

PENGARUH EKSTRAK DAUN *Sonneratia alba* TERHADAP INFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila* PADA IKAN NILA

The Effect of *Sonneratia alba* Leaf Extract on *Aeromonas hydrophila* Bacterial Infection in Tilapia

Dumaria Rini Marlina Lumban Tobing¹⁾, Yunasfi²⁾, Nurmatias²⁾

¹⁾Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Email: dumariatobing@gmail.com

²⁾Staf Pengajar Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia

ABSTRACT

Motile Aeromonas Septicemia (MAS) is a disease that attacks on the tilapia fish farming, both in the phase of seed and adult. One of alternative to prevent disease by using the extracts from mangrove plants. The aims of this study was to determine the effectiveness of *Sonneratia alba* leaf extract in tackling MAS disease in Nila fish and to determine the dose of *S. alba* extract on Tilapia fish. The extraction from *S. alba* leaves was made into powder form and then combined with artificial feed type FF-999. The LD₅₀ test was performed on Nila fish for 24 hours. This study used Completely Randomized Design with four treatments: P0 (without of extract *S. alba*), P1 (1% extract *S. alba*), P2 (2% extract *S. alba*), P3 (3% extract *S. alba*). The results showed that the treatment of P1 and P2 could inhibit the growth of *A. hydrophila*.

Keywords : *Sonneratia alba*, *Tilapia*, *Antimicrobial Activity*, *Aeromonas hydrophila*.

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu jenis ikan budidaya air tawar yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan telah dibudidayakan secara intensif. Salah satu kendala yang dihadapi dalam budidaya intensif adalah penyakit ikan. Salah satu jenis penyakit ikan yang sering dijumpai adalah penyakit bakterial yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* dan merupakan bakteri patogen penyebab penyakit “*Motil Aeromonas Septicemia*” (MAS), terutama untuk spesies ikan air tawar di perairan tropis (Rahmaningsih, 2013).

Penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* sampai saat

ini merupakan salah satu kendala dalam budidaya ikan air tawar. Penanggulangan penyakit MAS dengan obat-obatan dan antibiotik efektif apabila penggunaannya tepat dan tidak terlalu lama. Pemakaian yang terus-menerus akan menimbulkan dampak negatif, baik pada ikan, lingkungan, maupun konsumen (Mulia dan Purbomartono, 2007).

Ekstrak daun dari tumbuhan *S. alba* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* penyebab MAS. Kemampuan berbagai ekstrak dari tumbuhan mangrove *S. alba* dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat pula dijelaskan dari berbagai penelitian yang berkaitan dengan kandungan senyawa kimia tumbuhan mangrove

umumnya. Tumbuhan mangrove mengandung lebih banyak senyawa polyphenol dibandingkan dengan tumbuhan halofit. Senyawa polyphenol dikenal memiliki berbagai aktivitas biologik termasuk antibakteri (Herawati *et al.*, 2013).

Tujuan penelitian ini adalah

1. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak *S. alba* menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*
2. Untuk mengetahui dosis yang efektif yang menghambat bakteri *A. hydrophila* pada Ikan Nila.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2017 sampai dengan bulan Mei 2017 di Laboratorium Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Medan II, Belawan.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan bedah, cawan Petri, *laminar air flow*, pipet tetes, gelas ukur, tabung reaksi, *beaker glass*, rak tabung reaksi, ayakan, inkubator, jarum ose, blender, *refrigerator*, oven, timbangan analitik, mikroskop, *magnetic stirrer*, *autoclave*, *hot plate stirrer*, spatula, Bunsen, mikropipet, jarum suntik, termometer, pH meter, kamera digital, alat tulis, akuarium berukuran 50 x 30 x 30 cm sebanyak 12 unit, aerator, kertas milimeter, plastik 10 kg, ember, baskom, sprayer, dan bulu ayam.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air, deterjen dan pakan buatan berupa pelet tipe FF-999, daun *S. alba* diambil di Paluh Kurau Kecamatan Hampan Perak Kabupaten Deli Serdang Provinsi Sumatera Utara, akuades steril, alkohol 70%, spritus,

isolat bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Laboratorium Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Medan II, dan ikan nila berjumlah 60 ekor dengan ukuran $\pm 5 - 8$ cm diperoleh dari PT. Anugerah Maritim Lestari. Bahan lain yang digunakan adalah media pertumbuhan bakteri yaitu *Tryptic Soy Agar* (TSA), *Rimler-Shotts* (RS medium), akuades, larutan *Crystal violet*, larutan *Iodine-lugol*, larutan *Safranin*, O/F, *Paraffin*, SIM agar, kertas label, kertas saring, dan aluminium foil.

Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Untuk mengetahui pengaruh daya hambat ekstrak daun *S. alba* terhadap pertumbuhan bakteri, maka digunakan rancangan percobaan acak lengkap dengan 4 perlakuan dengan ulangan 3 kali. Konsentrasi ekstrak daun mangrove yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Konsentrasi Ekstrak Daun *Sonneratia alba* dengan Dosis yang Berbeda

Perlakuan	Konsentrasi ekstrak daun (%)	Berat pakan (kg)	Jumlah ekstrak daun (g)
P0	0%	1 kg	0 g
P1	1%	1 kg	1 g
P2	2%	1 kg	2 g
P3	3%	1 kg	3 g

Prosedur Penelitian

Persiapan dan Ekstraksi *S. alba*

Daun tumbuhan *S. alba* diambil dari kawasan Paluh Kurau Kecamatan Hampan Perak Kabupaten Deli Serdang Provinsi Sumatera Utara sebanyak 10 kg. Daun *S. alba* dicuci dengan air mengalir dan dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan anginkan

selama 7 hari, untuk mengurangi penguapan yang mengikatkan senyawa yang terkandung di dalamnya (Pradana *et al.*, 2014). Daun yang sudah kering selanjutnya dipotong menjadi potongan yang lebih kecil agar mudah dihaluskan dengan blender hingga berbentuk serbuk. Serbuk selanjutnya diayak menggunakan ayakan hingga diperoleh serbuk yang halus dan seragam. Serbuk hasil ayakan sebanyak 1,5 kg dapat dilihat di Lampiran 1. Pellet dan serbuk di semprotkan dengan air sesuai dengan dosis masing-masing. Air berfungsi sebagai perekat terhadap pellet. Kemudian pellet tersebut di jemur di bawah matahari agar bersatu ekstrak dengan pellet kemudian berikan pada ikan sesuai dengan dosis masing-masing.

Persiapan Pakan dan Penambahan Dosis Ekstrak

Pakan yang digunakan selama penelitian berupa pakan buatan pelet tipe FF-999. Pakan dicampur dengan ekstrak *S. alba* sesuai dengan perlakuan dan dosis masing-masing. Setelah itu disemprotkan dengan air supaya pakan dengan ekstrak *S.alba* bersatu dan pakan tidak hancur, maka diaduk menggunakan bulu ayam. Ikan diberikan makan 3x sehari pada waktu 08.00, 12.00, 16.00 WIB dengan takaran 1 g sekali makan.

Persiapan Wadah Pemeliharaan

Wadah pemeliharaan dalam penelitian ini adalah akuarium berjumlah 12 unit yang berukuran 50 x 30 x 30 cm dengan volume akuarium 45 liter. Sebelum digunakan, akuarium dicuci dengan detergen sebanyak 2 kali, kemudian dibilas dengan air bersih, selanjutnya ditiriskan sampai kering. Akuarium yang sudah bersih dan kering, disusun dan di beri tanda P0, P1, P2, P3 secara acak untuk menandai perlakuan dan ulangan dalam penelitian.

Akuarium yang sudah di beri tanda dan di susun secara acak di beri air bersih dengan ketinggian air 20 cm per akuarium dan di aerasi selama satu hari (24 jam). Akuarium selang aerasi sebelum digunakan terlebih dahulu di desinfeksi di dalam larutan Kalium permanganat (KMnO₄) 2,5 mg/L selama 24 jam (Mangunwardoyo *et al.*, 2010).

Persiapan Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan adalah ikan nila ukuran panjang ± 5 - 8cm dengan bobot ± 12 g berjumlah 60 ekor. Sebelum ikan uji dimasukkan ke dalam wadah, terlebih dahulu ikan di aklimatisasi selama satu hari (24 jam). Setelah ikan di adaptasi, ikan dimasukkan ke dalam aquarium sebanyak 5 ekor per aquarium.

