

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN DESENTRALISASI**

JUDUL PENELITIAN

**PENGGUNAAN MADU HUTAN KEFA YANG DICAMPUR DENGAN
PATIKAN KERBAU (*Euphorbia hirta*) DALAM PENGENDALIAN
PENYAKIT BAKTERIAL PADA BUDIDAYA IKAN**

TIM PENGUSUL

Dr.Yuliana Salosso, S.Pi,MP (NIDN 0001077505)

Wesly Pasaribu, S.Pi.M.Si (NIDN 001349302)

Jeny Dorlince Ressie S.Pi

**Dilaksanakan Atas dana DRTPM dengan Nomor Kontrak Induk (DRTPM)
128/E5/PG.02.00.PT/2022, tanggal 10 Mei 2022 dan Nomor kontrak turunan
(LP2M) : 157/UN15.19/SP2H/LT/2027, tanggal 2 Mei 2022**



**FAKULTAS PETERNAKAN, KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS NUSA CENDANA
NOVEMBER 2022**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Penggunaan Madu Hutan Kefa Yang
Dicampur Dengan Patikan Kerbau
(*Euphorbia hirta*) Dalam Pengendalian
Penyakit Bakterial Pada Budidaya Ikan

Ketua Peneliti

a. Nama : Dr. Yuliana Salosso, S.Pi, MP

b. NIDN : 0001077505

c. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala

d. Program studi : Budidaya Perairan

e. No Hp : 081 339 43 6261

f. Bidang keahlian : Budidaya Perairan

Anggota Tim Pengusul :

a. Nama : Wesly Pasaribu, S.Pi, M.Si

b. NIDN : 001349302

c. Program studi : Budidaya Perairan

Anggota Tim Pengusul :

a. Nama : Jeni Dorlince Ressay, S.Pi

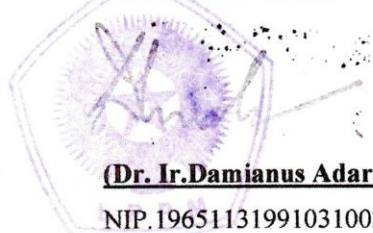
b. Instansi : Karantina ikan Kupang

Jumlah mahasiswa yang terlibat : 4 orang

Anggaran Yang disetujui : Rp. 137.000.000,- (Seratus Tiga Puluh
Tujuh Juta Rupiah)


Kupang, November 2022

Mengetahui
Ketua LP2M Undana



(Dr. Ir. Damianus Adar, M.Ec)
NIP.19651131991031002

Ketua peneliti



(Dr. Yuliana Salosso, S.Pi, MP)
NIP.19750701 199903 2 001

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Kuasa yang telah memberkati dan melindungi, hingga kami dapat melaksanakan kegiatan penelitian sampai dengan penyusunan laporan akhir ini.

Penelitian sebagai salah satu unsur dari Tri Darma Perguruan Tinggi, merupakan aktivitas yang tidak dapat dilepaskan dari kehidupan segenap civitas akademika di perguruan tinggi. Kegiatan ini merupakan wadah bagi civitas akademika untuk meneliti guna pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi.

Kegiatan ini dapat terselenggara berkat bantuan berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih kepada : Pihak Rektor Undana dan Dekan Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan Undana, dan semua pihak yang telah membantu penyelenggaraan kegiatan ini.

Semoga hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak utamanya bagi pengembangan ilmu pengetahuan di bidang perikanan khususnya Budidaya Perairan

Kupang, November 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
RINGKASAN	v
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Urgensi Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. State of the art.....	4
2.2. Peta Jalan Penelitian.....	5
BAB III METODE PENELITIAN	11
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	15
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	45

RINGKASAN

Madu hutan Kefa telah terbukti aktivitas antibakterinya terhadap bakteri patogen pada ikan, baik in vitro maupun in vivo. Demikian pula Patikan kerbau (*Euphorbia hirta*), juga telah dibuktikan aktivitas antibakterinya terhadap bakteri patogen pada ikan secara in vitro. Guna mengoptimalkan pemanfaatan madu sebagai antibakteri pada ikan, maka perlu dikombinasikan dengan patikan kerbau yang mengandung senyawa aktif lebih banyak dari madu. Tujuan dari penelitian ini adalah menemukan suatu metode pengendalian penyakit bakterial pada budidaya ikan yang lebih aman terhadap ikan, lingkungan dan manusia sebagai konsumen, murah dan mudah diperoleh dan diterapkan oleh pembudidaya ikan dengan menggunakan bahan alam sehingga masalah kelemahan penggunaan antibiotik sintesis dapat diatasi dan nilai guna madu dan nilai ekonomis patikan kerbau dapat ditingkatkan. Dengan demikian akan meningkatkan produksi perikanan budidaya serta akan terbuka lapangan usaha baru untuk pengembangan budidaya patikan kerbau dan madu bagi masyarakat.

Penelitian ini akan dilaksanakan selama dua tahun yaitu tahun 2022-2023, yang dibagi dalam Empat tahap penelitian yaitu **Tahap Pertama** uji kombinasi madu dan patikan kerbau pada berbagai perbandingan dan uji konsentrasi minimum dari kombinasi madu dan patikan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio alginolyticus* secara in Vitro. **Tahap kedua** Uji kandungan senyawa aktif madu, patikan kerbau, kombinasi Madu dan Patikan kerbau serta Uji mekanisme antibakterinya secara insiliko. **Tahap Ketiga** Uji pengobatan dan pencegahan kombinasi madu dan patikan kerbau pada ikan mas yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan Ikan Kerapu yang terinfeksi bakteri *V. alginolyticus*. **Tahap keempat** uji pengobatan dan pencegahan kombinasi madu dan patikan kerbau skala lapangan. Tahap pertama sampai tahap ketiga dilaksanakan pada tahun pertama sedangkan tahap keempat dilaksanakan pada tahun kedua.

Hasil penelitian tahun pertama didapatkan Kombinasi madu dan *E. hirta* dapat bersifat antibakteri terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *V. alginolyticus* pada semua perbandingan madu dan *E. hirta* yang di cobakan. Aktivitas antibakteri madu berkurang karena pengenceran, namun aktivitas antibakterinya dapat ditingkatkan dengan penambahan *E. hirta* yang mengandung senyawa aktif yang lebih banyak kandungannya. Senyawa yang teridentifikasi pada kombinasi madu dan Patikan kerbau diprediksi memiliki aktivitas antibakteri dengan probability 0,1 – 0,6. Analisis docking menunjukkan kesemua senyawa menunjukkan potensinya sebagai inhibitor aerolysin dan LuxT dengan mengikat beberapa asam amino pada kedua protein target tersebut. Metode perendaman dapat digunakan untuk mengobati dan mencegah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* pada ikan lele dan *V. alginolyticus* pada ikan kerapu cantang dengan menggunakan kombinasi madu dan patikan kerbau pada semua perbandingan, namun untuk menghemat penggunaan madu maka digunakan perbandingan 1 madu : 2 patikan kerbau

Kata kunci : Antibakteri, Euphorbia hirta, madu kefa, Budidaya ikan

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Salah satu jenis penyakit yang merupakan masalah serius dalam budidaya ikan adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri¹. *A. hydrophilla* merupakan salah satu bakteri yang sering menyerang ikan air tawar² yang menyebabkan penyakit *Motile Aeromonas Septicemia*³, yang dapat menyebabkan kematian mencapai 100%⁴. Sedangkan *V. alginolyticus* merupakan salah satu jenis bakteri yang menyerang ikan laut yang dikenal dengan nama penyakit Vibriosis. Vibriosis dapat menyebabkan kematian massal⁵ pada ikan laut sehingga menyebabkan kerugian secara ekonomi⁶.

Meskipun penyakit yang disebabkan oleh bakteri pada ikan dapat diatasi dengan antibiotik, tetapi hal ini tidak dianjurkan mengingat sifat resistensi bakteri terhadap antibiotik jika digunakan secara terus menerus, serta dapat merusak lingkungan dan membahayakan manusia yang mengkonsumsi ikan⁷. Oleh karena itu perlu dilakukan pencarian metode lain yang aman bagi ikan dan lingkungannya serta manusia yang mengkonsumsinya yaitu dengan memanfaatkan madu sebagai antibakteri alami, seperti Madu dan tanaman obat.

Madu telah terbukti dapat menyembuhkan ikan mas yang terinfeksi Bakteri *A. hydrophilla*⁸, namun dalam penerapan pengobatan pada ikan dengan menggunakan madu masih menemui kendala yaitu madu yang mengalami pengenceran menyebabkan aktivitas antibakterinya berkurang. Penggunaan madu sebagai antibakteri pada ikan harus mengalami pengenceran karena media hidup ikan adalah air. Pada kondisi ini, aktifitas antibakteri madu yang disebabkan oleh pH dan kandungan gula yang tinggi, akan berkurang, walaupun aktivitas antibakteri karena kandungan senyawa hidrogen peroksidanya akan meningkat dengan pengenceran namun hanya sampai pengenceran 30-50%^{9,10}. Hal ini menyebabkan kebutuhan madu akan lebih besar untuk menyembuhkan ikan yang sakit. Oleh karena itu perlu dikombinasikan dengan bahan lain seperti patikan kerbau (*E. hirta*) yang memiliki senyawa aktif dan juga telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *A. hydrophilla* dan *V. alginolyticus*¹¹.

B. Perumusan Masalah

1. Berapakah perbandingan komposisi dan dosis minimum dari kombinasi madu dan patikan kerbau yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A.hydropilla* dan *V.aginolitycus*?
2. Bagaimana kandungan senyawa aktif Madu, Patikan kerbau dan kombinasi madu dan patikan kerbau serta bagaimana mekanisme antibakterinya secara Insilico?
3. Bagaimana metode yang tepat dalam pemanfaatan kombinasi madu dan patikan kerbau dalam pengobatan dan pencegahan penyakit bacterial pada budidaya ikan skala laboratorium?
4. Bagaimana metode penggunaannya yang efektif dalam skala lapangan?

C. Tujuan Khusus

Tujuan yang akan dicapai pada penelitian ini adalah :

1. Mengetahui perbandingan komposisi dan dosis minimum dari kombinasi madu dan patikan kerbau yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A.hydropilla* dan *V.aginolitycus*.
2. Mengetahui kandungan senyawa aktif Madu, Patikan kerbau serta kombinasi madu dan patikan kerbau serta untuk Mengetahui mekanisme antibakterinya secara insiliko.
3. Mengetahui metode yang tepat dalam pemanfaatan kombinasi madu dan patikan kerbau dalam pengobatan dan pencegahan penyakit bacterial pada budidaya ikan skala laboratorium.
4. Mengetahui metode yang efektif skala lapangan.

D. Urgensi Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan produksi petani ikan dan keamanan pangan dalam mengkonsumsi ikan dapat terjamin serta budidaya ikan tidak mencemari lingkungan dan biaya produksi petani ikan akan berkurang sehingga pada akhirnya akan meningkatkan produksi ikan secara nasional. Selain itu, penelitian ini memiliki manfaat dan arti strategis dalam mengembangkan madu hutan kefa sebagai salah satu potensi daerah NTT serta peningkatan nilai ekonomi patikan kerbau yang masih merupakan tanaman liar.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. State of the art

Penggunaan Madu Sebagai Antibakteri Alami pada Budidaya Ikan

Potensi antibakteri yang terdapat dalam madu disebabkan oleh beberapa mekanisme yaitu adanya senyawa radikal hidrogen peroksida yang bersifat dapat membunuh mikroorganisme patogen^{12,13}, tingkat keasaman madu yang tinggi akan mengurangi pertumbuhan dan daya hidup bakteri, sehingga bakteri akan mati¹², kadar gula yang tinggi akan menghambat bakteri untuk hidup dan berkembang dan adanya senyawa organik yang bersifat antibakteri¹⁴.

Madu mengandung banyak senyawa biologis yang memiliki efek farmakologis yang berbeda seperti sebagai antibakteri, antioxindant, anti-inflammatory, dan imunostimulan¹⁵. Aktivitas antioksidan dari madu *Trigono insica* telah dibuktikan¹⁶ dan tiga jenis madu pohon yang berasal dari New Zealand, Jerman, dan Algeria juga telah dibuktikan¹⁷. Sedangkan aktivitas imunostimulan madu telah dibuktikan³, yang dapat meningkatkan system kekebalan tubuh ikan mas Koi terhadap serangan bakteri *A.hydropilla*. Kemampuan imunostimulan madu pada udang Vannamei yang ditantang dengan bakteri *Vibrio parahamoyliticus* juga telah dibuktikan¹⁸. Demikian pula ekstrak etanol dari propolis lebah *Apis mellifera* asal Brazil telah dibuktikan aktivitas imunostimulannya pada ikan nila yang ditantang dengan bakteri *A.hydropilla*².

Selain aktivitas antioksidan dan imunostimulan madu yang telah dibuktikan oleh peneliti terdahulu, madu juga telah dibuktikan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri pathogen pada ikan. Madu Rapa dan Royal jeli asal Bulgaria berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *A.hydropilla*¹⁹. Madu asal Afrika Selatan juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *A.hydropilla*²⁰.

Penggunaan patikan kerbau sebagai Antibakteri pada Ikan

Patikan kerbau (*Euphorbia hirta*) merupakan suatu tumbuhan liar yang banyak ditemukan di daerah yang beriklim tropis. Patikan kerbau mengandung senyawa fenolik, flavanoid, tanin dan triterpenoid¹¹, yang memungkinkan untuk

dikembangkan sebagai antibakteri alami pada budidaya ikan. Kandungan senyawa kimia patikan kerbau tidak sama pada semua tempat. Patikan kerbau yang berasal dari Malaysia mengandung flavanoid, tannin, fenolik, saponin, steroid, alkaloid dan terpenoid²¹. Di Tamilude India mengandung Flavanoid, tannin, fenolik, saponin dan steroid²², di cina mengandung Flavanoid, tannin, fenolik alkaloid dan terpenoid²³. Demikian pula yang berasal dari Indonesia juga memiliki kandungan senyawa aktif yang berbeda-beda, patikan kerbau yang berasal dari lampung mengandung saponin, tannin, Flavanoid dan terpenoid²⁴, yang berasal dari Denpasar mengandung flavanoid, Tanin, triterpenoid dan steroid²⁵.

Telah dibuktikan aktivitas antibakteri patikan kerbau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *shigella dysenteriae*, dan *Basillus suptilis*²¹. Aktivitas antibakteri patikan kerbau terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus*, *B. suptilis*, *Shigella flexneri*, *Proteus vulgaris* dan *Micrococcus luteus* juga telah dibuktikan²⁶. Aktivitas antibakteri pada bakteri pathogen pada ikan telah dilakukan oleh Assidqi, Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa Ekstrak daun patikan kebo (*E. hirta*) memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *A. hydrophila* secara *in vitro*. Konsentrasi minimum ekstrak daun patikan kebo (*E. hirta*) yang dapat menghambat bakteri *A. hydrophila* adalah 0,156% dan Konsentrasi minimum yang dapat membunuh bakteri *A. hydrophila* adalah 0,312%²⁷.

Pada penelitian Salosso dan jasmanindar, telah didapatkan Konsentrasi minimum ekstrak air daun patikan kerbau yang dapat menghambat pertumbuhan (MIC) bakteri *A. hydrophila* dan *V. harveyi* adalah 0,156 % sedangkan konsentrasi minimum yang mematikan (MBC) kedua bakteri tersebut adalah 0,625%. Kemampuan patikan kerbau, dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginoliticus* dimungkinkan karena senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman tersebut yang terlarut dalam pelarut polar yaitu pelarut air dan metanol¹¹.

B. Peta Jalan Penelitian

Penelitian Yang Telah dilakukan

Salosso dan Jasmanindar (2013) melakukan penelitian tentang kajian potensi antibakteri sepuluh jenis tanaman obat yang tidak ekonomis yang ada di NTT, hasilnya menunjukkan bahwa tanaman patikan kerbau dan patikan cina merupakan tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri karena dapat menghambat dan mematikan bakteri *A. hydrophilla* dan *V. alginolyticus* secara *in vitro*.

Selanjutnya diteliti kandungan fitokimia, metode ekstraksi senyawa aktif, analisis HPLC ekstrak aktif, konsentrasi minimum yang dapat menghambat dan mematikan *A. hydrophilla* dan *V. alginolyticus* serta toksisitas patikan kerbau terhadap ikan lele dan kerapu tikus. Hasilnya menunjukkan bahwa patikan kerbau mengandung senyawa fenolik, tanin, flavanoid, dan triterpenoid yang menyebabkan Ekstrak air patikan kerbau dapat menghambat bakteri *A. hydrophilla* dan *V. alginolyticus* pada Konsentrasi minimum 0,156 % dan konsentrasi minimum yang mematikan adalah 0,625% serta aman digunakan pada ikan lele dan kerapu tikus pada dosis 1% ke bawah yang direndam selama 5 menit. Selain itu, pada ekstrak methanol didapatkan masih terdapat 8 jenis senyawa (Hasil analisis HPLC).

Penelitian tentang pemanfaatan Madu asal NTT sebagai antibakteri alami dalam pengendalian penyakit bakterial pada budidaya ikan telah dilakukan oleh penulis mulai dari tahap *in vitro* sampai skala laboratorium. **Secara *in vitro***, Uji aktivitas antibakteri madu terhadap bakteri *A. hydrophilla* dan *V. alginolyticus* telah dilakukan. Hasilnya menunjukkan bahwa, madu yang memiliki aktivitas antibakteri terbaik adalah madu **semut asal semau** kemudian disusul **madu hutan asal kefa**, namun yang lebih berpotensi untuk dikembangkan sebagai antibakteri adalah madu hutan asal kefa karena tidak bersifat musiman sedangkan madu semut bersifat musiman.

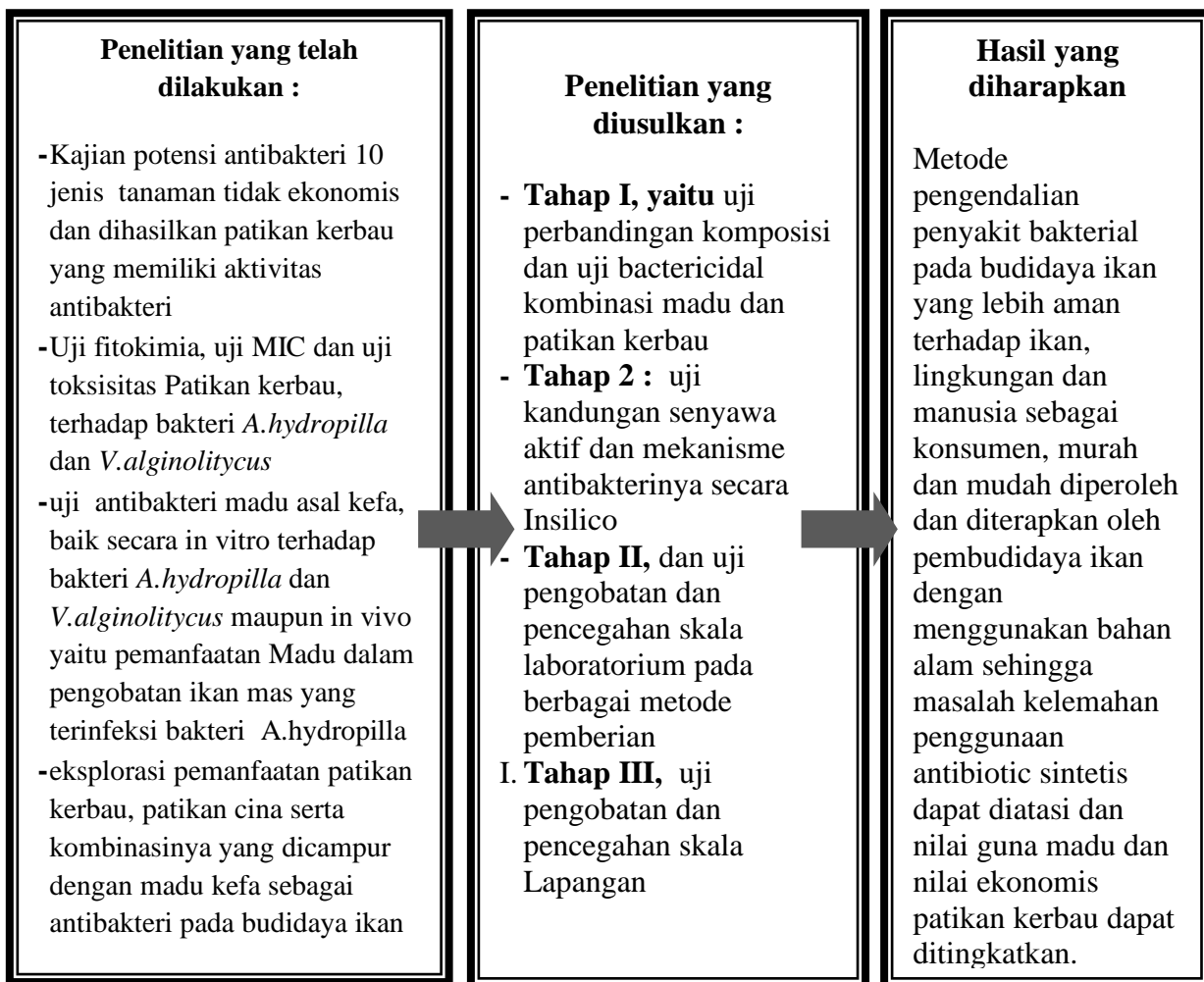
Pada skala laboratorium, telah diuji pemanfaatan madu terhadap ikan mas. Pada pemeliharaan ikan mas, didapatkan bahwa madu semut (Salosso, 2018) dan madu hutan asal kefa dapat menyembuhkan ikan mas yang terinfeksi bakteri *A. hydrophilla* dengan metode perendaman selama 3 hari pada konsentrasi perbandingan madu (1) : air (4) (Salosso, 2020).

Hasil penelitian Salosso dan jasmanindar (2013) dan Salosso dkk (2018) inilah yang dijadikan dasar untuk mengeksplorasi pemanfaatan patikan kerbau, patikan cina serta kombinasinya yang dicampur dengan madu kefa sebagai antibakteri pada budidaya ikan (Salosso, 2021). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi madu dan patikan kerbau dapat bersifat antibakteri terhadap bakteri *A.hydropilla* dan *V.alginolitycus* secara in vitro dan In vivo.

Penelitian yang diusulkan

Kombinasi madu dan patikan kerbau dapat bersifat antibakteri terhadap bakteri pathogen pada ikan, namun pada penelitian terdahulu ini hanya digunakan perbandingan 1 : 1 sehingga masih menggunakan madu dalam jumlah yang banyak. Oleh karena itu masih diperlukan penelitian lanjutan tentang uji perbandingan komposisi dan uji Bacterisidal kombinasi madu dan patikan kerbau terhadap bakteri *A. hydropilla* dan *V. Aginolitycus* (Tahap I) Selain itu perlu diketahui kandungan senyawa aktif Madu, Patikan kerbau serta kombinasinya juga perlu diketahui mekanisme antibakterinya secara insiliko (Tahap II).

Berdasarkan data secara in vitro dan in silico yang didapatkan akan digunakan untuk pengujian skala laboratorium (Tahap III) dan lapangan (Tahap IV). Pada skala laboratorium dan lapangan, perlu diketahui Bagaimana metode yang efektif dalam pemanfaatan kombinasi madu dan patikan kerbau dalam pengobatan dan pencegahan penyakit bacterial pada budidaya ikan. Untuk lebih jelasnya peta penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Peta Jalan Penelitian

BAB III

METODE PENELITIAN

Penelitian ini akan dilaksanakan selama dua tahun yang dibagi dalam Empat tahap penelitian. Tahap pertama sampai tahap ketiga dilaksanakan pada tahun pertama sedangkan tahap keempat dilaksanakan pada tahun kedua.

Tahap I : uji aktivitas antibakteri kombinasi madu dan patikan kerbau pada berbagai perbandingan dan Uji dosis bacterisidalnya

1. Uji aktivitas antibakteri

Pada uji ini dilakukan uji kombinasi madu dan patikan kerbau pada berbagai perbandingan yaitu 1:1, 1:2, 2 :1 dengan menggunakan uji cakram.

2. Uji Bacterisidal

Pada uji ini digunakan uji menggunakan media cair yaitu NB dengan membuat pengenceran bertingkat, untuk mencari dosis minimum yang dapat menghambat dan mematikan bakteri *A.hydropiila* dan *V.alginolitycus*.

Tahap II. Uji kandungan senyawa aktif dan mekanisme antibakterinya secara insilico

1. Uji LCMS

Dilakukan uji kandungan senyawa aktif madu, patikan kerbau dan kombinasi madu dan patikan kerbau dengan menggunakan LCMS.

2. Uji Insilico

Struktur 3D dan Canonical Smile senyawa yang terkandung dalam sampel diunduh dari database PubChem yang terintegrasi dengan NCBI dengan daftar senyawa yang diperoleh dari hasil uji LCMS. Canonical smile senyawa yang tidak terdapat dalam database diprediksi dengan menggambar struktur 2D dan generate SMILES pada http://www.cheminfo.org/flavor/malaria/Utilities/SMILES_generator_checker/index.html. Selanjutnya prediksi aktivitas antibakteri senyawa diprediksi dengan PASS Online (<http://www.way2drug.com/passonline/predict.php>).

Senyawa target diinteraksikan dengan protein target Aerolysin (PDB ID 3G4O) dan LuxT (PDB ID 3LJL). Grid protein Aerolysin yaitu X = -13,49A; Y =

-7,49A; Z= 38,3 A; Volume 6871,55 A³; surface 9443,84 A², sedangkan grid protein LuxT yaitu X=22.57A; Y=46,33A; Z=25,69A, Volume 74,75A³ Surface 216,32A². Analisis docking dilakukan dengan program Molegro virtual Docker5 dengan parameter MolDock Grid 0,30A, RMSD max 2, Binding pose max 5, dan number of running max 10. MolDock Grid, MolDock Score, dan Rerank score menunjukkan energi ikatan dalam satuan kJ/mol. Hasil docking dilakukan superimposed dengan protein yang telah dipreparasi menggunakan software PyMol. Data diamati dan dianalisis dengan Discovery Studio ver 21.1.1. untuk mendapatkan tampilan 3D, dan daerah pengikatan ligand dan protein target. Energi ikatan didapatkan dari penjumlahan MolDock Score Grid, MolDock Score, dan Rerank score dan dirata-rata dari lima ulangan.

