



PENGARUH PERENDAMAN EKSTRAK DAUN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum*) TERHADAP KELULUSHIDUPAN DAN HISTOPATOLOGI HATI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

*The Immersed Effect of Tobacco Leaf (*Nicotiana tabacum*) Toward Survival Rate and Histopathological Liver of Tilapia Infected by *Aeromonas hydrophila**

Lidya Aprillia Tarigan, Desrina^{*}, Sarjito

Departemen Akuakultur

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah – 50275, Telp/Fax. +6224 7474698

ABSTRAK

Penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) adalah salah satu penyakit yang sering menyerang ikan nila yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Penyakit ini mampu mengakibatkan kematian sebesar 80 – 100 % dalam jangka waktu 2 minggu. Salah satu upaya yang dilakukan untuk mengobati serangan bakteri *A. hydrophila* yaitu menggunakan bahan alami seperti ekstrak daun tembakau. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perendaman ekstrak daun tembakau terhadap kelulushidupan dan histopatologi hati ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Dosis ekstrak daun tembakau yang digunakan pada penelitian ini adalah A (0 mg/l), B (250 mg/l), C (500 mg/l) dan D (750 mg/l). Ikan nila yang digunakan sebanyak 120 ekor, kemudian diinfeksi *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^6 CFU/ml melalui intramuskular. Setelah muncul gejala klinis, dilakukan perendaman menggunakan ekstrak daun tembakau selama 10 menit. Rata-rata kelulushidupan ikan nila yaitu $63,33 \pm 25,17$ (Perlakuan D), $56,67 \pm 15,28$ (perlakuan C), $50,00 \pm 10,00$ (perlakuan B), $20,00 \pm 10,00$ (perlakuan A). Hasil penelitian diperoleh bahwa perendaman ekstrak daun tembakau berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kelulushidupan ikan nila. perlakuan D (750 mg/l) merupakan dosis optimum dengan kelulushidupan tertinggi dan tingkat kerusakan histologi hati paling ringan.

Kata kunci : *Aeromonas hydrophila*; *Oreochromis niloticus*; *Nicotiana tabacum*.

ABSTRACT

The Motile Aeromonas Septicemia (MAS) is the bacterial disease of tilapia caused by A. hydrophila. The disease can to cause 80-100% of mortality within a period of 2 weeks. One of the effort used to control A. hydrophila infection was using natural ingredient like Tobacco leaf (N. tabacum) extract. This study aims to determine the effect of tobacco leaf extracts on survival rate and liver histopathology tilapia infected bacteria A. hydrophila. The experiment consisted of 4 treatments, each with 3 replications. doses used in this study were A (0 mg / l), B (250 mg / l), C (500 mg / l) and D (750 mg / l). 120 tilapias were used in this study. The experimental tilapias were infected with A. hydrophila at density 10^6 CFU/ml through intramuscular. After injection showing clinical signs, tilapias were immersed in N. tabacum extracts about 10 minutes. The average survival rate of tilapia were 63.33 ± 25.17 (Treatment D), 56.67 ± 15.28 (treatment C), 50.00 ± 10.00 (treatment B), 20.00 ± 10.00 (treatment A). The result showed that immersed tobacco leaf extracts had significant effect ($P < 0.05$) of survival rate. Treatment D (750 mg / l) was the best dose with the highest survival rate and the least of histopathology cell changes in the liver.

Key words : *Aeromonas hydrophila*; *Oreochromis niloticus*; *Nicotiana tabacum*.

*Corresponding authors (Email : rinadesrina@yahoo.com)



PENDAHULUAN

Ikan nila (*O. niloticus*) merupakan salah satu ikan air tawar komoditas penting dan banyak dibudidayakan di Indonesia. Pada tahun 2012 Indonesia menempati urutan ke-3 (tiga) terbesar sebagai penghasil produk ikan nila dengan memberikan produksi sekitar 21,7% terhadap total produksi ikan nila dunia yang sebesar 3.197.330 (DKP, 2014). Budidaya ikan nila tidak lepas dari masalah serangan penyakit yang dapat menyebabkan kematian hingga dapat menyebabkan kerugian secara ekonomi. Salah satu jenis bakterial yang sering menyerang ikan nila adalah “*Motile Aeromonas Septicemia*” (MAS) penyakit ini diakibatkan oleh infeksi bakteri *A. hydrophila* (Plumb dan Larry, 2011). Bakteri *A. hydrophila* bersifat patogen dan mampu menurunkan tingkat pertumbuhan, mematikan ikan sampai dengan 80%–100% dalam waktu 1-2 minggu (Cipriano, 2001). Telah dilaporkan bahwa wabah penyakit “*Motile Aeromonas Septicemia*” (MAS) terjadi di Pulau Jawa, Pulau Kalimantan dan Pulau Sumatera (Amanu *et al.*, 2014). Pada tahun 2013 Tantu *et al.* melaporkan bahwa teridentifikasi 22,22% ikan nila yang dibudidayakan di danau Tondano, Sulawesi Utara, terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

