



## 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](mailto:sainsakuakulturtropis@gmail.com), [sainsakuakulturtropis@undip.ac.id](mailto:sainsakuakulturtropis@undip.ac.id)

### PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK DAUN BINAHONG DAN TEMULAWAK PADA PAKAN TERHADAP TOTAL ERITROSIT DAN GEJALA KLINIS IKAN LELE (*Clarias sp.*) YANG DIINFEKSI *Aeromonas hydrophila*

*Effect of Combination of Binahong Leaves and Temulawak Extracts in Feed on Erythrocyte and Clinical Signs of Catfish that Infected *Aeromonas hydrophila**

**Nida Qolbi Salma Rochani, Sarjito\*, Desrina**

Departemen Akuakultur

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah – 50275, Telp/Fax. +6224 7474698

\* Corresponding author: [sarjito@lecturer.undip.ac.id](mailto:sarjito@lecturer.undip.ac.id)

#### ABSTRAK

Permasalahan yang ditemukan pada budidaya ikan air tawar, salah satunya adalah penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Upaya pencegahan MAS dengan memanfaatkan ekstrak tumbuhan herbal karena tidak menimbulkan efek resisten terhadap ikan sehingga cocok untuk akuakultur berkelanjutan. Ekstrak daun binahong dan temulawak terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Diduga penggunaan kombinasi ekstrak lebih efektif dibandingkan dengan ekstrak tunggal untuk mencegah infeksi bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh kombinasi ekstrak daun binahong dan temulawak pada pakan terhadap total eritrosit dan gejala klinis ikan lele yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari 6 perlakuan dan 3 ulangan. Ikan lele uji yang digunakan memiliki panjang 7-9 cm dengan kepadatan 1 ekor/L dan dipelihara pada akuarium berisi air 10 L. Dosis ekstrak daun binahong dan temulawak yang digunakan, yaitu 2500 ppm dan 900 ppm dengan perbandingan A (0%:0%), B (100%:0%), C (75%:25%), D (50%:50%), E (25%:75%) dan F (0%:100%). Pakan uji diberikan selama 14 hari, kemudian pada hari berikutnya dilakukan infeksi bakteri *A. hydrophila* secara *intramuscular* sebanyak  $10^6$  CFU/mL. Variabel pengamatan meliputi total eritrosit, gejala klinis dan kualitas air. Hasil penelitian menunjukkan bahwa total eritrosit berbeda nyata setelah ikan diberi pakan uji dan setelah dilakukan infeksi. Perlakuan A menunjukkan total eritrosit tertinggi setelah pemberian pakan uji ( $2,56 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>) dan perlakuan D setelah dilakukan infeksi ( $1,78 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>). Gejala klinis yang ditunjukkan ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, yaitu menurun nafsu makannya, terdapat bercak merah, luka dan hemoragi serta warna tubuh memucat.

**Kata kunci:** Ikan lele, *Aeromonas hydrophila*, Daun Binahong, Temulawak

#### ABSTRACT

Problems in freshwater culture, one of them is *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) caused by *Aeromonas hydrophila*. MAS can be prevented with beneficial of herbal plants extracts because it isn't resistance on fish, so it's compatible for sustainable aquaculture. Binahong leaves and temulawak extracts had been proved can inhibit *A. hydrophila* bacteria's growth. Used mixture of combination of binahong leaves and temulawak extracts were more effective than single extract to inhibit bacteria infection. The aim of this study was to evaluate effect of binahong leaves

and curcuma extracts in feed on catfish's erythrocyte and clinical sign which infected by *Aeromonas hydrophila*. The study method used experimental method with Completely Randomized Design (CRD), consists of 6 treatments and 3 replications. Experimental fish used was catfish's with size of 7-9 cm with density 1 ind/L and cultured in aquarium with 10L waters. The tested main dosage of binahong leaves and temulawak extracts were 2500 ppm and 900 ppm with ratio A ((0%:0%), B (100%:0%), C (75%:25%), D (50%:50%), E (25%:75%), and F (0%:100%). The tested feed was given for 14 days and on the next day infected with *A. hydrophila* bacteria intramuscularly with density  $10^6$  CFU/mL. Observed variables were erythrocyte, clinical symptoms, and water quality. The result showed that the treatment has significantly different on catfish's erythrocyte pascu-treatment and pascu-infection. Treatment A showed the highest erythrocyte pascu-treatment ( $2.56 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>) and treatment D pascu-infection ( $1.78 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>). Clinical symptoms that infected fish by *A. hydrophila* would appetite down, found redness, ulcer, and hemorrhagic, also pale fish.

