

Uji In Vitro Gabungan Ekstrak *Boesenbergia pandurata*, *Solanum ferox*, *Zingiber zerumbet* terhadap Bakteri Patogen pada Ikan Nila

(IN VITRO TEST OF CONCOCTION PLANT EXTRACTS
OF *BOESENERGIA PANDURATA*, *SOLANUM FEROX*, *ZINGIMBER ZERUMBET*
AGAINST PATHOGENIC BACTERIA IN TILAPIA)

Esti Handayani Hardi¹, Gina Saptiani¹,
Nurkadina¹, Irawan Wijaya Kusuma¹, Wiwin Suwinarti²

¹Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Universitas Mulawarman Jl. Gunung Tabur, Gunung Kelua,
Samarinda Ulu, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia 75132
Tel./Fax.: +62-541-749159; Email: estieriyadi2011@gmail.com

²Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman,
Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia, 75132.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the antibacterial activity of ethanol concoction (mixed extract) of three herbs plants, such as: *Boesenbergia pandurata*, *Solanum ferox* and *Zingiber zerumbet* against *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas* sp. and both bacteria. The Plant extracts were obtained by using ethanol and the concentration of the extract was 600 mgL⁻¹ of *B. pandurata*, 900 mgL⁻¹ of *S. ferox* and 200 mgL⁻¹ of *Z. zerumbet*. The inhibition zone was measured after 6, 12, 18, 24 h incubation at 30° C. The ratios of concoction *S. ferox* and *B. pandurata* (for 100 mL solution) were 90:10; 80:20; 70:30; 60:40; 50:50; 40:60; 30:70; 20:80; 10:90. The same ratios were made on the concoction of *S. ferox* and *Z. zerumbet*. The concoctions of *S. ferox* and *B. pandurata* in the ratio of 50:50 and 60:40, and the concoction of *S. ferox* and *Z. zerumbet* with ratio 60:40 had higher antibacterial activity against *A. hydrophila* single isolate compared to the other concoctions. Furthermore, the concoction extract of *S. ferox* and *B. pandurata* 50:50 and the combined of *S. ferox* and *Z. zerumbet* ratio 50:50 and 90:10 were the best combination to inhibit the growth of a single bacterium *Pseudomonas* sp. The combined *S. ferox* and *B. pandurata* ratio 50:50; 10:90 and *S. ferox* mixed with *Z. zerumbet* ratio 50:50 and 40:60 were the best combination against the combined bacteria between *A. hydrophila* and *Pseudomonas* sp. The conclusion of this research was the combined extract of *S. ferox* and *B. pandurata* and *S. ferox* with *Z. zerumbet* are effective to suppress the growth of single or combination of *A. hydrophila* and *Pseudomonas* sp.

Keywords: *Boesenbergia pandurata*; *Solanum ferox*; *Zingiber zerumbet*; antibacterial activity; plant extracts

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas antibakterial dari gabungan ekstrak temu kunci (*B. pandurata*), terung asam (*S. ferox*) dan lempuyang (*Z. zerumbet*) untuk menghambat bakteri patogen *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas* sp. dan gabungan kedua bakteri secara *in vitro*. Ekstrak tanaman yang digunakan merupakan ekstrak etanol dengan konsentrasi 600 mgL⁻¹ *B. pandurata*, 900 mgL⁻¹ *S. ferox* dan 200 mgL⁻¹ *Z. zerumbet*. Diameter hambat diukur pada jam 6, 12, 18, 24 jam setelah inkubasi pada suhu 30 °C. Perbandingan ekstrak yang digunakan antara *S. ferox* dan *B. pandurata* (100 mL larutan gabungan) yaitu 90:10; 80:20; 70:30; 60:40; 50:50; 40:60; 30:70; 20:80; 10:90. Begitu juga penggabungan antara *S. ferox* dan *Z. zerumbet*. Gabungan ekstrak *S. ferox* dan *B. pandurata* 50:50 dan 60:40 dan gabungan ekstrak *S. ferox* dan *Z. zerumbet* rasio 60:40 memiliki diameter hambat terbaik terhadap bakteri tunggal *A. hydrophila*. Lebih lanjut, gabungan ekstrak *S. ferox* dan *B. pandurata* 50:50 serta *S. ferox* dan *Z. zerumbet* perbandingan 50:50 dan 90:10 baik menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* sp. sedangkan gabungan *S. ferox* dan *B. pandurata* perbandingan 50:50; 10:90 serta *S. ferox*

dan *Z. zerumbet* 50:50 dan 40:60 merupakan gabungan terbaik menghambat bakteri gabungan *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. Simpulannya adalah, gabungan ekstrak *S. ferox* dan *B. pandurata* serta *S. ferox* dan *Z. zerumbet* efektif menekan pertumbuhan bakteri tunggal dan gabungan *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp.

