

## Penggunaan ekstrak kunyit sebagai pengendali infeksi bakteri *Edwardsiella tarda* pada ikan lele

### The use of *Curcuma longa* extract to control *Edwardsiella tarda* infection on *Clarias* sp.

Dinamella Wahjuningrum<sup>1\*</sup>, Muharram Nur Ikhsan<sup>1</sup>, Sukenda<sup>1</sup>, Yan Evan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor  
Kampus IPB Dramaga Bogor, Jawa Barat 16680

<sup>2</sup>Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan dan Lingkungan Serang, Banten  
Jl. Raya Carita Ds. Umbul Tanjung Kec. Cinangka, Anyer Lor Serang, Banten 42167

\*Surel: dinamella@yahoo.com

#### ABSTRACT

Target production of catfish in aquaculture can be reached by suppressing the pathogenic bacterial infection. Previous works had shown that turmeric *Curcuma longa* has antibacterial activity. The objectives of this research were to determine the best method of extraction and to evaluate the efficacy of turmeric extract as feed additive to control *Edwardsiella tarda* disease in catfish culture. Briefly, the objective was achieved through *in vitro* assay based on inhibition ability of extraction method against *E. tarda*, while the following objective was obtained through *in vivo* assay based on their survival during challenge test either as preventive or curative measurement. A complete randomized design with three replications was used for each assay. Furthermore, challenge test was done by mean intraperitoneal injection at concentration  $10^6$  cfu/mL of *E. tarda* (LD50). The results showed that 15 minutes decoction method allowed the best inhibition with diameter 7.42 mm of clear zone and then curative measurement using turmeric extract could be the best application against *E. tarda* since it gave 86.67% of survival. Clinical signs such as swelling, hemorrhagic, body ulcer, gastroenteritis and gaseous captivity were observed on challenged fish. However, there were no significant different among treatments for specific growth, body weight, and absolute length parameters.

Keywords: *Edwardsiella tarda*, extraction, turmeric, catfish, inhibition zone

#### ABSTRAK

Peningkatan produksi ikan lele dapat dicapai melalui pencegahan infeksi penyakit bakterial. Hasil beberapa penelitian membuktikan bahwa kunyit *Curcuma longa* terbukti memiliki zat aktif yang bersifat antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mencari metode ekstraksi terbaik dan mengevaluasi efektivitas penambahan ekstrak kunyit pada pakan untuk pengendalian patogen *Edwardsiella tarda* pada ikan lele. Metoda ekstraksi kunyit diuji secara *in vitro* dengan metoda zona hambat, sedangkan efikasi diuji secara *in vivo* melalui perlakuan pencegahan dan pengobatan. Penelitian didesain dalam rancangan acak lengkap dengan tiga ulangan. Efikasi ekstrak kunyit diketahui dari nilai sintasan ikan lele hasil uji tangant *E. Tarda* melalui injeksi peritoneal dengan dosis  $10^6$  cfu/mL (LD50). Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa metode dekoksi selama 15 menit memberikan zona hambat terbaik yaitu sebesar 7,42 mm. Hasil uji *in vivo* menunjukkan bahwa ekstrak kunyit sebagai tindak pengobatan memberikan nilai sintasan terbaik, yaitu sebesar 86,67%. Ikan lele yang diuji tangant menunjukkan gejala klinis berupa pembengkakan, luka, gastroenteritis, dan gas pada perut. Tidak terdapat perbedaan nyata di antara perlakuan untuk parameter laju pertumbuhan harian, bobot harian, dan pertumbuhan panjang mutlak.

Kata kunci: *Edwardsiella tarda*, ekstraksi, kunyit, ikan lele, zona hambat

#### PENDAHULUAN

Salah satu bakteri yang menyerang golongan *catfish* termasuk ikan lele *Clarias* sp. adalah bakteri *Edwardsiella tarda*, penyebab penyakit *edwardsiellosis*, *emphisematous putrefactive*

*disease of catfish* (EPDC), dan *red pest*. Bakteri ini memiliki banyak inang dan daerah penyebaran yang luas yaitu meliputi wilayah Eropa, Thailand, Amerika Serikat, Malaysia, Asia, Kanada, Australia, dan juga Indonesia (KEPMEN KP RI, 2010).

Permasalahan penyakit infeksi bakterial dapat teratasi dengan manajemen kesehatan ikan melalui usaha pengendalian penyebaran infeksi. Pengendalian yang biasa dilakukan yaitu dengan pemberian obat atau antibakteri seperti bahan-bahan antibiotik melalui kegiatan pencegahan dan pengobatan, sedangkan upaya pengendalian belum banyak digunakan untuk mengatasi permasalahan penyakit pada kegiatan budidaya. Penggunaan fitofarmaka di Indonesia telah lama digunakan karena melimpahnya potensi antimikroba dari bahan alam yang lebih aman, memiliki fungsi dan aktivitas yang tidak kalah dari antibiotika. Obat-obatan dari bahan tanaman sudah mulai banyak digunakan seperti temulawak, daun jambu biji, sambiloto, mengkudu, bawang putih, dan tanaman lainnya (Dewoto, 2007; Pandey *et al.*, 2012).