Tahap Pengidentifikasian Bakteri Sterilisasi Alat dan Bahan

Sebelum melakukan pengujian, alat dan bahan harus disterilisasi terlebih dahulu bertujuan untuk membersihkan atau membebaskan alat dan bahan dari mikroorganisme yang dapat menyebabkan kontaminasi antar bakteri. Alat-alat yang akan disterilisasi dicuci terlebih dahulu dengan menggunakan detergen setelah itu dikeringkan. Sebelum dimasukkan kedalam *autoclave*, cawan Petri dibungkus dengan kertas sampul dan tabung reaksi ditutup dengan kapas, kemudian dibungkus dengan kertas dan diikat. Alat dimasukkan kedalam *autoclave*, kemudian *autoclave* dihidupkan dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah selesai *autoclave* dibuka dan semua alat dipindahkan pada oven.

Pembuatan Media Pertumbuhan

Media pertumbuhan untuk bakteri *A. hydrophila* dibuat dengan menggunakan bubuk TSA sebanyak 24 g yang dilarutkan dengan 600 ml

akuades di dalam labu Erlenmeyer ukuran 1 liter. Batang *magnetic stirrer* dimasukkan kedalam larutan media agar media teraduk sempurna saat pemanasan di atas *hot plate*. Labu Erlenmeyer kemudian ditutup rapat dengan kapas yang dibungkus aluminium foil. Setelah media mendidih dan berubah menjadi bening, media dibagi kedalam 2 labu Erlenmeyer yang berukuran 500 ml dan di tutup rapat menggunakan kapas yang dibungkus dengan aluminium foil. Selanjutnya media TSA disterilkan di dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121⁰C dan tekanan 1 atm. Setelah media disterilkan, media selanjutnya didiamkan sebentar didalam *Laminar air flow* sampai hangat-hangat kuku untuk kemudian dituang kedalam cawan petri steril. Proses penuangan ini dilakukan didalam *Laminar air flow* dan dekat dengan api Bunsen untuk menjaga kesterilan media. Media TSA kemudian dibiarkan memadat selama 24 jam. Media yang tidak terkontaminasi selanjutnya dibungkus dengan kertas steril dan disimpan di dalam lemari pendingin untuk digunakan dalam proses selanjutnya.

Peremajaan Bakteri

Bakteri *A. hydrophila* diremajakan masing-masing pada media TSA dengan cara menggoreskan jarum ose yang mengandung bakteri *A. hydrophila* pada 1 cawan Petri yang berisi media TSA. Penggoresan dilakukan secara aseptis yaitu membakar jarum ose dengan api bunsen sampai berpijar sebelum dan sesudah penggoresan, selalu dekat dengan api Bunsen selama penggoresan berlangsung dengan mengatur jarak jarum ose yang mengandung bakteri dengan api bunsen agar bakteri yang akan diremajakan tidak mati. Setelah itu media yang berisi bakteri tersebut

diinkubasi selama 24 - 48 jam pada suhu 37⁰C.

Pembuatan Suspensi Bakteri dan Konsentrasi Uji

Setelah bakteri tumbuh saat peremajaan, bakteri siap untuk dilakukan uji antibakteri. Tahap pertama yang dilakukan adalah pembuatan suspensi bakteri dengan cara mengambil biakan menggunakan jarum ose dan disuspensikan dengan cara dimasukkan ke dalam tabung berisi 3 ml larutan NaCl 0,9%. Suspensi yang terbentuk disetarakan dengan larutan *Mc. Farland* 0,5 yang ekuivalen dengan suspensi sel bakteri dengan konsentrasi 1 x 10⁸ cfu/ml.

Persiapan Peralatan Uji

Peningkatan bakteri *A. hydrophila* dengan tujuan meningkatkan kembali patogenisitas bakteri dilakukan dengan menginfeksi *A. hydrophila* pada ikan uji dengan teknik penyuntikan. Suspensi bakteri disiapkan dengan memindahkan koloni *A. hydrophila* kedalam *Trypton Soya Broth* (TSB) 10 mL, kemudian diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* sampai homogen. Suspensi sebanyak 0,1 mL disuntikkan secara intraperitoneal dengan jarum suntik ke seluruh ikan yang berjumlah 60 ekor berada dalam satu akuarium terdapat lima ekor ikan Nila. Ikan Nila yang disuntikkan selanjutnya dimasukkan kedalam 20 cm air di dalam akuarium 50 x 30 x 30 cm, dan setelah itu diberikan pakan buatan pellet tipe FF-999 sesuai dengan dosis masing-masing. Setelah itu dibiarkan selama 24 jam atau sampai tampak gejala klinis pada ikan.