Kata-kata kunci: *Boesenbergia pandurata*; *Solanum ferox*; *Zingiber zerumbet*; aktivitas antibakterial; ekstrak tanaman

PENDAHULUAN

Aeromonas hydrophila dan *Pseudomonas* sp. merupakan dua bakteri penyebab kematian pada ikan nila yang mencapai 48-72% pada sistem budidaya karamba jaring apung di Loa Kulu Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur (Hardi *et al.*, 2012). Lebih lanjut, sebanyak 33% ikan nila terinfeksi *A. hydrophila* dan 67% terinfeksi *Pseudomonas* sp. Infeksi bakteri *A. hydrophila* menyebabkan ikan mengalami eksoptalmia, purulens, sirip *gripis*, luka pada organ yang terinfeksi, sedangkan ikan yang terinfeksi bakteri *Pseudomonas* sp. mengalami organ dalam yang berair (Hardi *et al.*, 2014). Kedua bakteri ini selalu ditemukan menginfeksi secara bersamaan pada ikan nila. Menurut Hardi *et al.* (2014), tingkat kematian ikan yang diinjeksi bakteri tunggal *A. hydrophila* mencapai 66% dan *Pseudomonas* sp. 80%, sedangkan ikan nila yang diinjeksi dengan gabungan kedua bakteri kematiannya mencapai 100% pada hari ke-5 pascainjeksi.

Penggunaan antibiotik komersial untuk pengendalian penyakit pada budidaya dapat merusak lingkungan karena dapat mematikan semua organisme di dalam air (Muniruzzaman dan Chowdhury, 2004; Abutbul *et al.*, 2005). Untuk itu saat ini banyak dikembangkan penggunaan ekstrak tanaman untuk pengendalian penyakit infeksius (Rios *et al.*, 1988). Penggunaan ekstrak tanaman selain murah dan mudah diperoleh (Punitha *et al.*, 2008), juga memiliki peluang yang menguntungkan dalam budidaya (Abutbul *et al.*, 2005).

Ekstrak tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai antibakterial pada budidaya ikan antara lain ekstrak tunggal temu kunci (*Boesenbergia pandurata*), terung asam (*Solanum ferox*), lempuyang (*Zingiber zerumbet*) yang memiliki kandungan bahan levamisol, flavonoid, steroid, karbohidrat mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. yang menginfeksi ikan nila baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Hardi *et al.*, 2016a,b; Hardi *et al.*, 2017a,b). Ekstrak tanaman *Ocimum*

sanctum (Logambal *et al.*, 2000; Venkata-lakshmi 2001), Azadirachtin (Logambal dan Michael, 2001), *Viscum album*, *Urtica dioica* dan *Zingiber officinale* (Dugenci *et al.*, 2003), *Radix astragalus* seu Hedysari dan *Radix angelicae sinensis* (Jian dan Wu, 2003; Jian dan Wu, 2004), *Astragalus radix* dan *Scutellaria radix* (Yin *et al.*, 2006), dan *Achyranthes aspera* (Rao *et al.*, 2005, Rao *et al.*, 2004) dilaporkan selain bersifat antibakterial juga mampu meningkatkan imunitas non spesifik beberapa ikan. Tan dan Vanitha (2004) juga melaporkan tujuh ekstrak tanaman asal Tiongkok : *Aloe vera* Mill. (Aloaceae), *Angelica species* (Umbelliferae), *Astragalus membranaceus* (Leguminosae), *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst. (Ganodermataceae), *Panax ginseng* C.A Mey. (Araliaceae), *Scutellaria species* (Lamiaceae) dan *Zingiber officinale* Rosc. (Zingiberaceae) memiliki kemampuan antimikrob.

Ekstrak gabungan memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak tunggal karena beberapa komponen dapat bekerja sinergis untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Harikrishnan dan Bala-sundaram, 2008). Lebih lanjut, aktivitas gabungan ekstrak *Curcuma longa*, *Ocimum sanctum* dan *Azadirachta indica* dengan perbandingan 1:1:1 memiliki zona hambat lebih baik terhadap bakteri *A. hydrophila* dibandingkan dengan ekstrak tunggal masing-masing tanaman. Uji lanjut pada pengobatan menggunakan gabungan ketiga ekstrak mampu meningkatkan kelulushidupan dan membantu proses penyembuhan luka akibat infeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan mas (*Carassius auratus*) (Harikrishnan *et al.*, 2010). Dalam tulisan ini dibahas mengenai aktivitas antibakteri gabungan ekstrak *B. pandurata* dan *S. ferox* serta gabungan antara *Z. zerumbet* dan *S. ferox* terhadap bakteri patogen pada ikan nila.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai Maret 2017 di Laboratorium Mikro-

biologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan dan untuk proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Kimia Kayu, Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman, Kalimantan Timur.

Bakteri Uji

Bakteri patogen yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *A. hydrophila* (EA-01) dan *Pseudomonas* sp. (EP-01) yang diisolasi dari ikan nila di areal budidaya Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur. Bakteri uji ditumbuhkan dalam media cair *Brain Heart Infusion Broth*/BHI (DIFCO®) dan media padat *Brain Heart Infusion Agar*/BHIA (DIFCO®) selama 24 jam pada suhu 30°C, kepadatan yang digunakan adalah masing-masing bakteri mengikuti kepadatan bakteri LD₅₀ (Hardi *et al.*, 2014) yaitu 10¹⁰ CFU mL⁻¹. Bakteri uji yang digunakan dalam uji antibakterial adalah bakteri tunggal *A. hydrophila*, *Pseudomonas* sp. dan bakteri gabungan *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. dengan campuran 1:1.

