

## EFEKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK BAHAN HERBAL (Mengkudu, Pepaya, Kunyit) TERHADAP DAYA HAMBAT PERTUMBUHAN *Aeromonas hydrophila* SECARA IN VITRO

**Dadi Pratama S<sup>1</sup>, Agung Suprihadi<sup>2</sup>, Budi Raharjo<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Biologi Departemen Biologi FSM Undip

<sup>2</sup>Laboratorium Bioteknologi Departemen Biologi FSM Undip Departemen Biologi Fakultas Sains dan  
Matematika Universitas Diponegoro  
Semarang 50275 Tlp. (024) 7474754; Fax. (024) 76480690. Email: dadip90@gmail.com<sup>1</sup>  
HP : 087832153046

### ABSTRACT

. One of the alternative to overcome bacterial diseases of fish is by using herbal material that contain antibacterial. This study aimed to test the effectiveness of a combination of herbal material extract (noni, papaya and turmeric) in controlling the growth of bacteria *Aeromonas hydrophila in-vitro*. The research design used was Completely Randomized Design (CRD), which consists of 33 treatments and 3 replications. The parameters measured were the absorbance value ( $\lambda = 600$  nm) of *A. hydrophila* growth after 18 hours of incubation and was measured by multiskan GO *microplate spectrophotometer*. This research was conducted through a two-stage test, the test MIC and FIC using microdilution method. MIC test result showed the minimum dosage of each herbal extract that is 1  $\mu$ l/ml for noni extract, 2  $\mu$ l/ml for papaya extract, and 1  $\mu$ l/ml for turmeric extract. Values obtained FIC index is 0.250 (combination MP), and 0.375 (a combination of MK and PK). The combination of herbal material each extract showed synergistic interaction with FIC index values  $\leq 0.5$ . Formula of the most effective and efficient than any combination is 1/8x noni and 1/4x papaya, 1/4x noni and 1/8x turmeric, 1/4x papaya and 1/8x turmeric.

*Keywords: Antibacterial, A.hydrophila, FIC Indeks*

## ABSTRAK

Salah satu alternatif dalam mengatasi penyakit bakterial ikan yaitu dengan menggunakan bahan herbal yang mengandung antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas kombinasi ekstrak bahan herbal (mengkudu, pepaya dan kunyit) dalam mengendalikan pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* secara *in-vitro*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 33 perlakuan dan 3 ulangan. Parameter yang diamati adalah nilai absorbansi ( $\lambda = 600$  nm) pertumbuhan *A. hydrophila* setelah inkubasi 18 jam dan diukur dengan alat multiskan GO *microplate spectrophotometer*. Penelitian ini dilakukan melalui dua tahap uji, yaitu uji MIC dan FIC dengan menggunakan metode mikrodilusi. Hasil uji MIC menunjukkan dosis minimum dari ekstrak masing-masing herbal yaitu 1  $\mu$ l/ml untuk ekstrak mengkudu, 2  $\mu$ l/ml untuk ekstrak pepaya, dan 1  $\mu$ l/ml untuk ekstrak kunyit. Nilai FIC Indeks yang didapatkan yaitu 0,250 (kombinasi MP), dan 0,375 (kombinasi MK dan PK). Kombinasi setiap ekstrak bahan herbal menunjukkan interaksi yang sinergis dengan nilai FIC Indeks  $\leq 0,5$ . Formula yang paling efektif dan efisien dari setiap kombinasi yaitu 1/8x mengkudu dan 1/4x pepaya, 1/4x mengkudu dan 1/8x kunyit, dan 1/4x pepaya dan 1/8x kunyit .

*Kata kunci: Antibakteri, A.hydrophila, FIC Indeks*

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang terkenal dengan hasil pertanian dan tanaman herbal. Sumber daya alam yang berupa tumbuh-tumbuhan telah memberikan manfaat dalam kehidupan sehari-hari di samping sebagai bahan makanan juga dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Penelitian mengenai tanaman herbal yang memiliki aktivitas antibakteri telah dilakukan untuk mengurangi efek samping penggunaan bahan kimia pada produk hasil budidaya perikanan. Tanaman herbal tersebut di antaranya yaitu pepaya, mengkudu, dan kunyit.

