan jumlah eritrosit. Hal tersebut dikarenakan hemoglobin adalah kandungan pigmen sel darah merah. Kadar hemoglobin meningkat, menunjukkan bahwa ikan ada dalam keadaan stres (Anderson dan Siwicki, 1993). Ikan yang terserang KHV akan mengalami nekrosis insang sehingga pengambilan oksigen oleh ikan akan terganggu, sehingga kadar oksigen dalam darah menjadi turun. Pada perlakuan A (100 ppt), jumlah eritrositnya cenderung menurun kemudian pada hari ke-8 meningkat. Hal tersebut berarti bahwa ikan mengalami anemia, akan tetapi dari hari ke-8 hingga hari ke-10 jumlah sel darah merahnya meningkat menjadi normal. Pada perlakuan B (200 ppt), jumlah eritrositnya stabil dari hari ke-4 hingga hari ke-10. Pemberian ekstrak bawang putih dengan dosis 300 ppt dapat menyebabkan jumlah sel darah merah berfluktuasi. Hal tersebut menunjukkan ikan mengalami stres.



Gambar 1. Kelangsungan Hidup (%) Ikan Mas (*Cyprinus carpio*).



Gambar 2. Jumlah sel darah merah ($\times 10^5$ sel/mm³) ikan mas (*Cyprinus carpio*) selama penelitian.

Menurut Moyle dan Cech (1988), leukosit berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh ikan yang bereaksi terhadap gangguan dari luar. Pada kontrol negatif yaitu ikan yang disuntik dengan akuades steril, jumlah leukositnya mengalami kenaikan dari hari ke-4 hingga hari ke-10. Hal tersebut dikarenakan berdasarkan dari hasil pengamatan histopatologi organ insang, ikan uji sudah bersifat carrier KHV. Sehingga ikan tetap memproduksi leukosit dalam jumlah banyak. Menurut Davenport (2001), jika kondisi ikan stres atau terjadi penurunan kondisi tubuh maka KHV dapat muncul lagi dan menyebarkan virus pada ikan lain. Pada ikan yang disuntik virus, jumlah leukositnya menurun dari hari ke-4 hingga hari ke-6 kemudian meningkat hingga hari ke-10. Pada perlakuan dengan pemberian bawang putih 100 ppt, jumlah leukositnya meningkat setelah hari ke-8, sedangkan pada perlakuan B (200 ppt) dan perlakuan C (300 ppt) jumlah leukosit meningkat setelah hari ke-6. Hal tersebut berarti pemberian bawang putih dengan dosis yang lebih tinggi dapat meningkatkan jumlah leukosit dalam darah lebih cepat ketika ada infeksi serta dalam jumlah yang lebih banyak. Hal ini terkait dengan kemampuan bahan aktif dalam bawang putih yaitu diallyl sulfide. Diferensial leukosit meliputi limfosit,

monosit, trombosit dan netrofil. Limfosit adalah sel darah putih berbentuk bundar dengan sejumlah kecil sitoplasma tidak bergranula dan inti sel hampir memenuhi seluruh sel. Berwarna cerah dan ungu pucat pada pewarnaan Giemsa. Secara umum limfosit menunjukkan heterogenitas yang tinggi dalam morfologi dan fungsinya karena sifatnya yang mobil dan mempunyai kemampuan berubah bentuk dan ukuran (Dellmann and Brown, 1989 dalam Affandi dan Tang, 2002). Fungsi utama limfosit adalah membentuk sel memori terhadap antigen (Roberts, 1989). Pada kontrol negatif, jumlah limfosit pada hari ke-4 hingga hari ke-8 cenderung stabil, akan tetapi pada hari ke-10 mengalami kenaikan. Pada kontrol positif, jumlah limfosit mengalami kenaikan setelah hari ke-6. Menurut Anderson (1974) pembentukan antibodi pada ikan akan mulai aktif pada hari ke-7 dan dapat terdeteksi pada hari ke-14. Limfosit adalah sel penghasil antibodi. Pada perlakuan dengan pemberian bawang putih 100 ppt, 200 ppt dan 300 ppt, jumlah limfositnya cenderung stabil. Hal tersebut diduga jenis sel darah putih yang bekerja untuk melawan infeksi awal adalah monosit yang akan berdiferensiasi menjadi sel fagositik.