**Keywords:** *Clarias gariepinus*, *Aeromonas hydrophila*, Binahong Leaf, Curcuma

## PENDAHULUAN

Produksi ikan lele di Indonesia diharapkan terjadi peningkatan produksi 1, 1 juta ton pada tahun 2015 menjadi 1,81 juta ton ikan lele pada tahun 2019. (KKP, 2019). Untuk memenuhi permintaan yang meningkat, perlu adanya penerapan sistem budidaya intensif. Sistem tersebut dapat menyebabkan penurunan kualitas air cepat dan peningkatan stress ikan. Kualitas air yang buruk dan tingkat stress ikan yang meningkat, menyebabkan ikan mudah terserang penyakit (Hardi *et al.*, 2018). Salah satu penyakit yang ditemukan pada ikan lele adalah *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* sp. MAS ditandai dengan kematian massal dan kerugian ekonomi yang tinggi serta adanya *septicemia* pada tubuh ikan (Emeish *et al.*, 2018). MAS dapat menyebabkan kematian massal 80-100% dalam waktu 1-2 minggu (Muslikha *et al.*, 2016).

Salah satu upaya yang digunakan untuk mencegah infeksi bakteri adalah dengan memanfaatkan ekstrak tumbuhan herbal, dikarenakan sifatnya yang tidak berbahaya bagi lingkungan, mudah terurai dan tidak menimbulkan efek resisten terhadap ikan, sehingga cocok digunakan untuk akuakultur berkelanjutan (Hardi *et al.*, 2017). Aplikasi pencegahan penyakit dengan ekstrak bahan herbal dapat dilakukan dengan cara injeksi, melalui media budidaya atau penambahan dalam pakan (Sarjito *et al.*, 2020). Penambahan ekstrak dalam pakan dinilai lebih praktis dalam hal pembuatan dan pemberiannya pada ikan lele dibandingkan dengan cara injeksi atau penyuntikan terutama dalam budidaya skala massal (Wahjuningrum *et al.*, 2013).

Penambahan ekstrak daun binahong 2500 ppm pada pakan dapat mempercepat proses penyembuhan ikan lele yang terinfeksi *A. caviae* (Kurniawan *et al.*, 2014). Ekstrak daun binahong dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* karena mengandung flavonoid yang berfungsi sebagai antibiotik, fenolik yang dapat menyebabkan denaturasi protein dan kerusakan sel, serta saponin dan alkaloid yang berfungsi sebagai antimikroba dan antibakteri (Basyuni *et al.*, 2017). Ekstrak temulawak yang ditambahkan pada pakan sebanyak 900 ppm berpengaruh terhadap nilai kelulushidupan ikan hingga 97,83% (Astuti *et al.*, 2017). Ekstrak temulawak diketahui mengandung kurkumin sebagai zat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan dan mematikan mikroorganisme seperti bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella thypi*, dan *Aeromonas hydrophila* (Putra *et al.*, 2015). Berdasarkan hal tersebut diketahui bahwa penambahan ekstrak tunggal daun binahong dan temulawak terbukti mampu mencegah infeksi dari bakteri. Diduga pemberian kombinasi ekstrak daun binahong dan temulawak dapat mencegah infeksi bakteri lebih efektif dibandingkan ekstrak tunggal. Menurut Hardi *et al.* (2018), penggunaan kombinasi ekstrak untuk pencegahan infeksi bakteri memiliki kemampuan antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan ekstrak tunggal. Berdasarkan hal tersebut peneliti ingin mengkaji pengaruh penambahan kombinasi ekstrak daun binahong dan temulawak dalam pakan terhadap total eritrosit, gejala klinis, dan kualitas air ikan lele yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* serta untuk mengetahui dosis kombinasi ekstrak daun binahong dan temulawak terbaik dalam pakan untuk mencegah infeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan lele. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret hingga September 2019 di Laboratorium Akuakultur, Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang.

## MATERI DAN METODE

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lele yang berasal dari pembudidaya ikan di Kampung Lele, Boyolali dengan panjang 7-9 cm sebanyak 180 ekor. Wadah uji yang digunakan adalah akuarium (ukuran 40 x 30 x 30 cm<sup>3</sup>) sebanyak dan dilengkapi dengan sistem aerasi. Bakteri uji yang digunakan merupakan isolat murni bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Badan Karantina Ikan dan Pengendalian Mutu (BKIPM) Yogyakarta. Media kultur bakteri yang digunakan adalah TSA (*Trypticase Soya Agar*) dan GSP (*Glutamate Stratch Phenile*) sebagai media padat serta TSB (*Tryptic Soy Broth*) sebagai media cair (Sarjito *et al.*, 2020). Bahan uji yang digunakan ialah ekstrak daun binahong dan

temulawak.

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas 6 perlakuan dan 3 ulangan. Konsentrasi ekstrak daun binahong dan temulawak yang digunakan adalah 2500 ppm (Kurniawan *et al.*, 2014) dan 900 ppm (Astuti *et al.*, 2017). Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kombinasi ekstrak daun binahong dan temulawak yang dicampurkan dalam pakan, yaitu perlakuan A, 0 ppm ekstrak daun binahong dan 0 ppm ekstrak temulawak (0%:0%), perlakuan B, 2500 ppm ekstrak daun binahong dan 0 ppm ekstrak temulawak (100%:0%), perlakuan C, 1825 ppm ekstrak daun binahong dan 225 ppm ekstrak temulawak (75%:25%), perlakuan D, 1250 ppm ekstrak daun binahong dan 450 ppm ekstrak temulawak (50%:50%), perlakuan E, 625 ppm ekstrak daun binahong dan 675 ppm ekstrak temulawak (25%:75%), dan perlakuan F, 0 ppm ekstrak daun binahong dan 900 ppm ekstrak temulawak (0%:100%).