Persiapan Ekstrak *B. pandurata*, *Z. zerumbet* dan *S. ferox*

Tanaman temu kunci (*B. pandurata*), terung asam (*S. ferox*) dan lempuyang (*Z. zerumbet*), dikumpulkan dari pasar tradisional di Kota Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Kimia Kayu, Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman. Proses ekstraksi menggunakan prosedur Harikrishnan dan Balasundaran (2005) serta metode Hardi *et al.* (2016a). Proses diawali dengan mencuci bersih tanaman, kemudian diiris tipis dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40-45°C selama 48 jam. Tanaman yang telah kering, dihaluskan menggunakan *blender* menjadi serbuk halus. Sebanyak 100 g sampel kering dicampur dengan 100 mL etanol 96% dalam labu Erlenmeyer pada suhu ruang selama 72 jam. Kemudian dilakukan pemisahan antara larutan etanol dengan serbuk yang telah di *blender* menggunakan kertas saring Whatman 0.5 µm. Dilanjutkan dengan memisahkan ekstrak tanaman dari larutan etanol yang tersisa dengan menggunakan alat efavorator selama 3-5 jam. Ekstrak yang didapat, disimpan di dalam oven suhu 45°C selama 24 jam dan didapatkan ekstrak padat, dan disimpan di dalam lemari pendingin sebelum digunakan.

Konsentrasi ekstrak yang digunakan merupakan konsentrasi tunggal terbaik untuk

menghambat bakteri *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. (Hardi *et al.*, 2016a,b) yaitu 600 mgL⁻¹ of *B. pandurata* (TK); 900 mgL⁻¹ of *S. ferox* (TA) and 200 mgL⁻¹ of *Z. zerumbet* (L). Pada penelitian ini digunakan gabungan ekstrak *S. ferox* dan *B. pandurata* (TA+TK) serta gabungan ekstrak *S. ferox* dan *Z. zerumbet* (TA+L). Perbandingan yang digunakan (100 mL) adalah 90:10; 80:20; 70:30; 60:40; 50:50; 40:60; 30:70; 20:80; 10:90. Penggabungan ekstrak yang digunakan tertuang pada Tabel 1.

Tabel 1. Penggabungan ekstrak *S. ferox* (Sf) dan *B. pandurata* (Bp) serta gabungan ekstrak *S. ferox* (Sf) dan *Z. zerumbet* (Zs)

Kode	Ekstrak Tanaman		
	Bp	Sf	Zs
A9.1	10	90	0
A8.2	20	80	0
A7.3	30	70	0
A6.4	40	60	0
A5.5	50	50	0
A4.6	60	40	0
A3.7	70	30	0
A2.8	80	20	0
A1.9	90	10	0
B1.9	0	90	10
B2.8	0	80	20
B3.7	0	70	30
B4.6	0	60	40
B5.5	0	50	50
B6.4	0	40	60
B7.3	0	30	70
B8.2	0	20	80
B9.1	0	10	90

Uji Antibakterial

Uji *in vitro* antibakterial dilakukan dengan mengikuti metode Dulger dan Gonuz (2004), diawali dengan menumbuhkan masing-masing bakteri uji pada BHIA sebanyak 0,5 mL. Dilanjutkan dengan meneteskan 25 µL masing-masing ekstrak pada *antibacterial paper steril* berukuran 6 mm, diletakkan di atas media BHIA yang telah diinokulasikan masing-masing bakteri uji dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C (Bradshaw 1992). Pengamatan diameter zona hambat yang terbentuk dilakukan pada jam ke-6, 12, 18 dan 24 masa inkubasi. Akuades streril (Aqu) digunakan sebagai kontrol

negatif dan antibiotik komersil tetracycline (Te) digunakan sebagai kontrol positif.

Hasil yang diukur berupa zona hambat di sekitar kertas cakram berupa ZI; nilai ZI dari ekstrak yang digunakan dibandingkan dengan antibiotik Te sebagai standar. Persentase ZI dikalkulasikan dengan menggunakan rumus Singh *et al.* (2002): $ZI\% = (100\%) \times [(ekstrak\ ZI - air\ ZI) \times (antibiotik - air\ ZI)^{-1}]$

Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Minimum inhibitory concentration (MIC) dari ekstrak terhadap bakteri tunggal dan gabungan dilakukan menggunakan media TSA mengikuti metode Mandal *et al.* (2002). Konsentrasi yang digunakan dalam uji ini hanya konsentrasi terpilih dari masing-masing gabungan ekstrak, yaitu 50:50; 40:60; 90:10. Pengujian dilakukan dengan menambahkan masing-masing gabungan ekstrak sebanyak 0.5 mL atau antibiotik tetracycline 0.5 mL ke dalam media TSB yang berisi biakan bakteri masing-masing (10^3 CFU/mL). Biakan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C (Ilori *et al.*, 1996; Nagamura *et al.*, 1999; Iwalokun *et al.*, 2001). Selanjutnya sebanyak 1 mL biakan diencerkan dan pengenceran diinokulasikan ke dalam media TSA dengan metode tuang dan dikultur kembali selama 24 jam pada suhu 30°C, selanjutnya jumlah total bakteri yang tumbuh dihitung berdasarkan Ilori *et al.* (1996); Nagamura *et al.* (1999); Mandal *et al.* (2002) dan Hardi *et al.* (2016a). Persentase MIC dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut: $MIC\% = (100\%) \times [(ekstrak\ CFU - air\ CFU) \times (antibiotik\ CFU - air\ CFU)^{-1}]$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gabungan ekstrak TA+TK serta gabungan TA+L, keseluruhan memiliki zona hambat terhadap bakteri tunggal *A. hydrophila*, *Pseudomonas* sp. dan gabungan bakteri *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. Zona hambat yang terbentuk terlihat seperti pada Gambar 1. Namun gabungan terbaik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* adalah TA+L perbandingan 60:40 dengan zona hambat 11,5 mm, sedangkan gabungan antara ekstrak TA+TK perbandingan 40:60 dan 50:50 membentuk zona hambat 11 mm (Gambar 2). Keseluruhan gabungan ekstrak TA+TK memiliki zona hambat terhadap bakteri *A. hydrophila* berkisar 8,5-11,0 mm hampir sama

dengan gabungan ekstrak TA+L berkisar 8,5-11,5 mm.

