

Pencegahan *Aeromonas hydrophila* pada benih ikan lele menggunakan bawang putih dan meniran

Prevention of *Aeromonas hydrophila* on catfish juvenile using garlic and shatterstone herb

Dinamella Wahjuningrum*, Retno Astrini, Mia Setiawati

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Dramaga Bogor, Jawa Barat 16680

*Surel: dinamella@yahoo.com

ABSTRACT

This study aimed to determine the dose of garlic and shatterstone herb mixed into the feed in 11-day old catfish juvenile (body length 1.53 ± 0.26 cm, body weight of 40 ± 16 mg). The study was divided into two steps, the first step was dose determination and the second step was the dose testing. The treatment was carried out for 21 days, then the challenge test was conducted by immersion method for 60 minutes in *A. hydrophila* density of 10^4 cfu/mL. Parameters of observation were survival, feed intake, relative growth rate, morphology of the liver, and water quality. The result showed that garlic at 25 g/kg and shatterstone herb at 5 g/kg provided higher fish viability ($81.11 \pm 3.85\%$) compared with the control ($23.00 \pm 5.77\%$). Feed intake and relative growth rate were not different among the treatments. Whereas the liver condition in positive control was paler than other treatments. Thus, prevention of *A. hydrophila* infection on catfish juvenile was effectively achieved by feeding with diet supplemented by garlic 25 g/kg and shatterstone herb 5 g/kg.

Keywords: garlic, shatterstone herb, *Aeromonas hydrophila*, juvenile, catfish

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan dosis bawang putih dan meniran yang dicampur ke pakan dalam bentuk tepung pada benih lele berumur 11 hari (berukuran panjang $1,53 \pm 0,26$ cm dan bobot 40 ± 16 mg). Penelitian ini terbagi menjadi dua tahap, pertama adalah tahap penentuan dosis (dosis 20 ppt bawang putih+5 ppt meniran dan 25 ppt bawang putih+5 ppt meniran) dan kedua adalah tahap pengujian dosis. Perlakuan diberikan selama 21 hari, kemudian uji tantang dilakukan dengan metode perendaman selama 60 menit dengan kepadatan bakteri *A. hydrophila* 10^4 cfu/mL. Parameter yang diamati adalah kelangsungan hidup, jumlah konsumsi pakan, pertumbuhan relatif, morfologi organ hati, dan kualitas air. Hasil penelitian membuktikan bahwa perlakuan bawang putih 25 g/kg dan meniran 5 g/kg memberikan kelangsungan hidup benih lele sebesar $81,11 \pm 3,85\%$, sedangkan kontrol positif $23,00 \pm 5,77\%$. Jumlah konsumsi pakan dan pertumbuhan relatif tidak berbeda antarperlakuan, sedangkan organ hati berwarna pucat pada kontrol positif. Pencegahan infeksi bakteri *A. hydrophila* dengan pakan campuran bawang putih 25 g/kg dan meniran 5 g/kg efektif dilakukan pada benih ikan lele.

Kata kunci: bawang putih, meniran, *Aeromonas hydrophila*, benih, ikan lele

PENDAHULUAN

Ikan lele *Clarias* sp. merupakan salah satu jenis ikan unggulan budidaya air tawar karena teknologi budidayanya sudah banyak dikuasai oleh masyarakat, dan memiliki peluang pasar yang cukup tinggi. Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP, 2010) menargetkan produksi ikan lele meningkat dari 495.000 ton pada tahun 2012 menjadi sebesar 900.000 ton pada tahun 2014 atau kenaikan total sebanyak 450% (dengan rata-rata 35% per tahun). Peningkatan produksi

yang diharapkan tersebut mencakup sektor kegiatan pembenihan dan kegiatan pembesaran ikan lele.

Kegiatan pembesaran ikan lele membutuhkan pasokan benih secara kontinu untuk memenuhi target produksi KKP pada tahun berikutnya. Pemeliharaan dengan menggunakan kepadatan tinggi dilakukan agar mampu memenuhi kebutuhan benih. Benih yang dihasilkan juga harus dalam keadaan sehat dan terbebas dari penyakit. Benih merupakan stadia yang sangat penting dan kritis sehingga mudah terinfeksi

suatu penyakit. Pencegahan terhadap penyakit harus dilakukan mulai dari benih agar dapat dihasilkan ikan lele yang berkualitas.

Penyakit merupakan kendala utama untuk keberhasilan produksi. Timbulnya penyakit dapat terjadi karena kepadatan ikan tinggi saat pemeliharaan, transportasi benih, penanganan, dan kualitas air yang buruk (Thanikachalam *et al.*, 2010). Ikan lele mudah terserang penyakit akibat infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan penyakit *motile aeromonad septicemia* (MAS), *hemorrhagic septicemia*, *ulcer disease* atau *red-sore disease* (Rey *et al.*, 2009). Kegiatan pencegahan yang dapat dilakukan adalah menggunakan vaksin dan probiotik (Thanikachalam *et al.*, 2010) serta fitofarmaka (Galina *et al.*, 2009). Fitofarmaka memiliki beberapa keunggulan dibandingkan kegiatan pencegahan lainnya, yaitu dapat dibuat dengan teknik yang sederhana dan tidak menimbulkan kerusakan lingkungan untuk pemakaian dalam waktu yang lama. Fitofarmaka merupakan sediaan bahan alam dari tanaman yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinis dan uji klinis, sehingga bahan baku serta produk jadinya telah distandardisasi oleh pihak-pihak yang berwenang (BPPOM, 2005).