Sebelum pelaksanaan penelitian dilakukan persiapan wadah dan sterilisasi alat dengan membersihkan peralatan yang akan digunakan selama penelitian dengan sabun kemudian dibilas dengan air bersih dan dikeringkan. Selanjutnya, akuarium diisi dengan air sebanyak 10 L dan diberi aerasi selama 24 jam sebelum ikan ditebar. Sedangkan peralatan mikrobiologi disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C pada tekanan 1 atm selama 15 menit.

Kultur bakteri dilakukan dengan memindahkan isolat murni bakteri *A. hydrophila* dari media TSA miring kemudian dipindahkan ke dalam media cair TSB kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex* dan diinkubasi selama 24 jam pada *water bath shaker* (Rohman *et al.*, 2013; Sarjito *et al.*, 2020). Selanjutnya, bakteri pada media TSB ditanam pada media GSP dengan menggunakan metode *spread* dan diinkubasi selama 24 jam, kemudian dilakukan perhitungan jumlah koloni dengan metode TPC (*total plate count*). Setelah diketahui kepadatan bakteri, kemudian dilakukan pasase untuk meningkatkan patogenitas bakteri dengan cara menginfeksi bakteri ke ikan sebelum penelitian, dengan cara menyuntikan bakteri sebanyak 0,1 ml dengan kepadatan  $10^6$  CFU/mL pada bagian *intramuscular*. Bakteri berasal dari media TSB sebanyak 1 ml yang diencerkan menggunakan aquades sebanyak 9 ml untuk menurunkan kepadatan bakteri 10 CFU/mL, pengenceran dilakukan hingga kepadatan bakteri menjadi  $10^6$  CFU/mL. Ikan yang digunakan sebanyak 5 ekor. Selanjutnya, gejala klinis diamati selama 3 hari, jika ikan belum menunjukkan gejala klinis, maka dilakukan isolasi bakteri pada media GSP yang diambil dari organ ginjal dan luka (bila ada). Koloni bakteri *A. hydrophila* yang tumbuh pada media GSP kemudian dimurnikan pada media TSA untuk memperoleh isolat murni dari bakteri tersebut. Selanjutnya, bakteri dikultur kembali pada media TSB, setelah 24 jam dilakukan proses pasase kembali ke ikan hingga ikan menunjukkan gejala klinis. Gejala klinis mulai terlihat setelah dilakukan pasase sebanyak 3 kali.

Pembuatan ekstrak daun binahong (*A. cordifolia*) yaitu dengan membersihkan daun binahong dan temulawak menggunakan air bersih, kemudian ditiriskan dan dikeringkan. Sebelum dikeringkan temulawak diiris tipis-tipis terlebih dahulu (Miladiyah dan Prabowo, 2012; Sari *et al.*, 2012; Sarjito *et al.* 2020). Daun binahong dan temulawak yang telah kering, masing-masing dihaluskan dan ditimbang. Selanjutnya dilakukan proses maserasi untuk memperoleh ekstrak. Metode maserasi mengacu pada penelitian Sakti *et al.* (2019), bahan halus dicampurkan dengan etanol 96% dalam *Erlenmeyer* dengan perbandingan 1:5 untuk daun binahong dan 1:3 untuk temulawak, kemudian didiamkan selama 24 jam. Selanjutnya, larutan disaring menggunakan kertas saring untuk memperoleh larutan ekstrak. Menurut Susanti dan Bachmid (2016), larutan ekstrak kemudian dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk memisahkan ekstrak dengan pelarutnya pada suhu 50°C dengan kecepatan 120 rpm, sehingga diperoleh ekstrak tanpa pelarut yang berbentuk pasta. Ekstrak pasta tersebut kemudian diencerkan menggunakan aquades sesuai dengan konsentrasi perlakuan. Selanjutnya, ekstrak diseprotkan pada pakan komersil dan diberi label pada masing-masing perlakuan. Pakan uji kemudian diangin-anginkan hingga kering agar tidak berjamur.

Ikan uji yang digunakan adalah ikan yang sehat, yaitu berenang normal dan tidak cacat. Setiap akuarium berisi ikan uji sebanyak 10 ekor. Menurut BSN (2014), kepadatan benih ikan lele adalah 1000 ekor/m<sup>3</sup>. Ikan diberi pakan uji sebanyak 3% bobot biomassa per hari sebanyak 3 kali yaitu pukul 08.00, 14.00 dan 20.00 WIB. Pakan uji diberikan selama 14 hari dan kemudian dilakukan infeksi bakteri *A. hydrophila* sebanyak 0,1 ml secara *intramuscular* dengan kepadatan  $10^6$  CFU/mL. Hari ke-15 hingga hari ke-21 ikan diberi pakan komersil tanpa penambahan ekstrak.