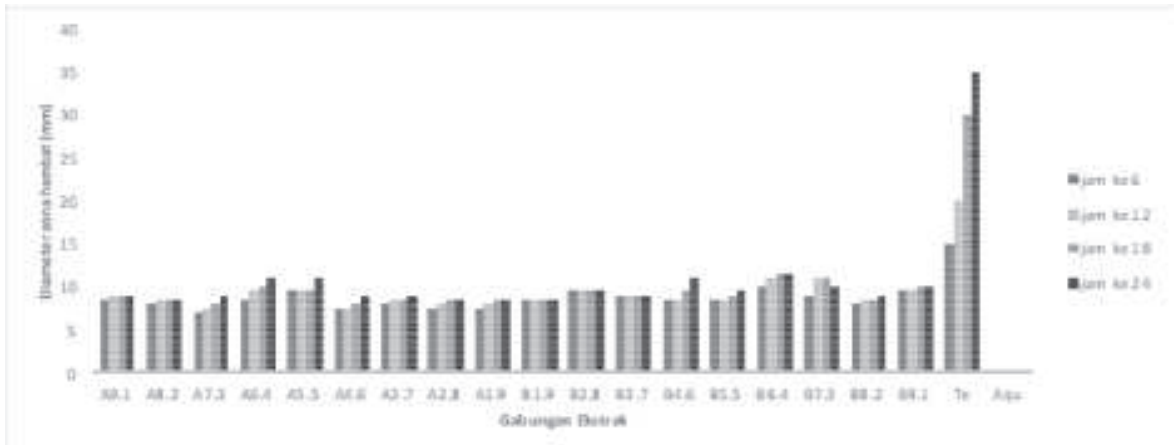
Aktivitas antibakterial terbaik untuk menghambat bakteri *Pseudomonas* sp. merupakan gabungan TA+L perbandingan 10:90 mencapai 14 mm dan perbandingan 50:50 dengan zona hambat 13 mm (Gambar 2), sedangkan gabungan TA+TK perbandingan 50:50 memiliki zona hambat terbaik sebesar 13 mm. Zona hambat yang terbentuk pada penghambatan bakteri *Pseudomonas* sp. berkisar 9-11 mm pada uji penggabungan TA+TK sedangkan gabungan TA+L, zona hambat yang terbentuk lebih luas terhadap bakteri *Pseudomonas* sp. yaitu 8,5-14,0 mm.

Bakteri *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. ditemukan secara bersamaan menginfeksi ikan nila, patogenisitas gabungan kedua bakteri lebih tinggi dibandingkan dengan isolat tunggal (Rahun 2014) sehingga pada percobaan ini dilakukan uji penghambatan kedua bakteri menggunakan gabungan ekstrak TA+TK serta TA+L. Hasilnya menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk tidak sebesar pada uji dengan isolat tunggal. Zona hambat terluas dihasilkan pada uji aktivitas antibakterial gabungan ekstrak *S. ferox* dan *Z. zerumbet* dengan perbandingan 50:50 dan 60:40 sebesar 11 mm sedangkan gabungan *S. ferox* dan *B. pandurata* perbandingan 50:50 zona hambat yang dihasilkan 10,5 mm (Gambar 3).

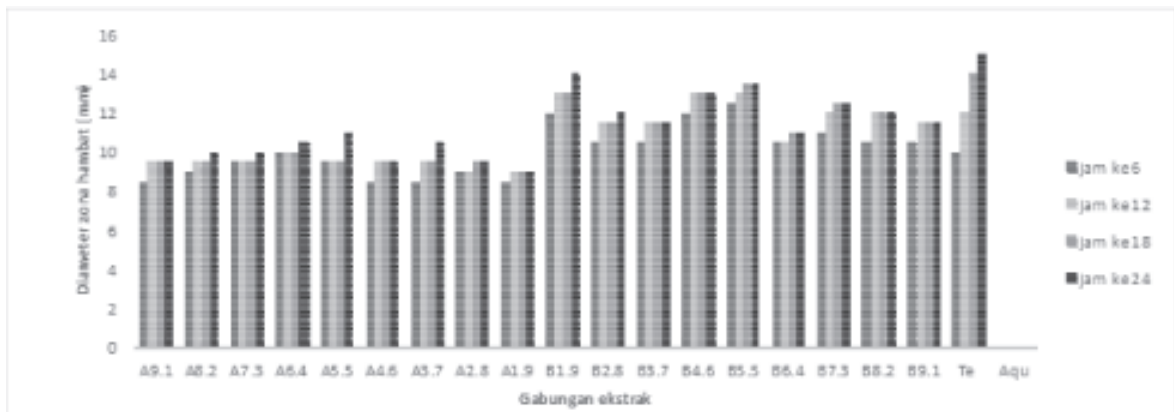
Efektivitas gabungan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Gambar 1. Gabungan 60 mL *S. ferox* dan 40 mL *B. pandurata* serta



