

The Effect Of Giving White Pure Ethanol Extract (*Allium sativum*) On The Growth Of *Aeromonas hydrophila* Bacteria In Goldfish (*Cyprinus carpio*) cultivation

Zikrina Rahmi¹, Diannita Harahap¹, Syafrina Sari Lubis¹ dan Darmawi²

¹Pogram Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-raniry, Banda Aceh

²Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

Alamat Korespondensi: zikrinaluqman@gmail.com

ABSTRACT

This study aimed to determine the effect of garlic extract (*Allium sativum*) to the growth of *Aeromonas hydrophila* bacteria. Sample of *A. hydrophila* was obtained from the Fish Quarantine Station of the Aceh Fisheries Product Quality and Safety Control. Extraction of garlic was conducted by maceration method using ethanol solvent. This study used 6 treatments and consisted of three replications. Treatment I concentration of garlic extract 45%, treatment II with concentration of garlic extract 50%, treatment III concentration 55%, treatment IV concentration 60%. Positive control used chloramphenicol antibiotics and negative control used 96% ethanol. The test results showed that 60% garlic extract (*A. sativum*) was more effective in inhibiting the growth of *A. hydrophila* bacteria compared to other concentrations. The lowest effect was owned by 45%. Ethanol extract of garlic (*A. sativum*) had the ability to inhibit the growth of *A. hydrophila* because it has antibacterial compounds.

Key words: Garlic Ethanol Extract, *Aeromonas hydrophila*, Antibacterial Compounds.

PENDAHULUAN

Indikator keberhasilan dalam usaha budidaya ikan adalah kondisi kesehatan ikan. Oleh karena itu masalah penyakit merupakan masalah yang sangat penting untuk ditangani secara serius. Penyakit pada ikan merupakan salah satu masalah yang sering dijumpai dalam usaha budidaya ikan. Telah diketahui di Indonesia ada beberapa jenis ikan air tawar diantaranya sering menimbulkan wabah penyakit serta menyebabkan kegagalan dalam usaha budidaya ikan (Budi, 2010).

Penyakit yang disebabkan bakteri *A. hydrophilla* telah dilakukan usaha untuk mengatasi baik pencegahan maupun pengobatan yaitu dengan pemberian bahan-bahan kimia maupun pemberian antibiotik sintesis seperti *tetracycline*. Pemberian bahan kimia pada ikan bila digunakan dengan dosis yang tepat memang dapat mencegah maupun mengobati penyakit, akan tetapi bila digunakan tidak terkontrol

maka akan timbul bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Residu antibiotik dapat dijumpai di tubuh ikan, sehingga ikan tidak aman untuk di konsumsi oleh manusia dan dapat mencemari lingkungan (Iesje, 2011).

Pengendalian penyakit yang disebabkan oleh *A. hydrophila* dapat dilakukan dengan berbagai cara. Penggunaan antibiotik dalam kegiatan budidaya telah dilakukan selama bertahun-tahun, hal ini menyebabkan timbulnya bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Selain itu, residu antibiotik dapat membahayakan kesehatan manusia dan keseimbangan lingkungan (Natalia, 2010). Alternatif pengendalian penyakit akibat infeksi *A. hydrophila* diantaranya dengan menggunakan bahan herbal yang berpotensi sebagai imunostimulan melalui peningkatan sistem imun ikan untuk melawan pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*.

Salah satu alternatif dalam proses penyembuhan penyakit ikan adalah tumbuhan obat, beberapa keuntungan

menggunakan tumbuhan obat tradisional antara lain relatif lebih aman, murah, mudah diperoleh, tidak menimbulkan resistensi, dan relatif tidak berbahaya terhadap lingkungan sekitarnya. Sejumlah tumbuhan mengandung senyawa yang bersifat antibakteri yang bersifat bakteriostatik (penghambat pertumbuhan bakteri) dan bakterisidal (pembunuh bakteri (Sine, 2016).