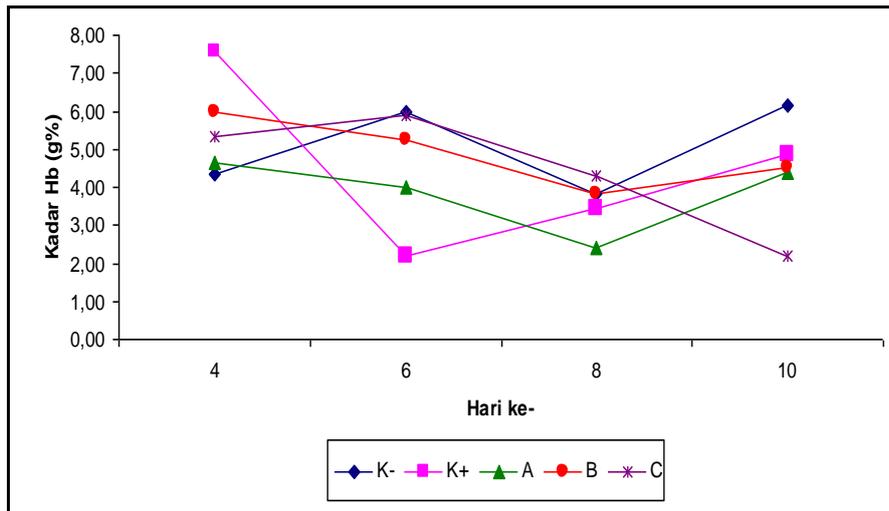
Monosit adalah sel yang mampu menembus dinding pembuluh darah kapiler

dan masuk ke dalam jaringan dan berdiferensiasi menjadi sel makrofag. Monosit bersama makrofag jaringan setempat akan memfagositosis sisa-sisa jaringan dan penyebab penyakit (Nabib dan Pasaribu, 1989). Pada kontrol negatif, jumlah monosit dalam darah terus mengalami penurunan. Sedangkan pada kontrol positif jumlah monositnya mengalami kenaikan dari hari ke-4 hingga hari ke-6, kemudian mengalami penurunan dari hari ke-6 hingga hari ke-10. Hal tersebut dikarenakan adanya infeksi KHV sehingga jumlah monositnya meningkat. Penurunan jumlah monosit dalam darah disebabkan karena sel monosit dalam darah berumur pendek kemudian monosit akan masuk ke dalam jaringan dan berdiferensiasi menjadi sel makrofag. Jumlah monosit pada perlakuan A (100 ppt) terus mengalami kenaikan dari hari ke-4 hingga hari ke-8 kemudian relatif stabil. Hal tersebut dikarenakan infeksi KHV masih belum menurun sehingga ikan terus memproduksi monosit. Pada perlakuan B (200 ppt), jumlah monositnya mengalami kenaikan dari hari ke-4 hingga hari ke-6, kemudian mengalami penurunan hingga hari ke-10. Sedangkan pada perlakuan C (300 ppt), jumlah monosit dalam darah lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan lain. Hal tersebut dikarenakan monosit sudah masuk ke dalam jaringan dan mulai melakukan aktivitas fagositosis. Bawang putih mampu meningkatkan aktivitas fagositosis dan merangsang aktivitas sel yang berperan dalam respon imunitas. Seiring dengan menurunnya virulensi KHV maka jumlah monosit yang diproduksi darah cenderung stabil.