Pengambilan Sampel

Ikan yang mati kemudian dibedah dengan menggunakan pisau bedah steril. Isolasi bakteri kembali dilakukan dari organ ginjal pada ikan. Organ ini

merupakan tempat perkembangbiakan *A. hydrophila* dan mudah dibedakan dari organ pencernaan lainnya.

Uji Biokimia *A. hydrophila*

Pewarnaan Gram

Gelas objek yang telah dibersihkan dari lemak dengan alkohol 70% dan diberi label. Kemudian, ditetaskan 1 tetes akuades steril pada permukaan gelas objek. Setelah itu isolat diambil dengan jarum ose steril, campur dengan akuades dan diulas merata pada permukaan gelas objek. Preparat difiksasi di atas api (jarak 15 cm) beberapa kali sampai terlihat kering. Kemudian, larutan *Crystal violet* ditetaskan pada preparat sampai merata dan diamkan selama 1 menit setelah itu cuci dengan air mengalir. Langkah berikutnya, larutan *Iodine lugol* ditetaskan pada preparat sampai merata, dan diamkan selama 1 menit. Kemudian preparat dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Setelah itu, larutan alkohol *aseton* ditetaskan pada preparat sampai merata dan diamkan maksimal 30 detik. Kemudian preparat dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Terakhir, larutan *Safranin* ditetaskan pada preparat sampai merata dan diamkan selama 2 menit. Setelah itu, preparat dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Preparat diamati menggunakan mikroskop. Sifat bakteri Gram negatif ditandai dengan sel bakteri berwarna merah/pink, bentuk batang.

Uji Motilitas

Isolat diambil dengan jarum ose lurus, dan inokulasikan dengan menusukkan pada media semi solid (SIM agar, MIO agar). Setelah itu, dinkubasikan pada suhu 25°C-28°C selama 18-24 jam. Reaksi positif ditandai oleh adanya pertumbuhan bakteri yang menyebar dan tidak terlihat bekas tusukan.

Uji Oksidase

Kertas saring dibasahi dengan pereaksi oksidasi. Kemudian, isolat bakteri diambil sebanyak 1 *loop* goreskan pada kertas saring yang sudah diberi *reagen* oksidasi. Reaksi oksidasi positif ditandai munculnya warna biru keunguan pada goresan.

Uji Oksidatif-fermentatif

Disiapkan dua tabung berisi media O/F, kemudian ambil isolat bakteri dengan jarum ose steril. Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam tabung yang berisi media O/F dengan cara ditusukkan. Satu tabung diisi dengan parafin cair steril hingga ketinggian 1 cm di atas permukaan media O/F, sedangkan tabung lainnya tanpa parafin cair. Reaksi fermentatif ditandai perubahan warna media pada tabung yang diisi parafin cair dari hijau menjadi kuning.

Uji *Rimmer-Shotts* (RS)

Isolat bakteri diambil dengan jarum ose steril dan goreskan pada media RS. Kemudian, diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Amati koloni yang tumbuh, apabila berwarna kuning tanpa warna hitam di tengah koloni berarti positif *A. hydrophila*.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan selama penelitian akan menggunakan Analisis Sidik Ragam (ANOVA) dengan uji F pada selang kepercayaan 95%, digunakan untuk menentukan apakah perlakuan yang dilakukan berpengaruh nyata terhadap kelangsungan hidup. Apabila berpengaruh nyata, untuk melihat perbedaan antar perlakuan akan diuji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Kelangsungan Hidup

Kelangsungan hidup merupakan persentase dari jumlah ikan yang hidup dan jumlah ikan yang ditebar selama pemeliharaan dihitung menggunakan rumus (Effendie, 1979).

$$SR = \frac{Nt}{No} \times 100\%$$

Keterangan:

- SR : Kelangsungan hidup ikan (%)
 Nt : Jumlah ikan yang ditebar pada akhir penelitian (ekor)
 No : Jumlah ikan yang ditebar pada awal penelitian (ekor)

Mortalitas

$$M = No/Nt \times 100\%$$

Keterangan:

- M : Mortalitas (%)
 No : Jumlah ikan yang mati (ekor)
 Nt : Jumlah ikan awal (ekor)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Biokimia Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Hasil uji biokimia bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Biokimia Bakteri *A. hydrophila*.

