



Jurnal Sains Akuakultur Tropis

Departemen Akuakultur

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan – Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang 50275

Telp. (024) 7474698, Fax.: (024) 7474698

Email: sainsakuakulturtropis@gmail.com, sainsakuakulturtropis@undip.ac.id

Pengaruh Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas salmonicida*

Woro Nur Endang Sariati^{1*}, Ardiani¹, Hutomo Widiatmojo¹

¹BUSKIPM, Jl. Harapan 1 No.1A, Setu, Cipayung, Jakarta, Telp. (021) 8446861; 8451378

* Corresponding author : ardiani1989@gmail.com

Abstrak

Penyakit Furunculosis adalah penyakit yang ditimbulkan dari infeksi bakteri *Aeromonas salmonicida* yang dapat mengakibatkan kematian masal pada ikan mas yang dibudidayakan. Lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) menjadi salah satu tanaman yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat herbal. Zat aktif minyak atsiri, kuinon dan flavonoid yang terkandung pada rimpang lengkuas merah diketahui memiliki manfaat sebagai antimikroba. Tujuan dari penelitian ini untuk mendapatkan nilai konsentrasi dari ekstrak lengkuas merah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas salmonicida*. Pada penelitian digunakan lengkuas merah yang telah diekstrak menjadi lima konsentrasi (100%, 80%, 60%, 40%, dan 20%), serta menggunakan bakteri uji *Aeromonas salmonicida*. Pada konsentrasi 20% terbentuk zona hambat dengan diameter 18 mm dan pada konsentrasi 100% terbentuk zona hambat 24 mm.

Kata kunci : *Aeromonas salmonicida*, Ekstrak lengkuas merah, Daya hambat bakteri

Abstract

Furunculosis is a disease caused by infection with the *Aeromonas salmonicida* bacteria which can cause mass death in cultivated carp. Red galangal (*Alpinia purpurata*) is one of the plants that is often used by the community as herbal medicine. The active substances of essential oils, quinones and flavonoids contained in red galangal rhizome are known to have benefits as antimicrobials. The purpose of this study was to obtain the concentration value of red galangal extract which can inhibit the growth of *Aeromonas salmonicida* bacteria. In this study, red galangal was used which had been extracted into five concentrations (100%, 80%, 60%, 40%, and 20%), and used the *Aeromonas salmonicida* test bacteria. At a concentration of 20% an inhibition zone with a diameter of 18 mm was formed and at a concentration of 100% an inhibition zone of 24 mm was formed.

Key words : *Aeromonas salmonicida*, Red galangal extract, Bacterial inhibition

Pendahuluan

Budidaya perikanan intensif saat ini menjadi sektor perikanan yang mempunyai nilai ekonomis yang tinggi di Indonesia. Berdasarkan data dari Kementerian Kelautan dan Perikanan, pertumbuhan produksi ikan nasional meningkat 879 ribu ton dari tahun 2015 sampai dengan 2018. Produksi ikan yang meningkat terjadi pada sektor perikanan Tangkap dan budidaya. Dan yang memiliki peningkatan produksi lebih tinggi adalah perikanan. Dari tahun 2017 sampai 2018 berdasarkan data yang diperoleh perikanan budidaya produksinya meningkat 29,29%. Salah satu produksi terbesar dari perikanan budidaya adalah ikan mas dengan total produksi pada tahun 2020 sebesar 127.772 ton (KKP 2020). Dari data yang diperoleh Kementerian Kelautan dan Perikanan, ikan mas hingga saat ini telah dibudidayakan secara massal sehingga memiliki nilai keekonomian yang tinggi. Aktifitas masyarakat yang telah melakukan pembudidayaan ikan mas secara intensif membutuhkan pakan yang banyak serta kepadatan pada suatu area budidaya