Aplikasi pencegahan penyakit dengan fitofarmaka pada akuakultur dapat dilakukan dengan cara injeksi, melalui media budidaya, dan penambahan dalam pakan. Menurut Galina *et al.* (2009), fitofarmaka yang dicampur dalam pakan dinilai lebih praktis dalam hal pembuatan dan pemberiannya pada ikan lele dibandingkan secara injeksi atau penyuntikan terutama dalam budidaya skala massal. Fitofarmaka yang digunakan adalah campuran bawang putih dan meniran yang menghasilkan nilai kelangsungan hidup ikan lele lebih tinggi yaitu sebesar 66,67% dibandingkan dengan fitofarmaka lainnya seperti lidah buaya, daun pepaya, dan paci-paci (data tidak dipublikasikan).

Penggunaan campuran bawang putih dan meniran yang telah dilakukan, diberikan pada ikan lele berumur 60 hari sehingga belum ada informasi ilmiah tentang dosis pencegahan infeksi bakteri *A. hydrophila* untuk ukuran ikan yang lebih kecil ($1,53 \pm 0,26$ cm). Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dosis efektif bawang putih dan meniran dalam pakan benih ikan lele sebagai upaya pencegahan infeksi bakteri *A. hydrophila*, sehingga produksi pakan benih berkualitas untuk skala massal.

BAHAN DAN METODE

Penyediaan dan perbanyakan bakteri uji

Bakteri yang digunakan adalah bakteri *A. hydrophila* yang diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Ikan, Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bakteri tersebut disuntikkan secara intramuskular pada ikan lele untuk menguji tingkat virulensinya. Setelah itu dilakukan reisolasi bakteri dengan menggoreskan jarum ose ke bagian ginjal kemudian dibiakkan di media *trypticase soy agar* dan diinkubasi selama 24 jam pada inkubator. Koloni bakteri dari isolat asli dan hasil reisolasi dilakukan pengamatan berdasarkan warna dan bentuk. Untuk mendapatkan biakan murni, maka setiap koloni bakteri yang tumbuh terpisah dan berlainan morfologinya dimurnikan kembali. Karakterisasi yang dilakukan meliputi pengamatan morfologi koloni secara visual, meliputi warna, elevasi, dan tepian. Uji yang dilakukan meliputi pewarnaan Gram, uji motilitas, uji oksidasi/fermentasi, uji katalase, uji oksidase, dan uji gelatin. Identifikasi yang digunakan berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Kerstens & Vancanneyt, 2005).

Hasil pengujian virulensi bakteri *A. hydrophila* pada ikan uji menunjukkan bakteri tersebut adalah bakteri yang virulen karena ikan uji mengalami kelainan klinis berupa radang. Identifikasi bakteri uji meliputi pewarnaan Gram, sifat biokimia dan fisiologi bakteri. Karakterisasi awal dan hasil uji virulensi menunjukkan karakter *A. hydrophila*. Morfologi koloni dari *A. hydrophila* yaitu berwarna krem, elevasi cembung, dan tepiannya halus, sedangkan morfologi selnya berbentuk batang dan bersifat Gram negatif. Uji sifat biokimia menunjukkan *A. hydrophila* bersifat motil dan membentuk H_2S , positif terhadap uji oksidatif/fermentatif, oksidase, dan katalase.

Bakteri yang diuji diperbanyak terlebih dahulu sebelum digunakan. Bakteri stok dari kultur primer sebanyak satu ose digoreskan ke agar miring dan diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator. Sebanyak satu ose bakteri diambil dari biakan terbaru diinokulasikan ke dalam Erlenmeyer yang berisi 25 mL media *trypticase soy broth*, kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 28 °C pada penangas air kocok.

Uji LC_{50}

Uji LC_{50} merupakan penentuan konsentrasi suatu bakteri yang dapat mematikan sekitar 50% populasi dalam suatu media (Mangunwardoyo

et al., 2010). Uji LC_{50} ini digunakan untuk mengetahui sifat virulensi bakteri *A. hydrophila* pada benih ikan lele. Pada uji LC_{50} ini digunakan stoples yang disusun untuk empat perlakuan dengan dua ulangan. Stoples diisi air sebanyak 2 L dengan kepadatan benih 30 ekor. Bakteri *A. hydrophila* yang diuji dimulai dari kepadatan 10^4 sampai 10^7 cfu/mL. Uji LC_{50} dilakukan dengan cara perendaman *A. hydrophila* pada benih selama 60 menit sesuai dengan label kepadatan bakteri di setiap stoples. Pengamatan terhadap penghitungan jumlah benih yang mati dimulai satu hari setelah perendaman sampai hari ketujuh.

Uji LC_{50} ini digunakan untuk menentukan kepadatan bakteri *A. hydrophila* yang akan digunakan dalam uji tahap penentuan dan pengujian dosis. Berdasarkan uji LC_{50} ini didapatkan kepadatan bakteri yang mengakibatkan kematian sebesar 50% populasi ikan lele selama tujuh hari adalah bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^4 cfu/mL.

Pembuatan tepung bawang putih dan meniran

Bawang putih yang telah disediakan dicuci bersih, kemudian diiris tipis. Pengeringan dilakukan dengan cara kering udara tanpa terkena sinar matahari secara langsung selama lima hari kemudian di masukkan ke dalam oven dengan suhu $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama satu jam. Bawang putih dihaluskan dengan cara ditumbuk dengan mortar dan disaring dengan saringan *mesh size* 0,5–1 mm, kemudian penyimpanan dilakukan pada wadah kedap udara.