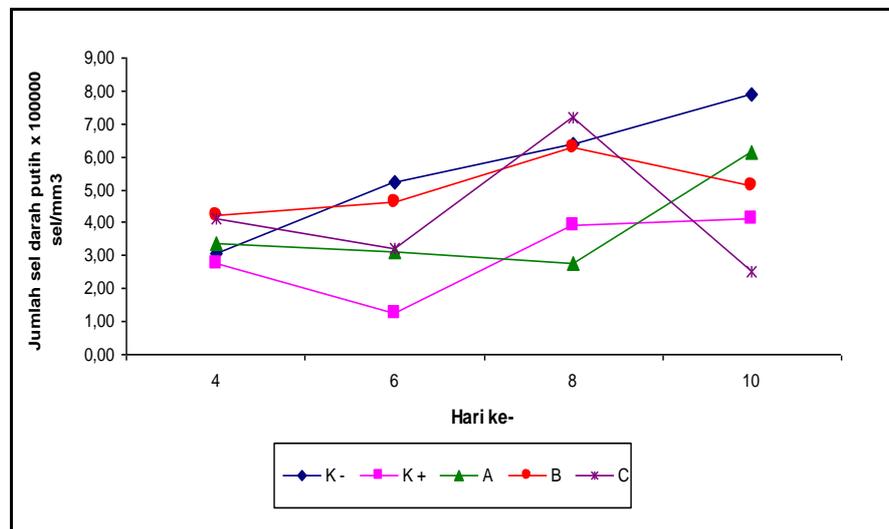
Trombosit adalah komponen darah yang paling kecil dan tidak berinti. Secara fungsional sel ini terlibat dalam pembekuan darah, bukan pada proses fagositosis (Ellis, 1989). Pada kontrol negatif yaitu perlakuan dengan penyuntikan akuades tetap memberikan pengaruh pada ikan, yaitu adanya luka bekas penyuntikan, sehingga jumlah trombosit yang dihasilkan meningkat, kemudian jumlah trombositnya menurun kembali seiring dengan proses penyembuhan luka pada ikan. Jumlah trombosit pada kontrol positif mengalami kenaikan dari hari

ke-4 hingga hari ke-10, sedangkan pada perlakuan A (100 ppt) jumlah trombositnya cenderung menurun. Hal tersebut berarti proses penyembuhan luka sudah terjadi dimana trombosit yang dihasilkan dalam darah sudah menuju ke arah luka. Pada perlakuan B (200 ppt), hingga hari ke-10 jumlah trombosit terus meningkat dikarenakan proses penyembuhan luka masih berlangsung. Jumlah trombosit pada perlakuan C (300 ppt) memiliki nilai yang paling tinggi, hal ini dikarenakan adanya tukak pada luka bekas suntikan, sehingga dibutuhkan jumlah trombosit yang cukup banyak untuk proses penutupan luka tersebut. Hal ini berkaitan dengan fungsi trombosit untuk melokalisasi serangan patogen sehingga tidak meluas serta untuk menutup luka dan pembekuan darah. Trombosit meningkat karena adanya hemorrhagi dan tukak karena trombosit diproduksi agar darah membeku guna mencegah terjadinya pendarahan lebih banyak (Angka *et al.* 2004).

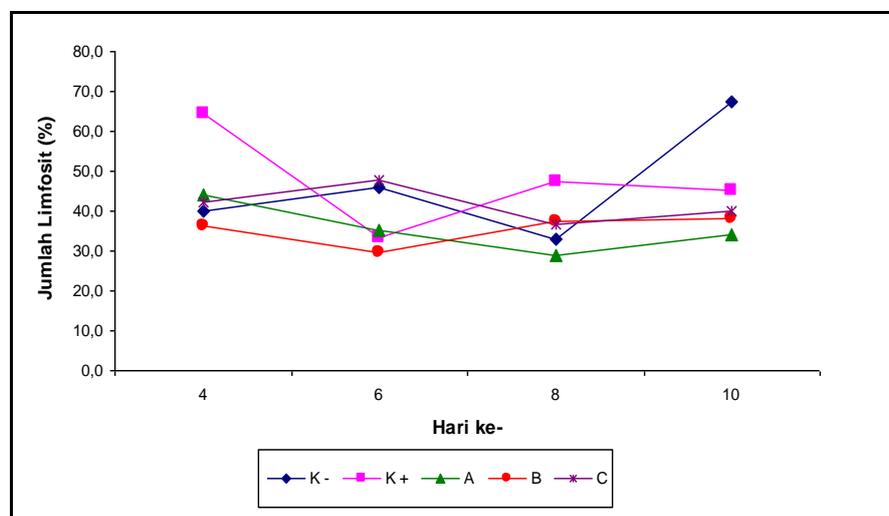
Netrofil merupakan sel yang paling pertama dalam melakukan aktivitas fagositik ketika terdapat antigen yang masuk, namun umurnya pendek (Tizard, 1988). Dikarenakan umurnya yang pendek maka jumlahnya berfluktuasi. Jumlah netrofil pada kontrol positif cenderung mengalami kenaikan, hal tersebut dikarenakan adanya infeksi KHV yang semakin virulen. Meskipun yang berperan penting ketika terjadi infeksi virus adalah limfosit, akan tetapi netrofil dianggap sebagai sistem pertahanan utama karena mampu bergerak lebih cepat ke arah benda asing yang masuk ke dalam tubuh ikan dan dapat menghancurkannya dengan segera, tetapi tidak dapat bertahan lama. Pada kontrol negatif, jumlah netrofil selalu mengalami penurunan dari hari ke-4 hingga hari ke-10. Sedangkan pada perlakuan A (100 ppt) jumlah netrofilnya cenderung stabil. Pada perlakuan B (200 ppt) dan perlakuan C (300 ppt), jumlah netrofilnya mengalami kenaikan hingga hari ke-6, kemudian menurun dan relatif stabil hingga hari ke-10. Peningkatan jumlah netrofil dikarenakan respon terhadap serangan KHV, penurunan jumlah netrofil yang signifikan disebabkan karena umur netrofil pendek.



