

Pemanfaatan ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.) sebagai bakterisida terhadap *Aeromonas hydrophila* yang menginfeksi ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*)

Utilization of henna leaf extract (Lawsonia inermis L.) as anti microbial agent on Aeromonas hydrophila that infect catfish (Clarias gariepinus)

Sofyatuddin Karina^{1*}, Mimie Saputri², Muhammad Naufal³

¹Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Kelautan dan Perikanan, Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh, kodepos 23111. *Email Korespondensi : sofyaKarina@gmail.com.

²Program Studi Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh, kode pos 23111.

³Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Kelautan dan Perikanan, Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh, kodepos 23111.

Abstract. The objective of this research was to find out the effectiveness of henna leaf extract (*Lawsonia inermis* L.) on *A. hydrophila* in vitro and its effect on the survival rate of *Clarias gariepinus* that infected by those bacterias in vivo. The research was conducted at chemistry laboratory of Teacher Training and Education Faculty, Syiah Kuala University and at Microbiology laboratory, Brackishwater aquaculture Department Center, Ujong Batee on April to September, 2015. The research involved in vitro test with the inhibition zone as measured parameter and in vivo test with the survival rate value as measured parameter. The treated concentrations were 1, 2, 3, 4 and 5% of extract. The result of in vitro test showed that henna leaf extract was effective against *A. hydrophila* with the inhibition zone for 1, 2, 3, 4, and 5% extract were 5.45; 5.7; 6.5; 7.5; and 9.6 mm, respectively. The result of ANOVA test showed that henna leaf extract has a significant effect on the survival rate of catfish ($P < 0.05$). The best survival rate was obtained at 4% of extract concentration.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*; henna leaf extract; catfish

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.) terhadap *A. hydrophila* secara in vitro dan pengaruhnya secara in vivo terhadap kelangsungan hidup ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) yang terinfeksi bakteri ini dengan cara perendaman. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium kimia, FKIP Unsyiah dan Laboratorium Mikrobiologi Balai Budidaya Perikanan Air Payau (BBAP) Ujong Batee pada dari bulan April hingga bulan September 2015. Penelitian ini meliputi uji in vitro dengan parameter uji berupa zona hambat ekstrak terhadap bakteri dan uji in vivo dengan parameter uji berupa nilai kelangsungan hidup ikan lele sangkuriang pasca perlakuan dengan ekstrak. Konsentrasi perlakuan yang dilakukan adalah 1, 2, 3, 4, dan 5%. Hasil uji in vitro menunjukkan bahwa ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.) terbukti efektif terhadap *Aeromonas hydrophila* dengan nilai zona hambat secara berturut-turut terhadap konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5% adalah 5,45; 5,7; 6,5; 7,5; dan 9,6 mm. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa ekstrak daun inai berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kelangsungan hidup ikan lele sangkuriang. Tingkat kelangsungan hidup ikan terbaik diperoleh pada konsentrasi ekstrak 4%.

Kata kunci : *Aeromonas hydrophila*; ekstrak daun inai; ikan lele sangkuriang

Pendahuluan

Salah satu komoditi budidaya perikanan yang jumlah peminatnya cukup tinggi di Indonesia khususnya di Aceh adalah ikan lele, hal tersebut berdasarkan data dari KKP (2012) yang menyatakan bahwa produksi ikan lele di Aceh pada tahun 2003 sebanyak 550 ton menjadi 7.466 ton pada tahun 2010. Dari data tersebut dapat diketahui bahwa budidaya ikan lele terus mengalami peningkatan setiap tahun.

Peningkatan budidaya ikan lele dilakukan dengan penerapan budidaya secara intensif. Budidaya secara intensif umumnya dilakukan dengan memelihara ikan dengan padat tebar yang tinggi. Menurut Sukenda *et al.* (2008), padat tebar yang tinggi dapat meningkatkan resiko penyebaran penyakit, pengendalian terhadap penyebaran penyakit harus dilakukan secepat mungkin untuk mencegah wabah penyakit yang menyebabkan kerugian bagi pembudidaya. Salah satu penyakit yang menyebabkan kematian pada ikan lele adalah MAS (*Motile Aeromonas Septicaemia*) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Yogananth *et al.* (2009), menyatakan bahwa *Aeromonas hydrophila* merupakan mikroorganisme akuatik yang berada di perairan laut maupun perairan tawar, bakteri tersebut menjadi patogen dan bersifat patogen oportunistik pada penyakit *hemoragi septicemia* (penyakit bercak merah) pada ikan yang dalam kondisi stres. Berdasarkan penelitian Laith dan Najiah (2013), bahwa 73.3% dari strain bakteri yang diisolasi dari ikan lele yang sakit adalah *Aeromonas hydrophila*, sehingga dapat disimpulkan bahwa serangan bakteri ini yang paling umum menyebabkan penyakit dalam budidaya ikan lele.