Penambahan zat dapat berasal dari zat yang alami ataupun buatan pada proses pengawetan, pengawet alami salah satunya dengan menggunakan ekstrak bawang putih. Di seluruh Indonesia bawang putih sangat mudah diperoleh, selain itu bawang putih merupakan salah satu bumbu dapur yang sangat lazim digunakan di dalam masakan dan tidak menimbulkan perubahan cita rasa ikan bandeng (Syifa, 2013).

Bawang putih (*Allium sativum*) telah dikenal oleh masyarakat sebagai obat tradisional. Bawang putih merupakan agen antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif (Lekshmi, 2015). Bawang putih merupakan salah satu tanaman obat yang mengandung zat aktif *allicin* dan minyak atsiri. Diduga kedua bahan tersebut sebagai antibakteri untuk menekan pertumbuhan bakteri yang merugikan. *Allicin* mampu berikatan dengan protein sehingga mendukung daya antimikrobanya, karena *allicin* menyerang protein mikroba dan akhirnya membunuh mikroba tersebut (Wahjuningrum, 2010).

Senyawa yang berperan sebagai antibiotik alami pada bawang putih adalah *allicin* (Lingga, 2012). *Allicin* terbentuk dari senyawa organosulfur utama dalam bawang putih yaitu *gamma-glutamyl-s-allyl-cysteine* dan *S-allyl-L-cysteins sulfoxides (alliin)* melalui reaksi enzimatis dengan bantuan enzim allinase (Santhosa, 2013). *Allicin* sebagai antibakteri bekerja dengan mengubah fitur dari protein, lipid dan polysakarida pada selaput sel bakteri (Xiaonan, 2011).

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan berapa konsentrasi yang paling efektif dalam penghambatan sel *A. hydrophila* dengan ekstrak bawang putih.

MATERI DAN METODE

Pembuatan Ekstrak Etanol Bawang Putih (*Allium sativum*)

Metode yang digunakan pada penelitian ini untuk mengekstrak bawang putih (*Allium sativum*) adalah metode maserasi. Pada metode maserasi ini digunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 500 Gram bawang putih terlebih dahulu dikupas kulitnya dan dicuci bersih, dikeringanginkan, kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk kering. Serbuk kering direndam dalam 2 liter pelarut etanol 96% selama 3x24 jam. Pengadukan pada metode maserasi dilakukan sebanyak 12 kali selama 15 menit. Kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dari ampas. Hasil saringan kemudian diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* sampai kental. Ekstrak bawang putih tersebut disimpan dalam lemari es pada suhu 4°C dan tidak terkena cahaya matahari langsung (Karina, 2013).

Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Isolat bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari koleksi Laboratorium Stasiun Karantina Ikan Kelas I Aceh. Bakteri dikultur pada media TSA, setelah $\pm$ 36 jam kultur bakteri diidentifikasi menggunakan pengujian biokimia sederhana. Pengujian fisiologis bakteri meliputi pewarnaan Gram, uji katalase, uji gelatin, uji MIO dan uji TSIA (Kismiyati, 2009).

Pembuatan Stok Bakteri

Pembuatan stok bakteri dilakukan untuk memperbanyak bakteri dengan cara menginokulasi 1 ose biakan murni bakteri *Aeromonas hydrophila* ke dalam media MHA yang diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam di dalam inkubator.

Pertumbuhan Suspensi Isolat *A. Hydrophila*

Isolat *A. hydrophila* ditumbuhkan di media MHA. Isolat uji disuspensi dalam larutan NaCl 0,9 %. Suspensi setara dengan standar MacFarland 0.5 (10^8 cfu/ml) diusapkan pada media padat dengan menggunakan kapas lidi steril secara merata pada permukaan media dalam cawan petri, lalu dibiarkan selama 15 menit (Jayanth, 2015).

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak.

Sebanyak 10 µl ekstrak ditetaskan pada kertas cakram steril (diameter 6 mm). Cakram diletakkan pada permukaan media dalam cawan petri dengan konsentrasi 45%, 50%, 55% dan 60%. Kemudian diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 18-24 jam. Zona hambat dari masing-masing konsentrasi sampel diukur dengan menggunakan jangka sorong. Diameter zona hambat yang diukur yaitu daerah jernih disekitar kertas cakram (tidak ada pertumbuhan bakteri), diukur dari ujung yang satu ke ujung yang lain melalui tengah-

tengah kertas cakram dan dihitung rata-rata zona hambatnya.