Kunyit *Curcuma longa* merupakan salah satu jenis tanaman temu-temuan yang memiliki banyak sekali manfaat termasuk antibakteri, bagian dari kunyit yang seringkali dimanfaatkan yaitu bagian rimpangnya (Musa *et al.*, 2008).. Pemanfaatan kunyit baik sebagai antibakteri maupun penambah nafsu makan telah diujikan pada beberapa hewan uji, sehingga upaya pengendalian infeksi bakteri *E. tarda* terhadap ikan lele menggunakan ekstrak kunyit perlu diuji lebih lanjut terkait efektivitasnya dalam kegiatan pemeliharaan. Penelitian ini bertujuan untuk menguji penambahan ekstrak kunyit pada pakan melalui metode pencegahan, pengobatan serta pengendalian dan menggunakan dosis berbeda terhadap infeksi bakteri *E. tarda* pada ikan lele.

## BAHAN DAN METODE

### Ikan lele *Clarias sp.*

Ikan uji yang digunakan dalam kegiatan penelitian yaitu benih ikan lele. Ukuran benih yang digunakan pada uji *in vivo* yaitu panjang total  $13,47 \pm 0,87$  cm dan bobot tubuh  $14,02 \pm 2,61$  g. Ikan yang digunakan merupakan ikan lele stok untuk keperluan ujiantang berasal dari Lab. *Bio Assay*, Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan dan Lingkungan (LP2IL) Serang, Banten. Kepadatan ikan yang digunakan pada pengujian *in vivo* yaitu 10 ekor/akuarium untuk masing-masing perlakuan dengan tiga ulangan.

### Bakteri *Edwardsiella tarda*

Bakteri *E. tarda* yang diujikan merupakan isolat milik Laboratorium Mikrobiologi, Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan dan Lingkungan,

Serang, Banten. Bakteri dikultur pada media *brain heart infusion agar* (BHIA) dan media *brain heart infusion broth* (BHIB). Inkubasi kultur dilakukan pada suhu 26–29 °C. Khusus untuk media BHIB digunakan alat pengocok dengan pengaturan suhu yang sama.

### Ekstraksi kunyit

Kunyit yang diujikan sebagai fitofarmaka dalam penelitian ini merupakan rimpang kunyit segar. Dosis ekstraksi yang dilakukan yaitu 1:10 (w/v). Pelarut untuk ekstraksi antara lain air, alkohol 70%, dan alkohol 96%. Perlakuan dengan pelarut air menggunakan metode perendaman air hangat (infusi, suhu berkisar 70 °C) dan dekoksi (perebusan, suhu berkisar 90 °C) selama 15 menit, sedangkan pelarut alkohol 70% dan 96% menggunakan metode maserasi selama 24 jam.

### Pakan uji

Dosis pencegahan yang digunakan sesuai dengan modifikasi dari metode Darmawan (2007) yaitu 1:2 (v/w) yaitu setiap 1 L ekstrak bahan digunakan pada 2 kg pakan. Dosis pengobatan menggunakan perbandingan 1:1 (v/w) atau setiap 1 L ekstrak bahan digunakan pada 1 kg pakan.

### Persiapan wadah, media air, dan ikan uji

Wadah akuarium berukuran 30×50×50 cm<sup>3</sup> direndam dalam larutan kaporit (CaOCl<sub>2</sub>) konsentrasi 30 ppm selama 24 jam, selanjutnya ditambahkan larutan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O untuk menetralkan larutan kaporit dengan aerasi kuat selama 24 jam. Akuarium, selang, dan batu aerasi dibilas dengan air. Setiap sisi akuarium ditutup dengan plastik berwarna hitam untuk menghindari stres pada ikan lele. Air dimasukkan hingga volume 30 L lalu sistem aerasi diatur hingga sama pada setiap akuarium dan dibiarkan semalam sebelum ikan dimasukkan. Ikan diadaptasi dengan kondisi akuarium selama 24 jam sebelum pengujian dimulai dengan pemberian pakan pada pagi, siang, dan malam hari.

### Karakterisasi fisik dan biokimia bakteri

Isolat bakteri diujikan sebelum dan sesudah peningkatan virulensi untuk memastikan bakteri yang menginfeksi merupakan bakteri *E. tarda*. Karakter yang diamati antara lain pewarnaan Gram, pertumbuhan kultur pada suhu 4 °C dan suhu 40 °C, uji laktosa, uji sitrat, glukosa, sukrosa, fruktosa, dan galaktosa, uji *sulfide indol motility* (SIM), uji urease, uji O/F, uji katalase dan uji oksidase.

### Zona hambat ekstrak kunyit terhadap bakteri

Zona hambat adalah visualisasi kemampuan antibakteri dari ekstrak kunyit segar yang diekstraksi melalui empat metode ekstraksi berbeda, yaitu perlakuan A dengan infusi air hangat selama 15 menit, perlakuan B melalui dekoksi (perebusan) kunyit selama 15 menit, perlakuan C dengan metode maserasi alkohol 96% selama 24 jam dan perlakuan D yaitu maserasi alkohol 70% selama 24 jam sesuai penelitian Paulucci *et al.* (2013). Perbandingan kunyit dan pelarut yaitu 1:10 (w/v) sesuai dengan penelitian dari Kumar *et al.* (2012) yang menggunakan perbandingan 100 mg/mL pelarut. Bakteri dengan kepadatan  $10^9$  cfu/mL sebanyak 0,1 mL disebar pada media BHIA, selanjutnya kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak kunyit selama lima menit diletakkan pada media BHIA. Inkubasi zona hambat pada suhu sekitar 26–29 °C selama 24 jam. Kuantifikasi zona hambat melalui pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk.