Pengendalian terhadap serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dapat dilakukan dengan pemberian berbagai macam antibiotik seperti *ampicilin*, *chloramphenicol*, dan *tetracycline*. Berdasarkan Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan (2003), antibiotik *ampicilin*, *chloramphenicol*, dan *tetracycline* termasuk dalam kategori obat keras.

Penggunaan antibiotik secara luas berkaitan dengan meningkatnya resistensi antibiotik pada bakteri diperairan (Adanir dan Turutoglu, 2007), seperti *Aeromonas* sp. (Han *et al.*, 2007), dan juga dapat meninggalkan residu antibiotik di dalam tubuh ikan sehingga dapat membahayakan konsumen yang mengkonsumsinya (Yunikawati *et al.*, 2013). Laith dan Najiah (2013), juga mengungkapkan bahwa semua strain bakteri memiliki (100%) dari resistensi terhadap antibiotik *ampicillin*.

Untuk mengatasi permasalahan tersebut, perlu dicari alternatif lain sebagai pengganti antibiotik yang berasal dari tumbuhan alami yang memiliki kandungan antibakteri yang ramah lingkungan seperti penggunaan ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.). Menurut Alluri dan Majumdar (2014) dan Raja *et al.* (2013), berdasarkan hasil uji fitokimia terhadap ekstrak metanol daun inai terdapat berbagai senyawa metabolit antibakteri diantaranya, flavonoid, saponin, tanin, steroid, glikosida, terpenoid, fitosterol dan alkaloid. Secara *in vitro* ekstrak metanol daun inai memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* (Alluri dan Majumdar, 2014), *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes* (Raja *et al.*, 2013).

Hasil kajian pendahuluan secara *in vitro* pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun inai dengan konsentrasi uji 5% dapat menghambat *A. hydrophila* dengan zona hambat sebesar 9,6 mm. Hal ini membutuhkan kajian lanjutan baik secara *in vitro* maupun secara *in vivo* pada organisme uji seperti ikan lele sangkuriang yang sering terinfeksi jenis bakteri ini.

Bahan dan Metode

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan April hingga September 2015. Proses evaporasi ekstrak metanol daun inai (*Lawsonia inermis* L.) akan dilakukan di Laboratorium Kimia Jurusan Kimia FKIP, Unsyiah. Pengujian sensitivitas antibakteri akan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Ujung Batee, Kabupaten Aceh Besar, Provinsi Aceh. Uji *in vivo* terhadap ikan lele sangkuriang akan dilaksanakan di Laboratorium Kimia, FKIP Unsyiah dan Laboratorium mikrobiologi BBAP, Ujong Batee.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jarum ose, kaca preparat, erlenmeyer, jangka sorong digital, kertas Whatmann No. 42, bunsen, inkubator, aluminium foil, *autoclave*, vortex, mikroskop, cawan petri, sarung tangan, timbangan digital, gelas ukur, masker, *hot plates* dan *magnetic stirrer*, *falcon centrifuge tube 15 ml*, *laminar air flow*, mikropet, aerator, toples plastik volume 25 L, serok kain kasa, nampan, alat suntik ketelitian 0,1 mL, DO meter, pH meter, termometer, perlengkapan alat tulis, dan kamera. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ikan lele (*Clarias gariepinus*), daun inai (*Lawsonia inermis* L.), metanol 96%, isolat bakteri *Aeromonas hydrophila*, larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*), crystal violet, iodine, safranin, ethanol absolut, akuades, pelet Hi-Pro-Vit 781-2, natrium agar (NA) dan Mueller Hinton Agar (MHA), antibiotik disk (*Ampicilin*, *Novobiocin*, dan *Polymyxin B*).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 7 perlakuan dengan tiga kali pengulangan, dimana 5 perlakuan dengan konsentrasi rendaman ekstrak daun inai, sedangkan 2 perlakuan sebagai kontrol positif (ikan uji diinjeksi bakteri uji, tanpa diberi perlakuan rendaman ekstrak) dan kontrol negatif (ikan uji diinjeksi larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*), tanpa diberi perlakuan rendaman ekstrak).

