

EFEKTIVITAS DAYA HAMBAT EKSTRAK BAWANG TIWAI (*Eleutherine americana*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Aeromonas hydrophilla* SECARA *IN VITRO*

Azis ¹⁾

¹⁾Staf Pengajar Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Borneo Tarakan
Jl. Amal Lama No.1, Tarakan. Kalimantan Utara. 77123
Email : azis.borneo@gmail.com

ABSTRACT

One of the diseases that often attack fresh water fish is MAS (Motile Aeromonas Septicemia) caused by Aeromonas hydrophilla and known as red spot disease. Natural ingredients such as garlic extract can be used as an alternative to inhibit bacterial activity of A. hydrophilla. Sased on in vitro assays, the garlic extract showed potentially to inhibit the growth of A. hydrophilla. The purpose of this research was to examine the influence of tiwai onion (Eleutherine americana) extract toward to the prevention bacteria infection of A. hydrophilla in the in vitro essay. This study uses a 6 treatments and 3 replications using tiwai onion extract concentration of 20%, 30%, 40% and 50%, negative control without onion extract tiwai while positive control using kloranfenikol. The results showed that onion extract tiwai with a concentration of 20%, 30%, 40% and 50% have an influence on the inhibition of bacterial growth A. hydrophilla. Tiwai onion extract concentration of 30% showed the highest inhibition test inhibition zone against bacteria A. hydrophilla that is equal to 14.5 mm has a strong growth inhibitory response, with 72.5% effectiveness score. tiwai that onion extract can be used as alternative to chemical antimicrobial agents for the treatment of diseases caused by the bacterium A. hydrophilla.

Key words : Effectiveness, prevention, onion extract tiwai, *A. hydrophilla*, in vitro

PENDAHULUAN

Intensifikasi budidaya perikanan dengan padat tebar tinggi, yang ditunjang dengan penyediaan benih ikan baik kualitas maupun kuantitas, serta manajemen pakan dan kualitas air yang baik berkorelasi positif terhadap peningkatan produksi perikanan nasional. Walaupun penerapan teknologi dan sistem budidaya ikan semakin berkembang, namun serangan penyakit pada ikan budidaya tidak dapat dihindari. Salah satu penyebab penyakit yang banyak menyerang ikan adalah bakteri *Aeromonas hydrophilla* penyebab penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS), terutama untuk spesies ikan air tawar

di perairan tropis. Penyakit yang disebabkan *A. hydrophilla* berakibat bercak merah pada ikan dan menimbulkan kerusakan pada kulit, insang dan organ dalam (Rahmaningsih, 2007).

Berbagai upaya pencegahan maupun pengobatan penyakit MAS, diantaranya penggunaan antibiotik. Menurut Angka (2005), pemakaian antibiotik untuk jangka panjang yang tidak terkontrol dan tidak tepat dosis dapat menimbulkan dampak negatif yang dikhawatirkan memunculkan strain-strain bakteri resisten yang dapat berbahaya bagi ikan. Selain itu harga antibiotik, vitamin, dan probiotik yang cukup mahal dapat

menyebabkan biaya produksi tinggi, sehingga kurang efisien bagi petani-petani ikan skala kecil (tradisional). Alternatif untuk pencegahan dan pengobatan penyakit MAS yang efektif, murah, aman bagi manusia dan ramah lingkungan perlu dikaji kembali.

Salah satu cara pengobatan alternatif yang efektif adalah dengan menggunakan fitofarmaka. Penggunaan ekstrak tumbuhan sebagai pengobatan antibakterial telah banyak digunakan diantaranya ; ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) untuk penanggulangan *A. hydrophila* (Aniputri *et al.* 2014); ekstrak daun *rhizophora mucronata* untuk menghambat *Aeromonas salmonicida* dan *Vibrio harveyi* (Suciawati *et al.* 2012) ; ekstrak paci-paci *Leucas lavandulaefolia* untuk pengobatan penyakit MAS (Utami 2009).