Jenis penyakit ikan yang sering dijumpai di budidaya ikan air tawar adalah penyakit bakterial yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila*. Bakteri patogen tersebut merupakan penyebab penyakit *Motil Aeromonas Septicemia* (MAS), terutama untuk spesies ikan air tawar di perairan tropis. Bakteri ini termasuk patogen oportunistik yang hampir selalu ada di air dan siap menimbulkan penyakit pada ikan. Penyakit yang disebabkan *A. hydrophila* berakibat bercak merah pada ikan dan menimbulkan kerusakan pada kulit, insang dan organ dalam.

Bakteri penyebab timbulnya infeksi dapat bersifat resisten terhadap antibiotik, sehingga perlu adanya kombinasi antibiotik yang diharapkan mampu menghambat atau membunuh bakteri dan efek sampingnya rendah. Penanggulangan serangan bakteri *A. hydrophila* dengan penggunaan obat-obatan dan antibiotik sudah banyak diterapkan tetapi hasilnya masih kurang memuaskan. Selain itu, menurut Wu *et al.*, (1981) dalam Nitimulyo (1996), penggunaan obat dan antibiotik untuk mengontrol penyakit bakteri dapat menimbulkan masalah yaitu

mempengaruhi maupun membunuh organisme bukan sasaran, timbulnya patogen resisten terhadap obat-obatan dan antibiotik, menimbulkan residu pada daging ikan, mempengaruhi pertumbuhan dan kemampuan berkembangbiak serta menimbulkan pencemaran lingkungan. Langkah yang tepat dalam menangani masalah penyakit adalah melalui pencegahan dan pengobatan dengan memperhatikan keamanan secara biologis.

Alternatif lain dalam mengobati penyakit bakterial pada ikan adalah menggunakan bahan-bahan alami yang mempunyai kemampuan anti bakteri antara lain ekstrak daun pepaya, daun mengkudu, dan rimpang kunyit. Berdasarkan latar belakang tersebut diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri dari tanaman herbal (daun pepaya, daun mengkudu, dan rimpang kunyit) terhadap bakteri *A. hydrophila*.

Daun mengkudu mengandung bahan aktif polifinol, alkaloid, flavonoid dan antrakuinon (Kardinan, 2004). Daun pepaya mengandung enzim papain, alkaloid karpaina, pseudo-karpaina, glikosid, karposid dan saponin, sakarosa, dekstrosa. Senyawa-senyawa metabolit sekunder tersebut berperan sebagai antioksidan, antibakteri, antikanker, dan anti peradangan (Dalimartha dan Hembing, 1994). Tanaman kunyit juga terbukti mengandung senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri. Rukmana (2004) menjelaskan bahwa senyawa aktif yang terdapat dalam rimpang kunyit di antaranya adalah minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, tanin, kurkuminoid dan terpenoid.

Penelitian Aisiah (2014) menunjukkan bahwa ekstrak daun mengkudu memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *A. hydrophila* dengan kadar

hambat minimal sebesar 15%. Penelitian lain oleh Setiaji (2009) tentang ekstrak daun pepaya terbukti efektif dalam mencegah infeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) tetapi kurang efektif untuk pengobatan. Penelitian Samsundari (2006) membuktikan bahwa ekstrak kunyit memiliki aktivitas antibakteri yang mampu menekan pertumbuhan dari bakteri *A. hydrophila*.

Kombinasi antibakteri merupakan dua antibakteri yang digunakan secara bersamaan dan saling mempengaruhi kerja dari masing-masing antibakteri. Otieno *et al.*, (2008) menjelaskan bahwa ekstrak beberapa tanaman yang disatukan memiliki daya hambat antibakteri yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tanaman tunggal. Aktivitas antimikroba dapat diuji pada media pembenihan dan diukur daya hambat yang terbentuk. Berdasarkan informasi tersebut, dilakukan penelitian dengan menggunakan kombinasi bahan-bahan herbal dengan tujuan mencari formula herbal yang memiliki aktivitas antibakteri lebih baik dibandingkan dengan aktivitas tunggal dari masing-masing bahan. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi ilmu pengetahuan dan masyarakat luas, sehingga dapat dikembangkan pemanfaatan obat tradisional untuk pencegahan penyakit ikan air tawar.