Daun meniran yang telah disediakan dicuci bersih, kemudian dikering-udarkan tanpa terkena sinar matahari langsung selama tiga hari. Meniran ditumbuk dengan mortar sampai halus dan disaring dengan saringan *mesh size* 0,5–1 mm, kemudian penyimpanan dilakukan pada wadah kedap udara.

Pembuatan pakan uji

Pakan yang digunakan adalah pelet komersial dengan kandungan protein sebesar 30%. Pelet dibentuk menjadi tepung kemudian dicampur dengan tepung bawang putih dan meniran sesuai dosis perlakuan yang ditentukan. Pelet dicampur dengan *binder* berupa *carboxyl methyl cellulose* (CMC) sebanyak 30 ppt yang dilarutkan dengan air hangat sebanyak 30% untuk pembuatan 1 kg pakan. Penggunaan CMC dilakukan karena *binder* ini tidak memiliki efek pada pakan yang dipakai dan daya rekatnya yang lebih kuat. Kemudian pakan dimasukkan ke dalam oven

selama dua jam pada suhu $60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Selanjutnya, pakan ditumbuk kembali dengan mortar dan disaring dengan saringan *mesh size* 0,5–1 mm, kemudian penyimpanan dilakukan pada wadah kedap udara.

Persiapan wadah dan ikan uji

Stoples dengan volume 3 L sebanyak 15 unit digunakan untuk penelitian ini. Sebelum digunakan, stoples dicuci bersih dan dikeringkan. Stoples dan air didesinfeksi klorin dengan konsentrasi masing-masing 100 ppm dan 30 ppm selama 24 jam. Kemudian akuarium dinetralisir dengan tiosulfat 15 ppm dan diaerasi kuat. Setelah 24 jam, stoples dikosongkan dan diisi air sebanyak 2 L yang sebelumnya telah diberi garam dan kapur. Benih ikan yang digunakan berumur 11 hari dengan rata-rata bobot awal 40 ± 16 mg dan panjang awal $1,53\pm 0,26$ cm. Padat tebar yang digunakan adalah 30 ekor/L, sehingga dalam satu stoples berisi 60 ekor ikan. Benih mulai diadaptasikan dalam wadah uji saat berumur sembilan hari. Pemberian pakan dengan kandungan bawang putih dan meniran yang berbeda dimulai saat benih berumur 11 hari dan dilakukan sampai benih berumur 32 hari. Frekuensi pemberian pakan dilakukan pada pukul 09.00, 13.00, dan 17.00 WIB secara *at satiation*. Penyifonan dilakukan setiap pagi hari sebelum pemberian pakan. Selain itu, pengukuran suhu dilakukan saat sebelum pemberian pakan.

Tahap penentuan dosis

Uji *in vivo* tahap penentuan dosis ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh terbaik dari dosis bawang putih dan meniran yang telah dicampurkan ke dalam pakan terhadap kelangsungan hidup ikan setelah dilakukan perendaman dengan *A. hydrophila*. Perlakuan penentuan dosis dilakukan selama 21 hari sebelum ujiantang, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tahap pengujian dosis

Tahap pengujian dosis mengacu dari hasil pada tahap penentuan dosis. Pada tahap pengujian dosis ini, hasil yang tidak berbeda nyata dengan K- (kontrol negatif) pada tahap sebelumnya digunakan kembali dan dibandingkan dengan K+ (kontrol positif) dan K- serta dikaji parameter lain yang lebih luas seperti jumlah konsumsi pakan, pertumbuhan relatif, pengamatan organ hati, dan kualitas air. Hasil dari tahap penentuan dosis adalah dosis B dengan dosis bawang putih 25 g/kg dan meniran 5 g/kg. Perlakuan pada

tahap pengujian dosis selama 21 hari sebelum ujiantang dapat dilihat pada Tabel 2.

Uji *in vivo* pada tahap penentuan dosis dan pengujian dosis dilakukan dengan cara pemberian pakan yang dicampur bawang putih dan meniran selama 21 hari. Benih ikan lele sebanyak 60 ekor per stoples masing-masing dengan tiga ulangan diberi pakan sesuai perlakuan (Tabel 1 dan 2). Ikan uji kemudian diinfeksi menggunakan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^4 cfu/mL (hasil LC_{50}) selama 60 menit pada hari ke-22 melalui metode perendaman. Pengamatan parameter uji dilakukan pada hari pertama hingga hari ketujuh setelah perendaman.

Parameter pengamatan tahap pengujian dosis

Kelangsungan hidup

Pengamatan kelangsungan hidup ikan dilakukan setiap hari dimulai dari hari pertama setelah ujiantang hingga hari ketujuh pada akhir ujiantang. Perhitungan kelangsungan hidup dilakukan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$= \frac{N_t}{N_0} \times 100$$

Keterangan:

N_t = jumlah ikan akhir (ekor)

N_0 = jumlah ikan awal (ekor)

Jumlah konsumsi pakan

Jumlah konsumsi pakan dihitung setiap hari mulai awal hingga akhir perlakuan selama 21 hari. Jumlah konsumsi pakan ditentukan berdasarkan jumlah pakan yang masuk ke dalam tubuh benih atau yang dikonsumsi oleh benih. Perhitungan jumlah konsumsi pakan dilakukan dengan cara menimbang jumlah sisa pakan yang tidak termakan oleh benih.