Prosedur uji

a. Proses ekstraksi daun Inai (*Lawsonia inermis* L.)

Proses ekstraksi daun inai dilakukan dengan teknik maserasi dan evaporasi. Terlebih dahulu daun inai dicuci, ditiriskan, dikering anginkan pada suhu kamar selama ± 7 hari sampai daunnya benar-benar kering, dan selanjutnya diblender hingga berbentuk bubuk. Sebanyak 1 Kg bubuk daun inai yang telah diayak, direndam dengan methanol 96% hingga homogen selanjutnya didiamkan selama 48 jam. Maserasi bubuk daun inai

disaring menggunakan kertas whatman no.42. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan *Rotary Vacuum Evaporator* pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ dengan kecepatan 120 rpm. Ekstrak yang dihasilkan dalam bentuk larutan (cair) dengan nilai berat jenis sebesar 1,36 g/ml. Larutan yang diperoleh kemudian disimpan dalam botol steril pada suhu 5°C agar ekstrak tetap awet.

b. Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak murni yang dihasilkan dianggap sebagai konsentrasi awal 100% diencerkan sesuai dengan konsentrasi perlakuan. Ekstrak daun inai, diambil sebanyak 30, 60, 90, 120 dan 150 ml, kemudian masing-masing dilarutkan dengan aquades hingga volume 300 ml, sehingga didapatkan konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 % . Larutan yang diperoleh kemudian didistribusikan menjadi larutan stok yang bervolume 100 ml (untuk masing-masing perlakuan).

c. Persiapan bakteri uji

Bakteri *Aeromonas hydrophila* yang digunakan diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (SKIPM) kelas 1 Aceh. Sebelum digunakan bakteri *Aeromonas hydrophila* diremajakan kembali pada media *Nurient Agar* (NA), kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C . Setelah 24 jam inkubasi dibuat suspensi bakteri uji dengan larutan PBS sampai tingkat kekeruhan sesuai standar Mc farland 0,5 dengan kepadatan bakteri 10^8 CFU/ml.

d. Uji aktivitas antagonistik terhadap *A. hydrophila* secara *in vitro*

Uji aktivitas antagonistik ekstrak daun inai terhadap bakteri *A. hydrophila* dilakukan dengan teknik difusi agar menggunakan paper disk. *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah dicampur dengan bakteri patogen pada pengenceran 10^{-5} dituangkan ke dalam cawan petri steril, kemudian paper disk steril yang telah dicelupkan ke dalam ekstrak daun inai sesuai dengan perlakuan konsentrasi (1, 2, 3, 4, dan 5 %) diletakkan dengan cara ditekan ke atas media MHA. *A. hydrophila* diuji daya hambatnya menggunakan ekstrak daun inai tiga kali ulangan. Selanjutnya, bakteri diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Aktivitas antagonistik ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada media. aktivitas yang menghasilkan zona bening berarti menunjukkan kemampuan menghambat bakteri *A. hydrophila*.

e. Persiapan wadah uji

Penelitian ini menggunakan toples plastik bervolume 25 liter sebagai wadah pemeliharaan ikan uji, sedangkan untuk perendaman ikan dengan ekstrak menggunakan ember plastik bervolume 5 liter. Setiap wadah dan peralatan seperti selang aerasi, batu aerasi dan serok yang digunakan disterilisasi sebelum digunakan untuk mencegah kontaminasi. Air yang digunakan untuk pemeliharaan ikan uji adalah air yang telah diendapkan selama 24 jam.

f. Pengujian ekstrak terhadap ikan uji secara *in vivo*

Uji *in vivo* pada ikan lele yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dilakukan dengan cara injeksi atau penyuntikan. Ikan lele yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* diberi perlakuan dengan metode perendaman menggunakan ekstrak uji daun inai (*Lawsonia inermis* L.) dengan konsentrasi yang berbeda sesuai dengan perlakuan. Hal ini dilakukan berdasarkan hasil uji pendahuluan secara *in vitro* yang menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 5% memiliki zona hambat 9,6 mm terhadap *Aeromonas hydrophila* dengan kemampuan benih ikan lele yang tahan direndam selama 8 menit dengan konsentrasi tersebut.