Parameter yang diamati meliputi total eritrosit, gejala klinis dan kualitas air. Pengamatan gejala klinis dilakukan setiap hari setelah dilakukan uji tantang. Gejala klinis diamati secara visual meliputi respon pakan dan morfologi ikan (Nurjannah *et al.*, 2013; Sarjito *et al.*, 2020). Sedangkan pengukuran total eritrosit dilakukan sebanyak 4 kali selama penelitian, yaitu sebelum diberi pakan uji (hari ke-0), setelah diberi pakan uji (hari ke-13), 1 hari setelah infeksi bakteri *A. hydrophila* (hari ke-15) dan 7 hari setelah infeksi bakteri *A. hydrophila* (hari ke-21). Ikan uji yang digunakan adalah 1 ekor/wadah untuk setiap pengukuran. Pengukuran kualitas air dilakukan setiap satu minggu sekali. Parameter kualitas air yang diukur, meliputi kadar oksigen terlarut (DO), tingkat keasaman air (pH) dan suhu perairan. Pengukuran DO menggunakan DO meter, pH menggunakan pH *paper* dan suhu menggunakan termometer.

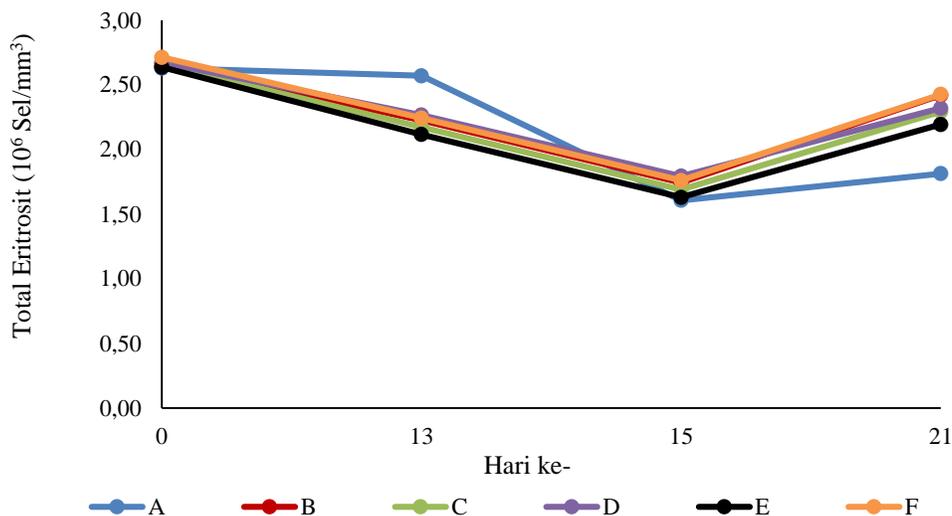
Total eritrosit yang diperoleh kemudian dilakukan pengujian normalitas dan homogenitas untuk memastikan data menyebar dengan normal dan homogen. Selanjutnya dilakukan uji lanjut, yaitu analisis ragam (ANOVA). Analisis data

dilakukan dengan menggunakan SPSS versi 24.0. Data dialisa ragam (uji F) pada tingkat kepercayaan 95%. Jika hasil analisis ragam berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ), maka dilakukan uji wilayah ganda Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Sedangkan hasil pengamatan gejala klinis dan kualitas air (DO, pH dan suhu) dianalisis secara deskriptif.

## HASIL

### Total Eritrosit

Hasil pengukuran total eritrosit pada hari ke-0, hari ke-13 pemberian pakan uji, hari ke-15 (1 hari setelah infeksi bakteri *A. hydrophila*) dan hari ke-21 (7 hari setelah infeksi bakteri *A. hydrophila*), tersaji pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Total Eritrosit Ikan Lele Selama Penelitian

Berdasarkan hasil perhitungan rerata total eritrosit darah pada hari ke-0 atau sebelum diberikan pakan perlakuan berkisar antara  $2,62-2,70 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ , kemudian pada pengukuran total eritrosit pada hari ke-13 atau satu hari sebelum dilakukan injeksi bakteri *A. hydrophila* mengalami penurunan pada semua perlakuan menjadi  $2,12-2,56 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ . Pada hari ke-15 atau satu hari setelah injeksi juga terjadi penurunan yang disebabkan adanya infeksi dari bakteri *A. hydrophila* berkisar  $1,62-1,78 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ , hari ke-21 atau 7 hari pasca injeksi mengalami kenaikan dari pengukuran sebelumnya, yaitu  $1,80-2,42 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ . Kenaikan total eritrosit pada ikan menandakan bahwa ikan mulai memulihkan diri dari infeksi. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa total eritrosit pada hari ke-0 tidak berbeda nyata, sedangkan pada hari ke-13, hari ke-15 dan hari ke-21 menunjukkan hasil berbeda nyata antar perlakuan ( $P < 0,05$ ).