Pertumbuhan relatif

Pertumbuhan relatif dapat dilihat dari pertambahan bobot benih dari awal perlakuan hingga akhir setelah ujiantang. Pengukuran bobot dilakukan setiap tujuh hari sekali menggunakan timbangan digital dengan ketelitian 0,001 g. Perhitungan pertumbuhan relatif terhadap bobot benih dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Pertumbuhan Relatif} = \frac{\text{bobot akhir} - \text{bobot awal}}{\text{bobot awal}} \times 100$$

Pengamatan organ hati

Pengamatan organ hati dilakukan setelah ujiantang untuk perlakuan K- dan K+. Pengamatan organ hati untuk perlakuan B dilakukan sebelum ujiantang. Pengamatan organ hati untuk membedakan warna hati benih karena fungsi hati sebagai organ ekskresi utama dalam tubuh.

Kualitas air

Pengamatan kualitas air dilakukan pada saat awal perlakuan, sebelum ujiantang, dan akhir setelah ujiantang. Parameter kualitas air yang diukur adalah DO (oksigen terlarut), pH, TAN (total amonia nitrogen), dan suhu (Tabel 3).

Analisis data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dan di analisis menggunakan ANOVA *single factor*, kemudian dilakukan uji lanjut untuk beda nyata dengan uji *Duncan*. Parameter yang dilakukan analisis secara kuantitatif adalah kelangsungan hidup, jumlah konsumsi pakan, dan pertumbuhan relatif. Parameter yang dilakukan analisis secara deskriptif adalah pengamatan organ hati dan kualitas air.

Tabel 1. Perlakuan pada tahap penentuan dosis selama 21 hari sebelum ujiantang

Perlakuan	Dosis BP (g/kg) dalam pakan	Dosis M (g/kg) dalam pakan	Perendaman 10^4 cfu/mL <i>Aeromonas hydrophila</i>
Kontrol negatif (K-)	0	0	Tidak
Dosis A	20	5	Ya, pada hari ke-22
Dosis B	25	5	Ya, pada hari ke-22

Keterangan: BP: bawang putih; M: meniran.

Tabel 2. Perlakuan pada tahap pengujian dosis selama 21 hari sebelum ujiantang

Perlakuan	Dosis BP (g/kg) dalam pakan	Dosis M (g/kg) dalam pakan	Perendaman 10^4 cfu/mL <i>Aeromonas hydrophila</i>
Kontrol negatif (K-)	0	0	Tidak
Dosis A	20	5	Ya, pada hari ke-22
Dosis B	25	5	Ya, pada hari ke-22

Keterangan: BP: bawang putih; M: meniran.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil tahap penentuan dosis

Kelangsungan hidup

Kelangsungan hidup ikan diamati sampai tujuh hari setelah ujiantang. Perhitungan dilakukan dengan mencatat kematian per hari dari setiap perlakuan. Nilai kelangsungan hidup perlakuan A (bawang putih 20 g/kg dan meniran 5 g/kg) sebesar $24,24 \pm 6,94\%$ dan perlakuan B sebesar $56,82 \pm 24,58\%$ memiliki hasil yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Perlakuan B memiliki nilai kelangsungan hidup tidak berbeda nyata terhadap kelangsungan hidup perlakuan K- sebesar $89,39 \pm 9,19\%$ dan perlakuan A dengan perlakuan K- memiliki hasil kelangsungan hidup yang berbeda nyata ($P < 0,05$). Dengan demikian hasil dari tahap penentuan dosis yang digunakan pada tahap pengujian dosis adalah perlakuan B. Kelangsungan hidup benih lele setelah ujiantang pada tahap penentuan dosis dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil tahap pengujian dosis

Kelangsungan hidup

Nilai kelangsungan hidup perlakuan B (bawang putih 25 g/kg dan meniran 5 g/kg) yang digunakan pada tahap pengujian dosis ini merupakan dosis terbaik dengan nilai yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan K- pada tahap penentuan dosis. Kelangsungan hidup benih lele setelah ujiantang pada tahap pengujian dosis dapat dilihat pada Gambar 2. Nilai kelangsungan hidup pada perlakuan B sebesar $81,11 \pm 3,85\%$ memiliki hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan K- sebesar $100 \pm 0,00\%$ dan K+ sebesar $23,00 \pm 5,77\%$.

Jumlah konsumsi pakan

Jumlah konsumsi pakan ini menunjukkan adanya respons makan pada ikan yang diberi pakan perlakuan fitofarmaka dan pakan tanpa fitofarmaka. Jumlah konsumsi pakan pada perlakuan B sebesar $6,42 \pm 0,01$ g memiliki hasil

yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan K- sebesar $6,58 \pm 0,00$ g dan K+ sebesar $6,566 \pm 0,02$ g ($P > 0,05$).

Pertumbuhan relatif

Pertumbuhan relatif pada benih diukur sebelum perlakuan (bobot awal) dan setelah ujiantang (bobot akhir). Pertumbuhan relatif benih pada perlakuan B sebesar $7,22 \pm 2,22\%$ memiliki hasil yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan K- sebesar $7,54 \pm 0,07\%$ dan K+ sebesar $6,39 \pm 0,96\%$ ($P > 0,05$). Pertumbuhan relatif benih lele selama perlakuan pada tahap pengujian dosis dapat dilihat pada Gambar 3.

Pengamatan organ hati

Pengamatan organ hati perlakuan B dilakukan sebelum ujiantang, sedangkan pada perlakuan K- dan K+ dilakukan setelah ujiantang. Pada perlakuan K- yang tidak dilakukan ujiantang memiliki warna hati merah kecoklatan dan terlihat segar. Perlakuan K+ memiliki warna hati merah pucat dan pada perlakuan B memiliki warna hati merah (Gambar 4).