Parameter	Hasil
Gram	- (negatif)
Oksidase	+
Katalase	+
O/F	F (Fermentatif)
MR/VP	MR (+) / VP (-)
LIA	+ (Ungu tua)
TSIA	K/A, Gas, H ₂ S
SCA	+
SIM	Sulfida -, motil +, indol +
MIO	Motil +, indol +, ornitin +
Gelatin	+
Glukosa	+
Inositol	-
Sorbitol	+
Manitol	+

Keterangan:

O/F: Oksidasi/Fermentatif,
 TSIA: Triple Sugar Iron Agar, SIM: Sulfida Indol Motility, MIO: Motilitas Indol Ornitin, SCA: Simons Citrate Agar, LIA: Lysin Iron Agar

Bakteri yang menginfeksi Ikan Nila adalah murni dari *A. hydrophila*. Hal ini dikarenakan bakteri uji yang dipakai adalah bakteri yang memang dikembangkan dari pemurnian *A. hydrophila*, dengan demikian bakteri yang tumbuh dan dimasukkan adalah bakteri *A. hydrophila*. Untuk menguji kemurnian bakteri tersebut telah dilakukan uji biokimia. Dari hasil uji diketahui bahwa parameter bakteri *A. hydrophila* sama dengan hasil uji biokimia Holt *et al.*, (1994) dan Tantu *et al.*, (2013).

Uji biokimia merupakan cara yang dilakukan untuk mengidentifikasi kemurnian dari suatu biakan bakteri. Kemurnian hasil isolasi dapat dilihat melalui sifat-sifat fisiologisnya dari bakteri yang dimiliki. Uji biokimia yang dilakukan menggunakan biakan murni bakteri *A. hydrophila*.

Pengujian biokimia pada bakteri *A. Hydrophila* menggunakan metode yang dipakai oleh Holt *et al.*, (1994). Metode yang dipakai menggunakan 11 parameter MIO, SIM, Oksidase, Katalase, LIA, MR/VP, dan gula-gula (glukosa, inositol, sorbitol dan manitol).

Tujuan dilakukannya sesuai dengan Tantu *et al.*, (2013) uji motilitas adalah untuk mengetahui gerak dari suatu bakteri yang diuji dengan menggunakan media MIO dan SIM.

Pada media SIM selain untuk melihat motilitas juga untuk mengetahui pembentukan H₂S. Adanya penyebaran warna putih seperti akar di sekitar inokulasi, menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berarti bakteri memiliki flagel.

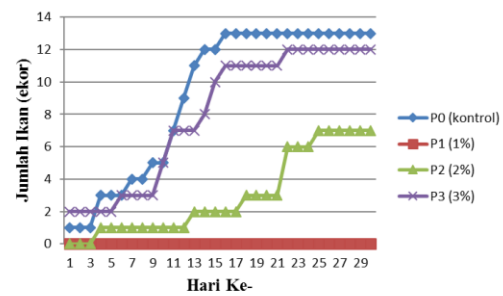
Uji MR digunakan untuk mengetahui adanya fermentasi asam campuran (*metilenglikon*). Adanya perubahan warna media menjadi merah setelah ditambahkan *methylred* 1% menunjukkan bahwa bakteri menghasilkan asam campuran (*metilenglikon*) dari proses fermentasi glukosa yang terkandung dalam media MR. Uji VP digunakan untuk mengetahui pembentukan asetil metal karbinol dari hasil fermentasi glukosa.

Uji gula-gula digunakan untuk mengetahui apakah bakteri memfermentasikan masing-masing gula diatas membentuk asam. Tidak terjadi perubahan warna merah menjadi kuning, artinya bakteri tidak memfermentasikan gula dan sebaliknya.

Perkembangan Gejala Klinis

Hasil pengamatan di ketahui bahwa gejala klinis terhadap infeksi *A. hydrophila* sudah terlihat pada hari pertama sampai akhir penelitian. Gejala klinis dari infeksi *A. hydrophila* yang diamati dari hari pertama adalah mulamula kulit tampak pucat, timbulnya kemerahan pada kulit dan beberapa jam kemudian terjadi pembengkakan di bagian perut, sirip patah-patah (geripis), serta keseimbangan tubuh ikan terganggu, sehingga ikan sering berenang lemah ke permukaan air dan cenderung menyendiri.

Hasil pengamatan organ ginjal guna dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri. Pada bagian organ dalam Ikan Nila terdapat cairan kuning di rongga perut, ginjal berwarna merah pucat dan lembek, hati merah kecoklatan, jantung, insang, usus pucat, lambung mengembung berisi air, otot menjadi lunak dan mudah rusak.