### Gejala Klinis

Hasil pengamatan tingkah laku ikan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* menunjukkan bahwa ikan cenderung lambat dalam merespon pakan dan berenang lemah dari hari ke-1 hingga hari ke-7 pada perlakuan A, hari ke-1 hingga ke-5 pada perlakuan B, C, dan D, dan perlakuan E, F dari hari ke-1 hingga ke-6. Ikan yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* kembali merespon pakan dengan cepat dan berenang normal pada hari ke-20 untuk perlakuan B, D, dan F dengan persentase 72%, 74%, dan 43% dari total ikan yang hidup pada perlakuan tersebut, sedangkan pada perlakuan C dan E ikan kembali normal pada hari ke-7 sebanyak 100% dan 72% dari total ikan perlakuan yang hidup.

Perubahan morfologi yang tampak pada ikan lele yang diberi pakan uji dan di uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* menunjukkan bahwa pada perlakuan A terlihat adanya bercak merah (Gambar 2a) pada hari ke-1 dan luka (Gambar 2b) pada hari ke-2. Hari ke-3 menunjukkan bahwa 61% ikan yang hidup memiliki luka pada tubuhnya dan 39% ikan lainnya menunjukkan adanya hemoragi (Gambar 2c). Pada hari berikutnya hingga hari ke-7 hemoragi masih terlihat pada tubuh ikan perlakuan A sebanyak 100% dari ikan perlakuan A yang hidup. Sedangkan pada perlakuan B, C, D, E dan F bercak merah (Gambar 2a) terlihat selama 2 hari pasca infeksi sebanyak 100% pada masing-masing perlakuan. Bercak merah berubah menjadi luka (Gambar 2b) pada hari ke-2 hingga hari ke-5. Gambar 2 a, 2b, dan 2 c bersumber dari Sarjito *et al.* (2020). Pada hari ke-6 ikan pada perlakuan B, C, D dan F sudah mulai tidak ditemukan luka kembali dengan persentase berkisar 73%, 32%, 100% dan 43%. Hal tersebut menunjukkan bahwa ikan sudah sembuh dan kesembuhan tertinggi pada perlakuan D.



Gambar 2. Gejala Klinis Ikan Lele Setelah Infeksi Bakteri *A. hydrophila*  
a). Bercak Merah, b) Haemorhagi c) Luka

Perbedaan perubahan morfologi pada perlakuan A dengan perlakuan yang lain pasca infeksi bakteri *A. hydrophila*, diduga karena adanya penambahan ekstrak daun binahong dan ekstrak temulawak yang diberikan sebelum infeksi memberikan pengaruh terhadap perubahan morfologi ikan akibat infeksi. Dimana, ikan yang diberi pakan dengan penambahan ekstrak daun binahong dan ekstrak temulawak lebih cepat sembuh, karena adanya zat aktif yang bekerja memacu kerja sistem imun lebih baik.

### Kualitas Air

Berdasarkan penelitian mengenai penambahan ekstrak daun binahong dan ekstrak temulawak pada pakan ikan lele diperoleh data pendukung berupa kualitas air pada media pemeliharaan. Hasil pengukuran kualitas air tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Kualitas Air pada Media Pemeliharaan Ikan Lele selama Penelitian

Parameter	Perlakuan						Kisaran Optimum
	A	B	C	D	E	F	
DO (mg/L)	3,10-3,30	3,11-3,35	3,07-3,32	3,14-3,45	3,10-3,30	3,06-3,35	≥ 3 <sup>a,b</sup> )
Suhu (°C)	25 - 28	25 - 28	25 - 28	25 - 28	25 - 28	25 - 28	25 - 32 <sup>a,b</sup> )
Ph	7,1 - 8	7,2 - 8	7,2 - 8	7,2 - 8	7,1 - 8	7,2 - 8	6,5 - 8 <sup>a,b</sup> )

Keterangan: a) Badan Standardisasi Nasional (2014) ; Medinawati dan Yoel (2011).