Analisis Data

Pengolahan dan analisis data untuk menghitung pengaruh perbedaan konsentrasi menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA). Untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang bermakna dari masing-masing cakram uji yang berisi ekstrak bawang putih dengan konsentrasi berbeda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil reidentifikasi isolat bakteri *A. hydrophila* pada berbagai uji biokimia disajikan pada Tabel. 1. TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) menunjukkan bagian tegak kuning dan bagian miring merah. Hasil uji biokimia yang diperoleh cocok dengan karakteristik awal. Uji MIO (*Motility Indole Ornitin*) dilakukan untuk mengetahui motilitas bakteri, dari hasil dapat dilihat media menjadi keruh diartikan bakteri *A. hydrophila* bersifat motil. Indol bertujuan untuk mengetahui produksi indol dari asam amino *tryptophane* melalui enzim *tryptophanase*. Hasil uji positif (+) dapat dilihat dari adanya warna merah pada permukaan media setelah ditambahkan *reagent kovac*. Uji gelatin yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim *gelatinase* dalam menghidrolisis gelatin menjadi asam amino. Hasil penelitian ini menunjukkan, media membeku sehingga dapat disimpulkan bahwa uji gelatin bersifat negatif (-). Isolat *A. hydrophila* bersifat Gram negatif (-), berbentuk batang, koloni bulat, berwarna merah dan kuning. Katalase diuji dengan larutan H₂O₂ 3% pada koloni terpisah. Uji katalase menunjukkan hasil positif (+) dan terlihat dari adanya pembentukan gelembung udara.

Tabel 1. Hasil Reidentifikasi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

No	Uji Biokimia	Keterangan	Hasil
1.	TSIA (<i>Triple Sugar Iron Agar</i>)	Media berubah menjadi kuning pada bagian tegak dan merah pada bagian miring	+
2.	MIO (<i>Motility Indole Ornitin</i>)	Media menjadi merah pada permukaan setelah ditambahkan <i>reagent kovac</i>	+
3.	Gelatin	Tidak terbentuk cairan pada media	-
4.	Uji Gram	Terbentuk lender saat dicampur dengan KOH 3%	-
5.	Uji oksidase	Kertas oksidase berubah menjadi warna biru	+
6.	Uji katalase	Terdapat buih ketika dicampur dengan H ₂ O ₂ 3%	+

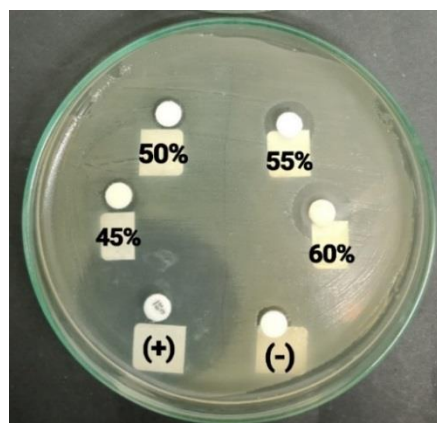
Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Sebelumnya telah dilakukan uji pendahuluan terhadap konsentrasi ekstrak etanol bawang putih dengan konsentrasi $\leq 40\%$, dan diperoleh hasil dengan daya hambat yang lemah. Berdasarkan uji pendahuluan tersebut, peneliti meningkatkan konsentrasi ekstrak yang akan digunakan. Zona hambat yang terbentuk berbeda untuk masing-masing dosis (Gambar 1).

Kategori penghambatan didasarkan atas ukuran diameter zona bening (Lingga, 2012). Pengukuran zona hambat dilakukan

terhadap masing-masing konsentrasi ekstrak. Berdasarkan Tabel 2 terlihat katagori penghambatan bervariasi dari lemah hingga kuat. Konsentrasi 60% berada dalam katagori penghambatan kuat, setara dengan kloramfenikol sebagai kontrol, namun rerata ukuran zona hambat masih lebih kecil dibanding kontrol tersebut.