### Pengembalian virulensi bakteri

Tahap ini dilakukan untuk mengembalikan virulensi bakteri yang diindikasikan menurun akibat dikultur pada media agar. Tiap ikan lele uji diinfeksi dengan suspensi *E. tarda* sebanyak 0,1 mL pada bagian intramuskular dengan kepadatan bakteri stok  $10^9$  cfu/mL. Ikan terinfeksi bakteri *E. tarda* akan menunjukkan gejala klinis seperti luka, tukak dan pendarahan. Reisolasi bakteri dilakukan pada bagian luka dan dimurnikan untuk pengujian selanjutnya yang dilakukan hingga tiga kali pengulangan.

### Uji lethal dosage 50 (LD50) bakteri

Pengujian LD50 dilakukan untuk menentukan kepadatan bakteri yang dapat mematikan setengah dari populasi ikan uji. Kepadatan bakteri yang digunakan untuk uji LD50 yaitu  $10^3$ ,  $10^5$ ,  $10^7$ , dan  $10^9$  cfu/mL yang diinjeksikan secara intraperitoneal pada sepuluh ikan lele dengan dua kali ulangan untuk tiap kepadatan bakteri yang diujikan. Pengamatan dilakukan dengan pencatatan total jumlah ikan yang mati selama 72 jam setelah penyuntikan dilakukan.

### Pemberian pakan

Ekstrak kunyit segar dicampur dengan pakan kemudian diberikan melalui metode oral pada pemeliharaan ikan lele, dengan perlakuan pencegahan (diberikan pada hari ke-0 hingga hari ke-14 sebanyak 1 L ekstrak/2 kg pakan),

pengobatan (diberikan pada hari ke-15 hingga hari ke-21 sebanyak 1 L ekstrak/1 kg pakan), dan pengendalian (diberikan pada hari ke-0 hingga hari ke-21 sebanyak 1 L ekstrak/1 kg pakan). Uji tantang dilakukan pada hari ke-14, menggunakan bakteri *E. tarda*. Pada saat uji tantang pada hari ke-14 ikan dipuaskan. Frekuensi pemberian pakan yaitu tiga kali dalam sehari, dengan jadwal pemberian pagi (07.00-08.00), siang (12.00-13.00), dan malam (19.00-20.00) WIB.

### Manajemen kualitas air

Air yang digunakan untuk perlakuan merupakan air tanah yang ditampung dalam tandon air tawar dan dialirkan ke laboratorium. Kelayakan kualitas air pemeliharaan dipastikan tetap terjaga untuk masing-masing parameter antara lain kelarutan oksigen (DO), tingkat keasaman (pH), kadar nitrit, dan amonia, sedangkan untuk parameter suhu diamati setiap hari. Air pemeliharaan disifon setiap tiga hari sekali dan dilakukan pergantian air sebanyak 50% setiap minggu setelah pengambilan sampel uji kualitas air sesuai dengan metode dari APHA (2005).

### Sintasan

Sintasan atau tingkat kelangsungan hidup ikan dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Tingkat kelangsungan hidup} = \frac{N_t}{N_0} \times 100$$

Keterangan:

$N_t$  = jumlah ikan akhir (ekor)

$N_0$  = jumlah ikan awal (ekor)

### Laju pertumbuhan harian

Laju pertumbuhan harian dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\alpha = [(W_t/W_0)^{1/t} - 1] \times 100$$

Keterangan:

$\alpha$  = laju pertumbuhan harian (%)

$W_t$  = bobot rata-rata ikan pada waktu t (g)

$W_0$  = bobot rata-rata ikan pada awal percobaan (g)

t = lama percobaan (hari)

### Pertumbuhan panjang mutlak

Pertumbuhan panjang mutlak dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Pertumbuhan mutlak} = L_t - L_0$$

Keterangan:

$L_t$  = panjang rata-rata ikan pada waktu  $t$   
(cm)

$L_0$  = panjang rata-rata ikan pada awal  
percobaan (cm)

### Respons makan dan gejala klinis

Respons makan diamati dengan menghitung jumlah ikan yang naik ke permukaan untuk makan dan dicatat pada saat pemberian pakan untuk setiap perlakuan dan ulangan, juga dilakukan penimbangan sisa pakan. Gejala klinis yang diamati pada organ luar tubuh yaitu munculnya abnormalitas meliputi depigmentasi kulit, pembengkakan, hemoragi atau pendarahan dan luka, hingga kemunculan tukak. Gejala klinis yang diamati pada organ dalam ikan meliputi perubahan warna hati, pembengkakan pankreas, dan kemunculan gelembung gas pada saluran pencernaan (Ibrahem *et al.*, 2011).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

#### Karakterisasi fisik dan biokimia bakteri

Karakterisasi dilakukan dengan pengujian beberapa karakter bakteri berdasarkan rujukan seperti Tabel 1. Berdasarkan hasil yang didapat pada Tabel 1, karakterisasi isolat bakteri dengan 15 karakter bakteri *E. tarda* diuji dan dibandingkan

dengan karakter bakteri berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya dan dilakukan pemeriksaan kesesuaian, diperoleh 15 parameter yang sesuai (Lima *et al.*, 2008; Park *et al.* 2012)

#### Zona hambat ekstrak kunyit terhadap bakteri

Diameter zona hambat dari kunyit dengan metode ekstraksi berbeda menunjukkan hasil terbaik pada metode ekstraksi B (dekoksi) dengan diameter rata-rata 7,42 mm, sedangkan diameter terkecil ditunjukkan pada metode ekstraksi A dengan tidak munculnya zona hambat. Kontrol positif menggunakan alkohol 70% menghasilkan zona hambat 6,50 mm, sedangkan pada kontrol negatif tidak terlihat adanya zona hambat. Aktivitas zona hambat ekstrak kunyit dengan empat metode ekstraksi yang berbeda ditunjukkan pada Tabel 2.