Salah satu fitofarmaka yang dapat digunakan adalah ekstrak bawang tiwai (*Eleutherine americana*). Bawang tiwai atau yang biasa disebut bawang dayak merupakan tanaman khas Kalimantan Tengah. Tanaman ini sudah secara turun temurun dipergunakan masyarakat Dayak sebagai tanaman obat. Tanaman ini memiliki warna umbi merah dengan daun hijau berbentuk pita dan bunganya berwarna putih. Dalam umbi bawang tiwai terkandung senyawa fitokimia yakni *alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, steroid* dan *tannin*, yang bersifat antimikroba, antiinflamasi, antioksidan serta bersifat sebagai detoksifikasi racun dan mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh terhadap penyakit. Minyak atsiri memiliki daya antibakteri disebabkan adanya senyawa fenol dan turunannya yang mampu mendenaturasi protein sel bakteri (Chomnawang, 2005). Fenol dapat merusak membran sel bakteri dan menyebabkan lisis (terlarutnya) sel bakteri (Nogrady, 1992). Sifat toksik fenol mengakibatkan struktur tiga dimensi protein bakteri terganggu dan terbuka, sehingga menjadi struktur acak

tanpa adanya kerusakan struktur kerangka kovalen, sehingga protein terdenaturasi. Deret asam amino protein tetap utuh setelah denaturasi namun aktivitas biologinya rusak sehingga protein tidak dapat melakukan fungsinya (Hasim, 2003).

Bawang tiwai juga telah diyakini dapat meningkatkan ketahanan tubuh dan mengobati berbagai penyakit bagi manusia maupun hewan-hewan lainnya. Penelitian tentang ekstrak bawang tiwai yang diberikan pada hewan air khususnya ikan masih sedikit dan belum banyak dilakukan, untuk itu perlu dilakukan penelitian guna mengetahui dosis yang efektif untuk pencegahan khususnya pada ikan air tawar yang terserang bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas dan daya hambat ekstrak bawang tiwai (*Eleutherine americana*) terhadap tingkat pencegahan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla* secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Mikroskop, mortar, ayakan mesh 32, labu Erlenmeyer, spatula, blender, pipet tetes, rak tabung, *object glass, cover glass*, tabung reaksi, timbangan analitik, corong, *rotary evaporator, water bath*, corong pemisah, kaki tiga, wadah penetasan, aerasi, sendok teh, tanggok, gelas ukur, botol vial, jarum suntik, cawan Petri, oven, *hot plate, stirer, autoclave, Laminar air flow*, jarum ose, bunsen, inkubator, *beaker glass*, pinset, *micropipet, vortex*, jangka sorong, kertas saring.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bawang tiwai (*Eleutherine americana*), isolat murni bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar Bogor, pelarut Metanol, *Dimethyl sulfoxide* (DMSO), *Trypticase soy agar* (TSA),

akuades, kertas cakram, disk kloramfenikol, disk nistatin, kapas, kertas label, aluminium foil.

Pembuatan Ekstrak bawang tiwai (*Eleutherine americana*)

bawang tiwai (*E. americana*) dikeringkan pada suhu ruangan tanpa terkena sinar matahari langsung selama ± 1 minggu. Selanjutnya diblender dan diayak untuk memperoleh tepung bawang tiwai. Tepung bawang tiwai direndam (maserasi) dengan metanol selama ± 48 jam, dilakukan pengadukan sesekali. Sampel disaring sehingga diperoleh filtrat dan ampas. Filtrat dievaporasi dengan *rotary evaporator* dan dilakukan pemekatan ekstrak dengan penangas air (*water bath*).

Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian terdiri dari 5 perlakuan dan 1 kontrol dengan 3 kali ulangan. Konsentrasi yang akan digunakan yaitu 0% (Kontrol negatif); 20%; 30%; 40%; 50%; dibuat dengan cara menimbang ekstrak bawang tiwai sebanyak 0,8 gram dan dilarutkan dalam 1 ml larutan DMSO. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga diperoleh konsentrasi 20%; 30%; 40% dan 50%. Uji antibiotik (kontrol positif) untuk bakteri disk kloramfenikol.