## **METODE PENELITIAN**

### **Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan September - November 2016 di Laboratorium Mikrobiologi, Instalasi Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Ikan (IP4I) Depok, di bawah naungan Balai Penelitian dan

Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPPBAT) Bogor.

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan di penelitian ini adalah multiskan GO *microplate spektrophotometer*, erlenmeyer, gelas ukur, gelas kimia, *microplate* (96 well), tabung reaksi, rak tabung reaksi, bunsen, timbangan digital, mikropipet, spektrofotometer, *vortex*, orbital inkubator, *laminar air flow* (LAF), autoklaf.

Bahan-bahan yang digunakan adalah serbuk dari daun pepaya, daun mengkudu, dan rimpang kunyit yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah, Bogor, isolat murni bakteri *A. hydrophila* yang diperoleh dari stok Lab Mikrobiologi, Instalasi Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Ikan (IP4I), Depok, Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPPBAT) Bogor, akuades, alkohol 70% teknis, Media MHB (*Mueller Hinton Broth*), aluminium foil, kertas saring.

### **Prosedur Penelitian**

#### **Persiapan Sampel**

Simplisia yang sudah jadi dalam bentuk serbuk diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah, Bogor. Serbuk daun mengkudu dan daun pepaya diperoleh dari tanaman yang ada di daerah Sumurwangi, Bogor. Serbuk kunyit diperoleh dari tanaman yang ada di daerah Ciampea, Bogor.

#### **Pembuatan Ekstrak**

Ekstrak masing-masing bahan herbal dilakukan dengan cara maserasi. Pelarut yang digunakan yaitu aquades steril. Perbandingan serbuk herbal dengan pelarut yaitu 1 : 10. Sebanyak 10 gram serbuk dari masing-masing herbal dimasukkan ke erlenmeyer, kemudian

direndam dengan aquades steril 100 ml, ditutup dengan aluminium foil. Bahan herbal diinkubasi pada suhu ruang di dalam orbital inkubator selama 48 jam. Hasil maserasi selanjutnya di filtrasi dengan metode filtrasi bertingkat menggunakan kertas saring. Larutan hasil ekstrak disimpan pada suhu 4°C untuk mencegah penguapan.

### **Penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) Ekstrak Bahan Herbal terhadap Bakteri *A. hydrophila***

Uji MIC yang dilakukan untuk menentukan nilai MIC tunggal dari masing-masing bahan herbal. Bakteri *A. hydrophila* yang sudah dikultur pada media MHB dengan kepadatan 10<sup>8</sup> cfu/ml disiapkan. Metode yang digunakan yaitu metode mikrodilusi dengan tempat sampel uji berupa *microplate 96 well*. Dosis awal yang digunakan yaitu 10 µl/ml, 20 µl/ml, 30 µl/ml, 40 µl/ml, 50 µl/ml. Media MHB yang dimasukkan ke dalam sumuran sebanyak 160 µL. Volume ekstrak herbal dan kultur bakteri *A. hydrophila* yang dimasukkan masing-masing sebanyak 20 µL. Perlakuan untuk kontrol yaitu dengan mencampurkan media 180 µL dan 20 µL bakteri uji, tanpa pemberian bahan herbal. *Microplate* yang berisi inokulum bakteri dan ekstrak herbal tersebut diinkubasi di inkubator selama 18 jam. Pembacaan hasil absorbansi (λ = 600 nm) dengan menggunakan alat multiskan GO *microplate spektrophotometer*.

### **Penentuan Nilai *Fractional Inhibitory Concentration* (FIC) Kombinasi Ekstrak Herbal**

Metode yang digunakan yaitu *checkerboard microdilution*. Hasil MIC tunggal dari masing-masing bahan herbal digunakan untuk rentang dosis FIC. Perlakuan dosis 1/8x, 1/4x, 1/2x, 1x, 2x, 4x, dan 8x untuk penentuan nilai fraksi dari kedua bahan herbal yang dikombinasikan (Verma, 2007). Nilai x yaitu hasil dari MIC masing-masing

ekstrak herbal yang didapat pada uji MIC. Bahan herbal berupa mengkudu, pepaya dan kunyit dikombinasikan dengan cara kombinasi campuran 2 bahan herbal yang berbeda dan dihitung nilai fraksinya. Kombinasi yang diujikan yaitu MP, MK, dan PK dengan keterangan M : Mengkudu ; P : Pepaya; K : Kunyit.