Hasil kuantifikasi zona hambat diperoleh melalui pengukuran zona hambat dengan pengambilan jarak terpanjang dan terpendek. Perlakuan kontrol negatif dan metode infusi diperoleh hasil zona hambat 0 mm karena tidak terbentuknya zona hambat dan tumbuhnya bakteri pada bagian bawah kertas cakram. Gambaran zona hambat ekstrak kunyit dengan empat metode ekstraksi berbeda ditunjukkan pada Gambar 1.

#### Gejala klinis infeksi bakteri terhadap ikan uji

Gejala klinis merupakan tanda yang muncul

Tabel 1. Karakterisasi fisik dan biokimia bakteri *Edwardsiella tarda*

Karakterisasi	Hasil uji	Park <i>et al.</i> , 2012	Lima <i>et al.</i> , 2008	Kesesuaian hasil uji
Pewarnaan Gram	-	-	-	√
Oksidase	-	-	-	√
Katalase	+	+	+	√
<i>Sulfide indole motility</i>	+	+	+	√
O/F	F	F	O/F	√
<i>Citrate utilization</i>	-	ND	-	√
Urease	-	ND	-	√
Laktosa	-	ND	-	√
Glukosa	+	ND	+	√
Galaktosa	+	ND	ND	√
Fruktosa	+	ND	+	√
Sukrosa	-	+	-	√
Gelatin	-	ND	ND	√
Kultur 4 °C	-	ND	ND	√
Kultur 40 °C	+	ND	ND	√

Keterangan: \*persentase dari strain hasil positif; F: fermentatif; ND: no data; +: reaksi positif; -: reaksi negatif.

pada infeksi beberapa jenis bakteri termasuk bakteri *E. tarda*. Pada infeksi ikan lele muncul gejala klinis baik pada organ tubuh bagian luar maupun organ dalam ikan. Hasil uji *in vivo* pada perlakuan pencegahan menunjukkan adanya tukak pada bagian perut ikan, sedangkan pada perlakuan pengobatan hanya muncul depigmentasi pada bagian abdominal. Kontrol positif menunjukkan luka dan kerusakan bagian abdominal, sedangkan kontrol negatif tidak terlihat adanya gejala klinis. Gejala klinis pada ikan lele uji muncul pada setiap ikan yang mati juga ikan yang hidup. Melalui hasil pengamatan, dapat diketahui pula gejala klinis yang muncul akibat infeksi bakteri *E. tarda* diawali dengan depigmentasi kulit atau perubahan warna kulit akibat nekrosis atau kematian sel dan jaringan, dilanjutkan dengan hemoragi atau pendarahan dan luka hingga menyebabkan tukak.

Gambar 2 menunjukkan gejala klinis yang muncul pada organ dalam ikan uji meliputi hati yang berwarna pucat berbeda dengan kondisi normal hati yang berwarna merah cerah pada kontrol negatif, adanya gelembung udara pada saluran pencernaan, dan pembengkakan pankreas.

Perlakuan kontrol negatif pada Gambar 2 menunjukkan kondisi normal organ dalam ikan lele, hati yang berwarna merah, pankreas, dan saluran pencernaan yang normal, sedangkan pada perlakuan lain dapat terlihat warna hati yang lebih

pucat, pembengkakan pankreas, juga adanya gelembung gas pada saluran pencernaan.

#### Penentuan LD50 bakteri

Pengujian dilakukan dengan penyuntikan intraperitoneal sebanyak 0,1 mL tiap ikan uji dan pengamatan selama 72 jam sehingga diperoleh hasil yang ditunjukkan oleh Tabel 3. Berdasarkan data pada Tabel 3, dapat diketahui persentase kematian terdekat di bawah 50% yaitu pada kepadatan bakteri  $10^5$  dengan 37,5 %, sedangkan persentase kematian terdekat di atas 50% yaitu pada kepadatan bakteri  $10^7$  dengan 75%, sehingga nilai LD50 berada di antara kepadatan bakteri  $10^5$  dan  $10^7$ . Penentuan nilai LD50 dilakukan menggunakan metode Reed dan Muench (1938), sehingga diperoleh pada kepadatan bakteri  $10^6$  cfu/mL.

#### Sintasan dan pertumbuhan

Hasil perlakuan terbaik diperoleh hasil perlakuan B dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan kontrol positif, dan tidak berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol negatif. Data sintasan ditampilkan pada Gambar 3. Sementara itu pertumbuhan ikan lele ditunjukkan dalam Tabel 4 untuk parameter laju pertumbuhan spesifik dan pertumbuhan panjang mutlak. Berdasarkan Tabel 4, laju pertumbuhan harian (%), pertumbuhan bobot harian (g/hari), dan pertumbuhan panjang mutlak (cm) ikan lele tidak berbeda nyata pada tiap perlakuan ( $P < 0,05$ ).

Tabel 2. Diameter zona hambat ekstrak kunyit dengan empat metode ekstraksi

Metode ekstraksi	Diameter zona hambat (mm)	
	Ulangan	Rataan
Kontrol negatif (larutan PBS)	0,00	0,00
	0,00	
Kontrol positif (alkohol 70%)	7,00	6,50
	6,00	
A (kunyit-infusi)	0,00	0,00
	0,00	
B (kunyit-dekoksi)	7,80	7,42
	7,00	
C (kunyit-alkohol 96%)	7,25	7,38
	7,50	
D (kunyit-alkohol 70%)	7,25	7,13
	7,00	

Keterangan: PBS: *phosphate buffer saline* (garam penyangga fosfat); A: infusi dengan air hangat ( $\pm 70$  °C selama 15 menit); B: dekoksi (perebusan  $\pm 90$  °C selama 15 menit); C: maserasi dengan alkohol 96% selama 24 jam; D: maserasi dengan alkohol 70% selama 24 jam.