Tahap III. Uji pengobatan dan pencegahan skala laboratorium

1. Uji Pengobatan

Uji pengobatan dilakukan dengan metode perendaman pada ikan lele yang terinfeksi bakteri *A.hydropilla* dan ikan kerapu yang terinfeksi *V.alginolitycus* dengan parameter uji yaitu, Hematologi, histologi, morfologi dan kelulushidupan ikan

2. Uji Pencegahan

Uji pencegahan dilakukan dengan metode perendaman pada ikan lele dan ikan kerapu, kemudian ditantang dengan bakteri *A.hydropilla* untuk ikan lele dan bakteri *V.alginoliticus* untuk ikan kerapu dengan parameter uji yaitu, Hematologi, morfologi dan kelulushidupan ikan dan pertumbuhan.

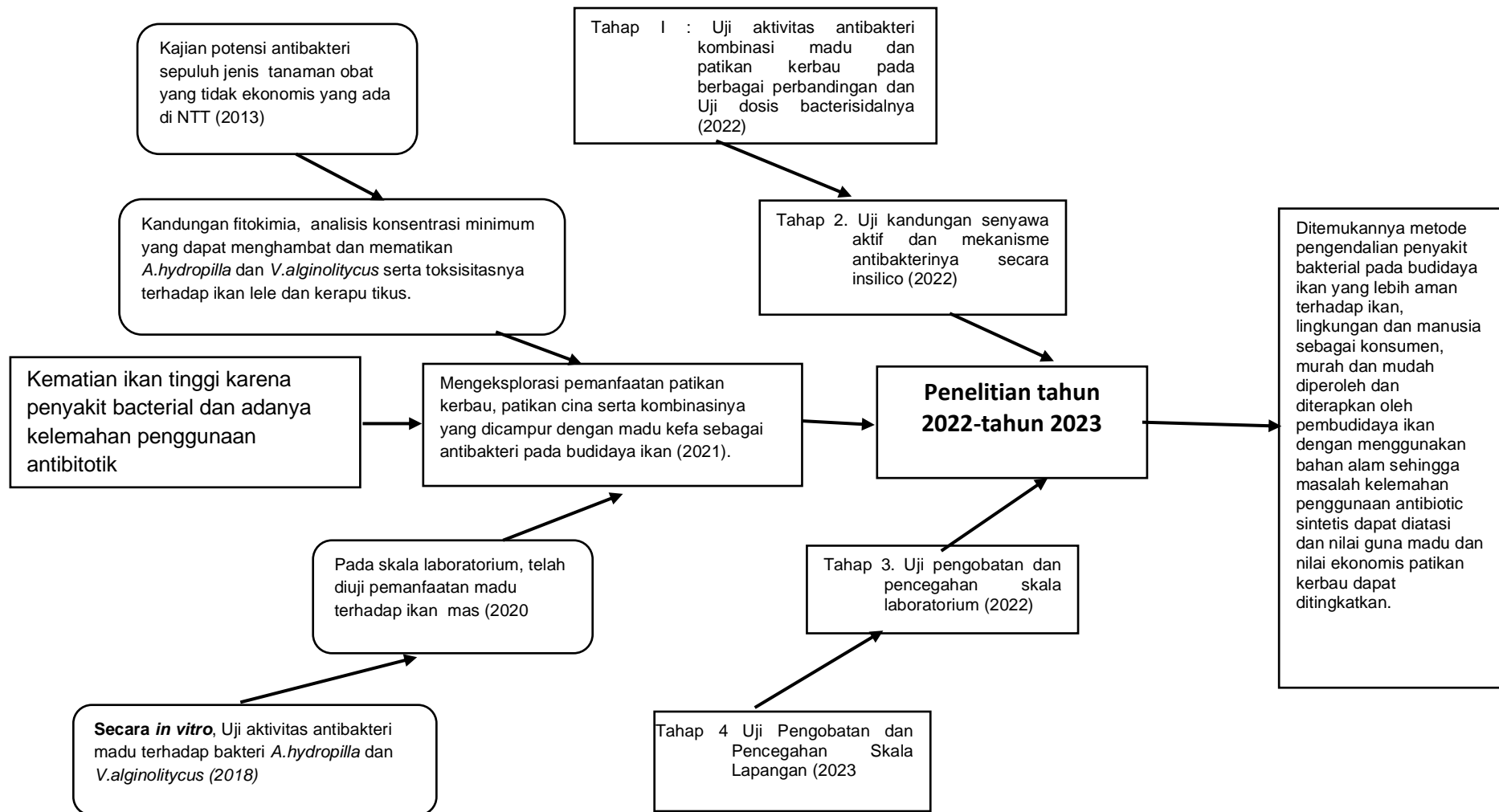
Tahap IV Uji Pengobatan dan Pencegahan Skala Lapangan

1. Uji Pengobatan

Uji pengobatan skala lapangan dilakukan dengan 2 metode yaitu perendaman langsung ke kolam pemeliharaan dan perendaman dalam wadah pengobatan, untuk pemeliharaan ikan lele sedangkan untuk pemeliharaan ikan kerapu tidak dilakukan perendaman pada wadah pemeliharaan. Pada penelitian ini dilakukan analisis ekonomi

2. Uji pencegahan

Uji pencegahan skala lapangan dilakukan dengan metode perendaman dan lewat oral yang diberikan sebelum ikan sakit baik ikan kerapu maupun ikan mas.



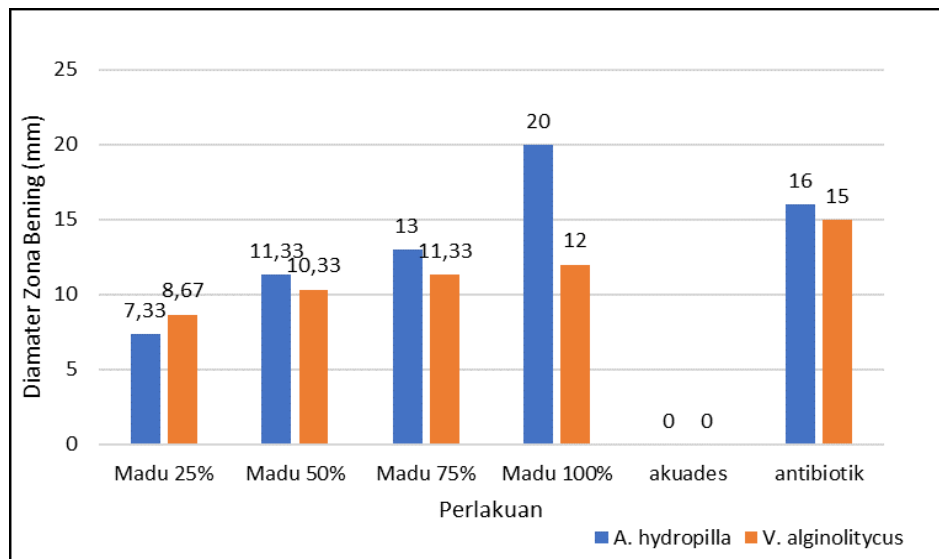
Gambar 2. Bagan Alur Penelitian

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Uji antibakteri secara Invitro

1. Uji madu hutan kefa pada berbagai Konsentrasi

Pada penelitian ini, dilakukan uji antibakteri madu hutan kefa pada konsentrasi 25%, 50% dan 75% (Gambar 1 dan Lampiran 1) untuk mengetahui konsentrasi madu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A.hydropilla* dan *V.alginoliticus*.



Gambar. 1. Rata-rata Diameter Zona Hambat madu hutan kefa pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri *A.hydropilla* dan *V.alginoliticus*.

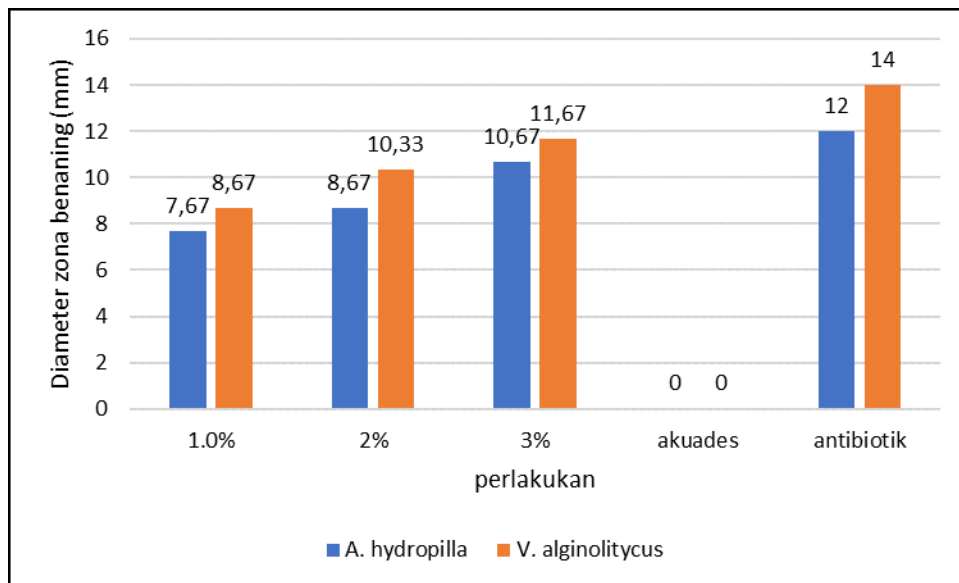
Pada Gambar 1, terlihat bahwa madu hutan kefa memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *A.hydropilla* dan *V.alginoliticus* mulai dari konsentrasi 25% sampai 75%. Aktivitas antibakteri madu 100% lebih tinggi dari pada antibiotic, namun pada saat mengalami pengenceran, aktivitas antibakterinya menurun. Aktivitas antibakteri madu konsentrasi 50% dan 75% tidak berbeda jauh sehingga pada penelitian ini digunakan konsentrasi madu hutan kefa 50% yang akan dikombinasikan dengan Patikan kerbau.

Kemampuan aktivitas antibakteri madu hutan asal kefa dapat melalui beberapa mekanisme. Pertama, madu hutan asal kefa memiliki kadar gula yang tinggi yaitu 72,6 % (Salosso, 2019)c, dengan kadar gula yang tinggi akan

menghambat bakteri untuk hidup dan berkembang dan adanya senyawa organik yang bersifat antibakteri (Carina et al, 2014). Kedua, memiliki pH yang rendah yaitu 4.06 (Salosso, 2019)c, dengan tingkat keasaman madu yang tinggi akan mengurangi pertumbuhan dan daya hidup bakteri, sehingga bakteri akan mati (Johnstond *et al.*, 2018; Carina *et al.*, 2014; Nadhilla, 2014). Ketiga, madu hutan asal kefa mengandung senyawa alkaloid dan saponin (Salosso, 2019)c. Adanya senyawa organik ini menyebabkan madu memiliki aktivitas antibakteri (Carina et al, 2014). Selain itu juga karena adanya senyawa radikal hidrogen peroksida (H₂O₂) yang bersifat dapat membunuh mikroorganismenya patogen (Johnstond *et al.*, 2018; Nadhilla, 2014; Carina *et al.*, 2014).

2. Uji patikan kerbau pada berbagai Konsentrasi

Selain itu, uji antibakteri juga dilakukan pada Patikan kerbau pada berbagai konsentrasi yaitu 1%, 2 % dan 3 %. Hasil uji antibakteri patikan kerbau pada berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 2 dan Lampiran 2.



Gambar. 2. Rata-rata Diameter Zona Hambat Patikan kerbau pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri *A.hydrophilla* dan *V.alginoliticus*.

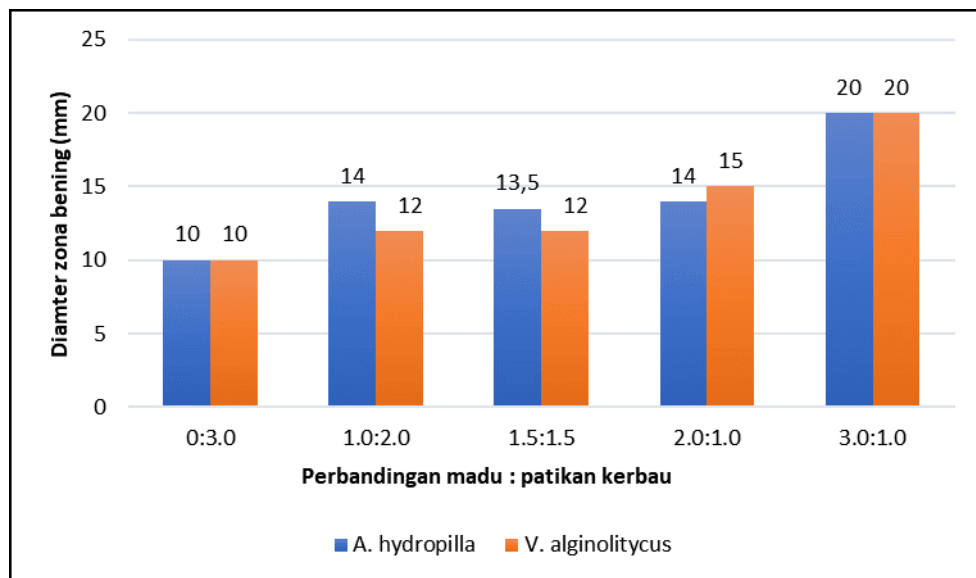
Rata-rata diameter zona hambat patikan kerbau terhadap bakteri *A.hydrophilla* dan *V.alginoliticus* (Gambar 2), paling tinggi pada konsentrasi 3%, namun lebih rendah dari antibiotic. Konsentrasi patikan kerbau yang dikombinasikan dengan madu adalah 3%. Kemampuan patikan kerbau sebagai

antibakteri disebabkan karena kandungan senyawa aktifnya seperti Flavanoid, tannin, fenolik (kader *et al*, 2013; Poornima and Prabakaran, 2012; Shih and Cherng, 2012), saponin dan steroid (kader *et al*, 2013; Poornima and Prabakaran, 2012), alkaloid dan terpenoid (kader *et al*, 2013; Shih and Cherng, 2012).

Mekanisme penghambatan atau mematikan bakteri dari ekstrak air patikan kerbau yang mengandung beberapa senyawa aktif bersinergis dalam menghambat bahkan mematikan bakteri. Mekanisme tersebut dapat berupa kerusakan dinding sel, kebocoran membran sitoplasma, penghambatan aktifitas enzim dan adanya metabolit serta penghambatan sintesa protein, penghambatan terhadap pembentukan dan pertumbuhan spora (Pelczar dan chan ,2005).

3. Uji kombinasi madu hutan kefa dan patikan kerbau pada berbagai perbandingan

Hasil pengujian kombinasi madu dan *E.hirta* terhadap bakteri *V. alginolitycus* dan *A.hydropilla* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Rata-rata Diameter Zona Hamba kombinasi madu konsentrasi 50% dan *E.hirta* 3% pada berbagai perbandingan.

Pada Gambar 3, terlihat kombinasi madu dan *E.hirta* pada berbagai perbandingan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *V.alginoliticus* dan *A.hydropilla*. Aktivitas antibakteri *E.hirta* (perbandingan 0 : 3) menghasilkan zona bening yang paling rendah yaitu 10 mm dan paling tinggi dihasilkan pada

madu (perbandingan 3 : 0) yaitu 20 mm, yang terjadi pada bakteri *V.alginoliticus* dan *A.hydropilla*.

Senyawa aktif yang terkandung dalam kombinasi patikan kerbau (*E.hirta*) dan madu hutan asal kefa dapat menyebabkan kombinasi madu dan patikan kerbau memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa turunan fenolik seperti flavanoid dan tanin bersifat antibakteri dengan mekanisme merusak membran sel bakteri. Gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa flavanoid dan tanin dapat berinteraksi dengan protein membran sel bakteri melalui ikatan hydrogen, sehingga protein tersebut kehilangan fungsinya (Cowan, 1999).

Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan kerusakan membrane sel yang akhirnya mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis (Kurnawan dan Aryana, 2015). Demikian pula alkaloid bersifat antibakteri dengan Mekanisme mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri (Ajizah, 2004). Selanjutnya menurut Cowan (1999), Terpena dan terpenoid mempunyai daya antimikroba terhadap bakteri, melalui mekanisme perusakan membran sel akibat gugus hidrofobik yang dimilikinya.

B. Hasil uji kandungan senyawa Kimia

1. Hasil Uji Fitokimia

Untuk mengetahui jenis senyawa aktif yang terkandung dalam madu, *E.hirta* dan kombinasinya maka dilakukan uji fitokimia. Hasil uji kualitatif kandungan senyawa aktifnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji Kandungan Senyawa aktif Madu, *E.hirta* dan kombinasinya.

sampel	Analisis Fitokimia						
	alkaloid	Flavanoid	saponin	terpenoid	steroid	Fenol	tanin
Madu (M) 50%	++	+	++	+++	-	+	+
Patikan kerbau (PK) 3%	+++	+	+	++	-	+++	+++
Kombinasi M 50% dan PK 3%	+++	+	++	+++	-	++	++

Keterangan : +++ = sangat kuat
++ = sedang

+ = sedikit
- = tidak terdapat

Pada Tabel 1, terlihat bahwa jenis senyawa aktif yang terkandung dalam madu, *E.hirta* dan kombinasi madu dan *E.hirta* sama namun berbeda kepekatannya. Jenis senyawa aktif yang dikandung meliputi alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, Fenol dan terpenoid. Senyawa aktif yang terkandung baik dalam bahan tunggal (madu dan *E.hirta*) maupun kombinasinya (gabungan) menyebabkan bahan tersebut memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme yang berbeda-beda. Mekanisme antibakteri alkaloid adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Ajizah, 2004: Ningsih dkk, 2016).

Senyawa Fenol dan turunannya seperti flavanoid dan tanin bersifat antibakteri dengan mekanisme merusak membran sel bakteri. Gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa flavanoid dan tanin dapat berinteraksi dengan protein membran sel bakteri melalui ikatan hydrogen, sehingga protein tersebut kehilangan fungsinya (Cowan, 1999). Selanjutnya menurut Bucekova, et al, (2019), polifenol biasanya bertanggung jawab untuk menghancurkan radikal bebas dan menghambat oksidasi.

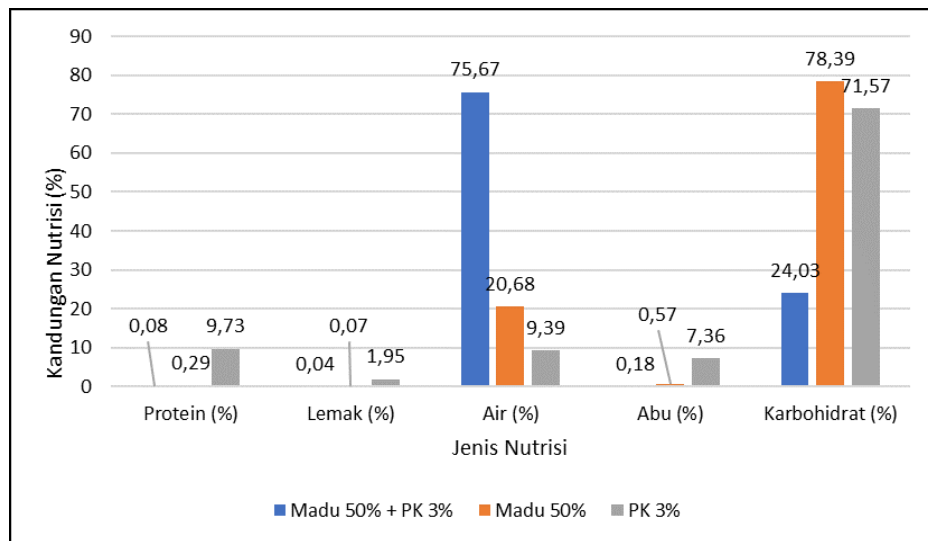
Mekanisme antibakteri Saponin adalah mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan kerusakan membrane sel yang akhirnya mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis (Kurnawan dan Aryana, 2015). Sedangkan mekanisme antibakteri Terpenoid menurut Cowan (1999) adalah melalui perusakan membrane sel oleh senyawa lipofilik. Terpenoid dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, serta mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan kematian pada bakteri.

Kombinasi madu dengan *E.hirta* dapat meningkatkan kandungan senyawa aktifnya terutama senyawa fenol dan turunannya yang hanya sedikit dikandung oleh madu. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Combarros-Fuertes et al, (2020) bahwa kandungan polifenol madu terbatas sehingga tidak memungkinkan untuk memberi efek antibakteri secara tunggal. Aktivitas antibakteri madu

merupakan efek sinergis antara senyawa polifenol dengan senyawa lainnya seperti hidrogen peroksida. Dengan demikian kombinasi madu dengan *E.hirta* dapat meningkatkan aktivitas antibakterinya dengan adanya senyawa aktif yang berasal dari *E.hirta*

2. Hasil Uji Proximat dan asam amino

Hasil uji kandungan Proximat madu, patikan kerbau dan kombinasi madu dan *E.hirta* dapat di lihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil uji kandungan Proximat madu, patikan kerbau dan kombinasi madu dan *E.hirta*

Pada Gambar 4, terlihat bahwa patikan kerbau mengandung Protein, lemak, dan abu yang paling tinggi dibandingkan dengan madu dan kombinasinya. sedangkan madu memiliki kandungan air yang paling tinggi. Pada saat dikombinasikan madu dan patikan kerbau maka kandungan protein, lemak dan abunya lebih tinggi dari madu tetapi lebih rendah dari patikan kerbau. untuk kandungan airnya lebih rendah dari madu dan lebih tinggi dari patikan kerbau. Sedangkan kandungan karbohidratnya lebih tinggi dari madu dan patikan kerbau.

Kandungan nutrisi yang terdapat pada kombinasi madu dan patikan kerbau dapat meningkatkan system imun dari ikan yang diberi kombinasi madu dan patikan kerbau sehingga dapat membantu proses penyembuhan dari ikan yang sakit. Demikian pula kandungan asam amino yang terdapat dalam kombinasi madu dan patikan kerbau (Tabel 2) akan membantu proses penyembuhan pada ikan dengan mekanisme meningkatkan system imun ikan.

Tabel 2. Kandungan Asam amino Madu dan kombinasi madu dan patikan kerbau

No	Parameter	Kandungan (mg/kg)					
		Madu			Madu + PK		
		Ulangan I	Ulangan II	Limit of detection	Ulangan I	Ulangan II	Limit of detection
1	L-Serine	289.46	288.39		<149,74	<149,74	
2	L-Glutamic Acid	285.80	284.82		<152,43	<152,43	
3	L-Phenylalanine	Not detected	Not detected	142,82	Not detected	Not detected	142.82
4	L-Isoleucine	Not detected	Not detected	51.3	Not detected	Not detected	51.3
5	L-Valine	<128,75	<128,75		Not detected	Not detected	38.63
6	L-alanine	148.75	148.52		<84,63	<84,63	
7	L-Arginine	Not detected	Not detected	115.87	Not detected	Not detected	115.87
8	Glycine	146.44	146.34		<77,77	<77,77	
9	L-Lysine	<336.07	<336.07		Not detected	Not detected	100.82
10	L-Aspartic Acid	285.41	285.16		<190,57	<190,57	
11	L-Leucine	<167.3	<167.3		Not detected	Not detected	50.19
12	L-Tyrosine	Not detected	Not detected	182.4	Not detected	Not detected	182.4
13	L-Proline	351.28	351.19		<128,38	<128,38	
14	L.Threonine	496.36	492.62		217,89	215.10	
15	L-Histidine	Not detected	Not detected	88.53	Not detected	Not detected	88.53

Pada Tabel 2. terlihat bahwa pada madu terdeteksi kandungan L-serine, L-Glutamic Acid, L-Valine, L-Alanin Glycine, L-Lysine, L-Aspartic Acid, L-Leucine, P-Proline, L-Treonine sedangkan L-phenylalanine, L-isoleucine, L-Arginine, L-Tyrosine dan L-Histidine tidak terdeteksi pada madu karena kandungannya di bawah limit yang terbaca. Kandungan asam amino madu yang paling tinggi adalah L-Threonine 496,... mg/kg dan diikuti L-Proline 351 mg/kg. Kandungan asam amino kombinasi madu dan patikan kerbau mengalami penurunan dan hanya dideteksi kandungan L-serine, L-Glutamic Acid, L-Alanin, Glycine, L-Aspartic Acid, P-Proline, L-Treonine. Hal ini dapat terjadi karena madu sudah mengalami pengenceran.

3. Hasil Uji Antioksidan dan Vitamin C

Hasil uji kandungan Vitamin C dan aktivitas antioksidan madu, *E.hirta* dan kombinasi madu dan *E.hirta* dapat di lihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji kandungan Vitamin C dan aktivitas antioksidan madu, *E.hirta* dan kombinasi madu dan *E.hirta*

No	Parameter	Nilai		
		M 50% + E.h 3%	M 50%	E.h 3%
1	Vitamin C (mg/100g)	6,73	3,28	Tidak diuji

2	Antioksidan (mg/ml)	IC50	20,37	30,98	3,70
---	---------------------	------	-------	-------	------

Tabel 3 terlihat bahwa kombinasi madu dan *E.hirta* mengandung vitamin C 6,73 mg/100g yang lebih tinggi dari kandungan vitamin C madu yaitu 3,28 mg/100g. sedangkan antioksidan LC 50 kombinasi madu dan *E.hirta* lebih rendah dari madu. Madu memiliki kemampuan sebagai antioksidan kuat, menghambat formasi radikal bebas, sehingga melindungi komponen sel dari bahan berbahaya (Alzahrani et al, 2012). Selanjutnya menurut Puertollano et al., (2011), Senyawa antioksidan memiliki hubungan dekat dengan sistem kekebalan tubuh karena membantu melindungi sel-sel kekebalan tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas.