Komposisi yang dimasukkan ke sumuran no 1 - 4 yaitu bakteri 20 µL, media MHB 160 µL, ekstrak herbal pertama : 10 µL ; ekstrak herbal kedua : 10µL. Komposisi yang dimasukkan ke sumuran 5-8 (blanko) yaitu media MHB 180 µL, ekstrak herbal pertama : 10 µL ; ekstrak herbal kedua : 10 µL. Kontrol yaitu dengan mencampurkan media MHB 180 µL dan 20 µL bakteri, tanpa pemberian ekstrak herbal. *Mikroplate 96 well* diinkubasi di inkubator selama 18 jam. Pembacaan nilai absorbansi (λ = 600 nm) dengan menggunakan alat multiskan GO *microplate spektrophotometer*.

### **Rancangan Percobaan**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 33 perlakuan dan 3 kali ulangan (Tabel 1.).

### **Analisis Data**

Data nilai absorbansi yang diperoleh, dilakukan uji homogenitas dan normalitas kemudian dianalisis dengan menggunakan uji *one way ANOVA* dengan taraf signifikansi 5%. Jika terdapat beda nyata dilanjutkan dengan uji wilayah Duncan pada taraf uji signifikansi 95%. Analisis dilakukan secara komputerisasi menggunakan program SPSS versi 16.0.

Tabel 1. Desain perlakuan teknik *checkerboard* pada *microplate* (96 well) dengan modifikasi Verma (2007)

	1/8x	1/4x	1/2x	1x	1/8	1/4	1/2	1x			Kontrol	
A	1/8x											
B	1/4x											
C	1/2x											
D	1x											
E	1x	2x	4x	8x	1x	2x	4x	8x				
F	2x											
G	4x											
H	8x											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Keterangan :

Kotak berwarna biru : Peletakan ekstrak herbal pertama, dimasukkan secara vertikal dari dosis rendah ke tinggi (1/8x – 1x), ekstrak herbal kedua, dimasukkan secara horizontal dari dosis rendah ke tinggi (1/8x – 1x).

Kotak berwarna hijau : Peletakan ekstrak herbal pertama, dimasukkan secara vertikal dari dosis rendah ke tinggi (1x – 8x), peletakan ekstrak herbal kedua, dimasukkan secara horizontal dari dosis rendah ke tinggi (1x – 8x).

Kotak berwarna merah : Peletakan ekstrak herbal pertama, dimasukkan secara vertikal dari dosis rendah ke tinggi (1/8x – 1x), peletakan ekstrak herbal kedua, dimasukkan secara horizontal dari dosis rendah ke tinggi (1/8x – 1x).

Kotak berwarna oranye : Peletakan ekstrak herbal pertama, dimasukkan secara vertikal dari dosis rendah ke tinggi (1x – 8x), peletakan ekstrak herbal kedua, dimasukkan secara horizontal dari dosis rendah ke tinggi (1x – 8x).

Kotak berwarna ungu : Perlakuan kontrol : media MHB 180 µL dan 20 µL bakteri

A – H : Baris sumuran

1 – 12 : Nomor Sumuran

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 2. MIC dari masing-masing Ekstrak Herbal

Konsentrasi (µl/ml)	Absorbansi ( = 600 nm)		
	Mengkudu	Pepaya	Kunyit
0	1.287	1.290	1.418
1	<b>0.598*</b>	0.184	<b>0.102*</b>
2	0.767	<b>0.177*</b>	0.440
3	0.635	0.156	0.217
4	0.814	0.144	0.216
5	0.585	0.129	0.097

Keterangan : Nilai absorbansi yang bertanda (\*) merupakan penentu konsentrasi MIC dari masing-masing ekstrak herbal

Nilai MIC tunggal dari masing-masing ekstrak herbal yaitu 1 µl/ml untuk ekstrak herbal mengkudu, 2 µl/ml untuk ekstrak herbal pepaya, dan 1 µl/ml untuk ekstrak herbal kunyit.