Sebelum dimulai perlakuan penelitian ikan lele diadaptasikan dengan media pemeliharaan berupa wadah toples 25 liter dengan volume air sebanyak 10 liter selama 7 hari. Setiap hari diberi pakan ikan komersil dengan frekuensi pemberian pakan sebanyak 2 kali setiap hari pada pagi dan sore hari secara *ad libitum*. Selama masa adaptasi, penyiponan dan pergantian air dilakukan setiap 3 hari sekali sampai masa adaptasi selesai.

Sebelum dilakukan penyuntikan bakteri *Aeromonas hydrophila*, ikan uji dipingsankan terlebih dahulu dengan menggunakan minyak cengkeh dengan dosis 1 mL/ 20 L (Wulandari *et al* 2014). Penyuntikan bakteri *Aeromonas hydrophila* dilakukan pada bagian intramuskular sebanyak 0,1 mL dengan dosis 10^8 CFU/ml. Beberapa jam setelah diinfeksi, ikan uji menunjukkan adanya gejala klinis, kemudian dilakukan perendaman dengan ekstrak pada konsentrasi yang berbeda.

Setiap wadah perendaman diisi dengan air bervolume 900 ml yang diambil dari tempat hidup ikan uji, kemudian diisi ikan uji sebanyak 10 ekor. Hewan uji terlebih dahulu diaklimatisasi selama 30 menit dalam wadah perendaman sebelum pemajanan. Pemajanan larutan uji dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 % berturut-turut dipajankan ke wadah perendaman melalui dinding wadah sebanyak 100 ml sehingga diperoleh konsentrasi perlakuan 1, 2, 3, 4 dan 5 %. Perendaman ini dilakukan sebanyak 2 kali selama penelitian 14 hari, yaitu hari pertama dan hari ke- 8 pasca infeksi serta perendaman ini dilakukan selama 8 menit pada tiap-tiap perlakuan (Indriani *et al.*, 2014).

Pemeliharaan dilakukan dalam wadah pemeliharaan yang diberikan aerasi. Selama masa pemeliharaan ikan diberi makan berupa pakan ikan komersial secara ad libitum sebanyak 2 kali dalam 1 hari pada pagi dan sore hari.

Parameter pengamatan

1. Zona hambat

Zona hambat bakteri terhadap pertumbuhan *A. hydrophila* pada media MHA diukur berdasarkan diameter zona bening yang dihasilkan pada saat uji aktivitas antagonistik ekstrak daun inai terhadap *A. hydrophila*.

2. Kelangsungan hidup

Penghitungan tingkat kelangsungan hidup ikan lele yang telah diinfeksi *Aeromonas hydrophila* dan telah diberi perlakuan dengan ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.). Adapun rumus perhitungan kelangsungan hidup (% SR) ikan lele dilakukan menurut De Silva dan Anderson (1995) :

$$SR = \frac{\sum \text{individu pada akhir penelitian}}{\sum \text{individu pada awal penelitian}} \times 100$$

Parameter pendukung yang diamati adalah parameter kualitas air yang meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut. Parameter tersebut diukur sebanyak 3 kali selama masa penelitian 14 hari.

Analisis data

Untuk menguji hipotesis mengenai pengaruh ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap kelangsungan hidup ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) maka data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA menggunakan program software SPSS, serta uji lanjut Duncan.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengujian *in vitro* menggunakan metode Kirby-Bauer menunjukkan bahwa ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.) terbukti dapat menghambat bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan nilai zona hambat secara berturut-turut terhadap konsentrasi uji 1, 2, 3, 4 dan 5% adalah 5,45; 5,7; 6,5; 7,5; dan 9,6 mm (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil uji *in vitro* ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.) terhadap bakteri *A. hydrophila*.