Vitamin C merupakan salah satu senyawa yang berperan sebagai antioksidan. Menurut Bogdanov et al (2008), salah satu jenis vitamin yang dikandung madu adalah asam askorbat (vitamin C). Kandungan vitamin C dalam madu meningkatkan sistem pertahanan tubuh dengan merangsang interferon (Rosidah, et al, 2019). Pendapat yang sama ini diungkapkan oleh Van Gorkom et al. (2018), yang menyebutkan bahwa vitamin C meningkatkan interferon dan aktivitas sel imun, limfosit dan makrofag. Selanjutnya menurut Carr & Maggini, (2017), Vitamin C memberikan efek menguntungkan pada fungsi seluler bawaan dan sistem imun adaptif, merangsang migrasi neutrofil ke tempat infeksi untuk meningkatkan fagositosis. Asupan vitamin C dilaporkan mampu membuat tubuh lebih tahan terhadap infeksi dengan memungkinkan produksi interferon dan leukosit, di samping mempertahankan proses inflamasi (Van Gorkom et al., 2018).

4. Hasil uji kandungan Gula, air dan pH

Hasil uji kandungan total gula, air, aktivitas air (Aw), pH madu dan kombinasi madu dan *E.hirta* dapat di lihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji kandungan total gula, air, Aw, pH madu dan kombinasi madu dan *E.hirta*

No	Parameter	Nilai		
		Madu 100%	Madu 50%	M 50% + EH 3%
1	Total gula (%)	64,91	36,83	17,08
2	Air (%)	20,26	52,95	75,16

3	Aw	0,722	0,903	0,944
4	pH	3,98	3,92	4,02

Keterangan M=madu

EH = *E.hirta*

Pada Tabel 1, terlihat bahwa kandungan total gula kombinasi madu dan patikan kerbau mengalami penurunan jika dibandingkan dengan kandungan total gula madu 100% dan 50%. Sedangkan kandungan air, aktivitas air dan pH kombinasi madu dan patikan kerbau mengalami peningkatan jika dibandingkan dengan madu 100% dan 50%.

Madu mengandung total gula yang tinggi dan jenis gula yang dominan adalah glukosa dan fruktosa (Nayik dan Nanda, 2015). Madu hutan asal kefa memiliki kandungan total gula yang tinggi yaitu 64,91%. Kandungan total gula madu kefa ini tidak berbeda jauh dengan kandungan total gula madu dari nectar pohon karet asal kabupaten Bangka Tengah yaitu 74,77 % (Evahelda dkk, 2017). Madu memiliki komposisi kandungan senyawa kimia yang berbeda-beda termasuk total gulanya berdasarkan sumber pakan nektarnya (Parwata dkk, 2010).

Menurut Evahelda dkk, (2017), tingginya kandungan gula akan menyebabkan madu menjadi pekat atau kental, sehingga membuat madu memiliki sifat higroskopis. Sifat higroskopis pada madu ditentukan oleh fruktosa. Hal ini dikarenakan fruktosa bersifat lebih mudah larut dibandingkan glukosa (Buba dkk., 2013). Selanjutnya menurut Erguder (2008), Kadar gula pada madu yang terdiri dari campuran glukosa dan fruktosa menyebabkan madu memiliki sifat osmotic dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Kandungan air pada madu ini disebabkan karena madu mempunyai sifat higroskopis (Avehelda dkk, 2017), yaitu mudah menyerap air. Nilai kadar air Madu hutan asal kefa 20,26% (Tabel 1). Kadar air madu berbeda berdasarkan perbedaan tempat asal madu tersebut. Kandungan air madu dari nectar pohon karet asal kabupaten Bangka Tengah adalah 24,25 % (Evahelda dkk, 2017), kandungan air madu Trumon dan madu seulawah asal aceh masing-masing 22,05% dan 19,81% (Fadmi dkk, 2015). Demikian pula kandungan air madu hitam pahit dan madu hitam manis asal Kalimantan tengah yaitu masing-masing 16,19% dan 15,40% (Fitrianingsih dkk, 2014), serta beberapa madu asal Indonesia

berkisar 17,8% – 21,0% (Dewi dkk, 2017). Perbedaan kandungan air madu dipengaruhi oleh beberapa factor seperti faktor iklim, penanganan pasca panen, jenis nektar yang dikumpulkan, tingkat kematangan madu, proses produksi dan penyimpanan (Baroni, et al, 2009).

Nilai pH madu hutan kefa adalah 3,98. Nilai pH madu kefa ini cenderung sama dengan nilai pH madu yang berasal dari tempat lain di Indonesia seperti madu randu mempunyai nilai pH 3,8, rambutan 4,21, lengkung 4,48, dan madu *kaliandara* 4,37 (Chayati, 2008) serta madu karet asal Bangka 3,92 (Evahelda dkk, 2017). Demikian pula di Negara lain seperti madu asal India nilai pHnya 4,1 (Veeraputhiran et al, 2013). Madu memiliki nilai pH rendah, sehingga dapat mencegah pertumbuhan berbagai macam bakteri karena bakteri dapat berkembang pada pH netral atau basa. Keasaman memiliki pengaruh yang besar terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup bagi sel bakteri. Setiap spesies memiliki kisaran optimum keasaman untuk pertumbuhan. Ketika pH turun sampai batas terendah untuk pertumbuhan bakteri, tidak hanya sel bakteri yang akan berhenti pertumbuhannya, tetapi bakteri juga akan kehilangan kemampuan hidupnya.

5. Hasil Uji senyawa kimia dengan LCMS

Hasil uji LCMS madu dan kombinasi madu dan *E.hirta* dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Daftar senyawa yang teridentifikasi pada M3 dan M9

Madu Kefa		Kombinasi madu dan <i>E.hirta</i>
Senyawa	CID PubChem	Senyawa
Adenine	190	Benzene
Choline	305	DL-Arginine
Pipecolic acid	849	Pipecolic acid
Uracil	1174	Phthalic acid
Dibutyl phthalate	3026	8-Hydroxyquinoline
Kojic acid	3840	Diethylpyrocarbonate
Kynurenic acid	3845	N-ethylmaleimide
L-Phenylalanine	6140	trimethadione
Isobutyraldehyde	6561	Furfural
3,4-Dihydroxybenzaldehyde	8768	L-Pyroglutamic acid
L-Norleucine	21236	Ethanoic anhydride
5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde	237332	4-Morpholinylacetic acid
2-Hydroxyphenylalanine	91482	N-acetyl-L-2-aminoadipic acid
Proline	145742	10-Nitrolinoleate
4-Indolecarbaldehyde	333703	4-Amino-7-phenylpyrazolo[5,1-c][1,2,4]triazine-3-carboxamide

D-(+)-Maltose	439186	2,5-Bis(2,2,2-trifluoroethoxy)benzohydrazide
D-Glucosamine	439213	2-O-ETHYL ASCORBIC ACID
D-(+)-Pyroglutamic Acid	439685	C21H27N4O9PS
Muramic acid	441038	6-(1-Hydroxyethyl)-3-(hydroxymethyl)-2,7-dioxabicyclo[4.1.0]hept-3-en-5-one
Crotonic acid	637090	
N-(4-hydroxypentyl) metabolite	90464177	

Senyawa yang teridentifikasi pada sampel Madu dan kombinasi madu dan Patikan kerbau diprediksi memiliki aktivitas antibakteri dengan probability 0,1 – 0,6. Analisis docking menunjukkan kesemua senyawa menunjukkan potensinya sebagai inhibitor aerolysin dan LuxT dengan mengikat beberapa asam amino pada kedua protein target tersebut. Aerolysin (Aer) merupakan protein yang membentuk pori toksin yang berperan penting dalam pathogenesis *Aeromonas hydrophila* dan menyebabkan pembekuan darah akibat infeksi. Penghambatan protein Aerolysin dan LuxT oleh senyawa yang terkandung di dalam Madu dan kombinasi madu dan Patikan kerbau dapat mencegah virulensi *A. hydrophila* dan *V. alginolyticus*.

C. Hasil Uji Dosis Bacterisidal (Uji MIC dan MBC)

Hasil uji MIC dan MBC rebusan air daun patikan kerbau terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *V. alginolyticus* dapat dilihat pada Tabel 6 dan Lampiran 4.

Tabel 6. Hasil Uji MIC dan MBC Campuran madu (50%) dan rebusan daun Patikan Kerbau (3%) terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *V. alginolyticus*

Konsentrasi	<i>Vibrio alginolyticus</i>		<i>Aeromonas hydrophila</i>	
	MIC	MBC	MIC	MBC
100%	-	-	-	-
50%	-	+	-	+
25%	+	+	+	+
12,5%	+	+	+	+
6,25%	+	+	+	+
3,125%	+	+	+	+
1,56%	+	+	+	+
Control bakteri	+	+	+	+
Control ekstrak	-	-	-	-

Konsentrasi minimum kombinasi madu dan *E. hirta* yang dapat menghambat pertumbuhan (MIC) bakteri *A. hydrophila* dan *V. harveyi* adalah 50 % sedangkan konsentrasi minimum yang mematikan (MBC) kedua bakteri tersebut adalah 100%. Mekanisme penghambatan atau mematikan bakteri dari kombinasi madu dan *E. hirta* yang mengandung beberapa senyawa aktif yang bersinergis dalam menghambat bahkan

mematikan bakteri dapat berupa kerusakan dinding sel, kebocoran membran sitoplasma, penghambatan aktifitas enzim dan adanya metabolit serta penghambatan sintesa protein, penghambatan terhadap pembentukan dan pertumbuhan spora (Pelczar dan chan ,2005).

Salah satu senyawa yang dikandung kombinasi madu dan *E.hirta* yang bersifat antibakteri adalah senyawa fenolik dan turunannya (Flavanoid dan tanin) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. Ion H dari senyawa fenol dan turunannya akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida pada dinding sel bakteri akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Dalam keadaan demikian, fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian (Gilman *et al*, 1991; Cowan, 1999). Selanjutnya menurut Bankavo *et al.*, (2005), pada konsentrasi rendah, terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami penguraian. Fenol kemudian merusak membran sitoplasma dan menyebabkan kebocoran isi sel, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat. Sedangkan pada konsentrasi tinggi zat tersebut berkoagulasi dengan protein seluler dan membran sitoplasma mengalami lisis

Aktivitas antibakteri patikan kerbau telah dibuktikan oleh beberapa peneliti terdahulu. Untuk bakteri patogen pada manusia, Patikan kerbau dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Upadhyay *et al*, 2010; Jyothirmayi and Prasad, 2011; Titilope *et al*, 2012), *Basillus subtilis* (Upadhyay *et al*, 2010; Jyothirmayi and Prasad, 2011; kader *et al*, 2013), *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* (Titilope *et al*, 2012; kader *et al*, 2013; Upadhyay *et al*, 2010), *shigella dysenteriae* (Titilope *et al*, 2012; kader *et al*, 2013)

Untuk aktivitas antibakteri pada bakteri pathogen pada ikan telah dilakukan oleh Assidqi dkk (2012). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa Ekstrak etanol daun patikan kerbau (*E. hirta*) memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *A. hydrophila* secara *in vitro*. Konsentrasi minimum ekstrak daun patikan kerbau (*E.hirta*) yang dapat menghambat bakteri *A. hydrophila* adalah 0,156 % dan Konsentrasi minimum yang dapat membunuh bakteri *A. hydrophila* adalah 0,312 %.

Tahap 3. Uji pengobatan dan pencegahan skala laboratorium

1. Hasil Uji Patogenesitas

a. Bakteri *Vibrio alginolyticus* terhadap Ikan Kerapu cantang

Uji patogenesisis bakteri *V.alginolyticus* pada ikan kerapu cantang dilakukan pada kepadatan 10^6 CFU/ml, 10^7 CFU/ml dan 10^8 CFU/ml, dengan tujuan untuk mengetahui kepadatan bakteri yang dapat menyebabkan ikan terinfeksi bakteri, serta waktu yang diperlukan bakteri untuk menimbulkan gejala infeksi pada ikan. Hasil uji patogenesisis bakteri *V.alginolyticus* pada ikan kerapu tikus dapat dilihat pada Tabel 7 .

Tabel 7. Hasil Uji Patogenesisis Bakteri *V.alginolyticus* Pada Ikan Kerapu Cantang

perlakuan	Kepa datan awal	Pengamatan					
		0 jam	12 jam	24 jam	48 jam	72 jam	96 jam
10^6	6	normal	normal	Nafsu makan menurun	Terjadi perubahan warna ikan	Mulai muncul kemerahan disekitar mulut dan sirip	Mati 4 ekor
10^7	6	normal	Nafsu makan menurun	Terjadi perubahan warna ikan	Mulai muncul kemerahan disekitar mulut dan sirip	Mati 2 ekor	Mati 4 ekor
10^8	6	normal	Terjadi perubahan warna ikan	Mati 2 ekor	Mati 4 ekor	-	-
Kontrol	6	normal	normal	normal	normal	normal	normal

Pada Tabel 7, terlihat bahwa semakin tinggi kepadatan bakteri, maka waktu yang diperlukan untuk menyebabkan infeksi pada ikan semakin cepat. Pada kepadatan bakteri 10^8 CFU/ml, waktu yang diperlukan untuk menunjukkan gejala infeksi adalah 12 jam dan pada kepadatan 10^7 CFU/ml diperlukan waktu 24 jam sedangkan untuk kepadatan 10^6 CFU/ml diperlukan waktu 48 jam. Berdasarkan hasil uji patogenesisis ini maka pada penelitian selanjutnya digunakan bakteri *V.alginolyticus* pada kepadatan 10^7 CFU/ml. Hal ini dilakukan karena pada penelitian ini diharapkan pengobatan dapat dilakukan pada waktu yang tepat yaitu pada saat ikan sudah menunjukkan gejala terinfeksi namun belum menunjukkan gejala terinfeksi yang parah.

Secara umum hasil uji patogenesisis ini, menunjukkan bahwa bakteri *V.alginolyticus* bersifat patogen pada ikan kerapu. Hal ini ditunjukkan dengan kematian ikan pada semua perlakuan kepadatan bakteri walaupun waktu yang

diperlukan untuk menyebabkan kematian pada ikan berbeda-beda. Bakteri *V.alginolyticus* mempunyai kemampuan untuk membunuh inangnya dengan beberapa tahapan mekanisme penyerangan. Bakteri *V.alginolyticus* masuk ke dalam tubuh ikan baik melalui kulit, mulut dan insang (Murdjani, 2002).

b. Bakteri *Aeromonas hydrophilla* terhadap Ikan Lele

Hasil uji patogenesis bakteri *A. hydrophilla* pada ikan lele dapat dilihat pada Tabel 8

Tabel 8. Hasil Uji Patogenesis Bakteri *A. hydrophilla* Pada Ikan Lele

perlakuan	Kepa datan awal	Pengamatan					
		0 jam	12 jam	24 jam	48 jam	72 jam	96 jam
10 ⁶	10	normal	Nafsu makan Menurun Nafsu makan menurun dan muncul kemerahan disekitar suntikan	Kemerahan mulai jadi luka kecil	Mati 1 ekor	Mati 2 ekor	Mati 5 ekor
10 ⁷	10	normal	Nafsu makan menurun dan muncul kemerahan disekitar suntikan	Mulai luka dan Mati 1 ekor	Mati 2 ekor	Mati 5 ekor	Mati 2 ekor
10 ⁸	10	normal	Tidak makan dan Timbul kemerahan di sekitar suntikan	Luka melebar dan Mati 3 ekor	Mati 4 ekor	Mati 3 ekor	-
Kontrol	10	normal	normal	normal	normal	normal	normal

Tabel 8, memperlihatkan bahwa bakteri *A.hydrophilla* bersifat pathogen pada ikan lele, karena pada semua kepadatan bakteri yang disuntikkan pada ikan menyebabkan kematian pada ikan lele. Waktu yang diperlukan untuk menyebabkan kematian pada ikan berbeda-beda sesuai dengan kepadatannya. semakin tinggi kepadatan bakteri, maka waktu yang diperlukan untuk menyebabkan infeksi pada ikan semakin cepat.

Berdasarkan hasil uji patogenesis bakteri *A.hydropilla* terhadap ikan lele, maka pada penelitian selanjutnya digunakan bakteri *A.hydropilla* pada kepadatan 10^6 CFU/ml untuk menginfeksi ikan lele pada uji pengobatan. Hal ini dilakukan karena pada penelitian ini diharapkan pengobatan dapat dilakukan pada waktu yang tepat yaitu pada saat ikan sudah menunjukkan gejala terinfeksi namun belum menunjukkan gejala terinfeksi yang parah.

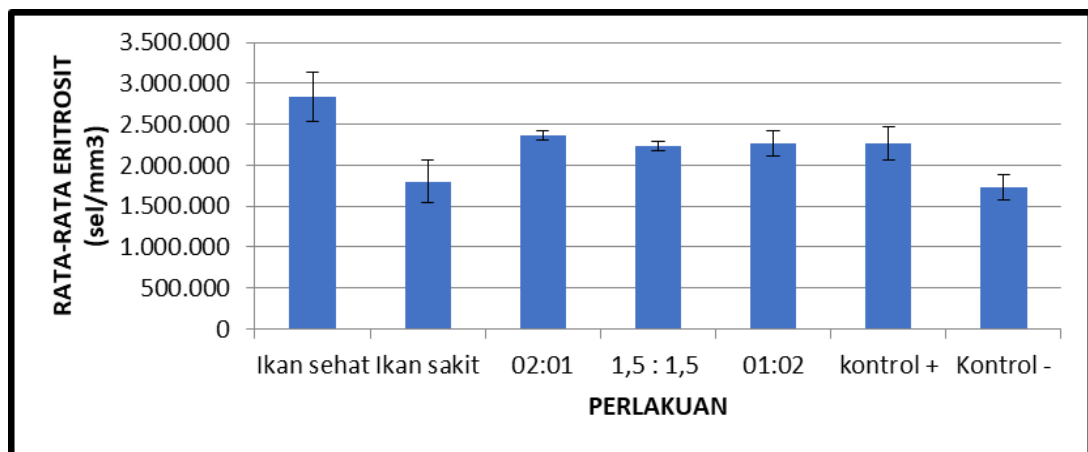
2. Hasil Uji Pengobatan

A. Ikan lele

1. Hematologi Ikan Lele Yang Sehat, Sakit Dan Setelah Pengobatan.

a. Nilai Eritrosit

Rata-rata eritrosit ikan Lele yang sehat, sakit dan setelah perendaman dengan kombinasi madu dan *E.hirta* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Rata-rata nilai Eritrosit (sel/mm³) ikan lele yang sehat, sakit dan setelah pengobatan dengan kombinasi madu dan *E.hirta*

Pada Gambar 1 terlihat bahwa rata-rata jumlah eritrosit pada ikan sehat adalah sebesar 2.833.333 sel/mm³ dan pada saat ikan terinfeksi bakteri (sakit) terjadi penurunan rata-rata eritrosit yaitu turun menjadi 1.800.000 sel/mm³. Setelah mengalami pengobatan dengan kombinasi madu dan *E.hirta*, rata-rata eritrosit ikan lele mulai naik kembali, tetapi pada ikan yang tidak diberi pengobatan, rata-rata eritrositnya semakin menurun yaitu 1.733.333 sel/mm³. Jika dibandingkan antara perlakuan yang diberi pengobatan, maka peningkatan jumlah eritrosit yang paling tinggi terjadi pada perlakuan perbandingan 2 :1 (lebih banyak madunya) yaitu sebesar 2.366.667 sel/mm³. namun secara statistik, tidak

ada pengaruh antara perlakuan A, B dan C ($F_{hitung} (0,171) < F_{tabel} (2.400)$). Dengan demikian semua perbandingan madu dan *E.hirta* yang diujikan dapat memberi pengaruh yang sama terhadap Eritrosit ikan lele.

Nilai eritrosit ikan lele sehat yang ditemukan pada penelitian ini ($2.833.333 \text{ sel/mm}^3$) lebih rendah dari nilai eritrosit ikan lele sehat yang ditemukan pada penelitian Sukenda et al (2008) yaitu 4.21×10^6 dan $4 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$. tetapi lebih rendah dari nilai eritrosit ikan lele pada penelitian Cerlina et al, (2021) yaitu $2,46 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$. Perbedaan ini menunjukkan bahwa walaupun ikan jenis yang sama tetapi dipelihara pada tempat yang berbeda, memiliki jumlah eritrosit yang berbeda. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Wateska et al, (2021) dan Ejraei *et al.*, (2015), bahwa Jumlah eritrosit bergantung pada kondisi lingkungan, jenis ikan, umur dan nutrisi.

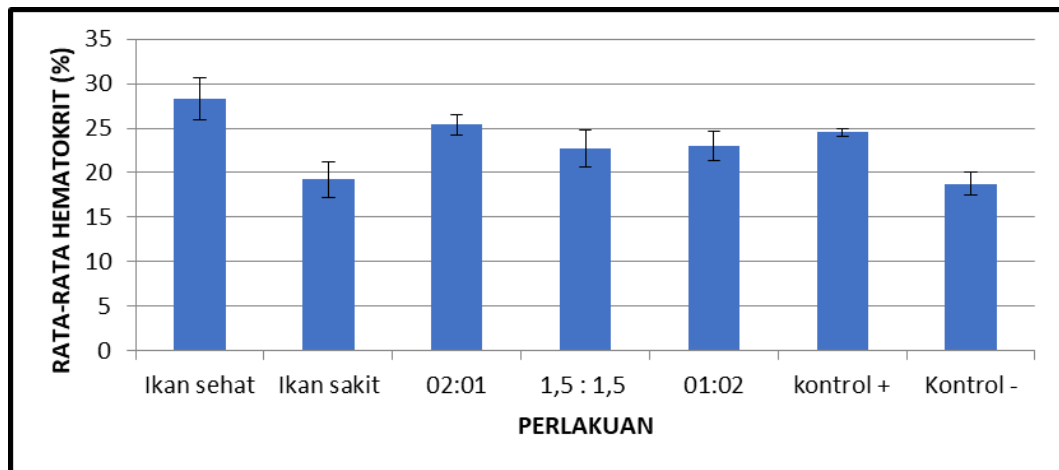
Pada ikan lele yang terinfeksi bakteri *A.hydropilla* (kondisi sakit) mengalami penurunan sel darah merah. Hal ini disebabkan karena adanya enzim-enzim eksotoksin yang dihasilkan oleh *A.hydropilla* yang bersifat virulen seperti protease dan hemolisin. Menurut Triyaningsih dkk (2014), *A.hydropilla* mampu menghasilkan enzim protease dan hemolisin yang bersifat virulen pada ikan. Enzim protease merupakan enzim yang mampu melawan pertahanan tubuh inang untuk berkembangnya penyakit dan mengambil persediaan nutrisi. Sedangkan enzim Hemolisin yang terlarut dalam darah lebih lanjut mampu melisis sel darah merah dan membebaskan hemoglobinnya sehingga darah banyak yang keluar melewati luka pada permukaan tubuh yang terinfeksi. Hal ini menyebabkan terjadinya haemoragik pada ikan yang terinfeksi bakteri *A.hydropilla*.

Sel darah merah ikan lele mengalami peningkatan kembali setelah dilakukan perendaman/pengobatan dengan kombinasi madu dan patikan kerbau. Hal ini menunjukkan kemampuan madu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A.hydropilla* yang menyerang ikan lele. Kemampuan aktivitas antibakteri kombinasi madu hutan kefa dan patikan kerbau yang telah terbukti secara in vitro dengan menghasilkan zona hambat, juga telah terbukti mampu menyembuhkan ikan lele yang terinfeksi *A.hydropilla*, yang ditandai dengan perubahan hematologis darah ikan lele mendekati sehat kembali. Kesembuhan ikan lele yang

terinfeksi *A.hydropilla* ini, melalui mekanisme antibakteri dari madu hutan asal kefa berupa kandungan gula yang tinggi, pH madu yang bersiifat asam dan kandungan senyawa antibakteri yang dimiliki oleh madu (Salosso, 2019c: Yuliati, 2017: Hegazi, et al, 2017). Selain mekanisme antibakteri madu, juga mekanisme antibakteri dari senyawa aktif yang terkandung dalam patikan kerbau.

b. Nilai Hematokrit

Nilai Hematokrit merupakan persentase sel darah merah (eritrosit) yang mengendap dengan volume darah seluruhnya. Gambaran nilai hematokrit ikan lele yang sehat, sakit dan setelah pemberian kombinasi madu dan *E.hirta* dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Rata-rata nilai Hematokrit (%) ikan lele yang sehat, sakit dan setelah pengobatan dengan kombinasi madu dan *E.hirta*

Pada Gambar 6, menunjukkan bahwa rata-rata hematokrit tertinggi juga ditemukan pada saat ikan dalam keadaan sehat, yaitu sebesar 32%, dan rata-rata hematokrit mengalami penurunan pada saat ikan sakit. Penurunan jumlah hematokrit ini tetap berlanjut pada ikan yang tidak diobati, sedangkan pada ikan yang mendapat pengobatan jumlah hematokritnya meningkat kembali. perbandingan kombinasi madu dan patikan kerbau yang mampu menaikkan rata-rata hematokrit ikan setelah pengobatan yang paling tinggi adalah pada perbandingan 2 :1 (lebih banyak madunya) yaitu sebesar ...%. namun secara statistik, tidak ada pengaruh antara perlakuan A, B dan C ($F_{hitung} (0,171) < F_{tabel}$

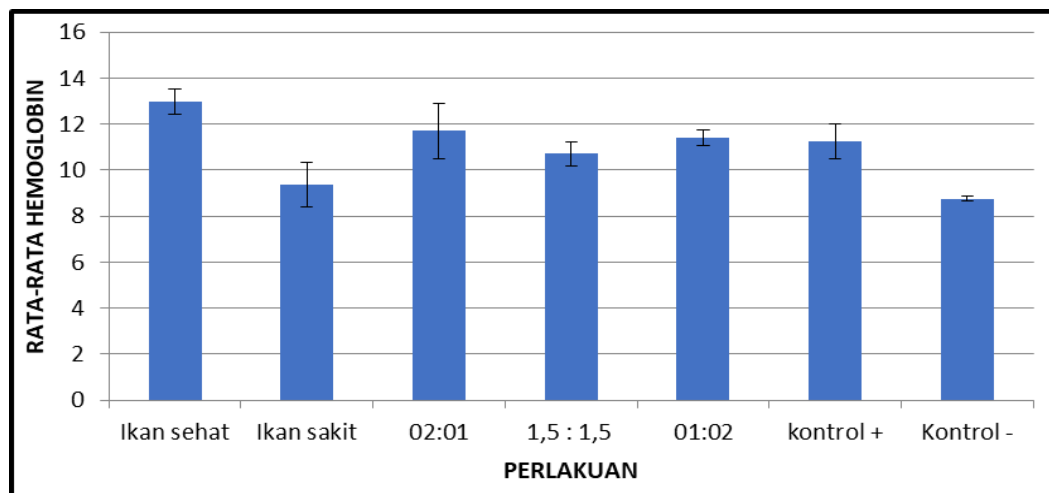
(2.400). Dengan demikian semua perbandingan madu dan *E.hirta* yang diujikan dapat memberi pengaruh yang sama terhadap hematokrit ikan lele.