Penyiapan dan Pengujian Ekstrak Bawang Tiwai Terhadap Bakteri

Alat-alat yang digunakan disterilkan dalam oven pada suhu 170°C selama ± 1 jam. Media TSA ditimbang 16,8 gr dengan menggunakan timbangan digital. Media dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan akuades sebanyak 420 ml kemudian dihomogenkan. Erlenmeyer ditutup kapas dan dibungkus aluminium foil

serta diikat oleh tali. Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Media steril ditunggu hingga media tidak terlalu panas. Media dituangkan pada 21 cawan petri sebanyak ± 20 ml di setiap cawannya. Media ditunggu hingga menjadi padat. Bakteri *Aeromonas hydrophila* diinokulasi ke media TSA menggunakan jarum ose yang ujungnya telah dipanaskan di atas api bunsen. Inokulum selanjutnya diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Pengujian ekstrak bawang tiwai dilakukan dengan metode difusi cakram menggunakan kertas cakram berdiameter 6 mm (Oxoid). Cakram dimasukkan ke dalam botol vial yang telah berisi larutan ekstrak dengan konsentrasi 20%; 30%; 40%; 50%, ditunggu ± 1 jam hingga larutan ekstrak meresap ke dalam cakram. Suspensi bakteri yang telah dibuat dicelupkan lidi kapas steril dan diusapkan perlahan-lahan pada permukaan media secara merata dan ditunggu hingga mengering pada suhu kamar. Cakram yang telah ditetesi ekstrak dengan konsentrasi berbeda dan antibiotik diletakkan secara teratur pada permukaan media uji dengan menggunakan pinset.

Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri

Zona hambat adalah daerah jernih yang terbentuk di daerah tersebut tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Zona hambat dari masing-masing sampel ekstrak bawang tiwai diamati setelah 1 x 24 jam. Pengukuran zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong dengan cara membalik cawan petri dan mengukur diameter daerah jernih.

Parameter Uji

Parameter uji dalam penelitian ini ada 2 yaitu parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utama dalam penelitian ini adalah hasil pengamatan yaitu diameter zona bening yang terlihat di sekitar

kertas cakram yang sudah ditumbuhi oleh bakteri *A. hydrophila*. Sedangkan parameter penunjang yaitu efektivitas dan dosis ekstrak bawang tiwai.

Analisis Data

Diameter zona daya hambat ekstrak bawang tiwai disajikan dalam tabel. Efektivitas antibakteri konsentrasi ekstrak bawang tiwai (*E. americana*) terhadap antibiotik dihitung berdasarkan persamaan (Arora and Bhardwaj, 1997), yaitu:

$$E = (D/Da) \times 100\%$$

Keterangan:

E : efektivitas antibakteri (%)

D : diameter zona hambat ekstrak bawang tiwai (mm)

Da : diameter zona hambat antibiotik (mm)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan zona hambat yang dihasilkan dari masing-masing perlakuan memiliki diameter yang berbeda-beda dan bentuk yang tidak beraturan. Zona hambat terlihat pada bakteri *A. hydrophila* setelah pengamatan 24 jam. Untuk mengetahui efektifitas ekstrak bawang tiwai sebagai antibakterial, maka dilakukan pengukuran diameter menggunakan jangka sorong dari zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram. Hasil pengukuran zona hambat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan zona bening setelah pemberian ekstrak bawang tiwai (*Eleutherine americana*) terhadap bakteri *A. hydrophila*.