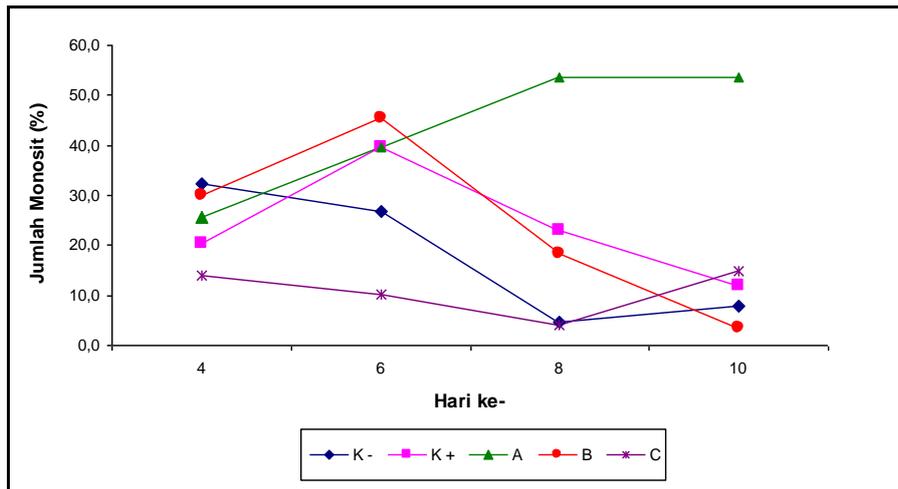
Gambar 3. Kadar hemoglobin ikan mas (*Cyprinus carpio*) selama penelitian



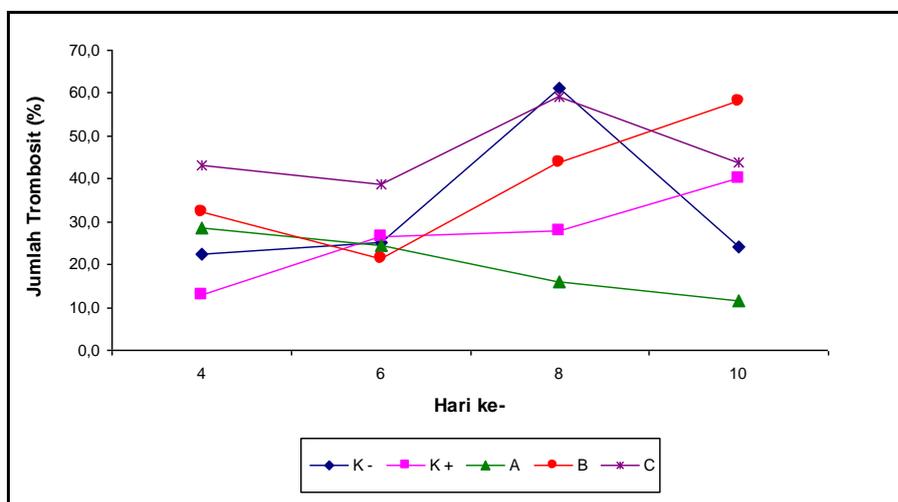
Gambar 4. Jumlah sel darah putih ($\times 10^5$) ikan mas (*Cyprinus carpio*) selama penelitian.