### PEMBAHASAN

Hasil pengukuran total eritrosit pada awal penelitian (hari ke-0) menunjukkan bahwa data tidak berbeda nyata antar perlakuan ( $P>0,05$ ) dengan nilai berkisar 2,62-2,70 sel/mm<sup>3</sup>. Total eritrosit tersebut menunjukkan nilai yang normal untuk ikan lele. Menurut Tiamiyu *et al.* (2019) kisaran normal total eritrosit pada ikan lele, yaitu 1,5-2,9 x 10<sup>6</sup> sel/mm<sup>3</sup>. Sedangkan total eritrosit pasca perlakuan (hari ke-13), 1 hari pasca infeksi (hari ke-15) dan hari ke-7 pasca infeksi (hari ke-21) menunjukkan hasil berbeda nyata ( $P<0,05$ ) dengan nilai berturut-turut, 2,62-2,70 sel/mm<sup>3</sup>, 2,12-2,56 sel/mm<sup>3</sup>, 1,62-1,78 sel/mm<sup>3</sup>, dan 1,80-2,42 sel/mm<sup>3</sup>. Berdasarkan hasil tersebut total eritrosit mengalami penurunan pada hari ke-13 dibandingkan dengan hari ke-0 dan mengalami penurunan kembali pada hari ke-15. Penurunan total eritrosit pada hari ke-13 disebabkan adanya zat aktif berupa saponin pada ekstrak sehingga menyebabkan lisis pada eritrosit, sedangkan penurunan pada hari ke-15 disebabkan oleh toksik yang dikeluarkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Hasil ini irip dengan laporan Sarjito *et al.* (2020). Selanjutnya Allah *et al.* (2019) menjelaskan bahwa penurunan jumlah eritrosit pada tubuh ikan dapat disebabkan oleh adanya aktivitas hemolitik dari bakteri *Aeromonas* sp. yang memproduksi aerolisins dan hemolisins yang dapat menyebabkan pembengkakan dan kematian pada sel darah merah. Pembengkakan eritrosit akan mengganggu mobilisasi hemoglobin dari limpa ke organ hematopoietic lainnya sehingga nilai hemoglobin berkurang. Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Sarjito *et al.* (2021).

Lisisnya eritrosit pada pembuluh darah menyebabkan munculnya bercak merah (Gambar 2a) pada tubuh ikan yang terlihat pada hari ke-1 pasca infeksi pada perlakuan A. Sedangkan pada perlakuan B, C, D, E, dan F, bercak merah terlihat hingga hari ke-2 pasca infeksi. Menurut Rosmawaty *et al.* (2016) bercak merah yang timbul pada tubuh ikan disebabkan oleh eksotoksin (hemolisins dan lechitinase) yang disebarkan ke seluruh tubuh melalui aliran darah sehingga menyebabkan hemolisis dan pecahnya pembuluh darah. Kerusakan pada pembuluh darah mengakibatkan darah keluar dari pembuluhnya dan menimbulkan bercak merah (Gambar 2a) pada permukaan tubuh ikan. Selanjutnya, ditemukan adanya luka/ulcer (Gambar 2b) pada hari ke-1 pasca infeksi di perlakuan A dan hari ke-2 pasca infeksi pada perlakuan B, C, D, E dan F. Selain itu, juga ditemukan adanya hemoragi (Gambar 2c) pada perlakuan A yang terlihat mulai hari ke-2 hingga hari ke-7 pasca infeksi. Timbulnya luka pada tubuh ikan lele menurut Chandrarathna *et al.* (2018), disebabkan oleh bakteri

*Aeromonas* sp. yang menghasilkan enzim protease sehingga dapat mendegradasi protein kompleks jaringan tubuh. Aktivitas proteolitik tersebut yang menyebabkan terjadinya lesi pada tubuh inang. Sedangkan menurut Triyaningsih *et al.* (2014), *ulcer* disebabkan oleh tingginya kepadatan bakteri pada lokasi tersebut, sehingga volume dan intensitas toksik yang dikeluarkan pada proses infeksi juga lebih tinggi pada bagian tersebut. Hemoragi terjadi karena adanya hemolisin yang larut dalam darah mampu melisis eritrosit dan membebaskan hemoglobin sehingga darah banyak keluar melewati luka dan menyebabkan hemoragi. Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Sarjito *et al.* (2020)

Infeksi bakteri *A. hydrophila* juga menyebabkan terjadinya perubahan tingkah laku ikan seperti ikan berenang lemah dan respon terhadap pakan lambat. Penurunan respon pakan juga dapat disebabkan oleh nilai hemoglobin yang rendah. Perubahan tingkah laku tersebut juga ditemukan pada penelitian Allah *et al.* (2019); Naibaho *et al.* (2016), Sarjito *et al.* (2020) yaitu gejala klinis ikan lele yang uji tantang dengan *A. hydrophila* berenang lamban, mendekati permukaan air atau bergerombol pada pinggir wadah, kurangnya keseimbangan atau ikan berenang abnormal dan nafsu makan yang menurun. Sedangkan menurut Lusastuti dan Hardi (2018), ikan yang terinfeksi akan menjadi lemah dan tidak nafsu makan sehingga laju metabolisme tubuhnya menurun dan energi yang dihasilkan rendah disebabkan oleh kadar Hemoglobin yang rendah.