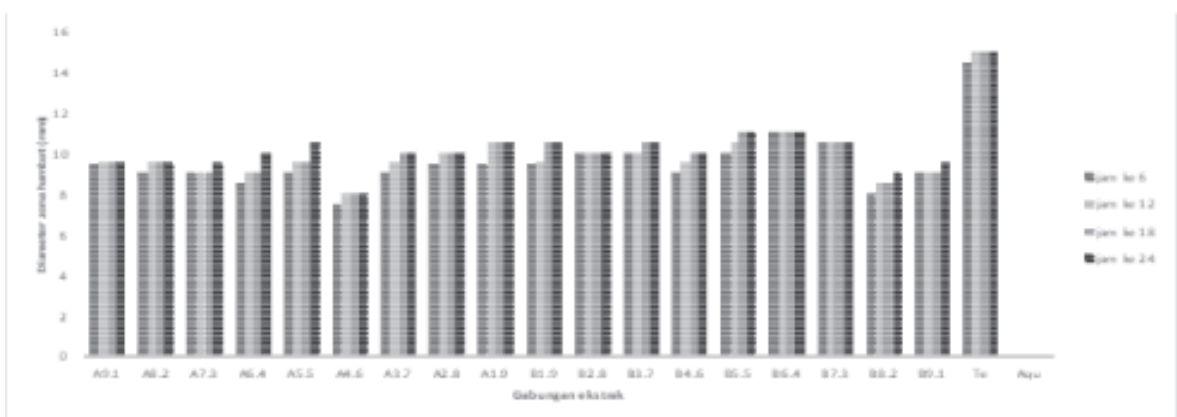
Gambar 1. Zona hambat yang terbentuk pada uji aktivitas antibakterial, D: diameter zona hambat, Gabungan ekstrak *S. ferox* dan *B. pandurata* perbandingan 1). 10:90, 2). 20:80, 3). 30:70, 4). 40:60



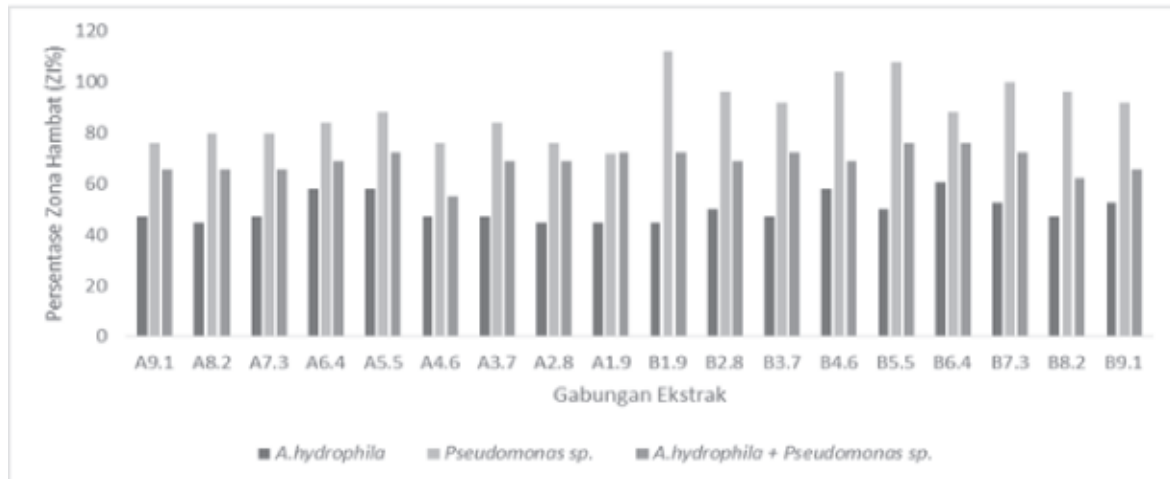
Gambar 2. Aktivitas antibakteri gabungan ekstrak *Solanum ferox* dan *Boesenbergia pandurata*/ TA+TK (A9.1-A1.9) dan gabungan ekstrak *Solanum ferox* dan *Zingiber zerumbet*/ TA+L (B1.9-B9.1) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. Sebagai kontrol negatif menggunakan tetrasiklin dan kontrol positif menggunakan akuades steril.



Gambar 3. Aktivitas antibakteri gabungan ekstrak *Solanum ferox* dan *Boesenbergia pandurata*/ TA+TK (A9.1-A1.9) dan gabungan ekstrak *Solanum ferox* dan *Zingiber zerumbet*/ TA+L (B1.9-B9.1) terhadap bakteri *Pseudomonas sp.* Sebagai kontrol negatif menggunakan tetrasiklin dan kontrol positif menggunakan akuades steril.



Gambar 4. Aktivitas antibakteri gabungan ekstrak *Solanum ferox* dan *Boesenbergia pandurata* (A9.1-A1.9) serta gabungan ekstrak *Solanum ferox* dan *Zingiber zerumbet* (B1.9-B9.1) terhadap bakteri gabungan *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas sp.* Sebagai kontrol negatif menggunakan tetrasiklin dan kontrol positif menggunakan akuades steril.