Kualitas air

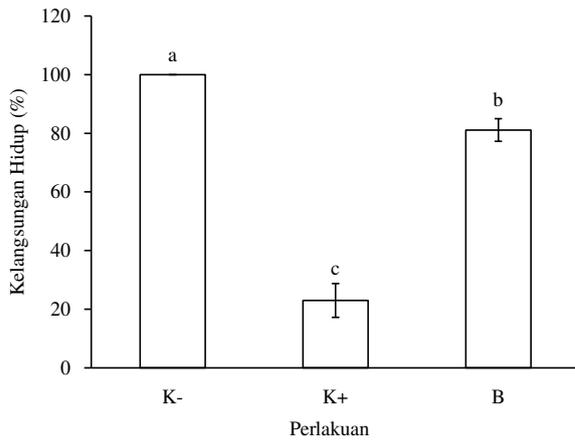
Parameter kualitas air diukur pada awal perlakuan, sebelum ujiantang, dan setelah ujiantang. Pengukuran suhu dilakukan setiap pagi, siang, dan sore selama perlakuan 21 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan oksigen pada awal perlakuan masih menunjukkan rentang yang sama yaitu sebesar 7,3 mg/L. Kemudian pada pengukuran sebelum ujiantang terjadi penurunan mencapai 5,3 mg/L pada perlakuan K+, 5,7 mg/L pada perlakuan K-, dan 5,9 mg/L pada perlakuan B. Saat setelah ujiantang terjadi peningkatan DO kembali mencapai 7,0 mg/L pada perlakuan K-, sedangkan perlakuan K+ dan B hanya mencapai 6,5 mg/L. Kandungan DO masih berada pada kisaran optimal yaitu > 4 mg/L (Murjani, 2011).

Pengukuran pH pada awal perlakuan sekitar 8,05 dan termasuk pH basa. Pengukuran pH pada saat sebelum ujiantang dan setelah ujiantang didapatkan hasil yang sama pada perlakuan K- sebesar 7,67; K+ sebesar 7,72; dan B sebesar 7,45. Kandungan pH masih berada pada kisaran normal untuk budidaya yaitu antara 7 sampai 8,5 (Murjani, 2011).

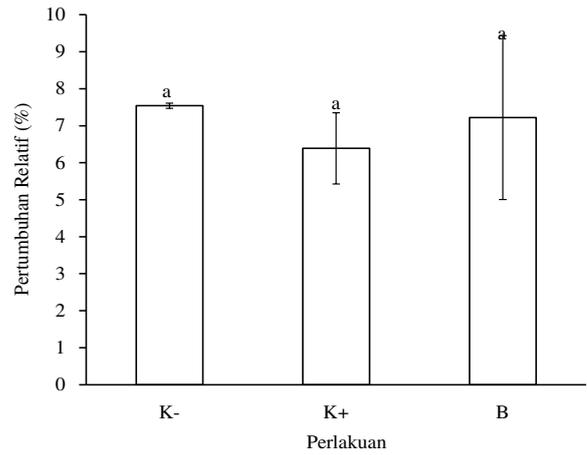
Pengukuran total amonia nitrogen (TAN) yang terukur pada awal perlakuan sebesar 0,02 ppm. Pada pengukuran sebelum ujiantang terjadi peningkatan kandungan TAN menjadi 0,19 ppm

Tabel 3. Parameter kualitas air, satuan, dan alat ukur selama perlakuan

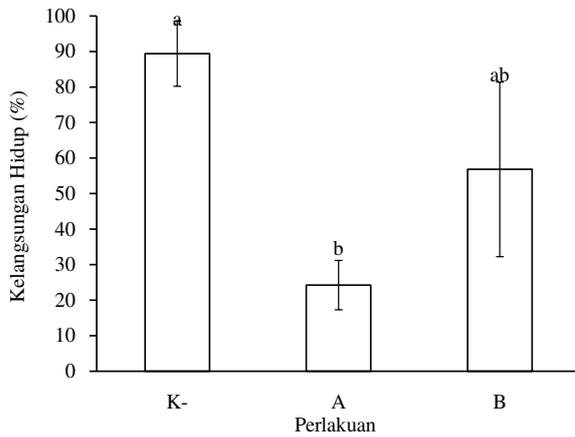
Parameter	Satuan	Alat ukur
DO (oksigen terlarut)	mg/L	DOmeter
pH	unit	pHmeter
TAN (total amonia nitrogen)	ppm	spektrofotometer
Suhu	°C	termometer



Gambar 2. Kelangsungan hidup benih lele *Clarias* sp. setelah ujiantang pada tahap pengujian dosis. Keterangan: K-: kontrol negatif, K+: kontrol positif, B: dosis bawang putih 25 g/kg dan meniran 5 g/kg. Huruf berbeda di atas diagram batang menunjukkan adanya perbedaan akibat perlakuan ($P < 0,05$).