#### Respons makan

Respons makan diamati untuk melihat respons ikan saat diberi pakan pada tiga waktu pemberian pakan yaitu pagi, siang, dan malam hari selama 21 hari pemeliharaan. Respons makan ikan divisualisasikan dalam simbol “+”. Data respons makan harian dikelompokkan menjadi tiga minggu dan disajikan dalam Tabel 5. Berdasarkan Tabel 5, dapat dilihat bahwa respons ikan terhadap pakan yang diberikan hingga minggu kedua pemeliharaan sebelum diuji tantang dengan bakteri *E. tarda* cukup responsif, dan respons berkurang secara drastis pada minggu terakhir pemeliharaan kecuali pada perlakuan kontrol negatif.

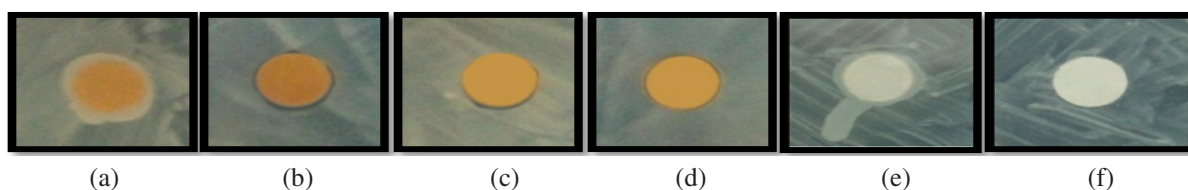
#### Pembahasan

Bakteri *E. tarda* merupakan salah satu penyebab penyakit infeksi bakterial yang memiliki sebaran infeksi luas baik berdasarkan inang maupun lingkungan hidup. Bakteri *E. tarda*

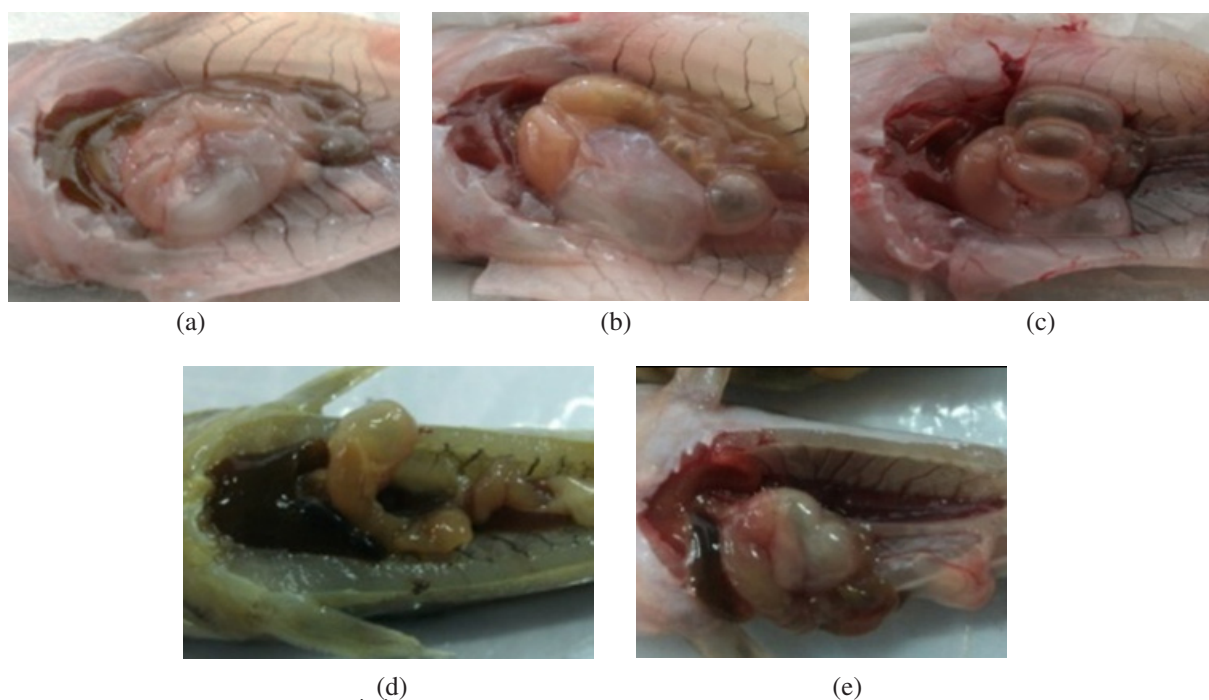
dapat menginfeksi berbagai jenis ikan terutama golongan *catfish* (Park *et al.*, 2012). Selama ini pengendalian penyakit bakterial dapat dilakukan melalui pemberian obat-obatan pada ikan, seringkali berupa antibiotik. Penggunaan obat-obatan dari tanaman semakin diminati karena tingkat keamanan pangan yang lebih terjamin.