90

yang tinggi. Keadaan tersebut bisa menimbulkan dampak yang tidak baik terhadap ikan mas yang sedang dibudidayakan. Contoh dampak yang ditimbulkan oleh keberadaan bakteri yaitu ikan lebih mudah diserang penyakit. Penyakit yang pernah dilaporkan menginfeksi pada kegiatan budidaya adalah suatu penyakit yang ditimbulkan oleh serangan bakteri *A. Salmonicida*. Bakteri *Aeromonas salmonicida* termasuk bakteri berbahaya dan cepat menular pada budidaya ikan-ikan yang termasuk famili salmonidae. Jenis ikan non salmonid seperti ikan mas juga dapat terserang infeksi dari bakteri *A. salmonicida* subspecies nova atau smithia yang menyebabkan penyakit furunculosis yang dapat menyebabkan kematian 2-3 hari (Austin and Austin, 2007). Menurut Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan (KEPMEN-KP) no 91/Kepmen-KP/2019, bakteri *A.salmonicida* termasuk dalam HPIK golongan II yang harus dikarantina untuk mencegah pemasukan dan penyebarannya di seluruh wilayah Indonesia. *A.salmonicida* dapat menginfeksi ikan mas yang menyebabkan terjadinya pendarahan dan pembengkakan pada jaringan dermis dan epidermis. Perluasan pembengkakan membentuk zona yang berwarnamerah dan terjadi secara bertahap. Luka pada bagian topikal tubuh ikan dan luka pada lambung merupakan ciri terjadinya kerusakan jaringan pada ikan mas yang diakibatkan infeksi *A.salmonicida* (Austin dkk, 2007). Pada bulan agustus tahun 2002 diperairan waduk Saguling terjadi kematian ikan secara massal 300 ton ikan yang dipelihara mati karena terserang penyakit Furunculosis. Dan untuk mengatasi penyakit tersebut pembudidaya menggunakan antibiotik yang tidak tepat pemakaiannya, sehingga besar kemungkinan terjadinya resistensi antibiotik dari residu yang dihasilkan pada daging ikan dan lingkungan. Penggunaan lengkuas merah merupakan salah satu cara pengobatan dari bahan alam yang aman dan tidak menimbulkan residu pada ikan yang terserang penyakit Furunculosis yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas salmonicida*.

Lengkuas merah (*Alpina purpurata*) merupakan jenis rempah-rempah yang didalamnya terkandung bioaktif diantaranya flavonoid,kuinon,terpen dan fenol dan mempunyai potensi untuk dikembangkan menjadi obat tradisional yang memiliki manfaat untuk mengobati penyakit termasuk penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Komponen bioaktif yang memiliki kemampuan untuk merusak dinding sel bakteri yaitu Flavonoid (Cushnie and Lamb,2005 dalam Tassya dan Elya,2020). Sedangkan komponen bioaktif kuinon dapat membuat bakteri terhambat proses pembentukan sintesis RNA dan DNA nya (Zaidel dkk,2017). Kedua komponen bioaktif flavonoid dan kuinon yang terkandung pada lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) memiliki fungsi atau kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Fungsi dari komponen bioaktif flavonoid mampu berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi, analgesik dan antibakteri (Rialita dkk, 2015).

Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri merupakan dasar untuk menentukan kekuatan daya hambat menurut Davis Stout:

Kategori Daya Hambat Anti Bakteri (Davis Stout,2002)

Daya Hambat Antibakteri	Kategori Daya Hambat Antibakteri
≥ 20 mm	Sangat Kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
≤ 5 mm	Lemah

Komponen bioaktif yang dimiliki oleh ekstrak lengkuas merah (*Alpina purpurata*) adalah flavonoid dan kuinon yang memiliki potensi sebagai antibakteri, sehingga diperlukan penelitian untuk mengetahui apakah ekstrak lengkuas merah memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A.salmonicida*.

Metode Penelitian

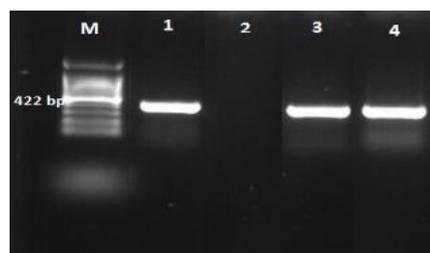
Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia dan Mikrobiologi BUSKIPM (Balai Uji Standar Karantina Ikan dan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan) pada bulan Oktober 2022. Peralatan yang dipakai pada penelitian ini diantaranya ose, jangka sorong, cawan petri, beaker glass, gelas ukur, sarung tangan, blender, tabung reaksi, bunsen, timbangan, autoklaf, spatula, pipet ukur, labu erlenmeyer, kertas label, marker, nitrogen evaporator, corong pemisah, rak tabung reaksi, pinset, aluminium foil, mikropipet, vortex, inkubator, hot plate, mikrotube ukuran 1,5 mL dan 0,2 mL, freezer -20 °C, heating block atau waterbath, hot plate dengan stirrer bar atau microwave, inkubator, laminar air flow atau PCR chamber; microcentrifuge, minicentrifuge atau spindown centrifuge, PCR chamber yang dilengkapi UV, peralatan gelas, mikropipet ukuran 1000 μ L, 200 μ L, 100 μ L, 20 μ L, 10 μ L, dan 10mL, rak ice block, thermal cycler; timbangan digital, UV transilluminator (gel documentation).