Nilai hematokrit ikan yang sehat yang ditemukan pada penelitian ini, lebih rendah dari kisaran hematokrit ikan normal yang dikemukakan oleh Smith (2007), yaitu berkisara 35% - 40%. Hal ini dapat terjadi karena nilai hematokrit dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya pengaruh lingkungan, jenis kelamin, spesies dan umur ikan yang diambil darahnya.

Perbedaan hematokrit ikan yang sehat dengan ikan yang terinfeksi bakteri menunjukkan bahwa adanya pengaruh infeksi bakteri terhadap perubahan nilai hematokrit ikan. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Wedemeyer and Yasukate (1977) dalam Hendriawan (2009), bahwa menurunnya kadar hematokrit dapat dijadikan petunjuk mengenai adanya infeksi pada ikan.

c. Haemoglobin

Kadar Haemoglobin dalam darah ikan yang sehat, sakit dan yang telah diobati, juga menjadi salah satu parameter yang diamati dalam penelitian ini. Gambaran nilai haemoglobin ikan lele yang sehat, sakit dan yang telah diobati dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Rata-rata haemoglobin (gr/100ml) ikan Lele yang sehat, sakit dan setelah pengobatan dengan kombinasi madu dan *E.hirta*

Gambar 7 menunjukkan bahwa rata-rata haemoglobin pada ikan sehat adalah 12,97 gr/dL, dan pada saat ikan terinfeksi bakteri *A.hydropilla* rata-rata haemoglobin mengalami penurunan menjadi 9,37 gr/dL. Penurunan hemoglobin

tetap terjadi pada ikan yang terinfeksi bakteri dan tidak diberi pengobatan (kontrol +) yaitu menjadi 8,76 gr/dL. Ikan pada perlakuan A,B dan C yang mendapat pengobatan dengan perendaman kombinasi madu dan *E.hirta* pada berbagai perbandingan mengalami peningkatan haemoglobin, namun tidak berpengaruh nyata antara perlakuan A, B dan C ($F_{hitung} (0,351) < F_{tabel} (1,253)$). dengan demikian semua perbandingan madu dan *E.hirta* yang diujikan dapat memberi pengaruh yang sama terhadap heomoglobin ikan lele.

Hemoglobin yang terdapat dalam eritrosit, memiliki peran sebagai pengikat oksigen sehingga sangat menentukan kemampuan metabolisme ikan (Dewantoro, 2019). Selanjutnya menurut Pahmi dkk (2019), rendahnya kadar hemoglobin pada ikan, menyebabkan jumlah oksigen dalam darah rendah, yang berlanjut dengan laju metabolisme yang menurun dan energi yang dihasilkan rendah. Hal ini menyebabkan ikan kehilangan nafsu makan sebagai salah satu ciri tingka laku ikan sakit (Stoskopf, 1993).

Pada ikan yang terinfeksi bakteri *A.hydropilla* dan mendapat pengobatan dengan kombinasi madu dan *E.hirta* terjadi peningkatan haemoglobin karena tidak terjadi lagi lisis sel darah merah yang diakibatkan oleh toksin yang dihasilkan oleh bakteri *A.hydropilla*. Dengan demikian sel darah merah akan meningkat dan diikuti dengan peningkatan haemoglobin. Peningkatan Haemoglobin pada ikan lele yang diberi pengobatan dengan kombinasi madu dan *E.hirta* menunjukkan bahwa kombinasi madu dan *E.hirta* memiliki aktivitas antibakteri yang dapat mematikan bakteri *A.hydropilla*.

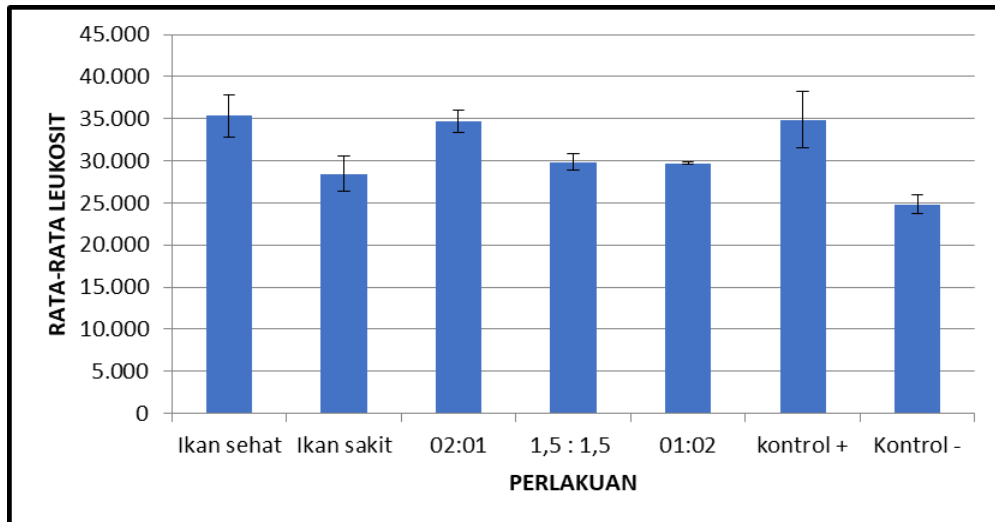
Aktivitas antibakteri madu, dapat disebabkan oleh beberapa mekanisme seperti kadar gula yang tinggi, tingkat keasaman madu yang tinggi (Johnstond *et al.*, 2018; Carina *et al.*, 2014; Nadhilla, 2014), serta adanya senyawa organik yang bersifat antibakteri (Carina *et al.*, 2014). Selain itu juga karena adanya senyawa radikal hidrogen peroksida (H_2O_2) yang bersifat dapat membunuh mikroorganisme patogen (Johnstond *et al.*, 2018; Nadhilla, 2014; Carina *et al.*, 2014).

Aktivitas antibakteri yang dimiliki madu, bersinergi dengan aktivitas antibakteri *E.hirta*. *E.hirta* memiliki aktivitas antibakteri yang dimungkinkan karena adanya senyawa aktif yang dikandung. patikan kerbau mengandung

fenolik, flavanoid, triterpenoid dan tannin (Salosso, et al 2021). Fenol merupakan senyawa yang memiliki cincin aromatik dan satu atau dua gugus hidroksil. Senyawa fenol yang memiliki gugus hidroksil lebih dari dua disebut polifenol seperti tanin dan flavanoid. Fenol dan turunannya (Flavanoid dan Tanin) bekerja dengan mengendapkan protein sel sehingga akan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri serta merusak membran sitoplasma (Haryati, et al, 2015). Triterpenoid bekerja dengan merusak protein trans membran di membran luar dinding sel bakteri sehingga menyebabkan terganggunya permeabilitas dinding sel bakteri (Cowan, 1999)

d. Leukosit

Leukosit sakit, sehat dan yang telah diobati pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Rata-rata haemoglobin (gr/100ml) ikan Lele yang sehat, sakit dan setelah pengobatan dengan kombinasi madu dan *E.hirta*

Leukosit merupakan sel darah yang berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh ikan terhadap infeksi patogen. Hal ini dapat terlihat pada peningkatan leukosit ikan lele pada saat diinfeksi dengan bakteri *A.hydropilla* yaitu dari 28.467 sel/mm³ meningkat menjadi 35.870 sel/mm³ (Gambar 8). Demikian pula pada penelitian Rosidah et al (2019)a, juga terjadi peningkatan leukosit pada ikan lele sangkuriang yang terinfeksi *A.hydropilla* dari 70.020 sel/mm³ meningkat menjadi 103.300 sel/mm³. Hal yang sama juga ditemukan pada ikan mas yang diinfeksi dengan bakteri *A.hydropilla* yaitu dari 572

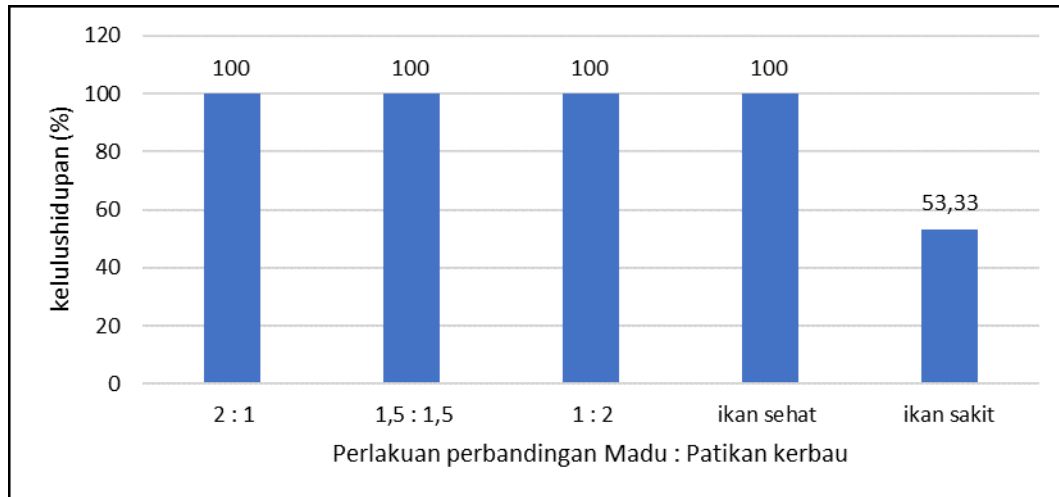
sel/mm³ menjadi 702.000 sel/mm³ (Salosso, et al 2020) dan ikan nila yang terinfeksi bakteri *Flavobacterium columnare* yaitu dari 19.500 sel/mm³ menjadi 29.500 sel/mm³ (Sebastiao, et al, 2011).

Pada ikan yang mendapat pengobatan (perlakuan A, B dan C), terjadi penurunan leukosit pada semua perlakuan, namun masih lebih tinggi dari leukosit ikan sehat (Gambar 1). Secara statistik, tidak ada pengaruh antara perlakuan A, B dan C ($F_{hitung} (0,171) < F_{tabel} (2,400)$). Dengan demikian semua perbandingan madu dan *E.hirta* yang diujikan dapat memberi pengaruh yang sama terhadap Leukosit ikan lele. Perlakuan pengobatan dengan kombinasi madu dan patikan kerbau yang memiliki aktivitas antibakteri akan menyebabkan kematian bakteri *A.hydropilla* yang menyerang ikan lele sehingga ikan akan sembuh. Selain itu, kombinasi madu dan *E.hirta* akan membantu sistem pertahanan tubuh ikan dalam melawan infeksi bakteri.

Aktivitas antioksidan *E.hirta* telah dibuktikan oleh Jeba et al (2018). Sedangkan aktivitas imunostimulan madu telah dibuktikan oleh Rosidah dkk (2019)a, yang dapat meningkatkan system kekebalan tubuh ikan mas Koi terhadap serangan bakteri *A.hydropilla* yang diberikan lewat pemberian pakan pada dosis 200 mL/kg. Fuandila et al (2019) juga telah membuktikan kemampuan imunostimulan madu pada udang fannamei yang ditantang dengan bakteri *Vibrio parahamoyliticus*. Demikian pula Orsi et al (2017) telah membuktikan imunostimulan ekstrak etanol dari propolis lebah *Apis mellifera* asal Brazil terhadap ikan nila yang ditantang dengan bakteri *A.hydropilla*.

2. Sintasan Ikan Lele

Dengan kemampuan kombinasi madu dan patikan kerbau menyembuhkan ikan lele yang terserang *A.hydropilla*, diharapkan dapat meningkatkan sintasan ikan lele setelah diuji tantang dengan bakteri patogen *A.hydropilla*. Rata-rata Sintasan (kelulushidupan) ikan Lele selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Rata-rata Kelulushidupan ikan Lele pada akhir penelitian.

Gambar 9, menunjukkan bahwa pada semua perlakuan yang diberi pengobatan dengan kombinasi madu dan *E.hirta* tidak terjadi kematian ikan karena sintasannya mencapai 100%. Kematian ikan hanya terjadi pada perlakuan yang tidak diberi pengobatan yaitu sintasannya hanya 33%. Tingginya sintasan ikan lele yang dihasilkan setelah diberi kombinasi Madu dan *E.hirta*, menunjukkan bahwa kombinasi madu dan *E.hirta* dapat menyembuhkan ikan lele yang terinfeksi bakteri *A.hydropilla*. Kemampuan kombinasi madu dan *E.hirta* menyembuhkan ikan lele yang terinfeksi bakteri, dimungkinkan melalui mekanisme antibakteri, antioksidan, dan imunostimulan dari madu dan *E.hirta*. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Gupta et al (2018) bahwa *E.hirta* memiliki aktivitas antibakterial, antiinflamasi dan antioksidan. Demikian pula yang dikatakan Dewi dkk (2017), bahwa madu memiliki efek antibakteri, antioxindant, antiinflamasi dan meningkatkan system imun. Kedua bahan ini saling bersinergi dalam menyembuhkan ikan lele.

Kematian yang tinggi pada ikan lele yang tidak diberi pengobatan menunjukkan bahwa bakteri *A.hydropilla* pathogen, sehingga menyebabkan kematian pada ikan lele. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Orsi, et al, (2017), bahwa *Aeromonas hydropilla* merupakan salah satu bakteri yang sering menyerang ikan budidaya air tawar, dan yang dapat menyebabkan kematian mencapai 100% (Rosidah dkk, 2019b). selanjutnya Lukistyowati dan Kurniasi (2011), menjelaskan bahwa *A. hydropilla* sering menyebabkan wabah penyakit

dengan tingkat kematian yang tinggi mencapai 80% - 100% dalam periode waktu yang singkat yaitu 1-2 minggu. Ciri-ciri ikan mas yang terserang penyakit MAS adalah perubahan warna kulit, lesi pada kulit, pendarahan dan memar atau borok pada otot (Susandi dkk, 2017; Latih dan Najlah, 2013;).

3. Perubahan Morfologi Ikan Lele

Untuk mengetahui gejala ikan lele terserang bakteri *A. hydrophilla*, maka dilakukan pengamatan secara morfologi terhadap ikan setelah ditantang dengan bakteri *A. hydrophilla* pada kepadatan 10^6 sel/ml. Pengamatan secara morfologi ini dilakukan pada saat setelah uji tantang hingga 12 hari setelah perendaman dengan Kombinasi madu dan patikan kerbau. Hasil pengamatan perubahan morfologi ikan Lele secara lengkap dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10 Morfologi Ikan Lele. A = Ikan sehat, B = Ikan yang Terinfeksi Bakteri *A. hydrophilla*, C = ikan yang telah sembuh (setelah pengobatan)

Gambar 10 A, memperlihatkan bahwa gejala klinis pada saat ikan dalam kondisi normal yaitu ikan berwarna cerah dan sisik mengkilat dan tidak ada yang terlepas. Namun, pada saat ikan lele diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* mulai menunjukkan gejala terinfeksi bakteri yaitu adanya luka pada bagian punggung

bekas suntikkan, munculnya warna merah pada kulit dan sisik terlepas (Gambar 10 B). Gejala klinik yang sama juga ditemukan pada beberapa ikan air tawar yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* seperti pada ikan lele sangkuriang (Rosidah dkk, 2019a), pada ikan lele dumbo (Triyaningsih dkk, 2014), pada ikan mas (Dianti dkk, 2013) dan ikan gurami (Susandi dkk, 2017), ikan nila (Maisyaroh dkk, 2018).

Timbulnya gejala klinis pada luka dan pendarahan pada tubuh ikan disebabkan oleh toksin yang disebabkan oleh *A. hydrophila*, salah satunya adalah toksin hemolisin. Sebagaimana menurut Pratama *et al.* (2017) timbulnya warna kemerahan pada permukaan tubuh ikan diakibatkan oleh aktivitas enzim hemolisin yang dihasilkan bakteri *A. hydrophila* dengan target memecah sel-sel darah merah, sehingga sel keluar dari pembuluh darah dan menimbulkan warna kemerahan pada permukaan kulit. Dijelaskan lebih lanjut oleh Sartika (2011), bahwa enzim-enzim ini dapat merusak permukaan tubuh yang terinfeksi dikarenakan pada jaringan otot dan saluran darah terdapat banyak protein.

Setelah ikan menunjukkan gejala terinfeksi bakteri, ikan segera diberi pengobatan dengan menggunakan madu kefa dengan metode perendaman. Setelah ikan diobati selama 10 hari berturut-turut, ikan mulai menunjukkan respon yang baik ketika diberi pakan, luka yang terdapat pada tubuh ikan perlahan-lahan membaik, luka pada tubuh ikan hilang dan warna ikan kembali cerah (Gambar 10c).

4. Hasil Uji Pencegahan

A. Ikan Lele

1. Hematologi Ikan Lele selama penelitian.

Untuk mengetahui pengaruh penggunaan kombinasi madu dan patikan kerbau dalam mencegah serangan bakteri *A. hydrophila* pada ikan Lele, maka dilakukan pengamatan hematologi ikan lele setelah pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau 15 dan 30 hari setelah perendama (sebelum infeksi) dan setelah infeksi (1 dan 15 hari setelah infeksi).

Total Eritrosit

Pola perubahan total eritrosit pada ikan Lele setelah pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau 15 dan 30 hari setelah perendaman (sebelum infeksi)

dan setelah infeksi (3 dan 15 hari setelah infeksi). dapat dilihat pada Tabel 9 dan Lampiran...

Tabel 9. Pola perubahan total eritrosit pada ikan Lele setelah pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau

Waktu pengamatan	Perbandingan 2 madu : 1 <i>E.hirta</i>	Perbandingan 1 madu : 1 <i>E.hirta</i>	Perbandingan 1 madu : 2 <i>E.hirta</i>	ikan sakit
sebelum perendaman	2.833.333 ±305.505	2.833.333±305.505	2.833.333±305.505	2.833.333±305.505
15 hari setelah perendaman	2.733.333±152.753	2.866.667±611.010	2.733.333±602.771	
30 hari setelah perendaman	2.733.333±208.167	3.300.000±264.575	2.666.667±450.925	
3 hari setelah infeksi	2.600.000±500.000	2.533.333±503.322	2.233.333±802.081	2.233.333±208.166
15 hari setelah infeksi	3.066.667±251.661	2.600.000±754.983	2.133.333±737.111	1.733.333±152.752

Pada Tabel 9, terlihat bahwa 15 hari dan 30 hari setelah perendaman dan sebelum infeksi, telah terjadi peningkatan total eritrosit pada ikan lele dan setelah diinfeksi dengan bakteri terjadi penurunan eritrosit dan meningkat kembali setelah 15 hari setelah infeksi. Sedangkan pada ikan yang tidak direndam dengan kombinasi madu dan patikan kerbau dan diinfekasikan bakteri terjadi penurunan sel darah merah. Adanya peningkatan total eritrosit pada perlakuan yang direndam kombinasi madu dan patikan kerbau karena adanya senyawa aktif yang terkandung dalam kombinasi tersebut. Sebagaimana yang dikemukakan oleh DeNoon, (2004), bahwa flavanoid dapat meningkatkan kerja organ-organ penghasil darah sehingga produksi darah dapat ditingkatkan.

Peningkatan sel darah merah pada semua perlakuan yang direndam dengan kombinasi madu dan patikan kerbau pada hari ke 15 setelah infeksi, menunjukkan bahwa ikan mulai sembuh Kembali. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi madu dan patikan kerbau dapat meningkatkan system imun ikan sehingga mampu melawan bakteri yang masuk kedalam tubuh ikan. Sebaliknya pada ikan yang tidak direndam dengan kombinasi madu dan patikan kerbau, terjadi penurunan sel darah merah yang menunjukkan bahwa tetap terjadi perusakan sel darah merah akibat toksin bakteri *A.hydropilla*.

Kemampuan ikan lele melawan serangan bakteri pada perlakuan yang diberi kombinasi madu dan patikan kerbau dapat terjadi karena adanya

mekanisme antibakteri yang dimiliki madu dan patikan kerbau yang saling betrsinergis. Flavonoid memiliki aktivitas antiradang dan antimikroba (Wikipedia, 2006) sehingga dapat menghambat darah yang keluar dari pembuluhnya dan menghambat aktivitas bakteri dalam memproduksi toksin (Angka *et al.*, 2004).

Nilai Haemoglobin

Pola perubahan haemoglobin pada ikan Lele setelah pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau 15 dan 30 hari setelah perendaman (sebelum infeksi) dan setelah infeksi (3 dan 15 hari setelah infeksi). dapat dilihat pada Tabel 10 dan Lampiran...

Tabel 10. Pola perubahan haemoglobin pada ikan Lele setelah pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau

Waktu pengamatan	Perbandingan 2 madu : 1 <i>E.hirta</i>	Perbandingan 1 madu : 1 <i>E.hirta</i>	Perbandingan 1 madu : 2 <i>E.hirta</i>	ikan sakit
sebelum perendaman	12,97 ± 0,57	12,97 ± 0,57	12,97 ± 0,57	12,97 ± 0,57
15 hari setelah perendaman	12,3 ± 1,06	12,6 ± 1,01	12,9 ± 0,62	
30 hari setelah perendaman	12,0 ± 1,64	13,7 ± 0,26	12,93 ± 1,07	
3 hari setelah infeksi	9,83 ± 1,62	11,6 ± 1,39	10,83 ± 1,12	9,37 ± 0,99
15 hari setelah infeksi	10,63 ± 0,59	12,4 ± 2,01	11,93 ± 0,45	8,76 ± 0,12

Gambar 10 memperlihatkan bahwa pola perubahan haemoglobin pada ikan yang diberi kombinasi madu dan patikan kerbau sama dengan perubahan eritrosit. Hal ini terjadi seiring dengan meningkatnya eritrosit pada perlakuan tersebut. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Bijanti (2005) bahwa fungsi utama eritrosit adalah transfor oksigen, dimana oksigen tersebut terikat oleh hemoglobin yang terdapat dalam eritrosit. Pada ikan yang sehat jumlah eritrositnya masih tinggi sehingga mempengaruhi kadar hemoglobinnya juga tinggi, namun pada ikan yang sakit jumlah eritrositnya menurun sehingga hemogloninnya juga menurun.

Total Leukosit

Pola perubahan leukosit pada ikan Lele setelah pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau 15 dan 30 hari setelah perendaman (sebelum infeksi) dan setelah infeksi (3 dan 15 hari setelah infeksi). dapat dilihat pada Tabel 11 dan Lampiran...

Tabel 11. Pola perubahan total Leukosit pada ikan Lele setelah pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau

Waktu pengamatan	Perbandingan 2 madu : 1 <i>E.hirta</i>	Perbandingan 1,5 madu : 1,5 <i>E.hirta</i>	Perbandingan 1 madu : 2 <i>E.hirta</i>	ikan sakit
sebelum perendaman	28.467 ± 2.119,75	28.467 ± 2.119,75	28.467 ± 2.119,75	28.467 ± 2.119,75
15 hari setelah perendaman	28.733 ± 2.692,75	29.700 ± 2.443,36	28.467 ± 989,949	
30 hari setelah perendaman	28.467 ± 2.119,139	30.333 ± 1.670,33	29.033 ± 642,910	
3 hari setelah infeksi	29.067 ± 1.858,315	32.000 ± 2.007,49	32.067 ± 2.122,106	34.870± 3.315,117
15 hari setelah infeksi	28.867 ± 16.047,71	28.467 ± 2.119,75	27.767± 929,157	35.333± 2.550,163

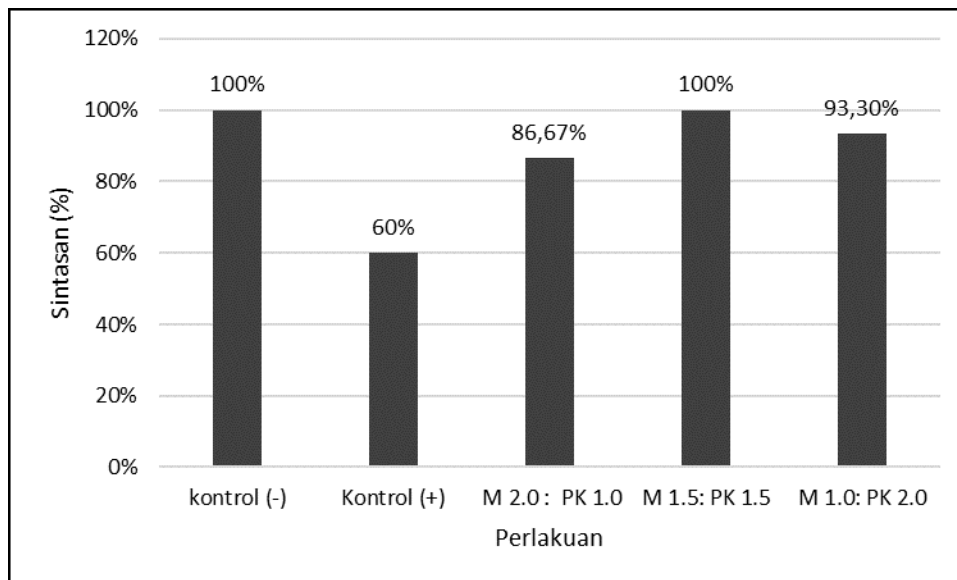
Seperti halnya yang terjadi pada total eritrosit, pada total leukosit juga terjadi peningkatan setelah pemberian daun miana dan sebelum dilakukan infeksi bakteri (Gambar 5.18). Hal ini dapat terlihat pada total leukosit yang lebih tinggi pada konsentrasi 60%, 50% dan 40% dari kontrol akuades dan kontrol bakteri (ikan sehat) sebelum infeksi. Adanya peningkatan total leukosit pada perlakuan yang diberi perasan daun miana yang dicampur madu karena adanya kandungan flavonoid dalam perasan miana tersebut. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Angka *et al.*, (2004) bahwa peningkatan jumlah sel darah putih menunjukkan bahwa sistem limfe yang diaktifkan oleh flavonoid dapat meningkatkan produksi sel darah putih. Demikian pula yang dikemukakan oleh DeNoon, (2004). Bahwa flavanoid dapat meningkatkan kerja organ-organ penghasil darah sehingga produksi darah dapat ditingkatkan termasuk sel leukosit.