Hal ini dilihat dari nilai absorbansi pada konsentrasi tersebut sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dasar penentuan nilai MIC yaitu dipilih berdasarkan rerata nilai absorbansi terkecil dan pada dosis terkecil yang sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Rerata nilai absorbansi di konsentrasi 1 µl/ml dan 2 µl/ml pada ekstrak herbal pepaya nilainya tidak terlalu

berbeda jauh, konsentrasi 2 dipilih sebagai nilai MIC karena dari hasil ulangan yang diujikan variasi nilainya relatif sama. Nilai absorbansi dengan konsentrasi 1 µl/ml pada ekstrak herbal pepaya memiliki perbedaan hasil yang cukup tinggi pada setiap ulangan yang diujikan, sehingga tidak dipilih sebagai nilai MIC.

Hasil dari uji MIC dijadikan sebagai dasar perlakuan untuk penentuan nilai *Fractional Inhibitory Concentration* (FIC). Kombinasi herbal yang diujikan yaitu Mengkudu dan Pepaya; Mengkudu dan Kunyit; dan Pepaya dan Kunyit.

Tabel 3. Hasil Rerata nilai absorbansi pertumbuhan *A. hydrophila* setelah pemberian kombinasi ekstrak daun mengkudu dan daun pepaya

No	Formula	Absorbansi ( = 600 nm)
1	Kontrol (0)	1.518
2	1/8x M + 1/8x P	1.119
3	1/4x M + 1/8x P	1.027
4	1/2x M + 1/8x P	1.236
5	1x M + 1/8x P	1.186
6	<b>1/8x M + 1/4x P*</b>	<b>0.601*</b>
7	1/4x M + 1/4x P	0.641
8	1/2x M + 1/4x P	0.462
9	1x M + 1/4x P	1.021
10	1/8x M + 1/2x P	0.560
11	1/4x M + 1/2x P	0.397
12	1/2x M + 1/2x P	0.351
13	1x M + 1/2x P	0.626
14	1/8x M + 1x P	0.522
15	1/4x M + 1x P	0.427
16	1/2x M + 1x P	0.418
17	1x M + 1x P	0.371
18	1x M + 1x P	1.147
19	2x M + 1x P	1.252
20	4x M + 1x P	0.937
21	8x M + 1x P	1.219
22	1x M + 2x P	1.068
23	2x M + 2x P	0.546
24	4x M + 2x P	0.626
25	8x M + 2x P	0.720
26	1x M + 4x P	0.327
27	2x M + 4x P	0.224
28	4x M + 4x P	0.274
29	8x M + 4x P	0.408
30	1x M + 8x P	0.269
31	2x M + 8x P	0.221
32	4x M + 8x P	0.345
33	8x M + 8x P	0.165

Keterangan : M : Mengkudu ; P : Pepaya  
Nilai absorbansi dan formula yang bertanda ( \* ) digunakan sebagai dasar penentuan FIC  
x : nilai MIC bahan herbal (Mengkudu = 1; Pepaya = 2 )

Tabel 4. Hasil Rerata nilai absorbansi pertumbuhan *A. hydrophila* setelah pemberian kombinasi ekstrak daun mengkudu dan rimpang kunyit

No	Formula	Absorbansi ( = 600 nm)
1	Kontrol (0)	0.846
2	1/8x M + 1/8x K	0.259
3	<b>1/4x M + 1/8x K*</b>	<b>0.217*</b>
4	1/2x M + 1/8x K	0.240
5	1x M + 1/8x K	0.223
6	1/8x M + 1/4x K	0.267
7	1/4x M + 1/4x K	0.260
8	1/2x M + 1/4x K	0.347
9	1x M + 1/4x K	0.454
10	1/8x M + 1/2x K	0.525
11	1/4x M + 1/2x K	0.089
12	1/2x M + 1/2x K	0.168
13	1x M + 1/2x K	0.539
14	1/8x M + 1x K	0.220
15	1/4x M + 1x K	0.148
16	1/2x M + 1x K	0.288
17	1x M + 1x K	0.523
18	1x M + 1x K	0.171
19	2x M + 1x K	0.123
20	4x M + 1x K	0.264
21	8x M + 1x K	0.136
22	1x M + 2x K	0.183
23	2x M + 2x K	0.085
24	4x M + 2x K	0.171
25	8x M + 2x K	0.242
26	1x M + 4x K	0.133
27	2x M + 4x K	0.145
28	4x M + 4x K	0.203
29	8x M + 4x K	0.239
30	1x M + 8x K	0.170
31	2x M + 8x K	0.120
32	4x M + 8x K	0.249
33	8x M + 8x K	0.194