Pembuatan ekstrak dibuat dengan cara 1,5 kg lengkuas merah dipotong-potong menjadi ukuran kecil lalu dikering anginkan selama 3 hari sampai diperoleh potongan lengkuas merah yang kering. Kemudian, dilakukan maserasi dengan etanol 96% 1:10 selama 1 hari. Selanjutnya dilakukan proses evaporasi menggunakan nitrogen evaporator pada suhu 40°C dengan cara memisahkan pelarut etanol dari rimpangnya hingga diperoleh ekstrak kental. Untuk memastikan bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *A.salmonicida* maka dilakukan analisa dengan menggunakan metode PCR. Bakteri *A.salmonicida* yang akan dianalisa dengan proses PCR selanjutnya dikultur pada medium TSB dan dilakukan inkubasi suhu 30 C, dalam waktu 1 x 24 jam. Selanjutnya dilakukan proses PCR. Tahapan dalam melakukan uji PCR ada 3 yaitu proses ekstraksi, amplifikasi dan elektroforesis. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode pemanasan bakteri dengan memasukkan 1 mL bakteri yang telah dikultur pada media TSB ke dalam *microtube* 2 mL, kemudian sentrifugasi pada 13.000 x g selama 5 menit; buang supernatan menggunakan pipet, tambahkan 200 µL NFW atau *lysis buffer* pada *pellet* bakteri dan homogenkan;letakkan *microtube* ke atas *heating block/waterbath* suhu 100 °C (10 menit); pindahkan mikrotube dari *heating block/waterbath* dan dinginkan pada suhu ruang (25 □C – 28 □C) selama 2 menit, selanjutnya selama 5 menit dilakukan sentrifugasi 13.000 x g; pindahkan 100 µL supernatan ke *microtube* 1,5 mL baru.Langkah selanjutnya dilakukan proses amplifikasi siapkan templat DNA, primer, *master mix*, *Nuclease Free Water* (NFW) atau ddH₂O k;untuk pembuatan preparasi koktail selain templat DNA. Bahan-bahan diatas kemudian dihomogenkan dan didistribusikan pada masing-masing mikrotube 0.2 mL dengan volume yang telah dilebihkan 10%;masukkan 3 µL templat DNA contoh uji, kontrol negatif, kontrol positif; selanjutnya dilakukan proses amplifikasi dengan *thermal cycler*, sesuai program proses amplifikasi. Hasil amplifikasi selanjutnya dilakukan elektroforesis buat gel agarosa 1,5%;letakkan gel agarosa yang telah dicetak di atas *chamber* elektroforesis;isi *chamber* menggunakan 500 mL larutan TAE 1x (sampai gel agarosa terendam);pipet 5 µL penanda DNA atau marker (DNA ladder 100 bp) ke sumur gel paling kiri; produk PCR dipipet 10 µL masukkan ke dalam sumur (*well*) gel; selama 30 menit, bejana elektroforesis ditutup dan aliri listrik voltase maksimal 150 V atau hingga pewarna *bromophenol blue* mencapai bagian panjang gel agarose; setelah selesai proses elektroforesis, amati gel menggunakan UV *transilluminator* (*gel documentation*) dan didokumentasikan.

Ekstrak lengkuas merah dibuat lima konsentrasi bertingkat dengan rumus pengenceran, dengan konsentrasi 100%,80%,60%,40%,dan 20%, yang dilarutkan dengan akuades. Bakteri *A.salmonicida* yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan bakteri *A.salmonicida* NCIMB 13077. Bakteri *A.salmonicida* yang ditumbuhkan di media TSB dilakukan inkubasi pada suhu 30 C selama 1 x 24 jam. Suspensi bakteri uji *A.salmonicida* diambil sebanyak 200 ul dan disupensikan kedalam media TSA, lalu dari masing-masing konsentrasi ekstrak dimasukkan kertas cakram, blank disk sebagai kontrol negatif dan cakram disk antibiotik kloramphenikol yang digunakan sebagai kontrol positif diletakkan pada permukaan medium menggunakan pinset steril, lalu dilakukan inkubasi inkubasi pada suhu 30 C selama 1 x 24 jam. Jangka sorong digunakan untuk melakukan pengukuran dan pengamatan zona hambat (*halo zone*) yang terbentuk.