Gambar 1. Tingkat Infeksi *A. hydrophila* pada Perlakuan Selama Pengamatan

Perkembangan gejala klinis yang terlihat secara eksternal, yaitu kulit tampak pucat, dan beberapa jam kemudian terjadi pembengkakan dan luka pada bekas injeksi di bagian dorsal tubuh ikan. Hari berikutnya mulai terjadi sirip patah-patah (geripis) dan berwarna pucat, serta keseimbangan tubuh ikan terganggu, sehingga ikan sering berenang lemah ke permukaan dan cenderung menyendiri.

Gejala ini sesuai dengan pendapat Olga (2013) menyatakan bahwa ada kemiripan gejala-gejala penyakit dalam penelitian ini dengan gejala infeksi *A. hydrophila* dengan gejala eksternal seperti munculnya bercak-bercak putih pada tubuh ikan, mukus di seluruh tubuh berkurang, perut mengembung bengkak dan berwarna putih kekuningan. Sirip dada memutih dan terdapat bercak-bercak merah, sirip punggung geripis, gerakan tubuh melemah, berenang kurang aktif, mengapung di permukaan air atau berenang di dasar.

Untuk membuktikan bagian internal maka diambil organ ginjal guna dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri. Identifikasi dilakukan di ginjal sesuai dengan prosedur kerja karantina ikan. Hal ini sesuai dengan pendapat Mangunwardoyo *et al.*, (2010) untuk isolasi dan identifikasi bakteri *A. hydrophila* diambil dari ginjal dan luka dari infeksi bakteri.

Lebih lanjut ikan yang mati gejala internal yang teramati, yaitu empedu lembek dan mudah pecah, saluran pencernaan kosong berisi cairan, hati merah kecoklatan, ginjal merah dengan tepi kehitaman. Hal ini sesuai dengan pendapat Olga (2013) menyatakan bahwa gejala internal yang timbul akibat infeksi *A. hydrophila* antara lain adanya cairan kuning di rongga perut, ginjal berwarna merah pucat dan lembek, hati merah kecoklatan, jantung, insang, usus pucat, lambung mengembung berisi air, otot menjadi lunak dan mudah rusak.

Pengujian LD₅₀ dari Perlakuan

Hasil pengujian LD₅₀ ekstrak daun *S. alba* terhadap bakteri *A. hydrophila* memperlihatkan jumlah kematian yang ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) pada beberapa pada perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji LD₅₀ Ekstrak Daun *S. alba* Terhadap Masing-Masing Perlakuan

Konsentrasi ekstrak daun <i>S. alba</i> (%)	Total populasi (ekor)	Jumlah kematian (ekor)	LD ₅₀ (g/kg pakan)
P0 (Kontrol)	15	13	2,608
P1(1%)	15	0	2,608
P2 (2%)	15	7	2,608
P3 (3%)	15	12	2,608

Uji toksisitas terhadap bakteri *A. hydrophila* dengan ekstrak daun *S. alba* pada perlakuan konsentrasi 0% (P0), konsentrasi 1% (P1), konsentrasi 2% (P2) dan konsentrasi 3% (P3) dengan 3 kali ulangan, maka diketahui mortalitas dari masing-masing perlakuan adalah perlakuan P0 = 13 ekor, perlakuan P1 =

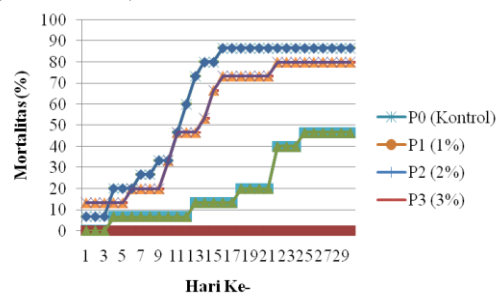
0, perlakuan P2 = 7 ekor dan perlakuan P3 = 12 ekor.

Analisis mortalitas (persen kematian) dikonversikan ke nilai probit dengan menghitung/persamaan regresi linier maka untuk mendapatkan nilai LD₅₀. Nilai LD₅₀ yang diperoleh dari ekstrak daun *S. alba* adalah 2,608 g/kg. Penambahan ekstrak daun *S. alba* sebanyak 2,608 g dalam 1 kg pakan ikan dapat mematikan 50% populasi ikan uji.