Keterangan : M : Mengkudu ; K : Kunyit  
Nilai absorbansi dan formula yang bertanda ( \* ) digunakan sebagai dasar penentuan FIC  
x : nilai MIC bahan herbal (Mengkudu = 1; Kunyit = 1 )

Hasil uji FIC dari kombinasi ekstrak mengkudu dan ekstrak pepaya dengan formula terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* yaitu 1/8x mengkudu dan 1/4x pepaya (tabel 3). Nilai FIC Indeks yang diperoleh berdasarkan perhitungan adalah 0,250. Hasil ini menunjukkan interaksi yang sinergis antara ekstrak mengkudu dan ekstrak pepaya karena nilai FIC indeks 0.5. Nilai FIC indeks 0.5 menunjukkan interaksi yang sinergis antara dua antimikroba yang dikombinasikan (Tabel

5.). Berikut ini adalah tabel interpretasi nilai FIC Indeks menurut Krogstad DJ, Moellering RC Jr (1986) dalam Hsieh *et al.*, (1993) :

Tabel 5. Nilai FIC Indeks

Interpretation	FIC Indeks
Synergy	0.5
Additive	> 0.5 and 1.0
Indifference	> 1 and 4.0
Antagonism	> 4.0

Keterangan :

Synergy : kombinasi antimikroba efeknya lebih besar dibandingkan jumlah efek masing-masing antimikroba (tunggal)

Additive : efek gabungan dari kombinasi antibakteri sama dengan jumlah efek masing-masing bahan bila diberikan sendiri-sendiri

Indifference : kombinasi antimikroba efeknya kurang lebih sama dengan efek antimikroba tunggal

Antagonism : kombinasi antimikroba saling meniadakan efek toksik

Hasil uji FIC dari kombinasi ekstrak mengkudu dan ekstrak kunyit dengan formula terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* yaitu 1/4x mengkudu dan 1/8x kunyit (tabel 4). Nilai FIC indeks yang diperoleh adalah 0,375. Hasil ini juga menunjukkan interaksi yang sinergis antara ekstrak mengkudu dan ekstrak kunyit dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Tabel 5). Hasil lainnya yaitu dari kombinasi ekstrak pepaya dan ekstrak kunyit dengan formula terkecil yaitu 1/2x pepaya dan 1/8x kunyit (Tabel 6). Nilai FIC indeks yang diperoleh adalah 0,375. Kombinasi dari kedua ekstrak herbal ini juga menunjukkan interaksi yang sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*.

Berdasarkan hasil uji fitokimia yang dilakukan di Lab. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor, ekstrak daun mengkudu, ekstrak daun pepaya, dan ekstrak rimpang kunyit positif memiliki zat aktif berupa flavonoid, fenolik, saponin, tanin, alkaloid. Kandungan bahan aktif dari masing-masing bahan herbal saling berpengaruh

dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

Tabel 6. Hasil Rerata nilai absorbansi pertumbuhan *A. hydrophila* setelah pemberian kombinasi ekstrak daun pepaya dan rimpang kunyit

No	Formula	Absorbansi ( = 600 nm)
1	Kontrol (0)	1.021
2	1/8x P + 1/8x K	0.494
3	<b>1/4x P + 1/8x K*</b>	<b>0.430*</b>
4	1/2x P + 1/8x K	0.415
5	1x P + 1/8x K	0.443
6	1/8x P + 1/4x K	0.549
7	1/4x P + 1/4x K	0.450
8	1/2x P + 1/4x K	0.471
9	1x P + 1/4x K	0.425
10	1/8x P + 1/2x K	0.504
11	1/4x P + 1/2x K	0.414
12	1/2x P + 1/2x K	0.339
13	1x P + 1/2x K	0.351
14	1/8x P + 1x K	0.302
15	1/4x P + 1x K	0.237
16	1/2x P + 1x K	0.325
17	1x P + 1x K	0.263
18	1x P + 1x K	0.319
19	2x P + 1x K	0.282
20	4x P + 1x K	0.270
21	8x P + 1x K	0.278
22	1x P + 2x K	0.192
23	2x P + 2x K	0.236
24	4x P + 2x K	0.177
25	8x P + 2x K	0.211
26	1x P + 4x K	0.231
27	2x P + 4x K	0.184
28	4x P + 4x K	0.207
29	8x P + 4x K	0.226
30	1x P + 8x K	0.205
31	2x P + 8x K	0.160
32	4x P + 8x K	0.165
33	8x P + 8x K	0.181