Hasil dan Pembahasan

Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan teknik metode yang dipakai untuk identifikasi beberapa jenis bakteri. Metodologi tersebut berbasis PCR dan berhasil digunakan dalam mengidentifikasi bakteri. Metode PCR mempunyai berbagai macam mamfaat diantaranya mampu menghasilkan amplifikasi produk yang spesifik,cepat dan akurat dengan hanya menggunakan jumlah sampel yang sedikit. Hasil analisa bakteri *A.salmonicida* dengan menggunakan metode PCR diperoleh hasil positif pada 422 bp berdasarkan pola pita pada gel agarosa yang diamati dengan UV *gel doc*.



Gambar 1. Interpretasi hasil uji bakteri *Aeromonas salmonicida* dengan menggunakan metode PCR

Keterangan :

M : Marker 100 bp

1 : Kontrol positif *A.salmonicida*

2 : Kontrol negatif

3 : Bakteri *A.salmonicida*

4 : Bakteri *A.salmonicida*

Ekstrak lengkuas merah yang telah dimaserasi selama 24 jam lalu dievaporasi pada suhu 40°C didapatkan jumlah rendaman yang tinggi sehingga menghasilkan ekstrak yang banyak dan efektif. Ukuran partikel simplisia , jenis pelarut, konsentrasi pelarut, , dan lamanya proses ekstraksi mempengaruhi efektifitas proses ekstraksi. Perbedaan kelarutan komponen yang akan dipisahkan mempengaruhi keberhasilan pemisahan (Suryanto,2012).Hasil uji daya hambat pertumbuhan *A.salmonicida* dari ekstrak lengkuas dengan menggunakan limakonsentrasi berbeda (100%,80%,60%,40%,20%), kontrol negatif dan kontrol positif dan diperoleh hasil yaitu :

Tabel 1. Hasil Uji Pengukuran daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *A.salmonicida*

No	Konsentrasi	Daya Hambat (mm)
1	20%	18
2	40%	19
3	60%	21
4	80%	23
5	100%	24
6	Kontrol +	30
7	Kontrol -	-

Berdasarkan hasil pengukuran diameter daya hambat dari masing-masing konsentrasi ekstrak lengkuas didapatkan bahwa ekstrak lengkuas mampu menghambat pertumbuhan *A.salmonicida* dengan diameter zona hambat tertinggi pada konsentrasi 100% dengan besar diameter 24 mm dan terendah pada konsentrasi 20% dengan ukuran diameter 18 mm (gambar 2). Dari penelitian diatas menunjukkan jika semakin besar zona hambat terbentuk berbanding lurus dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak. Konsentrasi ekstrak lengkuas 60%,80%,100% pada penelitian ini dapat dikategorikan sangat kuat, sedangkan konsentrasi 20%,40% dikategorikan kuat. Komponen bioaktif yang dimiliki oleh lengkuas merah diantaranya flavonoid,kuinon,terpen,dan fenol mempengaruhi adanya zona hambat pada pertumbuhan bakteri *A.salmonicida*. Komponen-komponen bioaktif tersebut memiliki sifat antibakteri. Konsentrasi ekstrak semakin tinggi menghasilkan zona hambat yang lebih besar diameternya. Komponen bioaktif yang terkandung pada ekstrak lengkuas diantaranya adalah : 1. Alkaloid, yang memiliki fungsi menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri (Pradana , 2013). 2. Tanin, mempunyai fungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak protein sehingga menyebabkan membran sel mengkerut (Okoli, et al., 2009). 3. Saponin, memiliki fungsi menghambat pertumbuhan bakteri dengan membentuk komponen pengganggu ke dinding sel yang akhirnya mematikan bakteri tersebut (Prasetyo, et al., 2008). 4. Flavonoid (galangin), merupakan senyawa yang memiliki fungsi menghancurkan dinding sel bakteri, yang dapat mengakibatkan kebocoran kalium pada membran sel bakteri (Cushnie and Lamb, 2005). 5. Kuinon, yang memiliki fungsi antibakteri dengan cara menghambat sintesis DNA dan RNA bakteri (Zaidel, Mian and Mohamad, 2017). 6. Terpen, merupakan senyawa utama minyak atsiri dari lengkuas merah. Senyawa terpen pada lengkuas merah memiliki banyak kandungan yang terdiri atas 1,8 sineol, linalool, trans-beta caryopilen, trans-beta-farnesen α -terpineol, α -pinen, β -pinen, borneol, (Wu et al., 2014; Khoerunnisa, 2015).