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun *S. alba*, maka semakin tinggi mortalitas ikan uji. Hal ini terjadi karena ekstrak daun *S. alba* mengandung senyawa aktif sebagai antimikroba yang bersifat flavonoid, fenol, saponin, dan tannin. Dari pengamatan di simpulkan bahwa jumlah ekstrak daun *S. alba* yang terlalu tinggi dapat menjadi racun bagi ikan karena memiliki saponin.

Mortalitas

Selain menunjukkan gejala klinis ikan yang terserang oleh bakteri *A. hydrophila* juga ada yang mati. Kematian ini disebabkan oleh penyerangan dari bakteri *A. hydrophila* (Gambar 2).



Gambar 2. Mortalitas Ikan Nila Selama Pengamatan

Gambar 2 menyatakan bahwa mortalitas yang tinggi terjadi pada perlakuan P0 dan P3. Kematian pada perlakuan P0 disebabkan oleh pengaruh infeksi dari bakteri ini *A. hydrophila* sedangkan pada perlakuan P3 kematian ikan disebabkan oleh tingginya kadar saponin di dalam darah ikan sehingga

Ikan Nila lemas dan bakteri mudah menginfeksi ikan. Dengan demikian, kematian pada perlakuan P3 selain disebabkan oleh bakteri juga diakibatkan keracunan saponin. Karena daun *S. alba* mengandung saponin. Saponin merupakan racun bagi ikan berdarah merah.

Pendapat ini didukung oleh Robinson (1995), ekstrak daun *S. alba* mengandung unsur flavonoid, fenol, saponin, dan tannin. Fungsi dari ekstraknya dapat membunuh bakteri *A. hydrophila* selain dapat membunuh bakteri juga dapat membunuh ikan, karena ekstraknya mengandung saponin yang dapat meracuni ikan berdarah merah.

Pendapat ini di ajukan karena ciri-ciri kematian ikan pada perlakuan P0 dengan P3 berbeda. Ciri-ciri kematian pada perlakuan P0 adalah munculnya bercak-bercak putih pada tubuh ikan, mukus di seluruh tubuh berkurang, perut mengembung bengkak dan berwarna putih kekuningan. Sirip dada memutih dan terdapat bercak-bercak merah. Sirip punggung geripis, daerah bekas suntikan luka dan mengembung. Gerakan tubuh melemah, berenang kurang aktif, mengapung di permukaan air atau berenang di dasar.

Sedangkan ciri-ciri kematian pada perlakuan P3 adalah otot lunak dan mudah pecah, saluran pencernaan kosong berisi cairan, hati merah kecoklatan, ginjal merah dengan tepi kehitaman dan lembek, adanya cairan kuning di rongga perut, hati merah kecoklatan, jantung, insang, usus pucat, lambung mengembung berisi air, pinggir mata terlihat garis-garis merah. Warna ini membuktikan sel darah merah membeku pada saraf tersebut.

Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun *S. alba* selama 30 hari memberikan pengaruh sangat nyata

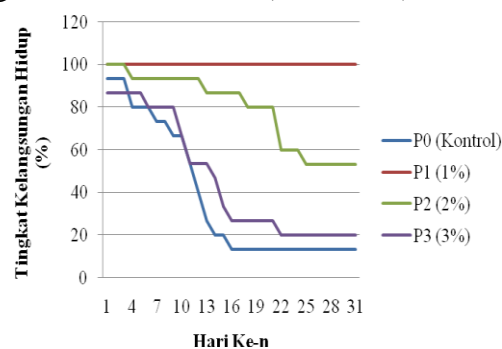
terhadap tingkat mortalitas ikan ($F_{hit} 17,667 > F_{tab} 4,066$).

Pada perlakuan P1 terlihat tidak ada ikan yang mati, ini berarti bahwa perlakuan P1 dengan dosis *S. alba* sebesar 1 gr adalah perlakuan yang efektif untuk membunuh bakteri *A. hydrophila*, sedangkan kematian pada perlakuan P2 dan P3 disebabkan oleh keracunan ikan.

Jadi dapat disimpulkan bahwa hipotesis H0 ditolak sehingga hipotesis H1 diterima. Dosis ekstrak *S. alba* yang tepat dapat membunuh bakteri *A. hydrophila* adalah $< 1\%$ dan apabila dosis berlebihan maka dapat meracuni ikan. Untuk itu perlu penelitian lanjutan tentang dosis yang tepat untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dengan ambang dosis 0,05-1,5%

Kelangsungan Hidup

Kelangsungan hidup berbanding terbalik dengan mortalitas. Selama penelitian berlangsung Ikan Nila juga mengalami kematian. Untuk mengetahui kelangsungan hidup ikan uji selama penelitian dapat dilihat pada gambar di bawah ini (Gambar 3).