Keterangan : P : Pepaya ; K : Kunyit

Nilai absorbansi dan formula yang bertanda ( \* ) digunakan sebagai dasar penentuan FIC

x : nilai MIC bahan herbal (Pepaya = 2 ; Kunyit = 1 )

Tahap awal mekanisme dari antibakteri tersebut yaitu adanya penghambatan dinding sel oleh zat aktif alkaloid dan flavonoid. Robinson (1991) menjelaskan bahwa alkaloid bekerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Tahap selanjutnya yaitu perubahan permeabilitas membran

sel yang dirusak oleh zat aktif tanin. Menurut Okoli *et al.*, (2009) daya antibakteri tanin dengan mempresipitasi protein dan menyebabkan membran sel bakteri mengkerut yang mengakibatkan perubahan permeabilitas sel bakteri menjadi menurun.

Semua kombinasi ekstrak bahan herbal menunjukkan interaksi yang sinergis secara *in-vitro*. Analisis data *one way anova* menunjukkan perbedaan yang nyata antar tiap kelompok perlakuan dengan nilai signifikansi  $0,00 < (0,05)$  pada 2 kombinasi yang diujikan yaitu kombinasi mengkudu dan pepaya & kombinasi pepaya dan kunyit, sedangkan untuk kombinasi mengkudu dan kunyit memiliki rata-rata antar kelompok perlakuan yang tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan 2 dari 3 kombinasi ekstrak herbal tersebut memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* berdasarkan hasil statistic analisis sidik ragam ANOVA.

Formula yang efektif dan efisien pada kombinasi mengkudu dan pepaya yaitu 1/8x mengkudu dan 1/4x pepaya. Hal ini dipengaruhi oleh kandungan flavonoid, alkaloid, dan tanin pada kedua bahan herbal tersebut. Kandungan total flavonoid di daun mengkudu tergolong tinggi dibandingkan dengan daun pepaya, sehingga konsentrasi daun mengkudu pada kombinasi tersebut hanya 1/8x. Kandungan flavonoid pada daun mengkudu cukup tinggi dibandingkan dengan herbal lainnya, hal ini berkaitan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yang *et al.*, (2008) dengan hasil total kandungan flavonoid sebesar 254mg/100gram fw (*fresh weight*). Angka ini termasuk tertinggi dibandingkan 90 tanaman lainnya yang diteliti oleh Yang *et al.*, 2008.

Formula yang efektif dan efisien pada kombinasi mengkudu dan kunyit yaitu 1/4x mengkudu dan 1/8x kunyit. Kedua bahan herbal tersebut mengandung zat aktif berupa flavonoid, tannin, alkaloid

yang berperan sebagai antibakteri. Kandungan steroid yang hanya terdapat pada rimpang kunyit berpotensi sebagai antibakteri. Menurut Putra (2007) mekanisme kerja steroid dalam menghambat mikroba, adalah dengan merusak membran plasma sel mikroba, sehingga menyebabkan bocornya sitoplasma keluar sel, yang selanjutnya menyebabkan kematian sel.

Formula yang efektif dan efisien pada kombinasi pepaya dan kunyit yaitu 1/4x pepaya dan 1/8x kunyit. Hal ini dipengaruhi oleh kandungan alkaloid, flavonoid, steroid yang ada pada ekstrak herbal dalam menghambat pertumbuhan *A. hydrophila*. Daun pepaya memiliki kandungan alkaloid yang cukup tinggi yaitu 1300 – 4000 ppm (Cornel University, 2009). Kandungan kurkumin yang secara alami terdapat pada rimpang kunyit juga dapat berperan sebagai antibakteri. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Samsundari (2006), zat aktif kurkumin pada ekstrak rimpang kunyit mampu menghambat pertumbuhan *A. hydrophila* dengan konsentrasi MIC sebesar 5%.