Konsentrasi ekstrak daun inai (%)	Diameter Zona Hambat (mm)
1%	5,45
2%	5,7
3%	6,5
4%	7,5
5%	9,6
<i>Polymyxyn B</i>	8,7
<i>Novobiocin</i>	8
<i>Ampicilin</i>	-

Hasil pengamatan nilai tingkat kelangsungan hidup selama pengujian *in vivo* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Tingkat kelangsungan hidup ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) setelah perendaman ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.)

Perlakuan	Konsentrasi ekstrak daun inai (<i>Lawsonia inermis</i> L.)	Tingkat Kelangsungan Hidup (%)			Rerata (%)
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
A	Kontrol (+)	0	0	0	00,0±00,0 ^a
C	1%	40	50	40	43,33±5,77 ^b
D	2%	50	50	60	53,33±5,77 ^{bc}
E	3%	70	50	60	60,0±10,0 ^{cd}
F	4%	70	70	60	66,66±5,77 ^d
G	5%	60	40	50	50,0±10,0 ^{bc}

Pengamatan parameter kualitas air selama penelitian menunjukkan kualitas air yang layak dan memenuhi syarat untuk kehidupan ikan lele sangkuriang (Tabel 3).

Tabel 3. Nilai parameter kualitas air pada wadah pemeliharaan ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) selama penelitian

Perlakuan	Parameter Kualitas Air								
	DO (mg/l)			Suhu (°C)			pH		
	H 1	H 8	H 15	H 1	H 8	H 15	H 1	H 8	H 15
Kontrol + (A)	4,2	-	-	29	28	28	7	7	7
Kontrol – (B)	4,7	5,4	4,8	29	28	28	7	7	7
1% (C)	4,1	5,3	6	29	28	28	7	7	7
2% (D)	3,9	4,6	5,2	29	28	28	7	7	7
3% (E)	4,7	4,5	5,2	29	28	28	7	7	7
4% (F)	4,3	4	5,3	29	28	28	7	7	7
5% (G)	4,8	4,7	5,4	29	28	28	7	7	7
Sumber Referensi	> 3 ^{a)}			25 - 30 ^{b)}			6,5 - 8 ^{a)}		

Keterangan: ^{a)} Khairuman dan Amri (2002)

^{b)} Mahyuddin (2008)

H = Hari

Kondisi ikan lele sangkuriang yang terinfeksi *A. hydrophila* mengalami perubahan setelah direndam dengan ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.). Hasil pengamatan gejala klinis penyembuhan menunjukkan bahwa kondisi ikan lele sangkuriang yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila* semakin membaik setelah dilakukan perendaman dengan ekstrak daun inai. Hal tersebut terbukti dengan adanya proses penyembuhan pada ikan lele uji yaitu luka terlihat mulai mengecil di hari ke 6 pada perlakuan 3% (perlakuan E) dan perlakuan 4% (perlakuan F), dilanjutkan proses penutupan luka yang mulai terjadi di hari ke 10 pada perlakuan 4% (perlakuan F). Kondisi ikan lele uji yang memperlihatkan proses penyembuhan terdapat pada seluruh perlakuan rendaman diantaranya perlakuan C, D, E, F, dan G dengan masing-masing konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5%.

Pada perlakuan kontrol negatif (perlakuan B) seluruh ikan lele uji hidup (100%) dan perlakuan kontrol positif (perlakuan A) ikan uji mengalami kematian total (0%), hal ini menunjukkan bahwa ikan uji yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan kematian dan menurunkan nilai kelangsungan hidup. Berdasarkan penelitian Putra (2015) terlihat bahwa perlakuan kontrol positif pada ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan yang sama 10⁸ CFU/ml didapatkan nilai kelangsungan hidup sebesar 13,33 %, sedangkan nilai tingkat kelangsungan hidup perlakuan kontrol positif pada ikan lele sangkuriang adalah 0%, maka dapat diketahui bahwa bakteri *A. hydrophila* lebih virulen terhadap ikan lele sangkuriang daripada ikan nila.