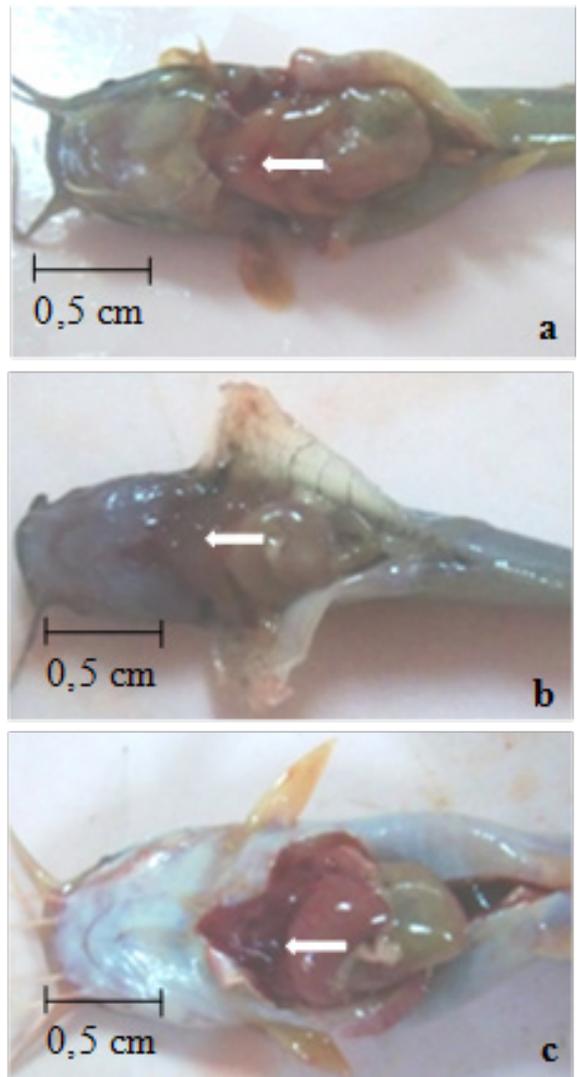
Gambar 3. Pertumbuhan relatif benih lele *Clarias* sp. selama perlakuan pada tahap pengujian dosis. Keterangan: K-: Kontrol negatif, K+: Kontrol positif, B: Dosis bawang putih 25 g/kg dan meniran 5 g/kg. Huruf yang sama di atas diagram batang menunjukkan tidak adanya perbedaan akibat perlakuan ($P > 0,05$).



Gambar 1. Kelangsungan hidup benih lele *Clarias* sp. setelah ujiantang pada tahap penentuan dosis. Keterangan: K-: kontrol negatif, A: dosis bawang putih 20 g/kg dan meniran 5 g/kg, B: dosis bawang putih 25 g/kg dan meniran 5 g/kg. Huruf berbeda di atas diagram batang menunjukkan adanya perbedaan akibat perlakuan ($P < 0,05$).

pada K-, K+ sebesar 0,77 ppm, dan B sebesar 0,10 ppm. Kandungan TAN semakin meningkat pada pengukuran akhir ujiantang, menjadi sebesar 0,43 ppm pada K-, 0,21 ppm pada K+, dan 0,84 ppm pada perlakuan B. Kandungan TAN selama penelitian masih berada dalam kisaran normal yaitu $< 1,00$ ppm (Murjani, 2011).

Pengukuran suhu dilakukan setiap hari sebelum pemberian pakan pada pukul 09.00, 13.00, dan 17.00 WIB. Suhu media pemeliharaan masih berada dalam kisaran optimal pemeliharaan benih ikan lele yaitu 26–28 °C. Tetapi terdapat beberapa pengukuran yang tidak masuk ke dalam kisaran optimal karena fluktuasi suhu pada perairan yang dipengaruhi cuaca harian. Kisaran suhu selama



Gambar 4. Organ hati benih ikan lele *Clarias* sp. pada kontrol negatif (a), kontrol positif (b), dan dosis bawang putih 25 g/kg dan meniran 5 g/kg (c).

perlakuan, pada pagi hari berkisar antara 23–25 °C, pada siang hari berkisar antara 24–28 °C, dan pada sore hari berkisar antara 26–30 °C.

Pembahasan

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri tersebut telah dilakukan uji identifikasi untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan merupakan kultur murni. Uji *in vivo* dilakukan secara perendaman. Air dapat menjadi perantara penularan penyakit, sehingga dengan ukuran benih ikan lele yang tergolong masih relatif kecil (bobot rata-rata 40 mg) pemberian ujiantang ini dapat dilakukan dengan cara pemberian melalui lingkungan (perendaman) agar lebih efektif dan efisien untuk dilakukan.

Waktu lama perendaman untuk uji *in vivo* dilakukan selama 60 menit pada ikan patin dengan hormon tiroksin. Ujiantang dengan bakteri *A. hydrophila* melalui teknik perendaman diharapkan dapat masuk ke dalam tubuh benih ikan melalui insang dan kulit (Mangunwardoyo *et al.*, 2010). Hasil LC_{50} memperlihatkan bahwa infeksi bakteri *A. hydrophila* yang dapat mematikan sekitar 50% populasi benih ikan lele adalah pada kepadatan 10^4 cfu/mL selama tujuh hari. Uji LC_{50} ini menunjukkan bahwa bakteri *A. hydrophila* yang digunakan masih bersifat virulen. Bakteri *A. hydrophila* dapat ditingkatkan virulensinya dengan cara isolasi ulang bakteri dari ikan yang telah diinfeksi oleh bakteri tersebut.

Pada tahap penentuan dosis, perlakuan B memberikan tingkat kelangsungan hidup terbaik sebesar $56,82 \pm 24,583\%$ dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan K- setelah benih diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Perlakuan B inilah yang kemudian digunakan kembali dalam penelitian tahap pengujian dosis dan dibandingkan kembali dengan perlakuan K- dan K+.

Tahap pengujian dosis pada K- menghasilkan nilai kelangsungan hidup terbaik yaitu sebesar $100 \pm 0,00\%$. K- tidak diberikan infeksi bakteri *A. hydrophila* sehingga ikan tetap sehat sampai akhir penelitian, sedangkan pada K+ tanpa perlakuan fitofarmaka yang diberikan infeksi bakteri *A. hydrophila* memiliki nilai kelangsungan hidup sebesar $23,33 \pm 5,77\%$. Nilai kelangsungan hidup ini berbeda nyata dengan perlakuan B sebesar $81,11 \pm 3,85\%$. Perlakuan B memiliki nilai kelangsungan hidup yang berbeda nyata dengan perlakuan K- dan K+ artinya, pakan dengan fitofarmaka bawang putih 25 g/kg dan meniran 5 g/kg (perlakuan B) memberikan tingkat kesehatan

benih yang lebih baik dan berbeda secara nyata bila dibandingkan dengan benih yang tidak diberikan pakan fitofarmaka.