## KESIMPULAN

Interaksi yang dihasilkan secara *in vitro* dari semua kombinasi ekstrak herbal terhadap *A. hydrophila* menggunakan metode *microdilution checkerboard* adalah sinergis dengan nilai FIC indeks 0,50. Semua kombinasi ekstrak herbal yang diujikan terbukti menghambat pertumbuhan *A. hydrophila* secara *in vitro*. Formula yang efektif dan efisien pada kombinasi mengkudu dan pepaya yaitu 1/8x mengkudu dan 1/4x pepaya, kombinasi mengkudu dan kunyit yaitu 1/4x mengkudu dan 1/8x kunyit, kombinasi pepaya dan kunyit yaitu 1/4x pepaya dan 1/8x kunyit.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis berterima kasih kepada Bapak dan Ibu dosen serta seluruh staff laboratorium dan perpustakaan Departemen

Biologi Fakultas Sains dan Matematika atas bimbingan dan pengarahan, kedua orang tua penulis dan seluruh rekan penulis yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aisiah, S. 2014. Efikasi Ekstrak Mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan Toksisitasnya pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Sains Akuatik* 14 (1): 55 – 63.
- Cornell University. 2009 Medicinal Plants for Livestock. <http://www.ansci.cornell.edu/plants/medicinal/papaya.html>. 2 Maret 2017.
- Dalimartha S, H. Wijayakusuma. 1994. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia, Jilid I*. Pustaka Kartini. Jakarta.
- Hsiesh, M.H, Chen M. Yu, Victor L. Yu, Joseph W. Chow. 1993. Synergy Assessed by Checkerboard : A Critical Analysis. *Antimicrobial susceptibility studies* 16:343-349.
- Kardinan, 2004. *Pestisida Nabati*. Penebar swadaya. Jakarta.
- Nitimulyo, K. H., Triyanto, Sri Hartati, 1996. Uji Konsentrasi Penghambat Minimal, Resistensi dan Penggunaan Antibiotik untuk Menanggulangi Penyakit Motil *Aeromonas* Septicemia (MAS) pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Perikanan UGM Yogyakarta*. 1 (1) : 49- 53.
- Okoli, R. I., A. A. Turay., J. K. Mensah and A. O. Aigbe. 2009. Phytochemical and Antimicrobial Properties of Four Herbs from Edo State, Nigeria. *Report and Opinion*.1 (5) : 67-73.
- Otieno, J.N, Kennedy M.M.H, Herbert V.L., & Rogasian L.A.M. 2008. Multi Plant or Single Plant Extracts, Which Is the Most Effective for Local healing in Tanzania. *Afr. J. Trad. CAM*. 5 (2) : 165-172.
- Putra, I.N. K. 2007. Studi Daya Antimikroba Ekstrak Beberapa Bahan Tumbuhan Pengawet Nira Terhadap Mikroba Perusak Nira Serta Kandungan Senyawa Aktifnya. *Disertasi*. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. ITB. Bandung.
- Rukmana, R. H. 1994. *Kunyit*. Kanisius. Yogyakarta.
- Samsundari, S. 2006. Pengujian Ekstrak Temulawak dan Kunyit Terhadap Resistensi Bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menyerang Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *GAMMA*. 2 (1): 71 – 83.
- Setiaji, A. 2009. Efektifitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) untuk Pencegahan dan Pengobatan Ikan lele dumbo *Clarias* sp. yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Verma, Punam. 2007. Methods for Determining Bactericidal Activity and Antimicrobial Interactions: Synergy Testing, Time Kill Curves, and Population Analysis. *In: Schwalbe, Richard., Steele-More, Lynn., & Goodwin, Avery C., Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*. CRC Press. New York.
- Yang, Ray-Yu., Shou Lin., George Kuo, 2008. Content and Distribution of Flavonoids Among 91 Edible Plant Species. *Asia Pac J Clin Nutr*. 17: 275- 279.