Pemilihan tanaman obat dan metode ekstraksi merupakan faktor penting keberhasilan pengambilan bahan aktif dalam suatu tanaman obat. Metode ekstraksi yang biasa digunakan untuk tanaman obat yaitu maserasi, infusi, perkolasi, dekoksi, soxhlesi, dan digesti. Bagian

tanaman dan pelarut juga menjadi penentu jumlah dan efektivitas bahan aktif yang akan diperoleh dalam proses ekstraksi (Tiwari *et al.*, 2011). Efektivitas metode ekstraksi diperoleh melalui data zona hambat tiap metode. Metode infusi dengan air hangat tidak terbentuk zona hambat melainkan tumbuhnya bakteri pada bagian bawah kertas cakram, sehingga dapat disimpulkan metode ini tidak dapat menarik bahan aktif dari rimpang kunyit. Metode dekoksi yang merupakan metode dengan hasil diameter zona hambat terbaik (7,42 mm) menjadi metode acuan yang digunakan untuk pengujian secara *in vivo*.



Gambar 1. Uji zona hambat dari empat metode ekstraksi (a) kunyit-infusi, (b) kunyit-dekoksi, (c) kunyit-alkohol 96%, (d) kunyit-alkohol 70%, (e) kontrol negatif (larutan garam penyangga fosfat), dan (f) kontrol positif (alkohol 70%).



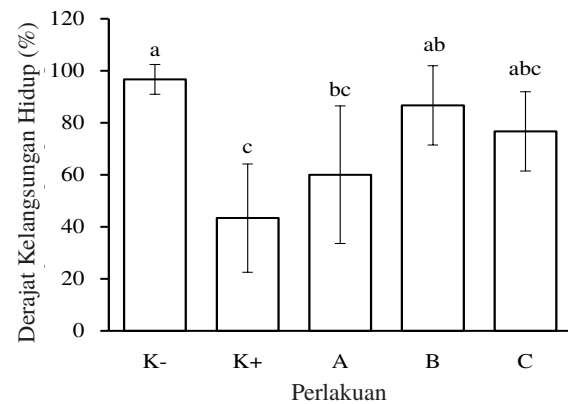
Gambar 2. Gejala klinis organ dalam ikan lele pada perlakuan (a) pencegahan, (b) pengobatan, (c) pengendalian, (d) kontrol positif, dan (e) kontrol negatif.

Tabel 3. Kematian kumulatif dan persentase kematian LD50 bakteri *Edwardsiella tarda*

Kepadatan bakteri	Log dosis	Jumlah mati	Jumlah hidup	Kumulatif			% Mati
				Mati	Hidup	Total	
$10^3$	3	2	8	2	18	20	10,0
$10^5$	5	4	6	6	10	16	37,5
$10^7$	7	6	4	12	4	16	75,0
$10^9$	9	10	0	22	0	22	100,0

Zona hambat yang terbentuk dari ekstrak kunyit muncul akibat adanya bahan aktif dari kunyit yang tertarik keluar akibat metode ekstraksi, bahan aktif yang ada pada kunyit didominasi oleh minyak atsiri dan kurkumin. Menurut Harikrishnan *et al.* (2009) dan Sukrasno *et al.* (2012), minyak atsiri dalam kunyit bersifat bakterisidal, sedangkan kurkumin bersifat bakteriostatik. Bhowmik *et al.* (2008) menyatakan bahwa rimpang kunyit mengandung 13,9% protein, 1,69% lemak, 59,03% karbohidrat, 11,95% abu, 13,39% serat. Uji *in vivo* membandingkan tiga perlakuan yaitu pencegahan, pengobatan, dan pengendalian. Bakteri *E. tarda* mampu menginfeksi manusia, terutama infeksi melalui luka pada kulit, walaupun belum pernah ada laporan sebelumnya mengenai infeksi langsung dari organisme akuatik ke manusia, melainkan hanya melalui bakteri yang menginfeksi hewan terestrial (Lowry & Smith, 2007). Menurut Abbot dan Janda *et al.* (2006),

bakteri *E. tarda* jauh lebih virulen dibandingkan strain *Edwardsiella ictaluri* dan *Edwardsiella hoshinae* dan tumbuh baik pada suhu antara 25 °C hingga 35 °C. Suhu selama pemeliharaan



Gambar 3. Sintasan ikan lele *Clarias gariepinus* pada kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), pencegahan (A), pengobatan (B), dan C (pengendalian) di akhir pemeliharaan.

Tabel 4. Pertumbuhan ikan lele dumbo *Clarias sp.* selama pemeliharaan

Perlakuan	Laju pertumbuhan harian (%)	Pertumbuhan panjang mutlak (cm)
Kontrol negatif	2,00±0,27a	2,21±0,22a
Kontrol positif	2,32±0,95a	2,37±0,35a
A (pencegahan)	2,43±1,17a	2,27±1,39a
B (pengobatan)	2,33±0,77a	2,11±1,22a
C (pengendalian)	1,96±0,94a	2,06±0,63a

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ).

Tabel 5. Respons makan ikan lele dumbo *Clarias sp.* selama pemeliharaan

Perlakuan	Waktu	Minggu ke-		
		1	2	3
Kontrol negatif	Pagi	++++	++++	++++
	Siang	++++	++++	++++
	Malam	++++	++++	+++
Kontrol positif	Pagi	++++	++++	++
	Siang	++++	++++	++
	Malam	++++	++++	++
A	Pagi	++++	++++	++
	Siang	++++	++++	++
	Malam	++++	++++	++
B	Pagi	++++	++++	+++
	Siang	++++	++++	+++
	Malam	++++	++++	+++
C	Pagi	++++	++++	++
	Siang	++++	++++	++
	Malam	++++	++++	++

Keterangan: +: 1–3 ekor; ++: 4–6 ekor; +++: 7–8 ekor; ++++: 9–10 ekor (jumlah ikan yang merespons pakan).

berkisar pada suhu 26–28 °C, sehingga masih dalam rentang kemunculan atau suhu optimal infeksi bakteri *E. tarda*.