Kerusakan morfologi dan struktural membran bakteri yang kemudian menghasilkan kebocoran pori-pori pada membran sehingga mengakibatkan komponen sel keluar yang akhirnya menyebabkan sel menjadi kolaps merupakan efek dari kombinasi 1,8 sineol, linalool dan α -terpineol menyebabkan (Carson, Mee and Riley, 2002; Zengin and Baysal, 2014). Lengkuas merah mengandung berbagai macam jenis fenol diantaranya eugenol, yang dapat mengakibatkan kerusakan protein dan lipid pada membran sel sehingga akhirnya menyebabkan lisis sel. Mekanisme senyawa antibakteri bahwa terhambatnya pertumbuhan bakteri atau kematian bakteri akibat senyawa antibakteri yang memiliki mekanisme kerja dengan merusak dinding sel, denaturasi protein yang mengakibatkan protein tidak berfungsi (Oyedemi et al., 2009).

Konsentrasi	Gambar
20 %	 A petri dish containing a yellowish bacterial culture. A small red label with the text "20%" is placed on the upper left side of the dish. The culture shows a central point of inoculation with some surrounding growth.
40 %	 A petri dish containing a yellowish bacterial culture. A small red label with the text "40%" is placed on the upper left side of the dish. The culture shows a central point of inoculation with some surrounding growth, similar to the 20% concentration but potentially showing more extensive growth.

60 %	
80 %	
100 %	
Kontrol (-)	
Kontrol (+)	

Gambar 2. Hasil Uji Sensitivitas Ekstrak Lengkuas Merah Terhadap Pertumbuhan *Aeromonas salmonicida*

Kesimpulan

Lengkuas mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, fenol, terpen dan kuinon. Ekstrak lengkuas merah konsentrasi 100%,60%, dan 80% memiliki daya hambat tinggi terhadap pertumbuhan *A.salmonicida* dengan diameter hambat 24 mm, 21 mm; dan 23 mm dengan kategori memiliki potensi sangat kuat sebagai antibakteri, sedangkan pada konsentrasi 20%, dan 40%, memiliki diameter hambat 18 mm; 19 mm dengan kategori memiliki potensi daya hambat yang kuat terhadap bakteri *A.salmonicida*.

Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut terkait apakah lengkuas merah mempunyai sifat bakterisid atau bakteristatik terhadap bakteri *A.salmonicida* dan apakah lengkuas merah memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri penyebab penyakit ikan lainnya.

Daftar Pustaka

- Abubakar Poetry Melinda S,Fatimawali,Paulina V.Y YamLean.2019.Uji Daya Hambat Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K.Schum) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Isolat Sputum Pada Penderita Pneumonia Resisten Antibiotik Seftriakson.
- A'iana, L., Sari, R. and Apridamayanti, P. (2017) 'Penentuan Nilai FICI Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* (L) Burm.f) dan Gentamisin Sulfat Terhadap Bakteri *Escherichia coli*', *Pharm Sci Res*, 14(3), pp. 132–142.
- Alfiola,T.,E,Musyida.2020.Pengaruh Pemberian Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia galanga*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. *Jurnal Analis Kesehatan Klinikal Sains* 8 (1).
- Ernawati,E.2011. Pengaruh Ekstrak Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri (*Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*) dan Jamur *Candida albicans*. Makassar: Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Kapitan, L. A. V. (2017) 'Aktivitas Antimikroba Ekstrak Laos Putih (*Alpinia Galangas*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp*', *Jurnal Info Kesehatan. Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Kupang*, 15(1), pp. 14–20.
- Khasanah,Nurul Anisah. 2013. Aktifitas Antimikrobia Ekstrak Rimpang Lengkuas (*Alpinia galangal*) Terhadap Pertumbuhan Mikrobia Perusak Ikan Dengan Pengemulsi Tween 80.
- Niah Rakhmadhan,Saftya Arizky,Anna Khumaira Sari,Shela Puzzi Dina.2019.Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* (Vieill.) K.Schum) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.
- Maftuch,Heni Suprastyani,Febby Hadi Setyawan.2018.Uji Daya Hambat Ekstrak *Chaetocheros calcitrans* Terhadap Bakteri *Aeromonas salmonicida*.
- Midun.2012.Uji Efektifitas Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K.Schum) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan Bakteri *Esherichia coli* Dengan Metode Disc Diffusion.
- Sari Endang T.P ,Tri Gunaedi,Ervina Indrayani 2017. Pengendalian Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophilla* Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Dengan Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*).
- Sumayani,K.Rahayu,dan C.Yudi.2008.Daya antibakteri perasan rimpang lengkuas (*Alpinia galangan*) dengan konsentrasi berbeda terhadap pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* secara in vitro.Berkalah Ilmiah Perikanan.