Gambar 3. Kelangsungan Hidup Ikan Nila Selama Pengamatan

Tingkat kelangsungan hidup berbanding terbalik dengan mortalitas, pada perlakuan terlihat bahwa pemberian ekstrak *S. alba* yang semakin banyak dapat mengakibatkan tingkat

kelangsungan hidup semakin rendah, begitu juga jika perlakuan tidak diberi ekstrak *S. alba* maka kelangsungan yang diberi bakteri *A. hydrophila* juga akan rendah.

Hal ini dapat dilihat pada masing-masing perlakuan yaitu kelangsungan hidup yang tertinggi terdapat pada perlakuan P1 mencapai 100%, kemudian di ikuti perlakuan P2 hanya 53,33%, perlakuan P3 hanya 20% dan yang sedikit pada perlakuan kontrol tanpa ekstrak *S. alba* ikan uji hanya hidup sebanyak 13,33%.

Rendahnya kelangsungan hidup pada perlakuan P2 dengan P3 disebabkan oleh keracunan, sehingga metabolisme ikan uji terganggu, inilah yang menyebabkan ikan uji mati. Hal ini sesuai dengan pendapat Hidayat (2012) menyatakan bahwa dengan semakin baik metabolisme dalam tubuh ikan, maka selera makan meningkat, daya tahan tubuh ikan terhadap pengaruh lingkungan sekitarnya akan semakin baik sehingga mortalitas ikan kecil.

Jika dilihat dari hasil analisis ANOVA, terlihat bahwa penambahan ekstrak daun *S. alba* selama 30 hari memberikan pengaruh sangat nyata terhadap tingkat kelangsungan hidup ikan ($F_{hit} 17,667 > F_{tab} 4,066$).

Kesimpulan

1. Ekstrak daun *S. alba* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* karena memiliki kandungan senyawa metabolit diantaranya adalah alkaloid, terpenoid, steroid dan tannin merupakan antimikroba bagi bakteri *A. hydrophila*, sedangkan saponin merupakan racun bagi ikan sehingga ikan lemas dan memudahkan bakteri menginfeksi.
2. Dosis ekstrak yang aman digunakan dalam menghambat bakteri *A.*

hydrophila adalah <1% dan konsentrasi LD₅₀ yang didapatkan yaitu 2,608 g/kg.

DAFTAR PUSTAKA

- Herawati, N., N. Jalaluddin, L. Daha, dan F. Zenta. 2013. *Sonneratia alba* Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri Potensial. Universitas Negeri Makassar, Sulawesi Selatan.
- Hidayat, K., Usman, M.T., dan Mulyadi. 2012. Enlargement of Selais (*Ompok hypophthalmus*) With fish meal Containing Thyroxine (T4) Hormone. Faculty of Fisheries and Marine Science. Riau University.
- Holt, J. G., N. R. Krieg., P. H. A. Sneath., J. T. Staley., dan S. T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. United States of America: Lippincott Williams & Wilkins.
- Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari, dan E. Riani. 2010. Uji Patogenisitas dan Virulensi *Aeromonas hydrophila* Stanier Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) Melalui Postulat Koch. Universitas Indonesia, Depok.
- Mulia, D, S., dan C. Purbomartono. 2007. Perbandingan Efikasi Vaksin Produk Intra-dan Ekstraseluler *Aeromonas hydrophila* Untuk Menanggulangi Penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) Pada Lele Dumbo (*Clarias* sp.). Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Jawa Tengah.
- Olga. 2013. Patogenitas Bakteri *Aeromonas hydrophila* ASB01

pada Ikan Gabus (*Ophicephalus striatus*). Universitas Lambung Mangkurat, Kalimantan Selatan.

- Pradana, D., D. Suryanto, dan Yunasfi. 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae* dan Jamur *Saprolegnia* sp. Secara *In Vitro*. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Putri, R., R., R. Hasanah., dan I. Kusimaningrum. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri dan Uji Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia alba*. Universitas Mulawarman, Samarinda.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Penerbit ITB. Bandung.
- Tantu, W., R. A. Tumbol dan S. N. J. Longdong. 2013. Deteksi Keberadaan Bakteri *Aeromonas* sp. Pada Ikan Nila yang Dibudidayakan di Keramba Jaring Apung Danau Tondano. Budidaya Perairan.