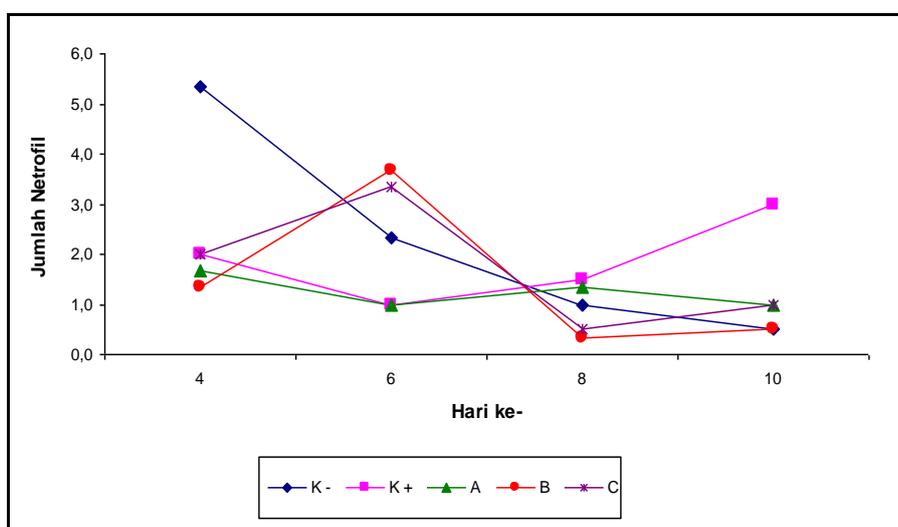
Gambar 5. Jumlah limfosit ikan mas (*Cyprinus carpio*) selama penelitian



Gambar 6. Jumlah monosit ikan mas (*Cyprinus carpio*) selama penelitian



Gambar 7. Jumlah trombosit ikan mas (*Cyprinus carpio*) selama penelitian



Gambar 8. Jumlah netrofil ikan mas (*Cyprinus carpio*) selama penelitian.

KESIMPULAN

Berdasarkan nilai kelangsungan hidup, gejala klinis dan gambaran darah, ekstrak bawang putih berpotensi untuk menginaktifkan Koi Herpes Virus (KHV) pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). Nilai kelangsungan hidup ikan uji cenderung semakin meningkat sejalan dengan peningkatan konsentrasi bawang putih yang diberikan. Penyuntikan ekstrak bawang putih sebanyak 300 ppt memberikan hasil yang relatif lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih rendah (100 dan 200 ppt).

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson DP. 1974. Fish Immunology. TFH Publication Ltd Hongkong. 239 ps.
- Anderson DP, Siwicki A. 1993. Basic Hematology and Serology for Fish Health Programs. Second Symposium on Disease in Asia Aquaculture "Aquatic Animal Health and Environment". Asia Fisheries Society.
- Angka SL, Priosoeryanto BP, Lay BW, Harris E. 2004. Penyakit *Motile Aeromonad septicaemia* Pada Ikan Lele Dumbo. Forum Pascasarjana, 27: 339-350.
- Affandi R, Tang UM. 2002. Fisiologi Hewan Air. Unri Press, Riau. 217 hal.
- Bogin E, Abrams M. 1976. The Effect of Garlic Extract on the Activity of Some Enzyme. Food Cos. Toxicol., 14:417-419.
- Davenport K. 2001. Koi Herpes Virus (KHV). Ornamental Aquatic Trade Association. United Kingdom.
- Hameed ASS, Anilkumar ML, Raj S, Jayaraman K. 1998. Studies on the pathogenicity of systemic ectodermal and mesodermal baculovirus and its detection on shrimp by immunological methods. Aquaculture, 160: 31-45.
- Lagler KF, Bardach JE, Miller RR, Passino DRM. 1977. Ichthyology. John Wiley and Sons Inc. New York. 506 p.
- Moyle PB, Cech JJ. 1988. Fishes : An Introduction to Ichthyology. 2nd ed. Prentice Hall, Inc. USA
- Nabib R, Pasaribu F H. 1989. Patologi dan Penyakit Ikan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. 158 hal.
- Sunarto A, Taukhid, Koesharyani I, Supriyadi H, Gardenia L. 2004. Makalah Workshop Strategi Pengendalian Penyakit Koi Herpes Virus (KHV) Pada Ikan Mas dan Koi. Bogor.
- Tizard I. 1988. An Introduction to Veterinary Immunology. Second Ed. WB Saunders Company. Philadelphia.