Konsentrasi ekstrak bawang putih 60% lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dibandingkan konsentrasi lainnya. Pada penelitian ini terbukti bahwa ekstrak bawang putih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* (Gambar 1).



Gambar 1. Zona hambat Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *A. hydrophila* pada media MHA

Tabel 2. Pengukuran Zona Hambat Antibakteri Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Konsentrasi (%)	Ulangan I (mm)	Ulangan II (mm)	Ulangan III (mm)	Rata-rata (mm)	Diameter Zona Hambat	Kategori Penghambatan
45	1	1	5	2,3	0-3 mm	Lemah
50	1	1	8	3,3	3-6 mm	Sedang
55	6	4	9	6,3	3-6 mm	Sedang
60	7	7	11	8,3	> 6 mm	Kuat
(+)		33		33	> 6 mm	Kuat
Kloramfenikol						
(-) Etanol 96%		2		2	0-3 mm	Lemah

Pada Tabel 2, rata-rata diameter zona hambat bakteri dengan ekstrak bawang putih berkisar antara 2,3 mm – 8,3 mm. Diameter zona hambat terkecil diperoleh pada konsentrasi ekstrak bawang putih 45% dan zona hambat terbesar pada konsentrasi ekstrak bawang putih 60%. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi bawang putih yang digunakan, maka semakin besar diameter zona hambat yang diperoleh, artinya dengan meningkatnya konsentrasi maka semakin meningkat aktivitas antibakteri ekstrak bawang putih.

Kertas cakram yang mengandung antibiotik kloramfenikol merupakan kontrol positif untuk menguji bakteri Gram negatif dan didapatkan hasil diameter zona hambat 33 mm. Sedangkan kontrol negatif menggunakan etanol 96% dengan hasil diameter zona hambat 2 mm, etanol 96% yang digunakan untuk maserasi simplisia bawang putih masih terkandung di dalam etanol sehingga menimbulkan zona hambat pada bakteri *A. hydrophila*.

Pelarut etanol lazim dipakai pada prosedur pelarutan senyawa polar seperti flavonoid dan saponin. Kedua senyawa ini digunakan sebagai bahan antibakteri. Penggunaan etanol dengan pertimbangan pelarut ini cukup ekonomis dan mudah didapat (Gholib, 2007). Sedangkan tannin

merupakan senyawa yang sedikit larut dalam pelarut organik. Saravana *et al.* (2010) menyebutkan bahwa senyawa *allicin* dalam bawang putih larut dengan pelarut polar dan dapat menghambat bakteri Gram negatif dan Gram positif.

Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* diketahui bahwa ekstrak 45% memiliki aktivitas antibakteri dengan kategori lemah, karena bakteri Gram negatif memiliki kandungan lipid yang tinggi dan dinding sel yang struktur berlapis tiga (*multilayer*) yang terdiri atas lipoprotein, membran luar fosfolipid dan lipopolisakarida, sehingga menyebabkan dinding sel bakteri Gram negatif sulit dipenetrasi oleh zat antibakteri (Silhavy, 2010).

Aktivitas ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 50% dan 55% dikategorikan sedang, karena ekstrak yang digunakan lebih meningkat, berdasarkan penelitian Desvita (2011), semakin besar konsentrasi ekstrak, semakin besar pula aktivitas antimikroba yang dimiliki ekstrak tersebut.

Aktivitas ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 60% dikategorikan kuat karena jumlah ekstrak yang terlarut lebih besar dengan kandungan zat anti bakteri yang lebih banyak juga seperti flavonoid, tannin, saponin, alkaloid dan allisin. Tannin bekerja dengan cara mengerutkan membran sel atau

dinding sel yang dapat mengganggu permeabilitas sel bakteri. Zat aktif alkaloid bekerja mengganggu komponen peptidoglikan pada sel bakteri sehingga dinding sel tidak terbentuk sempurna. Sedangkan senyawa saponin dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya membran sel (Lingga, 2005). Zat aktif *allicin* bekerja dengan mengubah fitur dari protein, lipid dan polysakarida pada membran sel bakteri (Xiaonan, 2011).