Gambar 5. Nilai persentase zona hambat (ZI) gabungan ekstrak *Solanum ferox* dan *Boesenbergia pandurata* (TA+TK) serta ekstrak *Solanum ferox* dan *Zingiber zerumbet* (TA+L) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas sp.* dan gabungan bakteri *A. hydrophila* dan *Pseudomonas sp.* pada jam ke 24 masa inkubasi

perbandingan 50 mL dengan 50 mL memiliki zona hambat 11 mm dan nilai ZI 57,9% lebih tinggi dibandingkan dengan gabungan ekstrak yang lain. Nilai ZI gabungan ekstrak *S. ferox* dan *B. pandurata* lebih tinggi dibandingkan gabungan antara ekstrak etanol dan ekstrak air *C. longa* sebesar 16,7% terhadap bakteri *A. hydrophila* (Harikrishnan dan Balasundaram, 2008). Begitu juga dengan gabungan ekstrak *S. ferox* dan *Z. zerumbet* perbandingan 60:40 memiliki zona hambat 11,5 mm dan nilai ZI 60,5%. Aktivitas ini lebih baik jika dibandingkan dengan aktivitas ekstrak *B. pandurata* dan *Z. zerumbet* tunggal (Hardi et al., 2016 a,b). Ini menandakan bahwa gabungan ekstrak ini memiliki kemampuan antibakteri yang baik. Menurut Hardi et al. (2016a), ekstrak *B. pandurata* memiliki kandungan alkaloid, flavonoid dan karbohidrat serta *Z. zerumbet* mengandung bahan alkaloid, flavonoid, steroid dan karbohidrat, dan bahan-bahan tersebut efektif menekan pertumbuhan bakteri (Wink 2010).

Ekstrak *S. ferox* memiliki kemampuan antibakteri baik terhadap bakteri *Pseudomonas sp.* dibandingkan terhadap *A. hydrophila*, sedangkan ekstrak *Z. zerumbet* aktivitas antibakterinya lebih baik terhadap *A. hydrophila* (Hardi et al., 2016a,b), namun pencampuran kedua ekstrak dengan perbandingan 50:50, menunjukkan aktivitas yang baik terhadap bakteri *Pseudomonas sp.* (13,5 mm dan ZI 90 %).

Jika dilihat kemampuan antibakteri gabungan ekstrak terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *Pseudomonas sp.* yang digabung bersama, lebih rendah dibandingkan terhadap masing-masing bakteri. Campuran antara ekstrak *S. ferox* dan *B. pandurata*, zona hambat yang terbentuk berkisar 8,0-10,5 mm. begitu juga dengan gabungan *S. ferox* dan *Z. zerumbet*, zona hambat tertinggi 11 mm dengan nilai ZI 75,9%. Uji patogenisitas pada ikan nila, yang diinjeksi dengan gabungan kedua bakteri menunjukkan kematian yang lebih tinggi, tingkat kematian ikan yang diinjeksi bakteri tunggal *A. hydrophila* mencapai 66%, *Pseudomonas sp.* 80% (Hardi et al., 2014), sedangkan gabungan kedua bakteri menyebabkan kematian hingga 100%. Begitu juga nilai % MIC gabungan ekstrak terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *Pseudomonas sp.* umumnya berkisar 90% ini menunjukkan nilai yang baik. Penggabungan ekstrak *O. sanctum* + *C. longa* + *A. indica* perbandingan 1:1:1 nilai % MIC mencapai 100% pada konsentrasi 3-10 mg/mL dengan menggunakan standar antibiotik tetracycline (Harikrishnan dan Balasundaram, 2008).

Secara umum, kemampuan antibakteri gabungan ekstrak lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak tunggal. Hal ini juga terjadi pada penggabungan ekstrak *O. gratissimum* dan *Terminalia avicennoides* (290.6–750.0 gmL⁻¹) lebih potensial sebagai antibakteri dibandingkan ekstrak tunggal masing-masing

Tabel 2. Nilai persentase (%) MIC gabungan ekstrak terung asam dan temu kunci (TA+TK) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas* sp. dan gabungan bakteri *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. pada jam ke 24 masa inkubasi.

Kode	Terung asam(mL)	Temu Kunci(mL)	Bakteri Uji		
			<i>A. hydrophila</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	Gabungan <i>A. hydrophila</i> & <i>Pseudomonas</i> sp
A9.1	90	10	93%	87%	89%
A8.2	80	20	69%	91%	91%
A7.3	70	30	93%	93%	93%
A6.4	60	40	95%	97%	97%
A5.5	50	50	40%	100%	99%
A4.6	40	60	92%	99%	98%
A3.7	30	70	93%	100%	98%
A2.8	20	80	40%	96%	98%
A1.9	10	90	17%	99%	100%

Tabel 3. Nilai persentase (%) MIC gabungan ekstrak terung asam dan lempuyang (TA+L) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas* sp. dan gabungan bakteri *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. pada jam ke 24 masa inkubasi.