Pada kontrol bakteri terjadi peningkatan sejak hari ketiga sampai hari kelima belas setelah infeksi. Sedangkan pada perlakuan A, B dan C terjadi peningkatan sel darah putih pada hari 15 dan 30 setelah perendaman dan peningkatan tetap terjadi pada 3 hari setelah infeksi. Namun pada hari 15 setelah

infeksi terjadi penurunan sel darah putih pada perlakuan A, B dan C. Hal ini dapat terjadi karena pada perlakuan yang direndam kombinasi madu dan patikan kerbau, memiliki jumlah leukosit yang lebih tinggi sebelum infeksi sehingga daya tahan tubuh lebih baik saat melawan infeksi bakteri. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Wahjuningrum (2007) bahwa leukosit merupakan sel yang berperan penting dalam sistem pertahanan seluler tubuh, sehingga peningkatan leukosit dapat meningkatkan daya tahan tubuh ikan.

2. Sintasan Ikan Lele

Rata-rata sintasan ikan lele setelah pemberian kombinasi madu dan *E.hirta* kemudian diinfeksi bakteri *A.hydropilla* pada kepadatan 10^6 cfu/ml dan dipelihara selama 15 hari dapat dilihat pada Gambar 11 dan Lampiran .



Gambar 11. Sintasan ikan Lele pada akhir penelitian Pencegahan.

Gambar 11, memperlihatkan bahwa sintasan ikan lele pada kontrol negatif mencapai 100%, dan pada kontrol positif sintasannya hanya sebesar 60 %. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *A.hydropilla* yang disuntikkan pada ikan lele memiliki patogenesitas yang terhadap ikan Lele. Pada semua perlakuan yang diberi perendaman kombinasi madu dan *E.hirta*, sintasan tertinggi dicapai pada perlakuan perendaman M 1 : PK 1 kemudian perlakuan perbandingan M 1 : PK 2 dan paling rendah perlakuan perbandingan M 2 : 1 PK.

B. Ikan kerapu Cantang

1. Hematologi ikan kerapu cantang

Eritrosit

Pola perubahan total eritrosit pada ikan kerapu cantang setelah pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau 15 hari setelah perendaman (sebelum infeksi) dan setelah infeksi (5 hari setelah infeksi). dapat dilihat pada Tabel 12 dan Lampiran...

Tabel 12. Pola perubahan total eritrosit pada ikan Kerapu Cantang setelah pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau

Waktu pengamatan	Perbandingan 2 madu : 1 <i>E.hirta</i>	Perbandingan 1 madu : 1 <i>E.hirta</i>	Perbandingan 1 madu : 2 <i>E.hirta</i>
sebelum perendaman	1.650.000 ±90.000	1.650.000 ±90.000	1.650.000 ±90.000
26 hari setelah perendaman	1.700.000±100.000	1.800.000±100.000	1.966.667±152.753
5 hari setelah infeksi	1.333.333±152.753	1.400.000±200.000	1.700.000±100.000

Pada Tabel 12, terlihat bahwa rata-rata eritrosit ikan kerapu cantang pada semua perlakuan, meningkat setelah perendaman dengan kombinasi madu dan patikan kerbau selama 26 hari dan mengalami penurunan pada setelah diinfeksi bakteri. Penurunan sel darah merah pada ikan kerapu cantang yang terinfeksi bakteri *V.alginolitycus* disebabkan karena adanya enzim-enzim eksotoksin yang dihasilkan oleh Bakteri *V. alginolitycus* yang bersifat virulen seperti hidrolitik dan hemolitik (Jun and woo, 2003). Enzim hemolitik yang dihasilkan oleh bakteri, dapat melisis sel darah merah sehingga sel darah merah ikan yang terinfeksi bakteri mengalami penurunan. Lebih lanjut Balebona et al., (1998), mengatakan bahwa enzim hidrolitik yang diproduksi oleh *V.alginolitycus* bertanggungjawab atas borok dan kerusakan jaringan inang.

Penurunan sel darah merah paling tinggi terjadi pada perlakuan A (perbandingan 2 Madu : 1 Patikan kerbau) yaitu turun sampai 1.333.333 sel/mm³, diikuti oleh perlakuan A (perbandingan 1 Madu : 1 Patikan kerbau) yaitu 1.400.000 sel/mm³ dan paling rendah penurunan eritrosit terjadi pada perlakuan C (perbandingan 1 Madu : 2 Patikan kerbau) yaitu turun hanya sampai 1.700.000 sel/mm³. Hal ini menunjukkan bahwa pada ikan kerapu cantang

yang diberi perlakuan perendaman kombinasi madu dan patikan kerbau pada perbandingan yang lebih banyak patikan kerbaunya, tidak terjadi infeksi berat karena sel darah merahnya tidak banyak yang lisis akibat toksin dari bakteri *V.alginolitycus*.

Total eritrosit ikan kerapu cantang yang sehat dan belum direndam dengan kombinasi madu dan patikan kerbau pada penelitian ini (kondisi sehat) adalah 1.650.000 sel/mm³. Nilai ini lebih tinggi dari rata-rata ikan kerapu tikus yang sehat yang ditemukan Dangeubun and Metungun (2017) yaitu 1.113.000 sel/mm³. Perbedaan ini menunjukkan variasi jumlah eritrosit yang terkandung pada ikan kerapu yang berbeda jenis, sebagaimana yang dikemukakan oleh Ejraei *et al.*, (2015) dan Wateska (et al, 2021), bahwa Jumlah eritrosit bergantung pada jenis ikan, umur, nutrisi dan kondisi lingkungan.

Leukosit

Pola perubahan total Leukosit pada ikan kerapu cantang setelah pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau 15 hari setelah perendaman (sebelum infeksi) dan setelah infeksi (5 hari setelah infeksi). dapat dilihat pada Tabel 13 dan Lampiran...

Tabel 13. Pola perubahan total Leukosit pada ikan Kerapu Cantang setelah pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau

Waktu pengamatan	Perbandingan 2 madu : 1 <i>E.hirta</i>	Perbandingan 1 madu : 1 <i>E.hirta</i>	Perbandingan 1 madu : 2 <i>E.hirta</i>
sebelum perendaman	100.000 ±9.165,15	100.000 ±9.165,15	100.000 ±9.165,15
26 hari setelah perendaman	1.27.666,67±3.214,55	130.666,67±17.897,86	138.666,67±3.785,94
5 hari setelah infeksi	160.000±21.517,44	153.000±4.358,9	144.000±7.000

Tabel 13, menunjukkan bahwa pada ikan yang sehat dan belum direndam dengan kombinasi madu dan patikan kerbau, rata-rata leukositnya sebesar 100.000 sel/mm³. Jumlah leukosit meningkat setelah ikan direndam dengan kombinasi madu dan patikan kerbau pada semua perlakuan. Pada saat ikan diinfeksi bakteri, terjadi peningkatan sel darah putih juga pada semua perlakuan. Peningkatan paling tinggi terjadi pada perlakuan A (perbandingan 2 M : 1 PK) yaitu naik sampai 160.000 sel/mm³ dan paling rendah peningkatan sel darah

putihnya terjadi pada perlakuan C ((perbandingan 1 M : 2 PK) yaitu naik hanya 144.000 sel/mm³.

Peningkatan jumlah leukosit pada ikan yang terinfeksi juga terjadi pada ikan kerapu tikus yang terinfeksi *V.alginolyticus* dari 112.240 sel/mm³ meningkat menjadi 136.067 sel/mm³ (Dangeubun and Metungun, 2017). Peningkatan leukosit pada ikan yang sakit merupakan salah satu reaksi tubuh dalam menghadapi serangan bakteri. Leukosit berperan dalam sistem pertahanan tubuh ikan terhadap infeksi patogen. Oleh karena itu pada saat ikan terinfeksi bakteri, jumlah leukositnya meningkat. Witeska et al (2021) mengatakan bahwa, banyak faktor yang dapat mempengaruhi jumlah leukosit pada ikan seperti jenis kelamin, musim, kebiasaan makan, stres, polusi air dan penyakit.

Perendaman dengan kombinasi madu dan patikan kerbau akan membantu sistem pertahanan tubuh ikan dalam melawan infeksi bakteri. Rosidah et al, (2019) mengatakan bahwa berbagai kandungan madu saling mendukung untuk meningkatkan sistem kekebalan ikan, sehingga berfungsi sebagai imunostimulan. Demikian pula patikan kerbau (*E.hirta*) yang merupakan jenis rumput yang mengandung senyawa kimia yang memiliki efek farmakologis sebagai anti-inflamasi, antioksidan dan antibacterial (Kumar et al, 2010; Maretta, et al, 2019).

Haemoglobin

Pola perubahan Haemoglobin pada ikan kerapu cantang setelah pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau 15 hari setelah perendaman (sebelum infeksi) dan setelah infeksi (5 hari setelah infeksi). dapat dilihat pada Tabel 14 dan Lampiran...

Tabel 14. Pola perubahan Haemoglobin pada ikan Kerapu Cantang setelah pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau

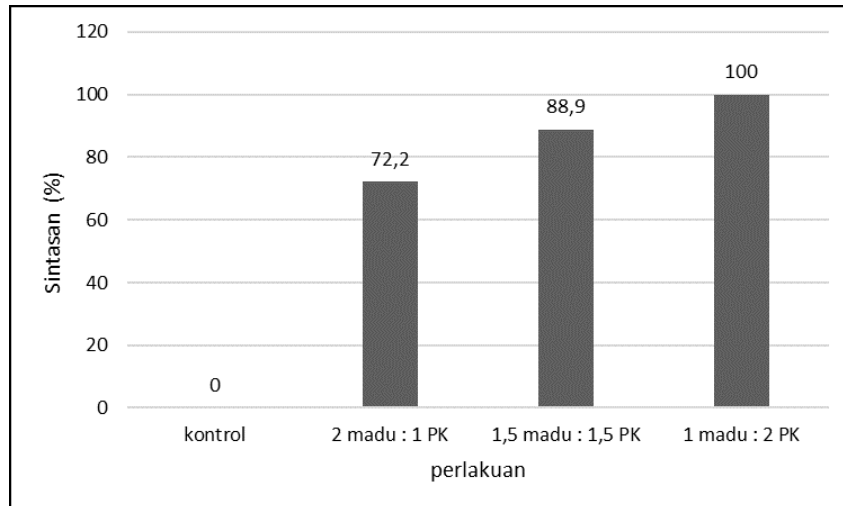
Waktu pengamatan	Perbandingan 2 madu : 1 <i>E.hirta</i>	Perbandingan 1 madu : 1 <i>E.hirta</i>	Perbandingan 1 madu : 2 <i>E.hirta</i>
sebelum perendaman	5,57 ± 0,15	5,57 ± 0,15	5,57 ± 0,15
26 hari setelah perendaman	6,37 ± 0,59	6,8 ± 0,10	7,13 ± 0,50
5 hari setelah infeksi	4,10 ± 0,36	4,63 ± 0,61	5,27 ± 0,31

Rata-rata haemoglobin yang ditemukan pada saat ikan dalam keadaan sehat (awal pengamatan), yaitu 5,57 gr/dL dan mengalami peningkatan setelah direndam dengan kombinasi madu dan patikan kerbau pada semua perlakuan. Namun mengalami penurunan saat ikan terserang bakteri *V.alginolyticus* pada semua perlakuan yaitu perlakuan A = 4,1 gr/dL, Perlakuan B = 4,63 gr/dL dan perlakuan C = 5,27 gr/dL. Penurunan Hb terendah terjadi pada perlakuan C, hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan C, sel darah merah ikan tidak terlalu banyak yang mengalami lisis sehingga Hbnya tidak turun banyak.

Kadar Hemoglobin pada ikan sangat berhubungan dengan jumlah sel eritrosit pada ikan karena hemoglobin terdapat pada eritrosit. Eritrosit yang berkurang pada ikan yang sakit akibat terjadinya hemolisis darah oleh toksin bakteri mengakibatkan kadar haemoglobin ikan juga berkurang. Dengan berkurangnya kadar Hb ikan menyebabkan kadar Oksigen dalam darah berkurang (Pahmi dkk, 2019) dan laju metabolisme ikan menurun sehingga energi yang dihasilkan juga menurun dan ikan kehilangan nafsu makan sebagai salah satu ciri tingka laku ikan sakit. Peningkatan Haemoglobin pada ikan kerapu cantang yang diberi perendaman dengan kombinasi madu dan patikan kerbau menunjukkan bahwa kombinasi madu dan patikan kerbau dapat membantuh memproduksi sel-sel darah merah pada ikan.

3. Sintasan Ikan kerapu Cantang

Rata-rata sintasan ikan Kerapu cantang setelah pemberian kombinasi madu dan E.hirta kemudian diinfeksi bakteri *V.alginolyticus* pada kepadatan 10^7 sel/mm³ dan dipelihara selama 5 hari dapat dilihat pada Gambar 12 dan Lampiran .



Gambar 12. Sintasan ikan Kerapu cantang pada akhir penelitian Pencegahan.

Pada Gambar 12, terlihat bahwa sintasan yang tertinggi didapat pada perlakuan dengan perbandingan 1 madu dan 2 patikan kerbau yaitu mencapai 100%, dan paling rendah pada perlakuan perbandingan 2 madu : 1 patikan kerbau. Jika dibandingkan dengan control ikan sehat yang sintasan 0 atau ikan mati semua, menunjukkan bahwa perendaman madu dan patikan kerbau pada semua perbandingan dapat meningkatkan sintasan ikan kerapu cantang.

4. Morfologi ikan kerapu cantang

Perubahan morfologi ikan kerapu cantang selama penelitian dapat dilihat dari morfologi ikan pada saat ikan dalam kondisi sehat, setelah 26 hari perendaman kombinasi madu dan patikan kerbau, dan 5 hari setelah diinfeksi bakteri *V.alginolitycus* (Gambar 15).

Ikan Sehat (kondisi awal)



Ikan sesudah 26 hari perendaman



Ikan setelah 5 hari diinfeksi bakteri



Gambar 15. Morfologi ikan kerapu cantang selama penelitian

Gambar 15, memperlihatkan bahwa morfologi pada saat ikan dalam kondisi normal yaitu ikan berwarna cerah dan sisik mengkilat dan tidak ada yang terlepas. Setelah 26 perendaman dengan kombinasi madu dan patikan kerbau, ikan menunjukkan perubahan morfologi semakin sehat. Namun, pada saat ikan kerapu cantang diinfeksi bakteri *V.alginolitycus* mulai menunjukkan gejala terinfeksi bakteri yaitu adanya luka dan hemoragik pada kulit. Gejala klinik yang sama juga ditemukan pada beberapa ikan kerapu lain yang terserang *V.alginolitycus*. Seperti pada ikan kerapu cantang di Bali (Yuhana et al, 2019), ikan Cobia yang dibudidayakan di Taiwan (Rajan et al, 2001), dan ikan kakap (lates carcarifer) di India (Sharma et al, 2013).

Timbulnya gejala klinis pada luka dan pendarahan pada tubuh ikan kerapu cantang disebabkan oleh toksin yang dihasilkan oleh *V.alginoliticus*, seperti hidrolitik dan hemolitik (Jun and woo, 2003). Enzim hidrolitik yang diproduksi oleh *V.alginolitycus* bertanggungjawab atas borok dan kerusakan jaringan inang (Balebona et al., 1998). Sedangkan enzim hemolitik yang dihasilkan oleh bakteri vibrio (Zhang, et al, 2001), dapat melisis sel darah merah, sehingga ikan mengalami pendarahan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Kombinasi madu dan *E.hirta* dapat bersifat antibakteri terhadap bakteri *A.hydropilla* dan *V.alginolitycus* yang merupakan bakteri pathogen pada ikan pada semua perbandingan madu dan *E.hirta* yang di cobakan
2. Aktivitas antibakteri madu berkurang karena pengenceran (terjadi peningkatan jumlah air, penurunan kadar gula dan peningkatan pH), namun aktivitas antibakterinya dapat ditingkatkan dengan penambahan *E.hirta* yang mengandung senyawa aktif yang lebih banyak kandungannya
3. Senyawa yang teridentifikasi pada kombinasi madu dan Patikan kerbau diprediksi memiliki aktivitas antibakteri dengan probability 0,1 – 0,6. Analisis docking menunjukkan kesemua senyawa menunjukkan potensinya sebagai inhibitor aerolysin dan LuxT dengan mengikat beberapa asam amino pada kedua protein target tersebut. Aerolysin (Aer) merupakan protein yang membentuk pori toksin yang berperan penting dalam pathogenesis *Aeromonas hydrophila* dan menyebabkan pembekuan darah akibat infeksi. Penghambatan protein Aerolysin dan LuxT oleh senyawa yang terkandung di dalam kombinasi madu dan patikan kerbau dapat mencegah virulensi *A.hydropilla* dan *V.alginolyticus*
4. Metode perendaman dapat digunakan untuk mengobati dan mencegah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A.hydropilla* pada ikan lele dan *V.alginolitycus* pada ikan kerapu cantang dengan menggunakan kombinasi madu dan patikan kerbau pada semua perbandingan, namun untuk menghemat penggunaan madu maka digunakan perbandingan 1 madu : 2 patikan kerbau

B. saran

DAFTAR PUSTAKA

1. Novriadi, R. 2014. Penyakit Ikan Air Laut di Indonesia. Kementerian Kelautan dan Perikanan Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Direktorat Kesehatan Ikan dan Lingkungan.
2. Orsi R.O., V.G.D. Santos., L.E. Pezzato, P.L.P.F. De carvalho., C. P. Teixeira, J.M.A. Freitas., C.R. Padovani., M.M.P.Sartori and M.M. Barros. 2017. Activity of Brazilian Propolis against aeromonas hydrophilla and its effect on Nila tilapia Growth, hematological and non-specific immune response under bacterial infection. Anais da Academimia Brasileira de Cencias (2017) 89(3):1785-1799.
3. Rosidah, I. D. Buwono, W. Lili, I. B. Suryadi, A. R. Triandika. 2019a. Ketahanan ikan lele sangkuriang, *Clarias gariepinus* Burchell 1822 terhadap *Aeromonas hydrophila* pasca pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) melalui pakan. Jurnal Iktiologi Indonesia, 19(1): 97-113 DOI: <https://doi.org/10.32491/jii.v19i1.435>. hal 97-113.
4. Rosidah, Sriati, U. Subhan, Y. Mulyani dan R. Dermawan. 2019b. The effectiveness of Honey supplementation in feed for improving goldfish fingerling *Carassius auratus* Immune system against *Aeromonas hydrophilla* bacteria attack. Jurnal Akuakultur Indonesia 18(1) : 89-100.
5. Noerbaeti E., H. Pattah dan W. Nuraini. 2016. Potensi Ekstrak Daun Gamal *Gliricidia sepium* Sebagai Antibakteri *Vibrio* sp. dan *Flexibacter maritimum*. Jurnal Teknologi Budidaya Laut Volume 6 Tahun 2016, hal 43-49
6. Unissa R., P. S. Neeraj, Md I. Ayyub, N. Omsa. 2017. Evaluation Of Antibacterial Activity Of *Achyranthes Aspera* Extract Against *Vibrio Alginolyticus*: An In Vitro Study. Saudi Journal Of Pathology And Microbiology.; Vol-2, Iss-8 (Sep, 2017):241-246
7. Maisyaroh, L.A., T. Susilowati., A. H. C. Haditomo, F. Basuki dan T. Yuniarti. 2018. Penggunaan Ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) sebagai antibakteri untuk mengobati infeksi *Aeromonas hydrophilla* pada ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)
8. Salosso, Y. F. Rebhung, Sunadji, Anggrainy K. 2020. Application of Kefa Forest Honey as antibacterial in the treatment of common carp (*Cyprinus carpio*)infected with bacteria *Aeromonas hydrophilla*. AACL Bioflux 13(2):984-992
9. Albaridi, N.A. 2019. Antibacterial Potensi of Honey. Internasional Journal of Microbiology, Volume 2019 : 1- 10
10. Combarros-Fuertes P, J.M. Fresno, M.M. Estevinho, M. Sousa-Pimenta, M. E. Tornadijo and L.M. Estevinho. 2020. Honey : Another Alternative in The Fight Against Antibiotic-Resistant Bacteria? Antibiotics 2020 9, 774. 1-21
11. Salosso, Y and Y. Jasmanindar. 2014. Potensial of Patikan kerbau (*Euphorbia hirta*) as Antibacterial on *Aeromonas hydrophilla* and *Vibrio alginolyticus* in fish culture. Aquatic Science and Technology, Vol 2 No 1, 63-72.
12. Johnston M., M. McBride, D. Dahiya, R. Owusu-Apenten and P. S.

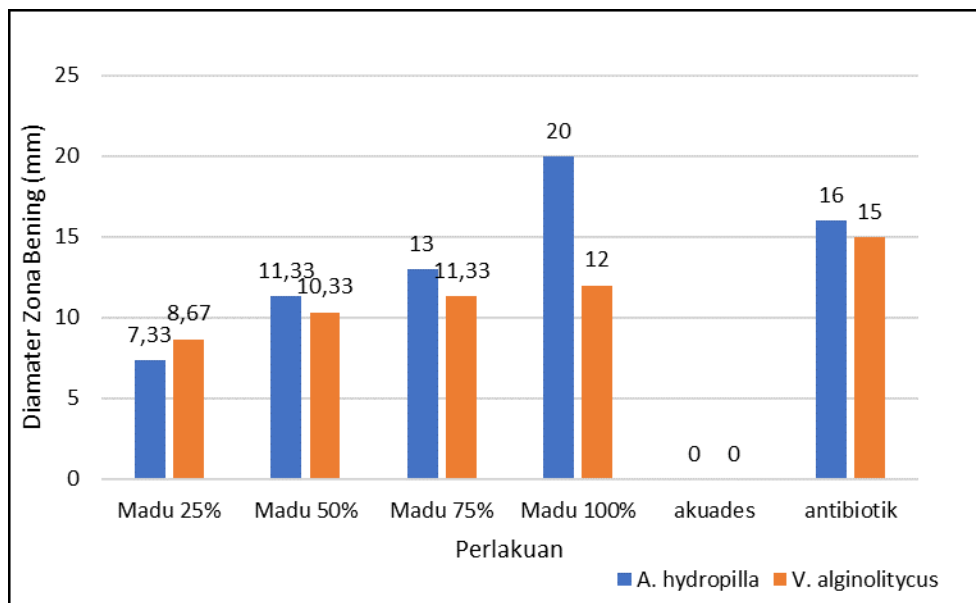
- Nigam. 2018. Antibacterial activity of Manuka honey and its components: An overview. *AIMS Microbiology*, 4(4): 655–664.
13. Nadhilla N.F. 2015. The Activity of antibacterial agent of Honey against *Staphylococcus aureus*. Artikel Review. *Jurnal Majority* vol 3 no 7 Desember 2014. Hal 94-101.
 14. Carina, L., V. Soledad and B. Marina. 2014. Antibacterial activity of honey: A review of honey around the world. *Journal of Microbiology and Antimicrobials* Vol. 6(3), pp. 51-56, March 2014
 15. Dewi, M.A., Kartasasmita, R.E., & Wibowo, M.S. (2017). Antibacterial activity tests on several types of Indonesian honey against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Kartika; Jurnal Ilmu Farmasi*, 5(1), 27-30 [in Indonesian].
 16. Gunawan R, Erwin dan Syafrizal. 2018. Uji fitokimia dan penentuan aktivitas antioksidan dari madu trigono incisa. *Jurnal Atomik*, 03 (1), hal 18-21.
 17. Alzahrani HA, Boukraa L, Bellik Y, Abdellah F, Bakhotmah BA, Kolayli S, Sahin H. 2012. Evaluation of the antioxidant activity of three varieties of honey from different botanical and geographical origins. *Global Journal of Health Science* 4: 191–196.
 18. Fuandila, N.N., W. Widanarni and M. Yuhana. 2019. Growth performance and immune response of prebiotik honey fed facific Shrimp *Litopenaeus vannamei* to *Vibrio parahemolyticus*. *Journal of Applied aquaculture*. Pp 1-15.
 19. Stratev, D., I. Vashin, R. Balkanska, D. Dinkov. 2015. Antibacterial Activity Of Royal Jelly And Rape Honey Against *Aeromonas Hydrophila* (Atcc 7965). *Journal Of Food And Health Science* 1(2): 67-74.
 20. Ramalivhana JN, Obi CL, Samie A, Iweriebor BC, Uaboi-Egbenni P, Idiaghe J.E. and Momba M. N. B. 2014. Antibacterial activity of honey and medicinal plant extracts against Gram negative microorganisms. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 13 (4), pp. 616-625, 22 January 2014.
 21. Kader J., H. M. Noor, S. M. Radzi, N. A. A. Wahab. 2013. Antibacterial activities and phytochemical screening of the acetone extract from *Euphorbia hirta*. *International Journal of Medicinal Plant Research* ISSN: 2169-303X Vol. 2 (4), pp. 209-214, July, 2013. Available online at www.internationalscholarsjournals.org © International Scholars Journals
 22. Poornima and R. Prabakaran. 2012. Preliminary Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Acalypha indica* and *Euphorbia hirta* of Family Euphorbiaceae Against some Patogenic Organisms. *International Journal of Agricultural Sciences* vol.2, Issue, 10, pp 34-38, October, 2012. Available online at <http://www.bretj.com>
 23. Shih M. F. and J. Y. Cherng. Potential Applications of *Euphorbia hirta* in pharmacology. *Drug Discovery Research in Pharmacognosy*. Edited by Prof. Omboon Vallisuta. Publisher InTech.
 24. Maretta, G. E. Kuswanto dan N.I. Septikayani. 2019. Efektifitas Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L) sebagai Ovisida Terhadap nyamuk Demam Berdarah Dengue (*aedes aegypti*). *Biosfer: Jurnal*

Tedris Biologi Vol 10. No 1, 1-9. 2019.