Bawang putih dapat berperan sebagai perangsang aktivitas sel sehingga meremajakan semua fungsi tubuh dan sistem imun dengan cara merangsang makrofag dalam pembentukan sel darah putih yang mampu menghancurkan material asing (Matthew, 2009). Kandungan senyawa flavonoid dalam meniran mengaktifkan kerja sel imun lebih baik (Shin *et al.*, 2005), bekerja secara sinergis dengan *allicin* yang terdapat pada bawang putih yang berperan dalam aktivitas anti-bakteri (Matthew, 2009). Hal ini dapat dilihat dari tingkat kelangsungan hidup benih pada perlakuan B yang berbeda nyata dibandingkan dengan K+ atau benih yang tidak diberikan pakan fitofarmaka. Meniran memacu sistem imun melalui aktivasi limfosit sel T dan sel B yang membuat sistem tubuh lebih aktif menjalankan tugasnya. Jika sistem imun meningkat, maka daya tahan tubuh terhadap serangan bakteri juga meningkat.

Setelah ujiantang dengan bakteri *A. hydrophila*, benih mengalami gejala klinis seperti kulit yang kemerahan, berenang tidak beraturan, dan adanya kerusakan pada sirip. Namun, tidak semua benih mengalami sakit dan gejala klinis saat terjadi serangan patogen. Beragam faktor memengaruhi masing-masing individu dalam menanggapi suatu patogen. Patogen harus dapat menembus sistem imun benih untuk dapat menimbulkan penyakit. Daya tahan alami benih memungkinkan setiap individu menjadi terbebas dari serangan patogen. Masing-masing individu memiliki daya tahan yang berbeda, hal ini ditentukan dari umur, jenis kelamin, status nutrisi, dan stres (Rey *et al.*, 2009).

Benih ikan telah mati pada hari pertama setelah ujiantang. Hal ini diduga karena bakteri *A. hydrophila* yang sudah berkembang dengan baik telah menginfeksi benih ikan lele. Hal tersebut disebabkan oleh pertumbuhan optimal bakteri *A. hydrophila* pada fase eksponensial terjadi pada jam keempat sampai jam ke-12, sedangkan pada hari kedua dan ketiga merupakan tingkat kematian benih yang paling banyak. Ikan lele merupakan salah satu inang *A. hydrophila* sehingga saat bakteri yang ada di dalam tubuh inang mendapatkan lingkungan dengan suhu, pH, dan nutrisi yang cukup, bakteri tersebut akan hidup dan memperbanyak diri. Penurunan tingkat kematian ikan terjadi pada hari ketiga sampai hari ketujuh setelah ujiantang. Hal ini diduga karena bakteri *A. hydrophila* telah mengalami fase

kematian atau fase *declining* setelah melewati fase *stationary* sampai 48 jam.

Benih diberi pakan perlakuan pada umur 11 hari setelah sebelumnya diberi pakan berupa cacing sutra. Jumlah konsumsi pakan yang terukur menunjukkan tingkat respons benih terhadap pakan. Respons benih terhadap pakan setiap harinya mengalami peningkatan di semua perlakuan. Tetapi pada saat-saat tertentu, nafsu makan ikan menurun. Hal ini diduga terjadi karena diakibatkan fluktuasi suhu harian yang menyebabkan ikan stress sehingga menurunkan nafsu makan (Ndong *et al.*, 2007).

Konsumsi pakan benih pada hari pertama perlakuan memiliki jumlah yang rendah. Hal ini diakibatkan benih masih dalam kondisi adaptasi. Ikan lele dapat dilatih memakan pakan buatan berbentuk tepung karena ikan lele selalu menyambar makanan yang berada di bawah permukaan air. Pada hari selanjutnya, jumlah konsumsi pakan mengalami peningkatan di semua perlakuan. Hal ini didasari bahwa benih telah mampu mengonsumsi pakan buatan dengan baik. Jumlah konsumsi pakan ini memiliki nilai yang tidak berbeda nyata pada setiap perlakuan. Walaupun terdapat bau yang menyengat pada pakan perlakuan yang telah dicampur dengan bawang putih dan meniran. Bau menyengat ini berasal dari allicin yang memiliki bau bawang putih yang khas saat struktur bawang putih rusak (Jabar & Amina, 2007) tetapi benih tetap mengonsumsi pakan perlakuan yang diberikan.

Ikan memerlukan nutrisi dan energi dari luar untuk pertumbuhannya. Nutrisi dan energi tersebut diperoleh dari makanannya, sehingga jumlah konsumsi pakan akan memengaruhi pertumbuhan benih. Pertumbuhan relatif pada perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan K- maupun K+. Bawang putih dan meniran yang terkandung dalam pakan perlakuan B dapat dikatakan tidak memengaruhi pertumbuhan benih. Pakan yang masuk ke dalam tubuh benih tidak semuanya digunakan untuk pertumbuhan. Pertumbuhan benih ditentukan oleh banyaknya makanan yang dikonsumsi serta distribusi penggunaannya.

Pengamatan organ dalam dilakukan pada hati karena *A. hydrophila* banyak ditemukan pada luka infeksi, hati, dan ginjal (Rahmaningsih, 2012). Pengamatan organ hati dilakukan untuk melihat adanya perbedaan warna dari hati tersebut. Perbedaan warna hati ini disebabkan oleh adanya enzim dan toksin produk ekstraseluler yang merupakan racun dari bakteri *A. hydrophila* terhadap ikan (Rey *et al.*, 2009).