Perlakuan	Zona bening (mm)			Rata-rata	Respon hambat pertumbuhan	Standar Deviasi
	1	2	3			
P1 (20%)	13,5	14,7	13,9	14,03	Kuat	0,61
P2 (30%)	15,2	14,8	13,5	14,5	Kuat	0,89
P3 (40%)	10,5	11,7	10,2	10,8	Kuat	0,79
P4 (50%)	9,7	10,1	8,9	9,56	Sedang	0,61
P6 (K ⁻)	0	0	0	0	Lemah	0
P7 (K ⁺)	20	20	20	20	Sangat Kuat	0,76

Besar diameter dari zona hambat yang terbentuk dapat menunjukkan kekuatan antibakteri dari ekstrak yang digunakan. Menurut Suryawiria (2005), respon hambat dari suatu bahan aktif dapat diklasifikasikan pada empat respon seperti yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Klasifikasi respon hambat

Diameter zona bening (mm)	Respon hambatan
< 5	Lemah
5 - 10	Sedang
10 - 19	Kuat
>20	Sangat kuat

Berdasarkan Tabel 2, mengenai respon hambat suatu bahan aktif terhadap bakteri dengan uji cakram dapat ditentukan bahwa

respon hambatan ekstrak kasar bawang tiwai terhadap bakteri *A. hydrophila* dengan konsentrasi 0% tidak menunjukkan adanya zona hambat, hal ini dikarenakan 0% sebagai kontrol negatif tanpa penambahan ekstrak bawang tiwai pada media kultur bakteri . Namun, untuk setiap perlakuan pada konsentrasi 20%, 30%, 40% dan 50% memiliki respon hambat yang kuat. Sedangkan kontrol positif menggunakan kloramfenikol menghasilkan zona hambat tertinggi yaitu 20 mm kategori sangat kuat. Pendapat diatas juga diperkuat oleh Davis and Stout (1971), untuk mempermudah dalam menggolongkan kemampuan dari diameter yang diperoleh. Ekstrak dengan diameter hambatan lebih dari 20 mm

termasuk dalam kategori sangat kuat, diameter hambatan berkisar dari 10-20 mm termasuk dalam kategori kuat, diameter hambatan berkisar dari 5-10 mm termasuk dalam kategori sedang dan diameter hambatan kurang dari 5 mm termasuk dalam kategori lemah. Zona bening di sekitar cakram kertas merupakan daerah difusi ekstrak yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Suatu bahan dikatakan mempunyai aktivitas antibakteri apabila diameter hambatan yang terbentuk lebih besar atau sama dengan 6 mm (Suciati *et al.*, 2012).

Selain itu, penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak bawang tiwai sensitive alam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dan memiliki potensi sebagai agen mikrobial. Senyawa aktif yang diperkirakan memiliki antimikrobial adalah senyawa polifenol yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid dan tannin. Berdasarkan penelitian kualitatif yang telah banyak dilakukan, senyawa yang termasuk ke dalam kelompok fenol diperkirakan dapat menyebabkan

kerusakan struktur dinding sel mikroorganisme. Senyawa fenol berinteraksi dengan sel mikroorganisme melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Atom O dari fenol berikatan dengan atom H dari protein sehingga ikatan hydrogen antara atom O dari gugus karboksil dan atom H dari gugus amin terputus dan menyebabkan denaturasi protein dinding sel (Osabor *et al.* 2010).

Efektivitas Antibakteri

Efektivitas ekstrak diperoleh dengan membandingkan daya hambatnya dengan daya hambat dari kontrol positif, yaitu larutan antibiotik (kloramfenicol). Efektivitas antibakteri ekstrak *Selaginella delicatula* dan *Diplazium dilatatum* secara keseluruhan masih tergolong kurang efektif. Hal ini terlihat dari persentase yang kurang dari 50% diperoleh dari hasil perhitungan dengan persamaan $E = (D/Da) \times 100\%$ (Tabel 3).