25. Yuda P.E. S.K., E. Cahyaningsih dan N.L.P.Y. Winariyanthi. 2017. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L).
26. Jeba C..R., Ilakiya A, Deepika R., Sutatha M., Sivaraji C. 2018. Antipsoriasis, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Aerial parts of *Euphorbia hirta*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical research*, Vol 11, Issue 9, 2018 : 513-517
27. Assidqi K., W. Tjahjaningsih dan S. Sigit. 2012. Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*. *Journal of Marine and Coastal Science*, 1(2), 113 – 124, 2012
28. Salosso, Y., dan Y.Jasmanindar. 2013. Kajian Potensi Tanaman Obat Tradisional sebagai Antibakteri Alami Dalam Pengendalian Bakteri *Vibrio alginolyticus* dan *Aeromonas hydrophila*. Laporan Penelitian Fundamental. Undana. Kupang.
29. Salosso, Y. F. Rebhung, Sunadji. 2018. Potensi Beberapa Jenis Madu Nusa Tenggara Timur Sebagai Antibakteri Pada Budidaya Ikan. Laporan Penelitian. Fakultas Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana, Kupang

Lampiran 1. Hasil uji antibakteri madu hutan kefa pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri *A.hydropilla* dan *V.alginolitycus*.

no	Perlakuan Madu	Jenis bakteri	
		<i>A.hydropilla</i>	<i>V.alginolitycus</i>
1	Madu 25%	7	9
2		7	8
3		8	9
Rata-rata			
Stdev			
1	Madu 50%	12	11
2		11	10
3		11	10
Rata-rata			
Stdev			
1	Madu 75%	11	11
2		14	11
3		14	12
Rata-rata			
Stdev			
10	Madu 100%	20	12
11	akuades	0	0
12	antibiotik	16	15



Lampiran 2. Hasil uji antibakteri patikan kerbau pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri *A.hydropilla* dan *V.alginoliticus*.

no	Perlakuan patikan kerbau	Jenis bakteri	
		<i>A.hydropilla</i>	<i>V.alginoliticus</i>
1	1%	7	9
2		8	9
3		8	8
Rata-rata			
stdev			
4	2%	8	11
5		9	10
6		9	10
Rata-rata			
stdev			
7	3%	11	12
8		10	11
9		11	12
Rata-rata			
stdev			
10	Akuades	0	0
11	antibiotik	12	

Lampiran 3. Hasil Uji antibakteri kombinasi madu konsentrasi 50% dan patikan kerbau 3%

Perbandingan madu : patikan kerbau	Diameter zona bening (mm)		Rata-rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	
0 : 3	12	11	11,5
1 : 2	8	10	9,5
1,5 : 1,5	9	11	10,5
2 : 1	12	11	11,5
3 : 1	12	12	12

Lampiran 4 Hasil uji kandungan Proximat madu, patikan kerbau dan kombinasi madu dan *E.hirta*

No	Parameter	Nilai		
		M 50% + PK 3%	M 50%	PK 3%
1	Protein (%)	0,08	0,29	9,73
2	Lemak (%)	0,04	0,07	1,95
3	Air (%)	75,67	20,68	9,39
4	Abu (%)	0,18	0,57	7,36
5	Karbohidrat (%)	24,03	78,39	71,57

DRAF LUARAN ARTIKEL

Bacteria *Aeromonas hydrophila*-induced disease treatment in catfish (*Clarias sp*) culture with the combination of honey and asthma plant *Euphorbia hirta*

¹Yuliana Salosso,²Jeny Dorlince Ressie, ²Ridwan, ²Yenni Welhelmina Foes, ¹Wesly Pasaribu

¹ Study Program of Aquaculture Nusa Cendana University, Kupang; ² Fish Quarantine Station, the Quality Control and Fisheries Product Security, Kupang; Jl Adisucipto, Penfui Kupang; Corresponding author: Y. Salosso, yulianasalosso@staf.Undana.ac.id

Abstract. This aims to know the ability of the honey and asthma plant *Euphorbia hirta* combination to cure the catfish infected with *A. hydrophila* by normalizing the hematology and increasing the survival rate. It is an experimental study using a Complete Randomized Design. The experimental treatments were a mixture of honey and *E. hirta* at different concentrations, 2:1 of honey-*E. hirta*, 1 : 1, and 1: 2 of honey-*E. hirta*, positive control, and negative control. Each treatment has 3 replications. The hematological data (erythrocyte, hematocrit, hemoglobin, and leucocyte) and the fish survival were analyzed using ANOVA. Results showed that honey-*E. hirta* combination could cure the catfish infected with *A. hydrophila* by increasing the erythrocyte level from 1,800,000 cells mm⁻³ (infected condition) to 2,833,333 cells mm⁻³ (after treatment), the hemoglobin from 9.37 g dL⁻¹ to 12.97 g dL⁻¹, and decreasing the leucocyte level from 34,870 cells mm⁻³ (infected condition) to 28,467 cells mm⁻³ (after treatment).

Keywords: infection, treatment, hematology, asthma plant, survival.

Introduction. Honey has long been used as an effective antimicrobial and antioxidant for thousands of years (Cokcetin et al 2016). Honey is used for skin lesions, burns, inflammation, bacterial infection, influenza, cough, and various infectious diseases (Albaridi 2019). The use of honey has decreased since the antibiotics are found (Combarros-Fuertes 2020), but increase in the microorganism's resistance to the antibiotics, the use of honey as an antimicrobial has started being scientifically considered (Nolan et al 2019). Research finding has proved the efficacy of honey as an antibacterial to inhibit Gram-negative and Gram-positive bacteria, and even those resistant to many drugs categorized as widely spectral bacteria (Laallam et al 2015). As an antibacterial, honey does not cause bacterial resistance as well (Maddocks & Jenkins 2013).

The antibacterial activity of honey against pathogenic bacteria in fish has been shown by previous scientists. Ramalivhana et al (2014) found that South Africa-originated honey has antibacterial activity against *A. hydrophila*.

Stratev et al (2015) also reported that Rapa honey and Royal jelly from Bulgaria are potential to be antibacterial against *A. hydrophilla*. Similar information is also reported for ant honey and stone honey from Semau island, East Nusa Tenggara Province, against *A. hydrophilla* and *V. alginolitycus* (Salosso, 2019a,b). Moreover, Salosso (2019c) *in vitro* found an antibacterial activity of Kefa-originated forest honey against *A. hydrophilla* with an inhibition zone of 12 mm. This honey type is also able to cure the *A. hydrophilla*-infected carp (Salosso et al 2020).

The use of honey as an antibacterial in fish through immersion method still has constraints, since it needs a high amount of honey. To reduce the use of a high amount of honey in fish treatment through immersion, other natural material that also has antibacterial activity against *A. hydrophilla* needs to be combined (Assidqi et al 2012; Salosso & jasmanindar 2014). This study examines the active compounds in honey, asthma plant *E. hirta*, and their combination, the best honey-*E. hirta* ratio for *A. hydrophilla*-infected catfish through hematological observations, and the catfish survivorship.

Method

Honey and asthma plant *E. hirta* collection. This study utilized Kefa forest honey from Northern Central Timor regency, East Nusa Tenggara Province, collected traditionally in the dry season. The asthma plant *E. hirta* was collected around Liliba village, Kupang juga. The plant was cleansed, wind-dried, chopped into 2-3 cm long pieces, and blended to a coarse powder. The powder was then boiled at a concentration of 3% (3 g in 100 ml of distilled water), left for 6 hours, filtered, and ready for further testing. The pure kefa honey was diluted in distilled water at a concentration of 50%.

Phytochemical test of honey and *E. hirta*. The phytochemical examination was carried out for honey, *E. hirta*, and their combination. The chemical compounds included alkaloid using the Culvenor-Fitzgerald method, saponin with foam test, phenol with the addition of FeCl_3 , flavonoid with the addition of HCl and Mg powder, terpenoid and steroid with Lieberman-Burchard method, and tannin with the addition of FeCl_3 in the hot water extract.

Experimental tank preparation and acclimatization. There were 2 types of culture tanks, 12 50 x 30 x 30 cm aquaria, and a 10L-treatment tank. Each tank was filled with 30 L of water at the density of 6 ind tank⁻¹. The catfish at a size range of 10-12 cm long were taken from the Laboratory of the Faculty of Animal Husbandry, Marine, and Fisheries, Nusa Cendana University. The catfish were acclimated for 7 days in the aerated culture tank. During acclimation, the fish were fed with pellets twice a day (morning and afternoon) and siphoned daily to remove the feces and uneaten feed.

***Aeromonas hydrophilla* infection.** The catfish were infected with bacteria *A. hydrophilla* at the density of 10⁶ cells ml⁻¹ on the tail base as much as 0.1 ml ind⁻¹. The infecting process occurs until the fish show the infection symptoms, such as a change in body color, especially on the injection mark, then the treatment was accomplished.

***Aeromonas hydrophilla*-infected catfish.** After the catfish had shown the bacterial infection symptom, the treatment was done using honey and *E. hirta* combination at different ratios as desired treatments. The infected fish were immersed in a treatment tank. The immersion was accomplished in 1.5 - 2 min., then returned to the culture tank. The immersion was done for 10 days, while blood observation was conducted on day 12.

Hematological examination. The catfish blood was taken at the fore part of the caudal fin using a 1 ml syringe rinsed with Na-citrate 3.8%. The hematological observations, such as hematocrit, hemoglobin, and leucocyte, followed the method of Susandi et al (2017). The catfish hematological examinations were done before, after infection, and after treatment application, while the survivorship was done at the end of the study.

Method and Research design. The study is experimental using a Complete Randomized Design, with one independent variable (honey-asthma plant ratio). The treatments of honey-*E. hirta* ratio studied through the immersion method were A= 2:1 (more honey than *E. hirta*), B= 1 : 1 (honey and *E. hirta* are in similar amounts), and 1:2 (less honey than *E. hirta*), negative control (healthy catfish), and positive control (infected catfish), each of which with 3 replications. The hematological data and the fish survivorship were analyzed using ANOVA.

Results and Discussion

Phytochemical content. Table 1 shows the active compounds contained in honey, *E. hirta*, and a mixture of them.

Table 1.

Active compounds of honey, *E. hirta*, and their combination.

Sample	Phytochemical analysis						
	alkaloid	Flavonoid	saponin	terpenoid	steroid	Phenol	tannin
Honey (M) 50%	++	+	++	+++	-	+	+
Asthma plant (PK) 3%	+++	+	+	++	-	+++	+++
Combined honey 50% and <i>E. hirta</i> 3%	+++	+	++	+++	-	++	++

Notes: +++ = very strong; ++ = moderate; + = low; - = absent

All samples have similar active compounds, but different concentrations (Table 1). The active compounds in the individual or combined forms make them have antibacterial activity with different mechanisms. The antibacterial mechanism of alkaloids is by disrupting the peptidoglycan composing components in the bacterial cells that the cell wall layer is not intact formed and causes cell mortality (Ajizah 2004; Ningsih et al 2016).

Phenol and its derivatives, such as flavonoid and tannin, are antibacterial with a mechanism to disrupt the bacterium's cell membrane. The hydroxyl groups of flavonoid and tannin can interact with the protein of the bacterial cell membrane through hydrogen binding so that the protein loses its function (Cowan 1999). Furthermore, according to Bucekova et al (2019), polyphenol is usually responsible for destroying free radicals and inhibiting oxidation.

The antibacterial mechanism of saponin is to disturb the stability of the bacterial cell membrane causing damage to the cell membrane and eventually resulting in cell lysis (Kurnawan & Aryana 2015). The antibacterial mechanism of terpenoids occurs through cell membrane destruction by lipolytic compounds (Cowan 1999). Terpenoids can react with porine (transmembrane protein) on the external membrane of the bacterial cell wall, form a strong polymer bond, disrupt the porine, and reduce the permeability of the bacterial cell wall, which then kills the bacteria.

The honey-*E. hirta* combination could increase their active compounds, especially phenol and its derivatives contained in low amounts in honey. The limited amount of polyphenols in honey (Combarros-Fuertes et al 2020) cannot give singly an antibacterial effect. The antibacterial effect of honey is a synergic effect of phenol and other compounds, such as hydrogen peroxide. Thus, the combination of honey and *E. hirta* could increase the antibacterial activity due to the presence of the active compounds of *E. hirta*.

Hematology of healthy fish and infected fish, and after treatment.

Erythrocyte. Mean erythrocytes of healthy catfish, infected catfish, and after treatment are presented in Figure 1.

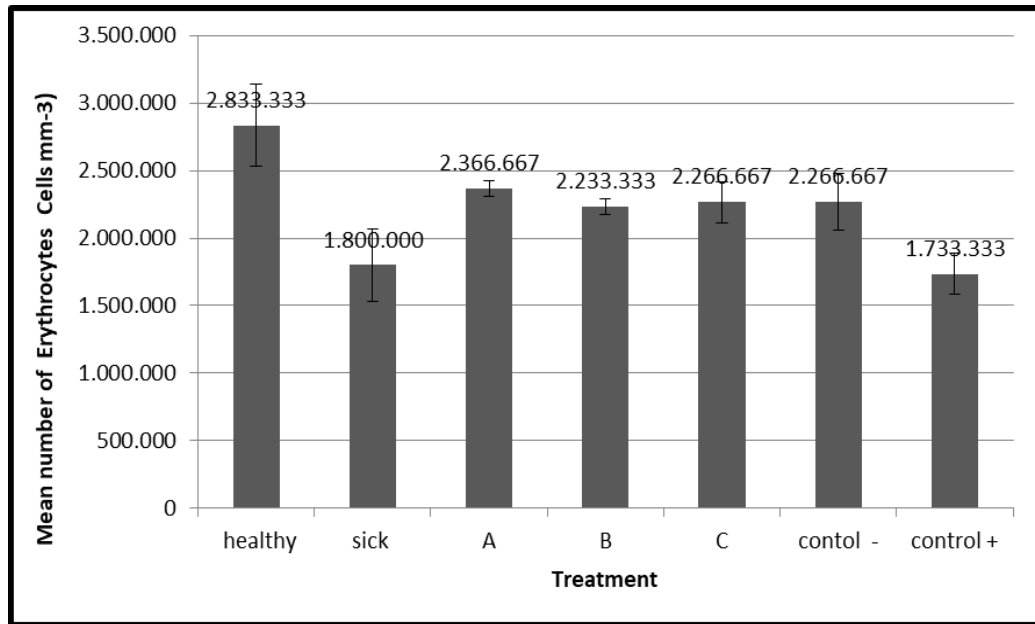


Figure 1. Mean erythrocytes (cells mm⁻³) of healthy and infected catfish, and after treatment with honey and *E. hirta* combination. A= soaking in 2:1 of honey-*E. hirta*; B= soaking in 1 Honey : 1 *E. hirta*; C= soaking in 1 Honey : 2 *E. hirta*

Figure 1 shows that mean number of erythrocytes in the healthy fish is 2,833,333 cells mm⁻³, and when the catfish are infected with the bacteria, the erythrocyte level falls down to 1,800,000 cells mm⁻³. After treated with the mixture of honey and *E. hirta*, the erythrocyte level rises again, except the untreated catfish (positive control), the erythrocyte level continuously declines to 1,733,333 cells mm⁻³. However, there is no different effect between treatments ($P > 0.05$) even though all treatments could increase the erythrocyte level of the catfish.

Furthermore, the erythrocyte level of healthy catfish is different with the locality. The present study found the erythrocyte level of 2,833,333 cells mm⁻³, lower than that reported by Sukenda et al (2008), 4,210,000 cells mm⁻³, but higher than that found by Cerlina et al (2021), 2,460,000 cells mm⁻³. According to Wateska et al (2021) and Ejraei et al (2015) that environmental conditions, species, age, and nutrition could influence the erythrocyte level.

A high number of erythrocytes in healthy fish could result from suitable environmental conditions. A sufficient number of erythrocytes also ensures enough oxygen for cells in various to work well. On the other hand, the bacteria-infected fish suffer from a declined number of erythrocytes due to the virulent factor of the bacteria. According to Straved and Odeyemi (2017), bacteria produce a number of virulent factors, particularly hemolysin and aerolysin, that trigger the disease. The hemolysin enzyme dissolved in the blood can break down the erythrocyte and remove the hemoglobin so that there will be much blood coming out through the wound of the infected

body surface (Triyaningsih et al 2014). It causes the declined erythrocytes in the fish infected with *A. hydrophila*.

Hemoglobin. Mean hemoglobin in the healthy catfish is 12.97 gr dL⁻¹, while in *A. hydrophila*-infected catfish, it declines to 9.37 gr dL⁻¹.

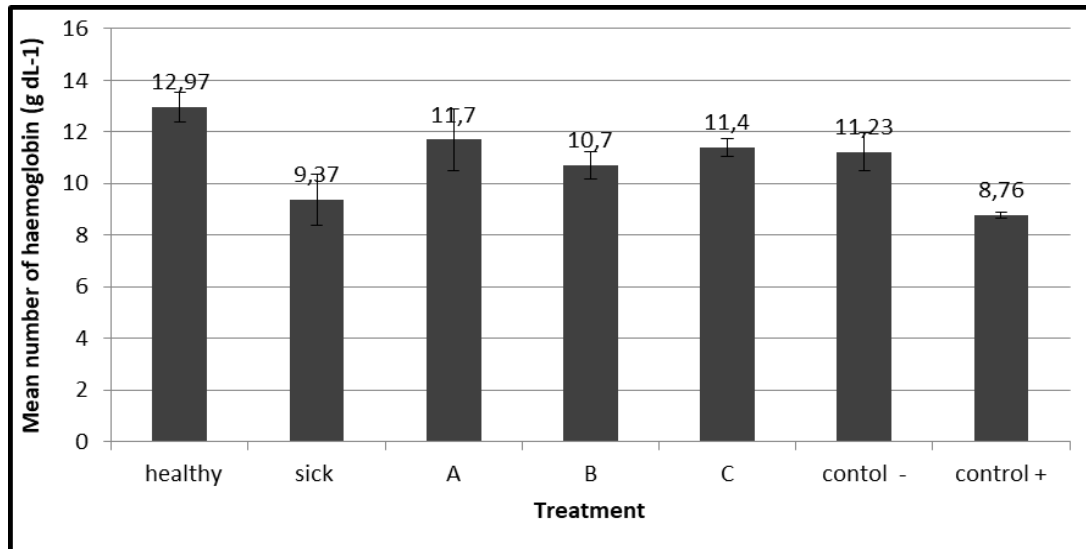


Figure 2. Mean hemoglobin (gr 100ml⁻¹) of healthy catfish, infected fish, and after treatment with honey-*E. hirta* combination. A= soaking in 2:1 of honey-*E. hirta*; B= soaking in 1 Honey : 1 *E. hirta*; C= soaking in 1:2 of honey-*E. hirta*

Declined hemoglobin occurred in the infected catfish and the positive control treatment to 8.76 g dL⁻¹. All catfish at treatments A, B, and C could increase the hemoglobin level, no different effects were found between treatments A, B, and C ($P > 0.05$) indicating that all combinations of honey-*E. hirta* result in the same effect on the hemoglobin level of the catfish.

Hemoglobin in the erythrocytes works as oxygen binding so that it highly determines the fish metabolism ability (Dewantoro 2019). Furthermore, low hemoglobin in fish, according to Pahmi et al (2019), makes the oxygen content in the blood fall followed by a low metabolic rate, and yields low energy. This condition causes the fish to lose their appetite as one of the behavioral symptoms of the infected fish (Stoskopf 1993).

The *A. hydrophila*-infected catfish treated with honey-*E. hirta* combination had increased hemoglobin due to no more lysis of the erythrocytes caused by the toxin produced by *A. hydrophila*. Therefore, the erythrocytes increase followed by increased hemoglobin indicating that the combination of honey-*E. hirta* has the antibacterial activity to kill *A. hydrophila*.

The antibacterial activity of honey can occur through several mechanisms, such as high glucose, high acidity, the presence of an antibacterial organic matter, and the presence of radical compound hydrogen peroxide (H₂O₂) capable of killing the pathogenic microorganisms (Nadhilla

2014; Carina et al 2014; Johnstond et al 2018; Nolan 2019). The antibacterial activity of honey synergically works with that of *E. hirta*. *E. hirta* possesses an antibacterial activity due to the presence of alkaloid, flavonoid, saponin, phenol, terpenoid, and tannin (Table 1).

Leucocytes. Changes in leucocyte levels of the infected catfish, healthy fish, and treated fish are presented in Figure 3.

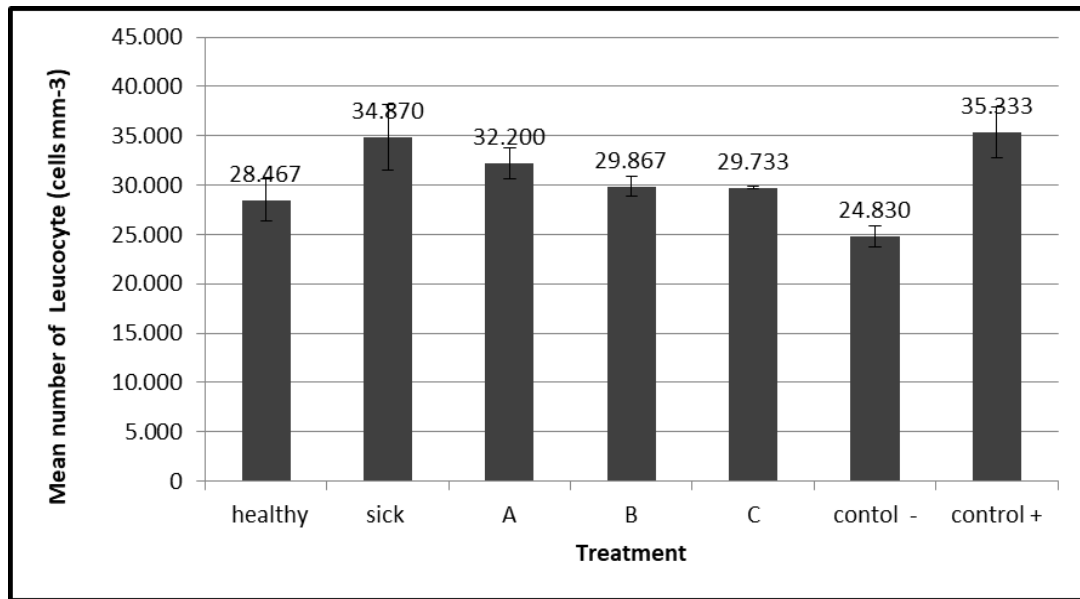


Figure 3. Mean leucocyte (cells mm⁻³) of healthy catfish, infected catfish, and after treatment with honey-*E. hirta* combination. A= soaking in 2:1 of honey-*E. hirta*; B= soaking in 1 Honey : 1 *E.hirta*; C= soaking in 1:2 of honey-*E. hirta*.

Leucocyte is cell blood playing important role in fish's defense system against pathogenic infections. It could be seen in the catfish infected with *A. hydrophilla* that the leucocytes increase from 28,467 cells mm⁻³ to 35,870 cells mm⁻³ (Figure 1). Rosidah et al (2019a) also found an increased leucocyte level from 70,020 cells mm⁻³ to 103,300 cells mm⁻³ in the Sangkuriang catfish infected with *A. hydrophilla*. A similar condition is also reported by Salosso et al (2020) for carp and Nile tilapia infected with *Flavobacterium columnare* (Sebastiao et al 2011).

All treatments yield leucocyte level decline even though it is still higher than that in healthy fish. No significant different effects were found between treatments ($P > 0.05$) indicating that all treatment combinations of honey-*E. hirta* could give the same effect on the leucocyte level of the catfish. Thus, the application of honey-*E. hirta* combination can kill the bacteria *A. hydrophilla* and cure the catfish infected with *A. hydrophilla*. The application of honey-*E. hirta* combination can help the fish defense system against bacterial infection.

The antioxidant activity of *E. hirta* and honey has been reported by Jeba et al (2018) and Rosidah et al (2019a), respectively. Honey administered in feeding at the dose of 200 ml kg⁻¹ can increase the immune system of Koi

carp against bacteria *A. hydrophila*. Fuandila et al (2019) have also proved the immunostimulant ability of honey in vannamei shrimp against *Vibrio parahaemolyticus*. The immunostimulant of ethanol-extracted propolis of bee *Apis mellifera* from Brazil has been shown in Nile tilapia infected with *A. hydrophila* (Orsi et al 2017).

Catfish survivorship. Figure 4 demonstrates that the catfish have 100% survivorship at all treatments of honey-*E. hirta* combination. The mortality occurs

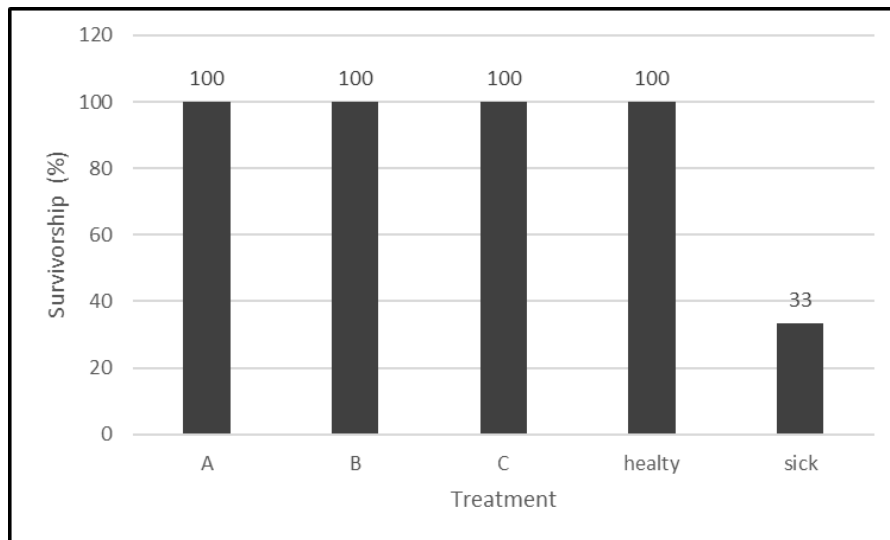


Figure 4. Mean catfish survivorship at the end of the study. A= soaking in 2:1 of honey-*E. hirta*; B= soaking in 1 Honey : 1 *E.hirta*; C= soaking in 1:2 of honey-*E. hirta*.

only in the infected catfish without honey-*E. hirta* treatment application. High survivorship of the catfish after the combined honey-*E. hirta* application indicates that this material combination could heal the catfish infected with *A. hydrophila*. The healing ability of the combined honey-*E. hirta* application to the catfish infected with bacteria could occur through the antibacterial, antioxidant, and immunostimulant mechanisms of the material. *E. hirta* and honey have antibacterial activity, antiinflammation, and antioxidant (Gufta et al 2018; Dewi et al 2017). Both materials are synergetic in healing the catfish.