Kode	Terung asam(mL)	Lempuyang (mL)	<i>A. hydrophila</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	Gabungan <i>A. hydrophila</i> & <i>Pseudomonas</i> sp.
B2.8	80	20	94%	97%	91%
B3.7	70	30	99%	97%	96%
B4.6	60	40	5%	100%	98%
B5.5	50	50	100%	99%	100%
B6.4	40	60	95%	98%	100%
B7.3	30	70	92%	99%	99%
B8.2	20	80	92%	99%	93%
B9.1	10	90	92%	100%	89%

(Iwalokun *et al.*, 2001). Begitu juga penggunaan ketiga ekstrak tanaman *Curcuma longa*, *Ocimum sanctum*, dan *Azadirachta indica* baik ekstrak menggunakan akuades dan etanol dengan rasio 1:1:1 memiliki aktivitas antibakteri lebih tinggi dibandingkan ekstrak tunggal terhadap bakteri *A. hydrophila* (Harikrishnan dan Balasundaram, 2008). Perbedaan aktivitas antibakteri dari ekstrak tanaman tersebut dipengaruhi oleh adanya perbedaan kandungan dalam ekstrak, contohnya *essential oil* dari ekstrak batang *O. gratissimum* dapat menghambat bakteri patogen pada beberapa konsentrasi (Nagamura *et al.*, 1999) sedangkan ekstrak daunnya mampu mencegah

pertumbuhan bakteri *Aeromonas sobria*, *Escherichia coli*, *Plesiomonas shigelloides*, *Salmonella typhi*, dan *Shigella dysenteriae* (Ilori *et al.*, 1996). Avirutnant dan Pongpan (1983) melaporkan bahwa ekstrak air dari akar *Phyllanthus reticulatus* memiliki kemampuan antibakteri terhadap beberapa bakteri antara lain *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Shigella dysenteriae*. Gabungan ekstrak (*O. gratissimum*, *T. avicennoides*, dan *Momordica balsamina*) juga mampu menekan pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dengan baik dibandingkan terhadap bakteri *S. dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Shigella boydii*, dan *E. coli* (Iwalokun *et al.*, 2001).

Menurut Babu *et al.* (2002), kemampuan antibakteri dalam ekstrak sangat dipengaruhi oleh perbedaan kandungan bahan kimianya, beberapa bahan akan hilang dalam proses fraksinasi, namun umumnya kemampuan antibakteri dari ekstrak kasar lebih besar dibandingkan dengan bahan aktif tunggal dalam ekstrak. Di sisi lain identifikasi komponen aktif dalam ekstrak serta konsentrasi yang tepat juga memengaruhi keberhasilan penggunaan pada ikan. Lebih lanjut Benli *et al.* (2007) mengemukakan bahwa bagian tanaman yang berbeda memiliki kemampuan antibakterial yang berbeda. Ekstrak bunga *Verbascum eriocarpum* efektif menekan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*; *Stachys cretica* subsp, sedangkan ekstrak daun dan bunga *anatolica* serta biji *Heracleum paphlagonicum* efektif terhadap *Bacillus subtilis*; dan ekstrak biji dan bagian sepal *Alcea apterocarpa* efektif terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Namun daun dari *Heracleum paphlagonicum* dan *Alcea apterocarpa* tidak memiliki kemampuan antibakteri. Dalam hal ini, kandungan bahan dalam ekstrak *S. ferox* dan *B. pandurata* serta *S. ferox* dan *Z. zerumbet* bersifat sinergis antar bahan sehingga meningkatkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen.

SIMPULAN

Penggabungan dua ekstrak *S. ferox* dan *B. pandurata* serta *S. ferox* dan *Z. zerumbet* menunjukkan kemampuan penghambatan terhadap bakteri *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. baik terhadap bakteri tunggal maupun gabungan.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian untuk pengujian efektivitas gabungan ekstrak *S. ferox* dan *B. pandurata* serta *S. ferox* dan *Z. zerumbet* secara *in vivo* pada ikan nila untuk pengujian pencegahan dan pengobatan, serta perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakterial terhadap bakteri patogen pada ikan air tawar lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung dan dibiayai oleh Direktorat Perguruan Tinggi dan Riset Teknologi RI (Ristek Dikti) melalui penelitian Strategis Nasional Tahun Anggaran 2017 dengan Nomor 370/UN17.41/KL/2017. Peneliti juga mengucapkan terimakasih pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman dan Dinas Kelautan dan Perikanan Kabupaten Kutai Kartanegara, Propinsi Kalimantan Timur atas dukungan dan pendampingannya selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Avirutnant W, Pongpan A. 1983. The antimicrobial activity of some Thai flowers and plant. Mahidol Univ. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 10(3): 81-86.
- Abutbul S, Golan-Goldhirsh A, Barazani O, Ofir R, Zilberg D. 2005. Screening of desert plants for use against bacterial pathogens in fish. *Israel Journal Aquacultur Bamid* 57: 71-80.
- Babu B, Jisha VK, Salitha CV, Mohan S, Valsa AK. 2002. Antibacterial activity of different plant extracts. *Indian Journal of Microbiology* 42: 361-363.
- Benli M, Guney K, Bingol U, Geven F, Yigit N. 2007. Antimicrobial activity of some endemic plant species from Turkey. *African Journal of Biotechnology* 6(15): 1774-1778.
- Bradshaw LJ. 1992. *Laboratory of microbiology*, 4th edition. Philadelphia. Saunders College.
- Dugenci SK, Arda N, Candan A. 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal Ethnopharmacol* 88: 99-106
- Dulger B, Gonuz A. 2004. Antimicrobial activity of some endemic *Verbascum*, *Salvia* and *Stachys* species. *Pharma Biology* 42: 301-304.
- Hardi EH, Pebrianto CA. 2012. Isolation and postulat koch test *Aeromonas* sp. and *Pseudomonas* sp. in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Loa Kulu aquaculture Kutai Kartanegara. *Jurnal Ilmu Perikanan Tropis* 16(2): 35-39.