Tabel 3. Efektivitas antibakterial ekstrak bawang tiwai (*E. americana*)

Konsentrasi (%)	Efektivitas ekstrak bawang tiwai (%)
P1 (20%)	70,15
P2 (30%)	72,5
P3 (40%)	54
P4 (50%)	47
P5 (K ⁻)	0

Berdasarkan Tabel 3, terlihat bahwa ekstrak ekstrak bawang tiwai 30% menunjukkan efektivitas antibakteri tertinggi terhadap *A. hydrophila*, yaitu 72.5% ,sedangkan pada konsentrasi 40% dan 50% terlihat bahwa efektivitas antibakterial dari ekstrak bawang tiwai semakin menurun yaitu masing-masing sebesar 54 dan 47%. Hal ini diduga bahwa konsentrasi ekstrak ekstrak bawang tiwai yang digunakan tidak bekerja secara optimal untuk menghambat perkembangan bakteri *A. hydrophila*. Penggunaan ekstrak dengan senyawa tunggal yang telah diketahui sebagai

antibakteri, misalnya *kloramfenicol* akan lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh, yaitu *kloramfenicol* sebagai kontrol positif memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan ekstrak bawang tiwai, yaitu 20 mm.

KESIMPULAN

Ekstrak bawang tiwai (*E. americana*) memiliki antibakterial yang mampu menghambat perkembangan bakteri *A.*

hydrophila. Terkait efisiensi konsentrasi yang digunakan, penelitian ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi ekstrak bawang tiwai sebesar 20% secara signifikan telah terbukti memiliki efek antimikrobia terhadap bakteri *A. hydrophila* yang lebih baik dibanding perlakuan dosis ekstrak bawang tiwai lainnya.

SARAN

Konsentrasi yang disarankan adalah sebesar 30% ekstrak bawang tiwai untuk mencapai hasil yang optimal dengan mengurangi terjadinya resiko toksisitas. Sebaiknya dilakukan pengujian lebih lanjut secara *In vivo* dengan langsung menguji terhadap ikan untuk lebih mengetahui ekstrak bawang tiwai dapat dijadikan sebagai obat alami untuk penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*.

DAFTAR PUSTAKA

- Angka, SL. 2005. Kajian Penyakit Motile Aeromonad Septicaemia (MAS) pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*): Patologi, Pencegahan dan Pengobatannya Dengan Fitofarmaka. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 141 hlm.
- Aniputri FD, Johannes Hutabarat J, Subandiyono. 2014. pengaruh ekstrak bawang putih (*allium sativum*) terhadap tingkat pencegahan infeksi bakteri *aeromonas hydrophila* dan kelulushidupan ikan nila (*oreochromis niloticus*). Journal of Aquaculture Management and Technology Volume 3 hal 1-10.
- Arora, DS, and Bhardwaj. 1997, Antibacterial Activity of Some Medicinal Plants, Geo. Bios., 24, 127-131
- Chomnawang, MT, Surassno S, Nukoolkarn, VS and Gristanapan, W. 2005. Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acneinducing bacteria. Jethnopharmacol 101. 330-333 hlm.
- Davis WW dan Stout TR. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*. 659-665.
- Hasim, D. 2003. Daun Sirih sebagai Antibakteri Pasta Gigi. <http://kompas.com/kompas-cetak/0309/24/iptek/578008.htm>. [2 Juli 2016]
- Nogrady, T. 1992. Kimia Medisinal Pendekatan secara Biokimia. Penerbit ITB, Bandung. Hlm 19-21.
- Osabor VN, Egbung GE, Ntuk UM.. 2010. Chemical Evaluation of The Leaves of *Diplazium summattii* (Nyama Idim). *Research Journal Of Agriculture And Biological Sciences*. 6(6): 1074-1077.
- Rahmaningsih, S. 2007. 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.
- Suciati A, Wardiyanto, Sumino. 2012. Efektivitas ekstrak daun *Rhizopora mueronata* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas salmonicida* dan *Vibrio harveyi*.

- Jurnal rek. Tekh. budidaya perairan.
Vol. 1.
- Suryawiria, U. 2005. Mikrobiologi Dasar.
Papas Sinar Sinanti. Jakarta.
- Utami WP. 2012. Efektivitas ekstrak paci-
paci *leucas lavandulaefolia* yang
diberikan lewat pakan untuk
pencegahan dan pengobatan
Penyakit mas *motile aeromonas
septicemia* pada ikan lele dumbo
clarias sp. Skripsi Institut Pertanian
Bogor.