High mortality of the catfish occurred in *A. hydrophila*-infected fish with no treatment application. According to Orsi et al (2017), *A. hydrophila* is one of the bacteria that often infect cultured freshwater fish and can result in mortality up to 100% (Rosidah et al 2019b). Lukistyowati and Kurniasi (2011) added that *A. hydrophila* often causes disease outbreaks with a mortality rate of 80% - 100% in a short period, 1-2 weeks. The symptoms of carp infected with MAS disease are changes in skin color, skin lesions, hemorrhage, and bruises or muscle ulcers (Susandi et al 2017; Latih & Najlah 2013).

Conclusion. The combination of honey (50%) and *E. hirta* (3%) could cure the catfish infected with *A. hydrophila* by normalizing the catfish hematology. Healthy catfish had a high erythrocyte, hematocrit, and hemoglobin, but fell down in the infected catfish. The leucocyte was low in healthy catfish but rose in the infected catfish. After treatment with honey and *E. hirta* combination, all the hematological parameters returned to the normal level. Compared to the control treatment, all treatments with honey-*E. hirta* could give higher survivorship and cure the catfish infected with *A. hydrophila*.

References

- Albaridi N. A., 2019 Antibacterial potency of honey. International Journal of Microbiology. Vol. 2019 :1-10
- Assidqi K., Tjahjaningsih W., Sigit S., 2012 [The potential of Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) as antibacterial against *Aeromonas hydrophila* *in vitro*. Journal of Marine and Coastal Science 1(2):113-124. [in Indonesian]
- Bucekova M., Jardekova L., Juricova V., Bugarova V., Di Marco G., Gismondi A., Leonardi D., Farkasovska J., Godocikova J., Laho M., Kludiny J., Majtan V., Canini A., Majtan J., 2019 Antibacterial activity of different blossom honey: New Findings. Molecules 2019, 24, 1573. doi:10.3390/molecules24081573
- Carina L., Soledad V., Marina B., 2014 Antibacterial activity of honey: A review of honey around the world. Journal of Microbiology and Antimicrobials 6(3):51-56.
- Cerlina M., Riauwati M., Syawal H., 2021 [The erythrocyte condition of catfish (*Clarias gariepinus*) infected with *Aeromonas hydrophila* and treated with Indonesian bay leaf solution (*Syzygium polyantha*)]. Jurnal Perikanan dan Kelautan Vol 27, No 1, Februari 2021: 105 -113. [in Indonesian]
- Cokcetin N. N., Pappalardo M., Campbell L. T., Brooks P., Carter D. A., Blair S. E., Harry E. J., 2016 The antibacterial activity of Australian Leptospermum honey correlates with methylglyoxal levels. PLoS ONE 2016, 11, e0167780.
- Combarros-Fuertes P., Fresno J. M., Estevinho M. M., Sousa-Pimenta M., Tornadijo M. E., Estevinho L. M., 2020 Honey: Another alternative in the fight against antibiotic-resistant bacteria? Antibiotics 9(774):1-21
- Cowan M. M., 1999 Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12(4): 564-582.
- Dewantoro E., 2019 [The hematological performance of tinfoil barb (*Barbonymus schwanenfeldii*) cultured at different aeration levels]. Jurnal Ruaya 7(2):26-33 [in Indonesian]

- Dewi M. A., Kartasasmita R. E., Wibowo M. S., 2017 [Antibacterial activity test of several Indonesia-originated bee pure honey on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Kartika Jurnal Ilmu Farmasi 5(1):27-30 [in Indonesian]
- Ejraei F., Ghiasi M., Khara H., 2015 Evaluation of hematological and plasma indices in grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, with reference to age, sex, and hormonal treatment. Arch. Pol. Fish. 23:163-170. DOI 10.1515/aopf-2015-0019
- Fuandila N. N., Widanarni W., Yuhana M., 2019. Growth performance and immune response of prebiotic honey-fed Pacific shrimp *Litopenaeus vannamei* to *Vibrio parahemolyticus*. Journal of Applied aquaculture 32 (3): 1-15.
- Gupta D., Kumar M., Gupta V., 2018 An in vitro investigation of antimicrobial efficacy of *Euphorbia hirta* and *Murraya koenigii* against selected pathogenic microorganisms. Asian J Pharm Clin Res. 11(5):359-363. DOI: <http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i5.24578>
- Haryati N. A., Saleh C., Erwin, 2015 [Toxicity and antibacterial activity testing of red lip (*Syzygium myrtifolium* Walp.) extract against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*]. Jurnal Kimia Mulawarman 13(1):35-40. [in Indonesian]
- Jeba C. R., Ilakiya A., Deepika R., Sutatha M., Sivaraji C., 2018. Antipsoriasis, antioxidant, and antimicrobial activities of aerial parts of *Euphorbia hirta*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical research 11(9):513- 517
- Johnston M., McBride M., Dahiya D., Owusu-Apenten R., Nigam P. S., 2018 Antibacterial activity of Manuka honey and its components: An overview. AIMS Microbiology 4(4): 655-664.
- Laith A. R., Najjah M., 2013 *Aeromonas hydrophila*: antimicrobial susceptibility and histopathology of isolates from diseased catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). Journal of Aquaculture Research & Development 5:1-7.
- Laallam H., Boughediri L., Bissati S., Menasria T., Mouzaoui M. S., Hadjadj S., Hammoudi R., Chenchouni H., 2015 Modeling the synergistic antibacterial effects of honey characteristics of different botanical origins from the Sahara Desert of Algeria. Front. Microbiol. 6:1-12.
- Lukistyowati I., Kurniasih. 2011 [The survivorship of carp *Cyprinus carpio* fed with garlic *Allium sativum* extract and infected with *Aeromonas hydrophilla*. Jurnal Perikanan dan Kelautan 16:144-160 [in Indonesian]
- Maddocks S. E., Jenkins R. E., 2013 Honey: A sweet solution to the growing problem of antimicrobial resistance? Future Microbiol. 8:1419-1429.

- Nadhilla N. F., 2014 The Activity of the antibacterial agent of Honey against *Staphylococcus aureus*. Review. Jurnal Majority 3(7):94-101.
- Ningsih D. R., Zufahir, Dwi K., 2016 [Identification of secondary metabolite compounds and antibacterial activity test of soursop leaf extract]. Molekul, 11(1):101-111 [in Indonesian]
- Nolan V. C., Harrison J., Cox J. A. G., 2019 Dissecting the antimicrobial composition of honey. Antibiotics 8(251):1-16
- Orsi R. O., Santos V. G. D., Pezzato L. E., De Carvalho P. L. P. F., Teixeira C. P., Freitas J. M. A., Padovani C. R., Sartori M. M. P., Barros M. M., 2017 Activity of Brazilian propolis against *Aeromonas hydrophila* and its effect on Nila tilapia Growth, hematological and non-specific immune response under bacterial infection. Anais da Academimia Brasileira de Cencias (2017) 89(3):1785-1799.
- Palmi R. S., Yudha I. G., Wardiyanto, 2019 The effects of Amethyst *Datura metel* (Linn, 1753) leaves extract as an anesthetic agent on hematological condition of Tilapia *Oreochromis niloticus* (LINN,1758) fry. e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan, Volume VIII No 1 Oktober 2019. p-ISSN: 2302-3600, e-ISSN: 2597-5315:897-908
- Ramalivhana J. N., Obi C. L., Samie A., Iweriebor B. C., Uaboi-Egbenni P., Idiaghe J. E., Momba M. N. B. 2014 Antibacterial activity of honey and medicinal plant extracts against Gram-negative microorganisms. African Journal of Biotechnology, Vol. 13 (4), pp. 616-625, 22 January 2014
- Rosidah I., Buwono D., Lili W., Suryadi I. B., Triandika A. R., 2019a. [The resistance of Sangkuriang catfish, *Clarias gariepinus* Burchell 1822, on *Aeromonas hydrophila* after moringa leaf (*Moringa oleifera* L.) extract administration through feeding]. Jurnal Iktiologi Indonesia 19(1):97-113 DOI: <https://doi.org/10.32491/jii.v19i1.435>. hal 97-113. [in Indonesian]
- Rosidah, Sriati, Subhan U., Mulyani Y., Dermawan R., 2019b The effectiveness of Honey supplementation in feed for improving goldfish fingerling *Carassius auratus* Immune system against *Aeromonas hydrophila* bacteria attack. Jurnal Akuakultur Indonesia 18(1):89-100.
- Salosso Y., Jasmanindar Y., 2014 [Potential of Patikan Kerbau (*Euphorbia hirta*) as antibacterial on *Aeromonas hydrophila* and *Vibrio alginolitycus* in fish culture. Aquatic Science and Technology 2(1):63-72. DOI: [10.5296/ast.v2i1.4916](https://doi.org/10.5296/ast.v2i1.4916) [in Indonesian]
- Salosso Y., 2019a [Antibacterial test of Semau island-originated ant honey on *Aeromonas hydrophila* and *Vibrio alginolitycus*]. Jurnal Sains Dan Inovasi Perikanan, vol 3 no 2. 68-72. Juli 2019 [in Indonesian]
- Salosso Y., 2019b The potential of forest honey (*Apis* spp.) from Timor Island

- as antibacterial against pathogenic bacteria in fish culture. *Indonesian Aquaculture Journal* 14(2):1-8.
- Salosso Y., 2019c Chemical composition and antibacterial activity of honey collected from East Nusa Tenggara, Indonesia on pathogenic bacteria in aquaculture. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 370 012030. 1-7
- Salosso Y., Rebhung F., Sunadji, Anggrainy K., 2020 Application of Kefa Forest Honey as antibacterial in the treatment of common carp (*Cyprinus carpio*) infected with bacteria *Aeromonas hydrophilla*. *AACL Bioflux* 13(2):984-992
- Salosso Y., Olga, Aisiah S., Ressie J. D., Foes J. W., Pasaribu W., 2021 [Phytochemical analysis and antibacterial activity of several plants on the pathogenic bacteria in fish culture]. *Jurnal Sains Dan Inovasi Perikanan Journal of Fishery Science and Innovation* e-ISSN: 2502-3276 Vol. 5(2):85-94, Juli 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33772/jspi.v5n2>. [in Indonesian]
- Sebastiao F. A., Nomura D., Sakabe R., Pilarski F., 2011 Hematology and productive performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) naturally infected with *Flavobacterium columnare*. *Brazilian Journal of Microbiology* 42:282-289
- Straved D., Odeyemi O. A., 2017 An overview of motile *Aeromonas septicaemia* management. *Aquaculture Internasional* 25:1095-1195.
- Stratev D., Vashin I., Balkanska R., Dinkov D., 2015 Antibacterial activity of Royal Jelly and Rape Honey against *Aeromonas hydrophila* (Atcc 7965). *Journal of Food And Health Science* 1(2): 67-74.
- Sukenda L., Jamal, Wahjuningrum D., Hasan A., 2008 [The use of chitosan for *Aeromonas hydrophilla* infection prevention in catfish *Clarias* sp. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 7 (2):159-169. [in Indonesian]
- Susandi F., Mulyana, Rosmawati, 2017 [Immune development of gourame (*Osphronemus gouramy* Lac.) fish against *Aeromonas hydrophila* using Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)]. *Jurnal Mina Sains* 3(2): 1-12. [in Indonesian]
- Triyaningsih, Sarjito, Prayinto S. B., 2014 [Patogenicity of *Aeromonas hydrophila* isolated from Bojolali-originated catfish *Clarias gariepinus* yang berasal dari Boyolali. *Journal of aquaculture Management and Technology* 3:11–17. [in Indonesian]
- Witeska M., Kondera E., Ługowska K., Bojarski B., 2021 Review hematological methods in fish – Not only for beginners. *Aquaculture* 547 (737498):1-17

Authors:

Yuliana Salosso, Study Program of Aquaculture Nusa Cendana University, Jl Adisucipto, Penfui Kupang, Email: yulianasalosso@staf.Undana.ac.id

Jeny Ressay, Fish Quarantine Station, the Quality Control and Fisheries Product Security, Kupang, email: jenyressie13@gmail.com

Ridwan, Fish Quarantine Station, the Quality Control and Fisheries Product Security, Kupang, email: ridhe_78@yahoo.co.id

Yenni Wilhelmina Foes, Fish Quarantine Station, the Quality Control and Fisheries Product Security, Kupang, email: feosyeni@gmail.com

Wesly Pasaribu, Study Program of Aquaculture Nusa Cendana University, Kupang, email: weslypasaribu11@gmail.com

MODUL XI

PENGENDALIAN PENYAKIT IKAN DENGAN TANAMAN OBAT

POKOK-POKOK ISI DAN MANFAAT

Bab ini menerangkan mengenai urgensi dari penggunaan tanaman obat dalam pengendalian penyakit ikan, kelebihan penggunaan bahan alam dalam pengendalian penyakit ikan, senyawa aktif bahan alam dan mekanisme kerjanya, jenis tanaman yang dapat digunakan dalam pengendalian penyakit ikan. Pemahaman mengenai materi ini akan memberi gagasan kepada mahasiswa untuk melakukan Tindakan pengobatan pada ikan yang sakit dengan menggunakan bahan alam yang lebih aman dan ramah lingkungan.

KOMPETENSI KHUSUS

Setelah mempelajari materi ini, diharapkan mahasiswa dapat :

1. Menjelaskan urgensi dari penggunaan tanaman obat dalam pengendalian penyakit ikan.
2. Menjelaskan kelebihan penggunaan bahan alam dalam pengendalian penyakit ikan
3. Mengenal senyawa aktif bahan alam dan mekanisme kerjanya
4. Mengenal jenis tanaman yang dapat digunakan dalam pengendalian penyakit ikan

URAIAN

A. Urgensi Dari Penggunaan Tanaman Obat Dalam Pengendalian Penyakit Ikan

Cara yang umum dilakukan untuk pengendalian penyakit pada ikan, biasanya dengan menggunakan bahan kimia maupun antibiotik. Pemakaian antibiotika yang tidak tepat untuk pengobatan infeksi bakteri memunculkan berbagai masalah yaitu menimbulkan bakteri yang resisten terhadap antibiotik (Muwarni, 2003). Keamanan bahan makanan

sehubungan dengan residu antibiotik merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting di berbagai negara. Sumber residu antibiotik yang berasal dari pengobatan penyakit atau penggunaan antibiotik dosis rendah pada ternak termasuk ikan dapat menimbulkan resistensi antibiotik pada manusia karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan berlebihan (Anto, 2003). Untuk itu perlu dicari metode lain yang lebih aman dan efektif serta berwawasan lingkungan untuk pengendalian penyakit yang disebabkan bakteri pada ikan baik pada budidaya air tawar maupun laut.

Alternatif lain yang dapat dilakukan untuk menanggulangi penyakit bakterial pada ikan dengan aman dan ramah lingkungan adalah pengendalian secara kimia dengan memanfaatkan bahan alam yang mengandung bahan aktif alami seperti tanaman, hewan dan lain-lain. Indonesia sebagai negara tropis memiliki kekayaan sumberdaya alam yang berpotensi menjadi obat. Banyak jenis tanaman yang mengandung senyawa yang bersifat antibakteri yang belum dimanfaatkan secara maksimal sehingga nilai ekonominya masih rendah.

Indonesia memiliki banyak sekali tanaman herbal yang dapat dijadikan obat bagi penanggulangan penyakit dalam bidang budidaya perikanan. Banyak jenis tanaman yang mengandung senyawa yang bersifat antimikroba, baik bakterisidal, bakteristatik, fungisidal, dan sebagainya. Berbagai penelitian telah membuktikan bahwa fitofarmaka efektif mengatasi penyakit ikan dan memiliki beberapa keuntungan, seperti dapat menjadi bahan alami pengganti antibiotik untuk pengendalian penyakit. ramah terhadap lingkungan, mudah hancur atau terurai, tidak menyebabkan residu pada ikan dan manusia, mudah diperoleh dan tersedia cukup banyak, harganya ekonomis dan cukup murah.

B. Kelebihan Penggunaan Tanaman Obat Dalam Pengendalian Penyakit Ikan

Penggunaan bahan alami untuk mengobati maupun mencegah penyakit pada ikan telah menjadi alternatif yang ramah lingkungan dan

kurang beresiko jika dibandingkan dengan penggunaan antibiotik, seiring juga dengan dilarangnya penggunaan antibiotik dan obat-obatan. Mengingat efek samping yang dihasilkan oleh bahan alami dapat dikatakan tidak signifikan terhadap kerusakan lingkungan (pencemaran), mudah hancur atau terurai jika dibandingkan dengan beberapa jenis antibiotik yang tidak terurai dalam perairan.

Bahan alami memiliki sifat residu yang tidak terakumulasi di dalam jaringan atau organ, dan aman baik bagi komoditas budidaya maupun konsumen. Dengan demikian penggunaan bahan alam akan mengatasi masalah penolakan produk perikanan yang ditolak pada pasar ekspor karena terdeteksi mengandung antibiotik yang dapat membahayakan jika dikonsumsi manusia. Penggunaan bahan alami dapat meningkatkan kualitas produksi dan meningkatkan kepercayaan konsumen. Selain itu, bahan alami memiliki kelebihan mudah diperoleh dan tersedia cukup banyak, harganya ekonomis dan cukup murah (Nababan, dkk. 2016).

C. Senyawa Aktif Dari Bahan Alam Dan Mekanisme Antibakterialnya

1. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau kecuali alga. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioktivitas sebagai obat. Flavonoid dapat ditemukan pada batang, daun, bunga, dan buah. Senyawa flavonoid berwarna merah, ungu, biru, dan sebagian berwarna kuning dalam tumbuhan (Arifin,1986). Flavonoid menjadi senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik bagi radikal hidroksi dan superhidroksi, sehingga dapat melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak. Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, aseton dan air (Harborne, 1987).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi

- Mekanisme antibakteri flavonoid menghambat sintesis asam nukleat adalah cincin A dan B yang memegang peran penting dalam proses interkelasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA. Letak gugus hidroksil di posisi 2',4' atau 2',6' dihidroksilasi pada cincin B dan 5,7 dihidroksilasi pada cincin A berperan penting terhadap aktivitas antibakteri flavonoid. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri.
- Mekanisme kerja flavonoid menghambat fungsi membran sel adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Penelitian lain menyatakan mekanisme flavonoid menghambat fungsi membran sel dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase.
- Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat. Energi dibutuhkan bakteri untuk biosintesis makromolekul.

2. Saponin

Saponin merupakan glukosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Saponin memiliki efek antibakteri melalui ikatannya dengan lipid A pada lipopolisakarida (LPS) yang mengganggu permeabilitas membran sel sehingga dapat mengubah struktur dan fungsi membran serta denaturasi protein membran dengan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida sehingga membran sel akan rusak dan lisis. Saponin juga

dapat menghambat proses inflamasi di dalam tubuh (Ganiswarna *et al*,2003).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi anti bakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida.

3. Fenol

Mekanisme antibakteri senyawa fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sebab keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel, sehingga sel menjadi lisis.

4. Tanin

Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat di dalam tumbuhan berpembuluh khususnya dalam jaringan kayu, selain itu banyak terdapat pada bagian daun(Harborne, 1987). Tanin tergolong senyawa polifenol dengan karakteristiknya yang dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lainnya. Tanin dapat membentuk kompleks senyawa yang irreversibel dengan prolin yang merupakan suatu protein lengkap yang berefek pada penghambatan sintesis protein untuk pembentukan dinding sel (Agnol, *et al*, 2003). Secara *in vivo* tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan menghambat

enzim yang diproduksi oleh bakteri untuk mendegradasi *mucin* (Dewi dkk, 2014). Menurut Titilope *et al* (2012), secara medis tanin berperan penting dalam pengobatan jaringan ulserasi meradang.

Mekanisme kerja antibakteri tanin mempunyai daya antibakteri dengan cara memprepitasi protein. Efek antibakteri tanin melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba, menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati. Kompleksasi dari ion besi dengan tanin dapat menjelaskan toksisitas tanin. Mikroorganisme yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sel bakteri tidak dapat terbentuk oleh kapasitas pengikat besi yang kuat oleh tanin.

5. Terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa kimia yang terdiri dari beberapa unit isopren. Kebanyakan terpenoid mempunyai struktur siklik dan mempunyai satu gugus fungsi atau lebih. Terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Senyawa terpenoid terdiri atas beberapa kelompok. Senyawa terpenoid ini adalah salah satu senyawa kimia bahan alam yang banyak digunakan sebagai obat. Sudah banyak peran terpenoid dari tumbuh-tumbuhan yang diketahui seperti menghambat pertumbuhan tumbuhan pesaingnya dan sebagai insektisida terhadap hewan tinggi. Terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Kebanyakan terpenoid alam

mempunyai struktur siklik dan mempunyai satu gugus fungsi atau lebih (Harborne, 1987, hal. 124).

Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah dengan melisis dinding sel bakteri. Senyawa terpenoid bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada dinding luar sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya protein. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan menyebabkan sel bakteri kekurangan nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.

Menurut Widiarto, dkk. (2018) Efektivitas antibakteri dalam membunuh mikroorganisme bergantung pada beberapa faktor, misalnya konsentrasi dan lama paparan. Konsentrasi mempengaruhi adsorpsi atau penyerapan komponen antibakteri. Pada konsentrasi rendah, beberapa antibakteri menghambat fungsi biokimia membran bakteri, namun tidak akan membunuh bakteri tersebut. Ketika konsentrasi antibakteri tinggi, komponen antibakteri akan berpenetrasi ke dalam sel dan mengganggu fungsi normal seluler secara luas, termasuk menghambat pembuatan makromolekul dan presipitasi protein intraseluler dan asam nukleat (DNA atau RNA). Banyaknya kerusakan pada sel mikroorganisme berbanding lurus dengan lamanya bagian tubuh yang terpapar.

6. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan terbesar senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan. Alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting, dan kulit kayu (Harbone, 1987). Alkaloid biasanya didapati sebagai garam organik pada tumbuhan dalam bentuk senyawa padat berbentuk kristal dan kebanyakan tidak berwarna. Pada daun dan buah segar biasanya keberadaan alkaloid memberikan rasa pahit. Alkaloid mempunyai kegiatan fisiologis yang menonjol sehingga banyak digunakan dalam pengobatan (Robinson, 1995)

7. Steroid

Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanaperhidrofenantrena, yang memiliki inti

dengan 4 cincin. Beberapa turunan steroid yang penting adalah alkohol steroid/sterol. Steroid lain diantaranya asam-asam empedu yang membantu pencernaan lemak dalam usus, hormon seks (androgen dan estrogen) dan hormon kortikosteroid yang dihasilkan oleh korteks adrenal. Vitamin D juga memiliki dasar struktur steroid (Dintith,2000). Steroid tidak terdapat bebas tetapi sebagai turunan senyawa yang lebih rumit seperti glikosida atau ester dengan asam lemak/asam aromatik. Steroid hewan yang khas berupa kolesterol terdapat pada lipid permukaan dan organel tumbuhan, tetapi sering kali tidak ditemukan karena hanya ini terdapat sebagai ester dan glikosida yang tidak larut dalam pelarut yang biasa dipakai untuk sterol bebas (Robinson, 1995). Resin parenkim dalam kayu lunak dan kayu keras mengandung triterpenoid dan steroid terutama terdapat sebagai ester-ester asam lemak. Steroid dan terpenoid berkaitan secara struktural, tetapi beberapa jalur khusus dalam biosintesisnya telah menghasilkan karakteristik-karakteristik struktur tertentu dan fungsi-fungsi biologi (Sjostrom, 1995).

D. Jenis Tanaman Obat yang dapat digunakan Dalam Pengendalian Penyakit Ikan

1. Patikan Kerbau

Morfologi

Patikan kebo (*Euphorbia hirta L*) merupakan tanaman herbal merambat yang hidup di permukaan tanah, terutama pada daerah yang beriklim tropis. Patikan kebo (*Euphorbia hirta L*) termasuk tanaman liar yang biasa tumbuh di permukaan tanah yang tidak terlalu lembab dan ditemukan secara terpencar satu sama lain. Tanaman patikan kerbau merupakan tanaman liar yang banyak ditemukan di daerah tropis. Di Indonesia, tanaman obat tradisional ini dapat ditemukan diantara rerumputan tepi jalan, kebun atau pekarangan rumah yang tidak terurus, sungai. Keluarga herbal ini dicirikan dengan batang lunak yang tidak begitu kuat menyangga daun, serta memiliki getah putih yang cukup

kental. Tanaman ini masih famili dengan patikan cina, yaitu dalam famili Euphorbiaceae.

Patikan kerbau di Indonesia punya berbagai nama daerah. Di Sumatera dikenal dengan daun biji kacang, daun dadih-dadih. Penduduk di Jawa menyebutnya gelang susu, gedong anak, nanangkaan, nangkaan, kukonkukonpatikan, patikan jiwa, patikan kerbau, kaksekakan. Kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam tanaman patikan kerbau sangat banyak, tidak hanya terdapat pada bagian daunnya dibagaian akar serta batang terdapat senyawa kimia, kemampuan tanaman patikan kerbau dalam pengendalian penyakit melibatkan senyawa kimia. Menurut Ardiansyah, dkk (2018) daun patikan kerbau mempunyai kandungan senyawa aktif berupa tanin, saponin, flavonoid, terpanoid, dan senyawa polifenol yang dapat berperan sebagai penghambat bakteri pagoten yang bisa daplikasikan pada ikan sebagai obat untuk pengendalian penyakit ikan..



Gambar 11.2. Tanaman Obat patikan kerbau (*Euphorbia hirta* L.)