- Hardi EH, Pebrianto CA, Hidayanti T, Handayani RT. 2014. Infeksi *Aeromonas hydrophila* melalui jalur yang berbeda pada ikan nila (*Oreochromis Niloticus*) Di Loa Kulu Kutai Kartanegara Kalimantan Timur. *Journal of Veterinary Sciences* 8(2): 130-134.
- Hardi EH, Kusuma IW, Suwinarti W, Agustina, Abbas I, Nugroho RA. 2016a. Antibacterial activities of some Borneo plant extracts against pathogenic bacteria of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas* sp. *AACL Bioflux* 9: 638-646.
- Hardi EH, Kusuma IW, Suwinarti W, Agustina, Nugroho RA. 2016b. Short communication: Antibacterial activity of *Boesenbergia pandurata*, *Zingiber zerumbet* and *Solanum ferox* extracts against *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas* sp. *Nusantara Bioscience* 8: 18-21.
- Hardi EH, Saptiani G, Kusuma IW, Suwinarti W, Nugroho RA. 2017a. Immunomodulatory and antibacterial effects of *Boesenbergia pandurata*, *Solanum ferox*, and *Zingiber zerumbet* on tilapia, *Oreochromis niloticus*. *AACL Bioflux* 10 (2).
- Hardi EH, Kusuma IW, Suwinarti W, Saptiani G, Sumoharjo, Lusiastuti AM 2017b Utilization of several herbal plant extracts on Nile tilapia in preventing *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas* sp. bacterial infection. *Nusantara Bioscience* 9(2): 220-228.
- Harikrishnan R, Balasundaram C, Bhuvaneshwari R. 2005. Restorative effect of *Azadirachta indica* aqueous leaf extract dip treatment on haematological parameter changes in *Cyprinus carpio* (L.) experimentally infected with *Aphanomyces invadans* fungus. *Journal of Applied Ichthyology* 21: 410-413.
- Harikrishnan R, Balasundaram C. 2008. In vitro and in vivo studies of the use of some medicinal herbals against the pathogen *Aeromonas hydrophila* in Goldfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 20: 165-176.
- Harikrishnan R, Balasundaram C, Heo MS. 2010. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology* 28: 354-361.
- Ilori MO, Sheteolu AO, Omonigbehin EA, Adeneye AA. 1996. Antidiarrhoeal activities of *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae). *Journal of Diarrhoeal Diseases Research* 14: 283-285.
- Iwalokun BA, Gbenle GO, Adewole TA, Akinsinde KA. 2001. Shigellocidal properties of three Nigerian medicinal plants: *Ocimum gratissimum*, *Terminalia avicennoides*, and *Momordica balsamina*. *Journal of Health, Population, and Nutrition* 19: 331-335.
- Jian J, Wu Z. 2003. Effects of traditional Chinese medicine on nonspecific immunity and disease resistance of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* (Richardson). *Aquaculture* 218: 1-9.
- Jian J, Wu Z. 2004. Influence of traditional Chinese medicine on non specific immunity of Jian Carp (*Cyprinus carpio* var. *Jian*). *Fish Shellfish Immunol* 16: 185-191.
- Logambal SM, Michael RD. 2001. Azadirachtin – an immunostimulant for *Oreochromis mossambicus* (Peters). *J Aqua Trop* 16: 339-347
- Logambal SM, Venkatalakshmi S, Michael RD. 2000. Immunostimulatory effect of leaf extract of *Ocimum sanctum* Linn. in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Hydrobiologia* 430: 113-120.
- Mandal S, Mandal M, Pal NK, Halder PK. 2002. R- factor in *Proteus vulgaris* from ulcerative disease of fish, *Channa punctatus*. *Indian Journal of Experimental Biology* 40: 614-616.
- Muniruzzaman M, Chowdhury MBR. 2004. Sensitivity of fish pathogenic bacterial to various medicinal herbs. *Bangladesh Journal Veterinary Medical* 2(1): 75-82.
- Nagamura CV, Nakamura TU, Bando E, Fernandes A, Melo N, Cortez DAG, Filho BP. 1999. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 94: 675- 678.
- Punitha SMJ, Babu MM, Sivaram V, Shankar VS, Dhas SA, Mahesh, TC, Immanuel G, Citarasu T. 2008. Immunostimulating influence of herbal biomedicines on non-specific immunity in Grouper *Epinephelus tauvina* juvenile against *Vibrio harveyi* infection. *Aquacult International* 16: 511-523

- Rao YV, Chakrabarti R. 2005. Stimulation of immunity in Indian major carp *Catla catla* with herbal feed ingredients. *Fish Shellfish Immunol* 8: 327-34
- Rao YV, Romesh M, Singh A, Chakrabarti R. 2004. Potentiation of antibody production in Indian major carp *Labeo rohita*, rohu, by *Achyranthes aspera* as a herbal feed ingredient. *Aquaculture* 238: 67-73.
- Rios JL, Recio MC, Villar A. 1988. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of Ethnopharmacology* 12: 127-149.
- Tan BKH, Vanitha J. 2004 Immunomodulatory and antimicrobial effects of some traditional chinese medicinal herbs: A Review. *Current Medicinal Chemistry* 11: 1423-1430.
- Venkatalakshmi S, Michael RD. 2001. Immunostimulation by leaf extract of *Ocimum sanctum* Linn. in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Journal Aquatic Tropics* 16: 1-10.
- Wink M. 2010. Introduction: biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites. *Annual Plant Reviews* 40: 1-19.
- Yin G, Jeney G, Racz T, Xu P, Jun X, Jeney Z. 2006. Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 253: 39-47.