Warna merah segar terdapat pada perlakuan B, sedangkan perlakuan K- memiliki warna hati merah kecoklatan. Warna hati coklat pucat pada perlakuan K+ karena meningkatnya kerja hati untuk mengumpulkan, mengubah, menetralkan, dan menghilangkan toksin (Genten *et al.*, 2009).

Kualitas air pada pemeliharaan benih ikut mendukung adanya patogenitas bakteri. Kualitas air yang kurang baik akan mempercepat datangnya suatu penyakit karena penyakit tidak hanya disebabkan oleh adanya bakteri patogen saja, tetapi karena adanya hubungan antara lingkungan, inang, dan patogen. Suhu yang fluktuatif dapat menyebabkan ikan stres dan dapat menyebabkan kematian. Suhu pada pagi hari sekitar 23–25 °C, kemudian pada siang hari suhu berada dalam kisaran 24–28 °C, dan suhu pada sore hari sekitar 26–30 °C. Fluktuasi suhu ini terjadi karena cuaca yang kurang mendukung. Kisaran suhu yang optimal untuk pertumbuhan benih sekitar 26–28 °C (Murjani, 2011).

Fitofarmaka yang ditambahkan ke dalam pakan benih terbukti mampu mencegah penyakit infeksi bakteri *A. hydrophila*. Selain itu, fitofarmaka berupa bawang putih dan meniran ini dapat diaplikasikan pada budidaya ikan lele karena kedua bahan ini ketersediaannya cukup melimpah, tidak menimbulkan resisten terhadap bakteri, dan tidak merusak lingkungan. Bakteri yang telah bersifat resisten ini tidak akan hilang dari tubuh ikan, sehingga penyakit ini akan mengancam kehidupan manusia karena *A. hydrophila* termasuk penyakit *zoonotic* atau merupakan penyakit yang dapat menyebar dari hewan ke manusia (Rey *et al.*, 2009). Penerapan pemberian fitofarmaka lebih cocok dengan metode pencampuran ke dalam pakan karena dalam satu kali pembuatan dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama dalam wadah kedap udara. Hal tersebut merupakan nilai tambah metode ini dibandingkan dengan metode perendaman dan penyemprotan ekstrak pada pakan.

KESIMPULAN

Perlakuan pencegahan infeksi bakteri *A. hydrophila* pada benih ikan lele *Clarias* sp. yang berumur 11 hari efektif dilakukan melalui pakan dengan campuran 25 g/kg bawang putih dan 5 g/kg meniran.

DAFTAR PUSTAKA

[BPPOM] Badan Pengawasan Obat dan Makanan. 2005. No.HK.00.05.4.1384. Tentang kriteria

- dan tata laksana pendaftaran obat tradisional, obat herbal terstandar, dan fitofarmaka, <http://ulpk.pom.go.id> [31 Oktober 2012].
- Galina J, Yin G, Ardo L, Jeney Z. 2009. The use of immunostimulating herbs in fish: an overview of research. *Fish Physiology and Biochemistry* 35: 669–676.
- Genten F, Terwinghe E, Danguy A. 2009. *Atlas of Fish Histology*. London: CRC Press.
- Jabar MA, Amina AM. 2007. Susceptibility of some multiple resistant bacteria to garlic extract. *African Journal of Biotechnology* 6: 771–776.
- Kerstens K, Vancanneyt M. 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Department of Biochemistry and Microbiology: Universiteit Gent.
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2010. Sembilan komoditas unggulan. www.dkp.go.id. [31 Oktober 2011].
- Mangunwardoyo W, Ratih I, Ety R. 2010. Uji patogenisitas dan virulensi *Aeromonas hydrophila* strain pada ikan nila *Oreochromis niloticus* Lin. melalui postulat Koch. *Jurnal Riset Akuakultur* 5: 245–255.
- Matthew T. 2009. Efficacy of *Allium sativum* (garlic) bulbs extract on some enteric (pathogenic) bacteria. *New York Science Journal* 2: 24–28.
- Murjani A. 2011. Budidaya beberapa varietas ikan sepat rawa *Trichogaster trichopterus* (Pall) dengan pemberian pakan komersial. *Fish Scientiae, Jurnal Ilmu-Ilmu Perikanan dan Kelautan* 1: 214–232.
- Ndong D, Chen YY, Lin YH, Vaseeharan B, Chen JC. 2007. The immune response of tilapia *Oreochromis mossambicus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high temperatures. *Fish and Shellfish Immunology* 22: 686–694.
- Rahmaningsih S. 2012. Pengaruh ekstrak sidawayah dengan konsentrasi yang berbeda untuk mengatasi infeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla* pada ikan nila *Oreochromis niloticus*. *Aquasains, Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan* 1: 1–7
- Rey A, Verjan N, Ferguson HW, Iregul C. 2009. Pathogenesis of *Aeromonas hydrophila* strain KJ99 infection and its extracellular products in two species of fish. *Veterinary Record* 164: 493–499.
- Shin MS, Kang EH, Lee YI. 2005. A flavonoid from medicinal plants blocks hepatitis B virus-e antigen secretion in HBV-infected hepatocytes. *Antiviral Research* 67: 163–168.
- Thanikachalam K, Marimutu K, Xavier R. 2010. Effect of garlic peel on growth, hematological parameters and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in African catfish *Clarias gariepinus* (Bloch) fingerlings. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 3: 614–618.