Ikan lele yang diujikan dengan infeksi bakteri *E. tarda* dikondisikan agar tidak dalam kondisi stres dengan cara pemberian pakan teratur dan pengelolaan kualitas air pemeliharaan, sehingga faktor *stressor* diharapkan seminimal mungkin. Ikan uji menunjukkan gejala infeksi yang jelas selama pengamatan inkubasi pengembalian virulensi, sehingga dapat diketahui bahwa bakteri *E. tarda* mampu menginfeksi ikan sehat dalam kondisi tidak stres sekalipun. Penyebaran infeksi bakteri *E. tarda* dapat bersifat langsung dan horizontal melalui proses makan, insang, dan permukaan tubuh, bakteri ini dapat menginfeksi terutama ikan yang sakit dan stres dengan prevalensi 43%, namun dapat pula menginfeksi ikan yang tidak stres dengan prevalensi 7% (Ibrahim *et al.*, 2011).

Bakteri *E. tarda* memiliki mekanisme toksisitas melalui produksi dua eksotoksin dermatonekrosis. Kedua jenis toksin yang dihasilkan merupakan antigenik dan tidak ditemukan pada sistem imun hewan. Toksin yang telah masuk ke dalam tubuh hewan akan menyebabkan nekrosis dan produksi gas pada bagian perut (*dropsy*). Gejala klinis yang muncul pada ikan uji berupa nekrosis dan ditandai dengan depigmentasi kulit, hemoragi dan luka bahkan tukak (Gambar 2), sedangkan pada organ dalam terlihat adanya gas pada bagian saluran pencernaan (Gambar 2) yang menyebabkan perut ikan akan terlihat kembung (*dropsy*).

Menurut Hasyim dan Galil (2012), ikan lele uji yang diinfeksi dengan biakan bakteri *E. tarda* menunjukkan gejala klinis yang sangat jelas, mulai dari nekrosis otot saat bagian tubuh ikan memutih, letargi, dan hemoragi, produksi mukus berlebih, dilanjutkan dengan pembengkakan bagian tubuh yang diinfeksi dengan warna putih sedikit kekuning-coklatan seperti nanah dan akhirnya muncul luka, hingga muncul tukak atau borok pada bagian tubuh dan menyebabkan kematian pada ikan lele juga adanya gas pada bagian abdominal. Sama halnya dengan Lima *et al.* (2008), bakteri *E. tarda* menunjukkan gejala klinis pada infeksi ikan seperti hemoragi atau pendarahan pada tubuh, insang, perut, insang, dan ekor, juga kemunculan ulcer akibat infeksi. Bakteri *E. tarda* juga menimbulkan gejala klinis pada organ dalam ikan ditandai dengan abses atau pembengkakan pada usus dan adanya gas pada bagian organ dalam, juga hati dan ginjal yang pucat (Muhanty & Sahoo, 2007), hal tersebut

sesuai dengan pengujian yang dilakukan dan ditunjukkan pada Gambar 2 dan Gambar 3.

Mekanisme antibakteri dari kunyit menurut Singh dan Jain (2012), serta Shawket (2013) yaitu minyak atsiri yang dapat merusak membran biologis sel sehingga mikroba akan lisis atau minimal terhambat pertumbuhannya. Kurkuminoid dalam rimpang kunyit merupakan senyawa fenolik yang dapat mengubah permeabilitas membran sel sitoplasma yang akan menyebabkan kebocoran nutrisi pada sel bakteri sehingga menyebabkan kematian bakteri atau menghambat pertumbuhannya, juga merupakan racun dalam protoplasma sel sehingga mengendapkan protein (Marwati, 1996). Adanya minyak atsiri dan kurkuminoid dalam kunyit menimbulkan zona bening pada uji *in vitro* yang diharapkan dapat memberikan efek antibakteri yang sama pada uji *in vivo*. Metode ekstraksi dengan metode dekoksi mampu menarik lebih banyak zat aktif minyak atsiri dan kurkuminoid dilihat dari luasan zona hambat yang dihasilkan.

Pada parameter sintasan terjadi perbedaan nyata antara perlakuan pengobatan dengan kontrol positif, sedangkan perlakuan pengendalian tidak menunjukkan perbedaan nyata dengan tiap perlakuan. Perlakuan B (pengobatan) menjadi perlakuan dengan hasil sintasan terbaik dengan 86,67% dan tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif (96,67%). Perbedaan hasil antara perlakuan pengobatan dengan pencegahan dan pengendalian diduga sebagai akibat dari adanya perbedaan dosis perlakuan, yaitu pada perlakuan pengobatan diberikan dosis 1:1, sedangkan pada perlakuan pencegahan dan pengendalian diberikan dosis 1:2 antara ekstrak kunyit dengan pakan yang diberikan, sehingga konsentrasi ekstrak kunyit pada perlakuan pengobatan dua kali lebih banyak dan menghasilkan efek lebih baik pada ikan lele uji. Penggunaan perbandingan ekstrak kunyit dan pakan 1:2 didasarkan pada hasil penelitian Darmawan (2007). Pada ayam pedaging, kunyit memiliki fungsi sebagai penambah nafsu makan (Ariyanto *et al.*, 2013), namun pada parameter pertumbuhan ikan lele setelah uji lanjut tidak terdapat perbedaan nyata pada tiap perlakuannya. Hal tersebut diduga karena adanya batasan dalam pemberian pakan dari metode pemberian pakan secara *restricted* atau menggunakan *feeding rate* sebesar 5% dari bobot tubuh ikan.