Gejala klinis ikan pada hari ke-5 pasca infeksi, baik secara morfologi maupun tingkah laku menunjukkan ikan sudah mulai pulih pada perlakuan B, C, D, E dan F yang ditandai respon ikan terhadap pakan cepat dan ikan kembali berenang normal serta tidak ditemukannya lagi luka pada tubuh ikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan kombinasi ekstrak daun binahong dan temulawak menghambat hingga mematikan sel bakteri sehingga ikan mampu memulihkan diri (Sarjito *et al.*, 2020) Menurut Rosmawaty *et al.* (2016), bahwa golongan flavonoid, glikosida, triterpenoid, steroid, dan alkaloid memiliki peran dalam merangsang daya tahan tubuh atau sebagai imunomodulator, sedangkan saponin selain berfungsi selain sebagai anti fungal dan anti bakteri, juga dapat merangsang kekebalan tubuh. Selain itu senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat pengeluaran endotoksin seperti lipopolisakarida ataupun eksotoksin seperti enzim protease, hemolisin dan enterotoksin sehingga dapat menurunkan tingkat serangan dari bakteri *A. hydrophila* karena toksin tidak dapat keluar dan merusak jaringan tubuh ikan.

Hasil pengukuran kualitas air yang dilakukan setiap minggu yaitu 3,04 - 3,45 mg/L untuk oksigen terlarut (DO), 25-28°C untuk suhu, dan 7-8 untuk pH. Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian mengalami fluktuasi, namun masih dalam kisaran toleransi ikan lele. Menurut Badan Standardisasi Nasional (2014) persyaratan kualitas air untuk pendederan ikan lele adalah suhu 25-30°C dengan pH 6,5-8 dan DO minimal 3 mg/L. Suhu pada kisaran 26-28°C merupakan rentang suhu yang masih dapat ditoleransi oleh bakteri *A. hydrophila* untuk tumbuh. Sehingga kualitas air selama penelitian layak untuk pertumbuhan ikan lele (Medinawati dan Yoel, 2011) dan *A. hydrophila* (Ardy *et al.*, 2019),

## KESIMPULAN

1. Penambahan ekstrak daun binahong dan ekstrak temulawak pada pakan dapat mempercepat proses pemulihan ikan lele yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan pemberian pakan uji berpengaruh nyata total eritrosit ikan lele pasca perlakuan (hari ke-13) dan pasca infeksi (hari ke-15 dan ke-21).
2. Gejala klinis yang ditunjukkan ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* adalah menurunnya nafsu makan, terdapat bercak merah, luka dan hemorhagi serta warna tubuh memucat.

## SARAN

1. Penambahan campuran 1250 ppm ekstrak daun binahong dengan 450 ppm ekstrak temulawak pada pakan dapat digunakan dalam pencegahan infeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan lele.
2. Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai penambahan ekstrak daun binahong dan ekstrak temulawak untuk pengobatan bakteri *A. hydrophila* menggunakan metode perendaman.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada Tim dan Pemberi Hibah Penelitian Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro Sumber Dana Selain APBN Universitas Diponegoro (No. 11/UN7.5.10/PP/2019) yang telah mendanai sebagian penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Allah, A., S.M. Aly, H.G.A. El-Rahman, F.M.A. Youssef dan F.K. Ahmed. 2019. Effect of some Immunostimulants on Clinicopathological Findings of African Catfish *Clarias gariepinus* Infected with Motile *Aeromonas* Septicemia. *Ec Veterinary Science*. 4(7): 498-510.
- Ardy, F.M., Desrina dan A.H.C. Haditomo. 2019. Penambahan Kandidat Probiotik *Bacillus methylotrophicus* Secara Berkala pada Media Pemeliharaan Untuk Pencegahan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila