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.) berpengaruh sangat nyata pada taraf uji 5% terhadap tingkat kelangsungan hidup ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* (Tabel 4.3). Persentase tingkat kelangsungan hidup tertinggi terdapat pada perlakuan F dengan konsentrasi 4% (66,66%). Selain itu berdasarkan gejala klinis penyembuhan dan respon pakan ikan lele sangkuriang uji juga memperlihatkan bahwa perendaman dengan konsentrasi 4% (perlakuan F) merupakan perlakuan yang paling efektif dalam penelitian ini.

Dari hasil uji *in vitro* yang telah dilakukan, ekstrak daun inai terbukti dapat menghambat bakteri *A. hydrophila* dengan konsentrasi yang diujikan 1, 2, 3, 4, dan 5%, diperoleh zona hambat secara berturut-turut adalah 5,45; 5,7; 6,5; 7,5; dan 9,6 mm, sehingga ekstrak daun inai terbukti berpotensi sebagai antibakteri. Sementara itu, Putra (2015) mengkaji efektivitas ekstrak daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) terhadap bakteri *A. hydrophila* dengan konsentrasi yang diujikan 10, 25, 50, 75, dan 100%, diperoleh zona hambat secara *in vitro* terhadap *A. hydrophila* secara berturut-turut adalah 6,53; 7,02; 8,67; 10,17; dan 11,21 mm. Hal ini menunjukkan

bahwa ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.) pada penelitian ini lebih efektif dalam menghambat *A. hydrophila* dibandingkan ekstrak ketepeng cina (*Cassia alata* L.).

Berdasarkan hasil uji fitokimia Arun *et al.*, (2010), Raja *et al.*, (2013), dan Alluri dan Majumdar (2014), pada daun inai terdapat berbagai senyawa metabolit diantaranya, flavonoid, tanin, terpenoid, saponin, steroid, glikosida, fitosterol, alkaloid dan kuinon. Senyawa metabolit flavonoid (Manoi, 2009), tanin (Ajizah, 2004), terpenoid (Gunawan *et al.*, 2008), saponin (Rosyidah *et al.*, 2010) dan alkaloid (Murphy, 1999) dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Senyawa - senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.) juga dapat menjadi racun dan dapat menyebabkan kematian bagi ikan lele uji. Pada perlakuan konsentrasi 5% (perlakuan G) terjadi penurunan tingkat kelangsungan hidup ikan lele uji, hal ini di duga akibat senyawa yang terkandung dalam ekstrak melebihi batas toleransi tubuh ikan lele uji yang terinfeksi *A. hydrophila*. Fathonah (2008) menjelaskan bahwa penggunaan saponin dalam jumlah yang banyak akan bersifat racun bagi ikan, karena senyawa saponin dapat menghemolisis darah.

Kualitas air selama pemeliharaan yang diukur meliputi parameter keasaman (pH), kelarutan oksigen (DO), dan suhu. Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air selama penelitian (Tabel 4.3), parameter DO berkisar antara 3,9 – 6,0 mg/L, suhu antara 28 – 29 °C, dan pH 7. Mahyuddin (2008) menjelaskan secara umum parameter kualitas air yang baik dalam pemeliharaan ikan lele adalah air dengan suhu 25°C - 30°C, pH 6,5 - 8,5 dan kandungan oksigen terlarut minimal 3 ppm. Khairuman dan Amri (2002) juga menjelaskan bahwa syarat kualitas air yang dianggap baik untuk kehidupan lele yaitu suhu diantara 20 - 30°C, oksigen terlarut (DO) minimum 3 mg/L, pH atau derajat keasaman 6,5 - 8. Kualitas air selama penelitian menunjukkan kualitas air yang layak dan memenuhi syarat untuk kehidupan ikan lele sangkuriang, sehingga kematian ikan lele sangkuriang selama penelitian hanya disebabkan oleh faktor infeksi bakteri *A. hydrophila*.

Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa secara *in vitro* ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.) terbukti efektif menghambat bakteri *A. hydrophila* pada konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5% dengan masing zona hambat secara berturut-turut adalah 5,45; 5,7; 6,5; 7,5; dan 9,6 mm. Ekstrak daun inai (*Lawsonia inermis* L.) berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap tingkat kelangsungan hidup ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan konsentrasi terbaik diperoleh pada perlakuan 4%.