Penggunaan Patikan kerbau dalam pengendalian penyakit ikan

Berdasarkan penelitian oleh Pratheepa, V., dkk. (2014) Pemanfaatan ekstrak daun patikan kerbau dalam meningkatkan respon hematologi dan imunologi pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi *A. hydrophila* dilakukan dengan memberikan ekstrak daun *E. hirta* sebanyak 25gr dan 50gr/kg kedalam pakan dengan kadar 40% protein, dengan pemberian pakan dilakukan sebanyak 2% dari kg bobot ikan. Efek imunostimulator *Euphorbia hirta* yang diteliti pada *Cyprinus carpio*. Studi hematologis, imunologis dan enzimatis dilakukan pada ikan yang diberi

ekstrak *Euphorbia hirta* yang terinfeksi patogen *Aeromonas hydrophila*. Hasil yang diperoleh dari studi hematologis menunjukkan bahwa jumlah RBC (red blood cell count), jumlah WBC (white blood cell count) dan kadar hemoglobin meningkat pada ikan yang terinfeksi pada konsentrasi ekstrak daun yang lebih tinggi. Pemberian pakan dengan ekstrak daun *Euphorbia hirta* (25 g dan 50 g) mampu merangsang respon imun spesifik dengan meningkatkan nilai titer antibodi. Dari perlakuan yang diberikan, ditemukan bahwa terjadi peningkatan hemoglobin pada hari ke-15 dan peningkatan RBC pada hari ke-20. Pada konsentrasi yang lebih tinggi, ekstrak daun *Euphorbia hirta* secara signifikan menghilangkan patogen dalam darah dan ginjal. Diamati bahwa ikan memiliki persentase kelangsungan hidup ikan meningkat secara signifikan pada konsentrasi *Euphorbia hirta* yang lebih tinggi.

Penelitian diatas juga didukung oleh penelitian Assidqi, K., dkk. (2012) mengenai pemanfaatan ekstrak daun patikan kerbau (*Euphorbia hirta L*) sebagai anti bakteri terhadap *Aeromonas hydrophila* yang dikultur dalam media TSA yang ditambah suspensi bakteri (3×10^6 CFU/ml), dalam penelitian ini mempelajari konsentrasi minimum untuk menghambat (Minimum Inhibitory Concentration) dan membunuh (Minimum Bactericidal Concentration) *A. hydrophila* dan ditemukan bahwa pada uji konsentrasi ekstrak daun patikan kebo yang dilakukan, didapatkan bahwa Konsentrasi minimum ekstrak daun patikan kebo (*E. hirta*) yang dapat menghambat bakteri *A. hydrophila* adalah 0,156 % dan Konsentrasi minimum ekstrak daun patikan kebo (*E. hirta*) yang dapat membunuh bakteri *A. hydrophila* adalah 0,312 %. Dari penelitian ini bisa dilihat bahwa ekstrak daun patikan kebo (*E. hirta*) memiliki potensi untuk dikembangkan dan dimanfaatkan dalam penanganan penyakit ikan.

Pemanfaatan ekstrak daun patikan kebo (*E. hirta*) dalam pengendalian penyakit ikan juga didukung oleh hasil penelitian yang oleh **Salosso, Y., & Jasmanindar, Y. (2014)** pada uji antibakteri dari pemanfaatan bahan ekstrak methanol daun patikan kebo (*E. hirta*) yang ternyata mampu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio*

alginolyticus dan *Aeromonas hydrophilla* yang dikultur dalam media TSA pada konsentrasi minimum (Minimum Inhibitory Concentration) sebesar 0,156 %. Kemampuan dalam membunuh bakteri *Vibrio alginolyticus* dan *Aeromonas hydrophilla* pada konsentrasi minimum (Minimum Bactericidal Concentration) sebesar 0,625%. Kemudian Percobaan pada larva ikan kerapu (*C. altivelis*) dan ikan lele (*C. batrachus*) dilakukan dengan perendaman ikan tersebut dengan ekstrak daun patikan kebo (*E. hirta*) metanol pada konsentrasi 0,1% dan 1% selama 5 menit perendaman, dan memberikan hasil sintasan sebesar 100% dan tidak menunjukkan efek keracunan pada ikan, hal ini juga membuktikan bahwa penggunaan ekstrak daun patikan kebo (*E. hirta*) berdampak ramah lingkungan tetapi juga efektif membunuh patogen.

Dari ketiga penelitian tersebut disimpulkan bahwa patikan kebo (*E. hirta*) memiliki potensi pemanfaatan untuk dijadikan bahan pengendalian penyakit ikan yang disebabkan oleh *aeromonas hydrophila* dan *vibrio alginolyticus* karena kandungan senyawa aktif seperti fenol, tannin, dan flavonoid didalamnya yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan membunuh bakteri, walaupun dalam pemanfaatannya masih perlu penelitian lebih lanjut pada aplikasinya menangani penyakit pada ikan.

2. Daun Pepaya

Morfologi

Pepaya (*Carica papaya L*) merupakan tanaman yang berasal dari Meksiko bagian selatan dan bagian utara dari Amerika Selatan. Tanaman ini menyebar ke Benua Afrika dan Asia serta negara India. Dari India, tanaman ini menyebar ke berbagai negara tropis, termasuk Indonesia di abad ke-17. Contoh tanaman pepaya (*Carica papaya L*) dilihat pada Gambar 11.3.



Gambar 11. 3. Tanaman Pepaya (*Carica papaya L*)

Sumber: <http://layangga.blogspot.com>

Kalie (2006) mengatakan bahwa famili *Caricaceae* memiliki empat genus, yaitu *Carica*, *Jarilla*, *Jacaranta* dan *Cylicomorpha*. Ketiga genus pertama merupakan tanaman asli Meksiko bagian selatan serta bagian utara dari Amerika Selatan, sedangkan genus keempat merupakan tanaman yang berasal dari Afrika. Genus *Carica* memiliki 24 spesies, salah satu diantaranya adalah *papaya*. Tanaman dari genus *Carica* banyak diusahakan petani karena buahnya enak dimakan. Pepaya merupakan tanaman herbal dengan batang berongga, biasanya tidak bercabang dan tinggi mencapai 10 m. Daunnya merupakan daun tunggal dan berukuran besar dengan tangkai daun panjang dan berongga. Bunganya terdiri dari tiga jenis, yaitu bunga jantan, bunga betina dan bunga sempurna. Batang, daun dan buahnya mengandung getah yang memiliki daya enzimatis yaitu dapat memecah protein.

3. Pemanfaatan Pepaya (*Carica papaya L*) Sebagai Antibakteri

Pengobatan herbal yang memanfaatkan tanaman pepaya (*Carica papaya L*) dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit diantaranya kulit melepuh karena panas, malaria, demam karena digigit ular berbisa, beruban sebelum waktunya, cacing gelang dan sariawan. Pemanfaatan tanaman pepaya (*C. papaya L*) cukup beragam. Bagian-bagian tanaman pepaya banyak yang digunakan dalam pengobatan tradisional. Rasa pahit perasan daun pepaya disebabkan oleh kandungan alkaloid carpain ($C_{14}H_{25}NO$) yang banyak terdapat pada daun muda. Alkaloid ini dapat menurunkan tekanan darah dan membunuh amuba.

Menurut Ardina (2007) di dalam ekstrak daun pepaya terkandung enzim papain yang memiliki aktivitas proteolitik dan antimikroba dan juga alkaloid carpain yang berfungsi sebagai antibakteri. Sebelumnya Amadioha (1998) telah menjelaskan, bahwa ekstrak daun pepaya dapat digunakan sebagai anti jamur pada *powdery mildew fungi (Erysiphe cichoracearum DC)* yang menyebabkan penyakit *powdery mildew* pada cabai (*Capsicum annum L.*).

Carpain merupakan senyawa alkaloid yang khas dihasilkan oleh tanaman pepaya. Alkaloid merupakan senyawa nitrogen heterosiklik. Naim (2004) menjelaskan bahwa alkaloid bersifat toksik terhadap mikroba, sehingga efektif membunuh bakteri dan virus, sebagai anti protozoa dan antidiare yang bersifat detoksifikasi yang mampu menetralkan racun dalam tubuh. Kemudian Naim (2004) juga menambahkan bahwa alkaloid juga diketahui mampu meningkatkan daya tahan tubuh. Mekanisme kerja dari alkaloid dihubungkan dengan kemampuan berinteraksi dengan DNA.

Tabel 11.1. Hasil penelitian penggunaan daun pepaya sebagai antibakteri

No	Peneliti	Metode	Patogen	Ikan	Hasil
1	Haryani dkk (2012)	Daun pepaya segar yang telah diangin-anginkan di potong-potong kecil ditimbang dan dihaluskan dengan blender , kemudian dilaturkan dalam akuades 250 ml dipanaskan dengan hot plates selama 15 menit pada suhu 45°C , didiamkan 15 menit kemudian disaring dengan metode perendaman selama 48 jam	Aeromonas hydrophilla	Mas koki	Dosis 1000 ppm meningkatkan SR 73,33%
2	Kasiati dkk (2016)	Daun pepaya segar dipotong-potong kemudian diblender dan ditambahkan air 1 liter, kemudian diendapkan selama 3 menit dan disaring. Ikan direndam selama 5 menit	Ikan nila	Tricodina sp	Dosis 20 mg/l menghasilkan sintasan 66,67% dan intensitas tricodina 5 ind/ekor dibanding kontrol 145 ind/ekor dan SR 26,65 %
3	Puspitasari	Perasan daun	Ikan komet	Argulus	30% selama 20

	dkk (2012)	pepaya segar		sp	menit jumlah argulus yang lepas dari ikan 88 %
4	Purbomartono dan Suwarsito (2019)		Ikan sidat		
5	Adli dan Saputra (2020)	Daun pepaya tua dicuci kemudian dipotong kecil-kecil lalu diblender dan ditimbang sesuai perlakuan disimpan dalam gelas ukur dengan rasio 50 g : 500 ml alkohol 96% selama 5 menit. Ikan direndam 48 jam	Ikan lele	luka	30 ml mempercepat penyembuhan luka pengobatan ikan

3. Daun Sirih

Morfologi Daun sirih *Piper betle*L.

Menurut Wikipedia (2009) *dalam* Naziri (2010) bahwa sirih adalah nama sejenis tumbuhan merambat yang bersandar pada batang pohon lain. Tanaman merambat ini bisa mencapai tinggi 15 m. Batang sirih berwarna coklat kehijauan, berbentuk bulat, beruas dan merupakan tempat keluarnya akar. Daunnya yang tunggal berbentuk jantung, berujung runcing, tumbuh berselang-seling, bertangkai dan mengeluarkan bau yang sedap bila diremas. Panjangnya sekitar 5 – 8 cm dan lebar 2 – 5 cm. Bunganya majemuk berbentuk bulir dan terdapat daun pelindung ± 1 mm berbentuk bulat panjang. Pada bulir jantan panjangnya sekitar 1,5 – 3 cm dan terdapat dua benang sari yang pendek sedang pada bulir betina panjangnya sekitar 1,5 – 6 cm dimana terdapat kepala putik tiga sampai lima buah berwarna putih dan hijau kekuningan. Akarnya tunggang, bulat dan berwarna coklat kekuningan.



Gambar 11.4. Daun sirih hijau (Dwiyanti, 1996)

Sirih termasuk dalam famili *Piperaceae*, merupakan jenis tumbuhan merambat dan bersandar pada batang pohon lain, yang tingginya 5-15 meter. Sirih memiliki daun tunggal letaknya berseling dengan bentuk bervariasi mulai dari bundar telur atau bundar telur lonjong, pangkal berbentuk jantung atau bundar berlekuk sedikit, ujung daun runcing, pinggir daun rata agak menggulung ke bawah, panjang 5-18 cm, lebar 3-12 cm. Daun berwarna hijau, permukaan atas rata, licin agak mengkilat, tulang daun agak tenggelam, permukaan bawah agak kasar, kusam, tulang daun menonjol, bau aromatik khas, rasanya pedas. Sedangkan batang tanaman berbentuk bulat dan lunak berwarna hijau agak kecoklatan dan permukaan kulitnya kasar serta berkerut-kerut (Suliantari, 2009).

Pemanfaatan Daun sirih Sebagai Antibakteri

Daun sirih sudah dikenal lama dan dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia. Sirih di Indonesia sudah dikenal sejak tahun 600 SM, sedangkan di Eropa baru diintroduksi setelah tahun 1295 yaitu setelah Marcopolo menjelajahi Indonesia. Sirih juga telah tercantum dalam farmakope Inggris, Perancis dan India. Pada pengobatan tradisional daun sirih dikenal sebagai zat aromatik yang menghangatkan dan antiseptik (Widarto, 1990).

Atsiri yang terkandung dalam daun sirih memiliki bau yang aromatik serta berasa pedas. Atsiri pada daun sirih memiliki kandungan chavicol yang disebut antiseptik yang kuat untuk menanggulangi parasit (Sugiastuti, 2002).

Manfaat daun sirih juga dipakai sebagai styptic (penahan darah) serta vulnerary (obat luka pada kulit) juga bermanfaat sebagai antioksidan, antiseptik, fungisida, serta bakterisida. Hal seperti ini dapat menjelaskan bahwa daun sirih mengandung minyak atsiri yang dapat menghambat pertumbuhan parasit, bakteri dan protozoa (Sugiasuti, 2002).

4. Patikan Cina

morfologi patikan cina (*Euphorbia thymifolia* L)



Gambar 11.5. Patikan cina (*Euphorbia thymifolia* L) (Arisandi, 2006)

Terna kecil merayap, Kadang-kadang setengah tegak, terdapat dimana-mana diantara rumput di halaman, sekeliling tegalan, pinggir jalan pada tempat-tempat yang agak basah sampai ketinggian 1.400 m dari permukaan laut. mempunyai batang dan daun berwarna agak kemerahan serta terdapat rambut-rambut halus disekitar batangnya, bila dipatahkan akan mengeluarkan getah. Daunnya bersirip genap, kecil-kecil, bulat telur, berhadapan, baunya wangi. Sedangkan bunganya berwarna merah muda

5. Bawang Putih

Morfologi Bawang Putih

Satu bongkahan umbi bawang putih tersusun atas beberapa siung yang mengelompok dan duduk pada satu cakram. Setiap siung dibungkus oleh selaput tipis yang merupakan pangkal pelapah daun. Ukuran umbi bawang putih sangat bervariasi, bergantung pada varietasnya masing-masing. Siung bawang putih berbentuk lonjong dan muncul dari setiap

ketiak daun. Jumlah siung yang dihasilkan tiap bongkahan umbinya berbeda-beda, seperti pada Gambar 11.6



Gambar 11.6. Bawang Putih (*Allium sativum*)

Kandungan Senyawa Bawang Putih

Bawang putih mengandung minyak atsiri yang dapat digunakan sebagai antibakteri dan antijamur. Salah satu zat yang terdapat dalam minyak atsiri ini yaitu alicin. Alicin dapat bergabung dengan protein dan mengubah strukturnya agar mudah dicerna. Proses ini akan mendukung daya antibiotiknya, karena alicin menyerang protein mikroba dan akhirnya membunuh mikroba tersebut (Haefa Kulsum S, 2014).

Di samping itu, sebagian besar bawang putih mengandung zat-zat seperti : kalsium, besi dan unsur kimia lainnya. Kandungan zat kimia yang terkandung pada bawang putih dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 11.2. Komposisi Kimia Bawang Putih Dalam 100 gr Bahan

Bahan	Jumlah
Air	66,2 – 71,0 g
Kalor	95,0 – 122 kal
Protein	4,5 – 7 g
Lemak	0,2 – 0,3 g
Karbohidrat	23,1 – 24,6 g
Kalsium	26 – 42 mg
Fosfor	15 – 109 mg
Besi	1,4 – 1,5 mg
Kalium	346 – 377 mg

Sumber : Syamsiah dan Tajudin (2003)

Pemanfaatan Bawang Putih sebagai antibakteri

Bawang putih sangat bermanfaat bagi kesehatan karena mengandung unsur-unsur aktif, yang memiliki daya bunuh terhadap bakteri, sebagai bahan antibiotik, merangsang pertumbuhan sel tubuh dan sebagai sumber vitamin B. Selain itu, bawang putih mempunyai nilai gizi yang cukup tinggi dan mengandung sejumlah komponen kimia yang diperlukan untuk hidup manusia, tidak seperti antibiotika sintesis, daya antibiotika bawang putih bekerja ke seluruh tubuh, bukan hanya di tempat yang sakit.

Jus Bawang putih yang disaring pada konsentrasi 0,8 % dapat mengobati ikan mas yang terinfeksi *A. hydrophila* pada ikan patin dimana dapat meningkatkan SRnya mencapai 66% dibanding kontrol yang SRnya 0% (Muslim, dkk, 2009). Aniputri dkk (2014), telah membuktikan kemampuan ekstrak etanol bawang putih dalam mencegah ikan Nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* pada dosis 1,25% yang dicampur dengan pakan. Saputra dkk (2017), telah membuktikan kemampuan ekstrak etanol bawang putih pada konsentrasi 2.000 ppm dengan daya tetas telur 93%. Bawang putih mampu mencegah serangan bakteri dan jamur terhadap ikan bandeng sehingga daya tetasnya dapat meningkat, selain itu Rahmayanti dkk (2017) telah membuktikan kemampuan air rebusan bawang putih pada dosis 3 ml dalam 8 liter air yang direndam selama 30 menit dalam meningkatkan daya tetas telur ikan tawes.

6. Gandarusa

Morfologi Gandarusa

Gandarusa merupakan tanaman perdu yang tumbuh tegak dengan tinggi rata-rata 1 – 1,5 m dan tinggi maksimum dapat mencapai 2 m, pada umumnya ditanam sebagai pagar hidup atau tumbuh liar di hutan, tanggul, sungai atau ditanam sebagai tanaman obat. Tumbuh pada ketinggian 1500 m di atas permukaan air laut, memiliki banyak cabang yaitu dimulai pada pangkal batang, cabang-cabang yang masih muda berwarna ungu gelap sedangkan sudah tua berwarna coklat mengkilat. Daun tunggal berbentuk lanset, pangkal batang bentuk baji dengan ujung lancip, bagian

tepi daun agak mengguling keluar, helaian daun seperti kulit tipis dengan tekstur yang mulus, tidak bertepi dan bertepi rata, warna daun hijau gelap dengan ukuran panjang 5-20 cm dan lebar 1-3,5 cm ujung daun meruncing (Emiyanah, 2009).Morfologi daun gandarusa dapat dilihat pada Gambar 11.7.



Gambar 11.7. Daun gandarusa

Kandungan Senyawa Aktif dan Khasiat Daun Gandarusa

Senyawa bioaktif merupakan suatu senyawa aktif yang termasuk metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan suatu komponen hasil metabolisme yang unik dan terbatas, yang terkadang hanya dijumpai pada kelompok tertentu, biasanya tidak dibutuhkan oleh sel (organisme) untuk hidup, tetapi berperan dalam interaksi sel (organisme) dengan lingkungan, menjamin ketahanan hidup organisme tersebut pada ekosistem hidupnya. Tanaman ini memiliki kandungan senyawa aktif steroid/triterpenoid, tanin, kalium, flavonoid, jusitin, minyak atsiri, saponin, dan alkaloid yang sedikit beracun, tanaman ini juga memiliki khasiat bagi tubuh yaitu arhritis, nyeri otot, sakit kepala dan antifertilitas, (Emiyanah 2009).

Alkaloid merupakan golongan terbesar dari senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan dan hingga saat ini sebanyak 5500 jenis alkaloid telah diketahui. Pada umumnya alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid seringkali bersifat racun bagi manusia, tetapi beberapa alkaloid memiliki aktivitas farmakologis dan

digunakan secara luas dalam bidang kesehatan (Harborne, 1998). Senyawa ini pada tumbuhan berfungsi untuk melindungi diri dari predator karena bersifat racun pada satwa misalnya serangga, sebagai zat perangsang dan pengatur tumbuh dan membantu aktivitas metabolisme dan reproduksi tumbuhan. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀asiklik, yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang rumit, kebanyakan berupa alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Triterpenoid dapat digolongkan menjadi empat golongan, yaitu triterpena, steroid, saponin dan glikosida jantung. Triterpena yang dijumpai pada tumbuhan berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangga dan serangan mikroba (Harborne, 1998). Steroid terdapat pada hampir semua tipe sistem kehidupan. Steroid yang dijumpai pada binatang bertindak sebagai hormon, selain itu steroid juga digunakan secara luas sebagai obat. Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang terdeteksi pada lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa yang bersifat seperti sabun yang dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Golongan triterpena terakhir adalah glikosida jantung atau kardenolida. Beberapa glikosida jantung adalah racun, tetapi terdapat juga yang berkhasiat farmakologi, terutama terhadap jantung, seperti tercermin pada namanya (Harborne, 1998).

Flavonoid merupakan senyawa yang larut dalam air dan dapat diekstrak dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan. Flavonoid yang banyak terdapat di alam adalah jenis flavon dan flavonol, sedangkan isoflavon dan biflavonol hanya terdapat pada beberapasuku tumbuhan saja (Harborne, 1998). Sabir (2005) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa senyawa flavonoid memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri dengan beberapa mekanisme yang berbeda, antara lain flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai

hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri, sementara Mirzoeva *et al.* (1997) *diacu oleh* Sabir (2005) dalam penelitiannya berpendapat bahwa flavonoid mampu melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri, selain itu juga menghambat motilitas bakteri. Mekanisme yang berbeda dikemukakan oleh Di Carlo *et al.* (1999) dan Estrela *et al.* (1995) *diacu oleh* Sabir (2005) yang menyatakan bahwa gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksit terhadap bakteri.

RANGKUMAN

1. Pemakaian antibiotika yang tidak tepat untuk pengobatan infeksi bakteri pada Ikan memunculkan berbagai masalah yaitu menimbulkan bakteri yang resisten terhadap antibiotik
2. Penggunaan bahan alam akan mengatasi masalah penolakan produk perikanan yang ditolak pada pasar ekspor karena terdeteksi mengandung antibiotik yang dapat membahayakan jika dikonsumsi manusia. Penggunaan bahan alami dapat meningkatkan kualitas produksi dan meningkatkan kepercayaan konsumen. Selain itu, bahan alami memiliki kelebihan mudah diperoleh dan tersedia cukup banyak, harganya ekonomis dan cukup murah.
3. Bahan alam mengandung senyawa berupa Flavanoid, Alkaloid, tannin, saponin, fenol, terpenoid, steroid dan lain-lain yang memiliki aktivitas biologis sehingga dapat digunakan dalam pengendalian penyakit ikan.
4. Jenis-jenis tanaman yang sudah terbukti dapat mengendalikan penyakit pada ikan antara lain patikan kerbau, daun papaya, patikan cina, daun sirih, bawang putih, gandarusa.

LATIHAN

1. Jelaskan kelemahan penggunaan antibiotik dan bahan kimia pada ikan?
2. jelaskan Kelebihan menggunakan bahan alam dalam pengendalian penyakit ikan?
3. jelaskan salah satu jenis senyawa aktif yang dikandung tanaman dan mekanisme kerjanya?
4. Uraikan penggunaan salah satu tanaman dalam pengendalian penyakit ikan ?

BAHAN BACAAN

- Ardiansyah, Erina, Abdul. 2018. Pengaruh Efektivitas Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia Hirta*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella* Sp. 2(3):380-387
- Assidqi, K., Tjahjaningsih, W., Sigit, S. 2012. Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia Hirta*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas Hydrophila* Secara In Vitro. *Journal Of Marine And Coastal Science*. 1(2) : 113 – 124
- Hartono P., T. Tusihadi dan R. Purnowati. 2002. Prinsip-prinsip dasar Pengobatan pada Ikan. Dalam *Budidaya Laut*. Balai Budidaya Laut Lampung. 2002. Pengelolaan kesehatan Ikan Budidaya Laut. Balai Budidaya Laut Lampung, Direktorat jendral Perikanan dan Budidaya, Departemen kelautan dan Perikanan. Lampung.
- Handajani, H dan S.Samsundari. 2005. *Parasit dan Penyakit Ikan*. Penerbit Universitas Muhammadiyah, Malang.
- Karim, Karina, Sabang, S., M. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia Hirta* L). *Journal Akademika Kim*. 4(2): 56
- Koesharyani, I., D. Roza, K.Mahardika, F.J. Zafran. 2001. *Manual for fish disease Diognosis, Marenis Fish and Crustacean diseases in Indonesia*. Gondol Research Institut for mariculture and Japan Internasional Conperation Agency.
- Kurniawan, A. 2012. *Penyakit Akuatik*. Penerbit UBB Press, Pangkalpinang. 224 hal.
- Lesmana, D. S. 2002. *Mencegah dan menanggulangi Penyakit Ikan Hias*. Penebar Swadaya. 80 hal.
- Mekam, P., N., Martini, S., Nguetack, J., Tagaliazucchi, D., Stefani, E. 2019. Phenolic Compounds Profile Of Water And Ethanol Extracts Of *Euphorbia Hirta* L. Leaves Showing Antioxidant And Antifungal Properties. *South African Journal Of Botany*. 127 :319-332
- Nababan, E., D., Suryanto, A., Fbriana. 2016. Potensi Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora Mucronata* Sebagai Antibakteri Untuk Menanggulangi Serangan Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Pada Benih Ikan Gurami (*Osphronemus Gouramy*). *Jurnal Aquacoastmarine*. 4 (2) : 2
- Noga, J E. *Fish Disease, Diagnosis and Treatment*. Wiley-Blackwell, A. John Wiley dan Sons, Inc, Publication.

- Pratheepa V And Sukumaran N. Effect Of Euphorbia Hirta Plant Leaf Extract On Immunostimulant Response Of Aeromonas Hydrophila Infected Cyprinus Carpio Peerj 2014; 2:E671; Doi 10.7717/Peerj.671
- Pleczar, M.L dan E. C. S. Chan. 2005. Dasar-dasar Mikrobiologi 2. Penerbit Universitas Indonesia.
- Pratiwi, S.T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Penerbit Erlangga. Jakarta 237 ha
- Salosso, Y., Pasaribu, W., & Ressie, J. D. 2022. Penggunaan madu hutan Kefa yang dicampur dengan patikan kerbau (*Euphorbia hirta*) dalam pengendalian penyakit bakterial pada budidaya ikan. Laporan Akhir Penelitian Desentralisasi. Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana.
- Stoskopf, M.K. 1993. Fish Medicine. W.B. Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich, Inc, Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney Tokyo.
- Yanong, R. P. E. 2019. Use of Antibiotics in Ornamental Fish Aquaculture. UF/IFAS Extension. University of Florida. [Ask IFAS - Powered by EDIS \(ufl.edu\)](#)
- Widiarto, Mahendra, Janiarta M. A., Intan, P. K. 2018. Analisis Kandungan Antiseptik Getah Tumbuhan Patikan Kebo (*Euphorbia Hirta*) Sebagai Dasar Pembuatan Brosur Penanganan Luka Ringan Pada Masyarakat. Jurnal Ilmiah Biologi. 2(1) : 17