- (*Oreochromis niloticus*). Jurnal Sains Akuakultur Tropis. 3(2): 50-59.
- Astuti, A.P.K., S. Hastuti dan A.H.C. Haditono. 2017. Pengaruh Ekstrak Temulawak pada Pakan Sebagai Imunostimulan pada Ikan Tawes (*Puntius javanicus*) dengan Uji Tantang Bakteri. Journal of Aquaculture Management and Technology. 6(3): 10-19.
- Badan Standardisasi Nasional. 2014. Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) Bagian 1: Induk. SNI 6484.1:2014.
- Badan Standardisasi Nasional. 2014. Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) Bagian 4: Produksi Benih. SNI 6484.4:2014.
- Basyuni, M., P.Y.A.B. Ginting dan I. Lesmana. 2017. Phytochemical Analysis of Binahong (*Anredera cordifolia*) Leaves Extract to Inhibit *In Vitro* Growth of *Aeromonas hydrophila*. Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Symposium on Allied Chemistry.
- Chandrarathna, H.P.S.U., C. Nikapitiya, S.H.S. Dananjaya, C.U.B. Wijerathne, S.H.M.P. Wimalasena, H.J. Kwun, G.J. Heo, J. Lee, dan M.D. Zoysa. 2018. Outcome of Co-infection with Opportunistic and Multidrug Resistant *Aeromonas hydrophila* and *A. veronii* in Zebrafish: Identification, Characterization, Pathogenicity and Immune Responses. Fish and Shellfish Immunology. 80: 573-581
- Emeish, W.F.A., H.M.A. Mohamed dan A.A. Elkamel. 2018. *Aeromonas* Infections in African Sharptooth Catfish. Journal of Aquaculture Research and Development. 9(9): 1-6.
- Hardi, E.H., I.W. Kusuma, W. Sueinarti, G. Saptiani, Sumoharjo dan A.M. Lusiastuti. 2017. Utilization of Several Herbal Plant Extracts on Nile Tilapia in Preventing *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas* sp. Bacterial Infection. Nusantara Bioscience. 9(2): 220-228.
- Hardi, E.H., G. Saptiani, I.W. Kusuma, W. Suwinarti dan A. Sudaryono. 2018. Inhibition of Fish Bacteria Pathogen in Tilapia Using a Concoction Three of Borneo Plant Extracts. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 144.
- Hardi, E.H., R.A. Nugroho, G. Saptiani, R. Sabrinah, M. Agriandini dan M. Mawardi. 2018. Identification of Potentially Pathogenic Bacteria from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Channel Catfish (*Clarias batracus*) Culture in Samarinda, East Kalimantan, Indonesia. Biodiversitas. 19(2): 480-488.
- Khan, S., A. Khan, F.S. Khattak, dan A. Naseem. 2012. An Accurate and Cost Effective Approach to Blood Cell. International Journal of Computer Application. 50(1): 18-24.
- Kurniawan, A., Sarjito dan S.B. Prayitno. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) pada Pakan Terhadap Kelulushidupan dan Profil Darah Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Journal of Aquaculture Management and Technology. 3(3): 76-85.
- Lusiastuti, A.M. dan E.H. Hardi. 2018. Gambaran Darah sebagai Indikator Kesehatan pada Ikan Air Tawar. Prosiding Seminar Ikan VI. 65-69.
- Medinawati, N. S. dan S Yoel, 2011. Pemberian Pakan Yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Benih Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). Media Litbang Sulteng 4(2) : 83-87.
- Miladiyah, I. dan B.R. Prabowo. 2012. Ethanolic Extract of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis Leaves Improved Wound Healing in Guinea Pigs. Universa Medicina. 31(1): 4-11.
- Muslikha, S. Pujiyanto, S.N. Jannah dan H. Novita. 2016. Isolasi, Karakterisasi *Aeromonas hydrophila* dan Deteksi Gen Penyebab Penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) dengan 16S rRNA dan *Aerolysin* pada Ikan Lele (*Clarias* sp.). Jurnal Biologi. 5(4): 1-7.
- Naibaho, F.F., D. Suryanto dan R. Leidonald. 2018. Jenis-Jenis Bakteri Potensial Patogen pada Ikan Patin (*Pangasius* sp.) di Kolam Budidaya Ikan Air tawar Kota Beling Tanah Air Kecamatan Tanjung Anom Provinsi Sumatera Utara. Aquacoastmarine. 6(1): 1-11.
- Nurjannah, R.D.D., S.B. Prayitno, Sarjito dan A.M. Lusiastuti. 2013. Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) Terhadap Profil Darah dan kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Journal of Aquaculture Management and Technology. 2(4): 72-83
- Putra, G.P., Mulyana dan F.S. Mumpuni. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthoriza* Roxb) Terhadap Mortalitas dan Gambaran Darah Benih Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti*) dengan Uji Tantang Menggunakan Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Mina Sains. 1(2): 67-78.
- Rosmawaty, R., Rosidah dan E. Liviawaty. 2016. Pemanfaatan Ekstrak Kulit Jengkol dalam Pakan Ikan Untuk Meningkatkan Imunitas Benih Gurame (*Osphronemus gouramy*) Terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Perikanan dan Kelautan. 7(1): 14-22.
- Sakti, D.S., P.P. Haresmita, N. Yuniarti dan S. Wahyuono. 2019. Phagocytosis Activity of Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore.) Steenis) From Secang, Magelang, Central Java, Indonesia. Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas. 16(1): 7-13.
- Sarjito, S.B. Prayitno, N.Q.S. Rochani, A.H.C. Haditomo, R. Amalia, and D. Desrina, 2020. Potensi epibiotik Campuran ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) dan Temulawak (*Curcuma zanthorrhiza*) Pada Pakan Untuk

- Mengatasi Infeksi *Aeromonas hydrophilla* Pada Ikan Lele (*Clarias gariepinus*). Saintek Perikanan: Indonesian, Journal of Fisheries Science and Technology, 16 (1):51 -58.
- Sari, W.S., I. Lukistyowati dan N. Aryani. 2012. Pengaruh Pemberian Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Terhadap Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) Setelah Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Perikanan dan Kelautan. 17(2): 43-59.
- Susanti dan F. Bachmid. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). Konversi. 5(2): 87-93.
- Tiamiyu, A.M., Olatoye, I.O. dan Addeji O.B. 2019. Blood Indices of African Catfish (*Clarias gariepinus*) Following Dietary Administration of *Talinum triangulare*. Internastional Journal of Research Granthaalayah. 7(4): 185-198.
- Wahjuningrum, D., R. Astrini dan M. Setiawati. 2013. Pencegahan *Aeromonas hydrophila* pada Benih Ikan Lele menggunakan Bawang Putih dan Menirang. Jurnal Akuakultur Indonesia. 12(1): 86-94.