Ucapan Terimakasih

Kami mengucapkan terima kasih banyak kepada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan serta Lembaga Penelitian Unsyiah atas terlaksananya penelitian ini. Terima kasih juga kami sampaikan kepada Laboratorium Kimia FKIP Unsyiah dan Laboratorium Mikrobiologi BBAP yang telah membantu kami dalam penelitian ini, serta semua pihak yang telah memberikan kontribusinya.

Daftar Pustaka

- Adanir, D.O.R., A. Turutoglu. 2007. Isolation and antibiotic susceptibility of *Aeromonas hydrophila* in a carp (*Cyprinus carpio*) hatchery farm. Bull Veterinary Institute Pulawy, 51:361-364.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap ekstrak daun jambu biji *Psidium Guajava* L. Bioscientiae, 1(1):31-38.
- Alluri, N., M. Majumdar. 2014. Phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activity of *Calotropis gigantea*, *Lawsonia inermis* and *Trigonella foecum-graecum*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 6(4):524-527.
- Arun, P., K.G. Purushotham, J. Jayarani J., V. Kumari. 2010. In vitro antibacterial activity and flavonoid contents of *Lawsonia inermis* (Henna). International Journal of PharmTech Research, 2(2):1178-1181.
- De Silva, T.A., J. Anderson. 1995. Fish nutrition in aquaculture. Chapman and Hall, London.
- Fathonah, D. 2008. Pengaruh IAA dan GA3 terhadap pertumbuhan dan kandungan saponin tanaman purwaceng (*Pimpinella alpina*, Molk.). Tesis, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Gunawan, I.W.G., I.G.A. Gede Bawa, N. L. Sutrisnayanti. 2008. Isolasi dan identifikasi senyawa terpenoid yang aktif antibakteri pada herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn). Jurnal Kimia, 2(1):31-39.

- Han, H.J., V. Govindasami, I. Hirono, T. Aoki. 2007. Phenotypic characteristics and antimicrobial susceptibilities of motile aeromonads isolated from freshwater fish in Korea and Japan. *Journal of Fish Pathology*, 20(3):249-255.
- Indriani, A.D., S.B. Prayitno, Sarjito. 2014. Penggunaan ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) sebagai alternatif pengobatan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 3(3):58-65.
- Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan. 2003. Tentang klasifikasi obat ikan. Nomor: KEP.20/MEN/2003.
- Khairuman, K. Amri. 2002. Budidaya lele dumbo secara intensif. PT. AgroMedia Pustaka, Jakarta.
- KKP, 2012. Statistik perikanan tangkap, perikanan budidaya dan ekspor impor setiap provinsi seluruh Indonesia 2003-2010.
- Laith, A.R., M. Najiah. 2013. *Aeromonas hydrophila*: antimicrobial susceptibility and histopathology of isolates from diseased catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). *Journal of Aquaculture Research & Development*, 5:215.
- Mahyuddin, K. 2008. Panduan lengkap agribisnis lele. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Manoi, F. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) sebagai obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, 15(1):3-4.
- Murphy, M.C. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12:564–582.
- Putra, D. 2015. Efektivitas antibakteri ekstrak daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) sebagai alternatif pengobatan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Skripsi. Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Kelautan dan Perikanan, Universitas Syiah Kuala.
- Raja, W., M. Ovais, A. Dubey. 2013. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Lawsonia inermis* Leaf Extract. *International Journal of Microbiological Research*, 4(1):33-36.
- Rosyidah, K., S.A. Nurmuhaimina, N. Komari, M.D Astuti. 2010. Aktivitas antibakteri fraksi saponin dari kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*). *Alchemy*, 1(2):53-103.
- Sukenda, L. Jamal, D. Wahjuningrum, A. Hasan. 2008. Penggunaan kitosan untuk pencegahan infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo *Clarias* sp. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 7(2):159–169.
- Yogananth, N., R. Bhagyaraj, A. Chanthuru, T. Anbalagan, M. Nila. 2009. Detection of virulence gene in *Aeromonas hydrophila* isolates from fish samples using PCR technique. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 4(1):51-53.
- Yunikawati, M.P.A., I.N.K. Besung, H. Mahatmi. 2013. Efektifitas perasan daun srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap daya hambat pertumbuhan *Escherichia coli*. *Indonesia Medicus Veterinus*, 2(2):170-179.