Konsentrasi ekstrak bawang putih 60% lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dibandingkan dengan konsentrasi yang lain. Berdasarkan pernyataan tersebut, ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum*) memang memiliki aktifitas antibakteri,

namun ekstrak tersebut tidak berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antibakteri baru.

Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan uji ANOVA

Dilakukan uji statistik pengaruh ekstrak bawang putih terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dengan konsentrasi 45%, 50%, 55% dan 60%. Data yang didapatkan tidak ada pengaruh yang nyata yang terdapat pada pengujian ekstrak bawang putih terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*.

Tabel 3. Hasil Analisis Data dengan ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	68.250	3	22.750	2.730	.114
Within Groups	66.667	8	8.333		
Total	134.917	11			

Perbedaan hasil uji dari keempat kelompok konsentrasi tersebut dilihat dari hasil tabel Anova (Tabel 3) pada kolom Sig diperoleh nilai P (P-Value = 0.114), dengan demikian pada taraf nyata = 0,05 H_0 ditolak, sehingga kesimpulan yang diterima adalah tidak ada pengaruh yang bermakna rata-rata yang terdapat pada pengujian ekstrak bawang putih terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dapat diambil kesimpulan bahwa nilai P yang diperoleh (P-Value = 0.114), dengan demikian pada taraf nyata =

0,05 H_0 gagal ditolak, sehingga kesimpulan yang diterima adalah tidak ada pengaruh yang bermakna rata-rata yang terdapat pada pengujian ekstrak bawang putih terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dan konsentrasi ekstrak bawang putih 60% lebih efektif dengan katagori kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dibandingkan dengan konsentrasi yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Budi, W. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii* dan *Euchenema denticullatum*) terhadap Pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyi*. **Jurnal Kelautan**. Volume 3, No. 1

- Iesje Lukistyowati dan Kurniasih. 2011. Kelangsungan Hidup Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) dan Di Infeksi *Aeromonas hydrophila*. **Jurnal Perikanan dan Kelautan**. Hal. 144-160.
- Jayanth K, Jayasekaran G, & Shakila RJ. 2015. *Isolation of Marine Bacteria, Antagonistic to Human Pathogens*, **Indian Journal of Marine Science** 31: 39-44.
- Karina, R. Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* secara in vitro. **Skripsi**. 2013.
- Kismiyyati, Sri Subekti, R. Wahid Nur Yusuf, Rahayu Kusdarwati. 2009. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif Pada Luka Ikan Maskoki (*Carassius auratus*) Akibat Infeksi Ektoparasit Argulus sp. **Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan** Vol. 1, No. 2, November. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Lingga, L. 2012. *Terapi Bawang Putih untuk Kesehatan*. **PT Elex Media Komputindo**, Jakarta.
- Lekshmi P., NCJ, Viveka S., et al., 2015. Antimikrobial Spektrum of allium Species- A review. **Indian Journal of Science**. India.
- Natalia Puspasari. 2010. Efektivitas Ekstrak Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* Sebagai Imunostimulan Untuk Pencegahan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. **Skripsi Bogor**.
- Sine, Y. Fallo G. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catapa* L.) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*. **Jurnal Pendidikan Biologi**. Vol. 1, No. 1 (9-11).
- Silhavy, T. J., D. Kahne and S. Walker. 2010. **The Bacterial Cell Envelope**. **Cold Spring Harbour Perspectives in Biology** 2(5).
- Syifa, N., Harnita, S., Mustikaningtyas, D. 2013. Uji Efektivitas Ekstrak Bawang Putih (*Allium Sativum* Linn.) Sebagai Antibakteri Pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos* Forsk) Segar. **Unnes Journal Of Life Science**.
- Xiaonan Lu, Barbara A. Rasco, Jabal J.M.F., Aston D., 2011. Investigating antibacterial Effect of garlic (*Allium sativum*) Concentrate and Garlic-Derived organosulfur Compounds on *Campylobacter jejuni* by using Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Raman Spectroscopy, and Elektro mikroskopy. **American society for Mikrobiolog**