Perlakuan pencegahan menghasilkan sintasan 60%, sementara perlakuan pengobatan 86,67%, dan 76,67% untuk perlakuan pengendalian. Perlakuan terbaik yaitu pada perlakuan



pengobatan dengan sintasan 86,67% bila dibandingkan dengan kontrol positif dengan sintasan 43,33%. Pengobatan lebih baik diduga karena menggunakan dua kali dosis ekstrak kunyit.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan dan Lingkungan (LP2IL) Serang, Banten sebagai penyedia isolat bakteri *E. tarda*, bahan, media kultur bakteri, serta tempat pelaksanaan uji biokimia.

### DAFTAR PUSTAKA

- [APHA] American Public Health Association. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, 21st Edition. Eaton, ADLS Clesceri, EW Rice, AE Greenberg (eds). APHA, American Water Works Association (AWWA), and Water Environment Federation (WEF), Washington DC.
- Abbot SL, Janda JM. 2006. The genus *Edwardsiella*. *Procarvates* 6: 72–89.
- Ariyanto AN, Iriyanti N, Mufti M. 2013. Pemanfaatan tepung kunyit *Curcuma domestica* Val dan sambiloto *Andrographis paniculata* Nees dalam pakan terhadap konsumsi pakan dan pertumbuhan bobot badan broiler. *Jurnal Ilmiah Peternakan* 1: 471–478.
- Bhowmik S, Chowdhury SD, Kabir MH, Ali MA. 2008. Chemical composition of some medicine plant product of indigineous origin. *The Bangladesh Veterinarian* 25: 32–39.
- Darmawan BD. 2007. Pemanfaatan ekstrak kunyit dan bawang putih sebagai nutrisi tambahan alami pada pakan dan aplikasinya terhadap benih ikan lele dumbo *Clarias gariepinus*. *Akuatik, Jurnal Sumberdaya Perairan* 1: 1–6.
- Dewoto HR. 2007. Pengembangan obat tradisional Indonesia menjadi fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia* 57: 205–211.
- Harikrishnan R, Balasundaram C, Kim MC, Kim JS, Han YJ, Heo MS. 2009. Innate immune response and disease resistance in *Carassius auratus* by triherbal solvent extract. *Fish and shellfish immunology* 27: 508–515.
- Hasyim M, Galil MAA. 2012. Studies on Edwardsiellosis in *Clarias gariepinus* fish at Sohag Governorate. *Journal of American Science* 8: 438–444.
- Ibrahim MD, Shaheed IB, Yazeed HA, Korami H. 2011. Assesment of the susceptibility of polyculture reared African catfish and Nile tilapia to *Edwardsiella tarda*. *Journal of American Science* 7: 779–786.
- [KEPMEN KP RI]. 2010. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia No. 03 Tahun 2010.
- Kumar S, Dhankhar S, Arya VP, Yadav S, Yadav JP. 2012. Antimicrobial activity of *Salvadora oleoides* Decne against some microorganisms. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6: 2.754–2.760.
- Lima LC, Fernandes AA, Costa AAP, Velasco FO, Lette RC, Hackett JL. 2008. Isolation and characterization of *Edwardsiella tarda* from pacu *Myleus micans*. *Brazilian Journal of Veterinary and Animal Sciences* 60: 275–277.
- Lowry T, Smith SA. 2007. Aquatic zoonoses associated with food, bait, ornamental, and tropical fish. *Journal of The American Veterinary Medical Association* 231: 876–880.
- Marwati T, Winarti C, Sumangat D. 1996. Aktivitas zat antibakteri pada rimpang kunyit. *Prosiding Simposium Nasional Tumbuhan Obat dan Aromatik APINMAP*. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Bogor: Puslitbang Biologi. Hlm. 37–43.
- Mohanty BR, Sahoo PK. 2007. Edwardsiellosis in fish: a brief review. *Jurnal of Bioscience* 32: 1.331–1.344.
- Musa N, Wei LS, Seng CT, Wee W, Leong LK. 2008. Potential of edible plants as remedies of systemic bacterial diseases infection in cultured fish. *Global Journal of Pharmacology* 2: 31–36.
- Pandey G, Sharma M, Mandloi AK. 2012. Medicinal plants useful in fish diseases. *Plant Archives* 12: 1–4.
- Park SB, Aoki T, Jung TS. 2012. Pathogenesis of and strategies for preventing *Edwardsiella tarda* infection in fish. *Veterinary Research* 2012 43: 67–78.
- Paulucci VP, Couto RO, Teixeira CCC, Freitas LAP. 2013. Optimization of the extraction of curcumin from *Curcuma longa* rhizomes. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 23: 94–100.
- Reed LJ & Muench H. 1938. A simple method of estimating fifty percent end points. *The American Journal of Hygiene*. 27: 493–497.
- Shawket DS. 2013. Screening the antibacterial potency of *Curcuma longa* L essential oil extract against boils causing *Staphylococcus* species. *International Journal of Advanced*

- Biological Research 3: 490–500.
- Singh RP, Jain DA. 2012. Evaluation of antimicrobial activity of curcuminoids isolated from turmeric. *International Journal of Pharmacy and Life Sciences* 3: 1.368–1.376.
- Sukrasno, Kartika, Fidrianny I, Elfahmi, Anam K. 2012. Influence of storage on the volatile oil content of *Curcuma* rhizome. *Research Journal of Medicinal Plant* 6: 274–280.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. 2011. Phytochemical screening and extraction: A review. *Internationale Pharmaceutica Scientia* 1: 88–108.