Bahan yang sering digunakan untuk menanggulangi penyakit serangan bakteri *A. hydrophila* adalah pengobatan dengan zat kimia atau antibiotik. Penggunaan antibiotik dalam jangka waktu lama akan berdampak negatif, diantaranya dapat menimbulkan resistensi terhadap bakteri, memerlukan biaya yang cukup mahal dan dapat mencemari lingkungan. Oleh karena itu penggunaan antibakteri dari ekstrak tanaman menjadi alternatif dalam pengendalian yang lebih aman, efektif dan efisien (Baroroh *et al.*, 2014). Daun tembakau mengandung senyawa bersifat antibakteri yaitu flavonoid, tanin dan minyak atsiri (Machado *et al.*, 2010; Palic *et al.*, 2002; Taiga dan Friday, 2009), ekstrak etanol daun tembakau mengandung komponen fitokimia yang berupa alkaloid, terpenoid, dan steroid yang merupakan senyawa bioaktif yang berperan sebagai antibakteri (Puspita, 2011). Ekstrak daun tembakau telah dilaporkan sebelumnya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Agrobacterium tumefaciens* dan *Salmonella typhimurium* (Bakht *et al.*, 2012). *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Rahayu *et al.*, 2016), *Streptococcus mutans* (Adhanti, 2012).

Berdasarkan informasi di atas dapat diketahui bahwa ekstrak daun tembakau memiliki potensi digunakan untuk mengendalikan penyakit bakterial pada ikan, untuk itu maka perlu dilakukan penelitian pengaruh penggunaan ekstrak daun tembakau untuk pengobatan bakteri *A. hydrophila* pada ikan nila. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dan menentukan dosis terbaik perendaman ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*) terhadap kelulushidupan dan histopatologi hati ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2016 – Januari 2017 di Laboratorium Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan; Ilmu Kelautan, Laboratorium *Tropical Marine Biology*, UPT Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro dan Laboratorium Waspada, Semarang.

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Ikan nila yang digunakan pada penelitian ini berasal dari SATKER PBIAT Ngrajek. Berjumlah 120 ekor dan dipelihara dalam 12 akuarium dengan kepadatan 10 ekor/akuarium. Panjang tubuh rata-rata $8,70 \pm 0,80$ cm; bobot tubuh rata-rata $12,14 \pm 2,6$ gram. Bakteri yang digunakan di dalam penelitian adalah isolat murni *A. hydrophila* yang diperoleh dari Badan Karantina Ikan dan Pengendalian Mutu (BKIPM). Bakteri tersebut ditingkatkan keganasannya dengan melakukan pasase sebanyak 4 kali. Isolasi bakteri menggunakan media GSP (*Glutamat Starch Phenol Red Agar*) dan kultur bakteri ini menggunakan media cair TSB.

Daun tembakau yang digunakan untuk bahan ekstrak pada penelitian ini berasal dari kabupaten Temanggung, Jawa Tengah, sebanyak 4000 gram. Daun tembakau di cuci, diiris tipis-tipis dan dikeringkan. Daun tembakau kering kemudian diblender hingga halus, serbuk daun tembakau kemudian dimaserasi dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:3 selama 3 hari di dalam toples kaca dan diaduk menggunakan spatula setiap hari (Listiyati *et al.*, 2012). Ampas dan filtrat rendaman dipisahkan menggunakan kertas saring kimia. Setelah itu, dilakukan evaporasi menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C (Putri *et al.*, 2014). Uji fitokimia bertujuan untuk menguji kandungan senyawa antibakteri pada ekstrak daun tembakau, uji fitokimia ini dilakukan menggunakan metode uji kualitatif mengacu kepada Ningsih *et al.*, (2016). Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak daun tembakau yang digunakan mengandung senyawa aktif alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin.

Metode percobaan yang digunakan yaitu metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap yang terdiri dari 4 perlakuan dan 3 ulangan. Uji *in vitro* dilakukan untuk mengetahui dosis ekstrak daun tembakau yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dan sebagai dasar acuan penentuan dosis pada uji *in vivo*. Selanjutnya setelah uji *In vitro* dilanjutkan dengan uji toleransi untuk mengetahui dosis yang aman digunakan pada ikan pada saat perendaman. Berdasarkan uji *in vitro* dan toleransi dosis yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



- Perlakuan A : Perendaman ikan nila yang diinfeksi *A. hydrophila* dalam dosis 0 mg/l ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*)
- Perlakuan B : Perendaman ikan nila yang diinfeksi *A. hydrophila* dalam dosis 250 mg/l ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*)
- Perlakuan C : Perendaman ikan nila yang diinfeksi *A. hydrophila* dalam dosis 500 mg/l ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*) .
- Perlakuan D : Perendaman ikan nila yang diinfeksi *A. hydrophila* dalam dosis 750 mg/l ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*)

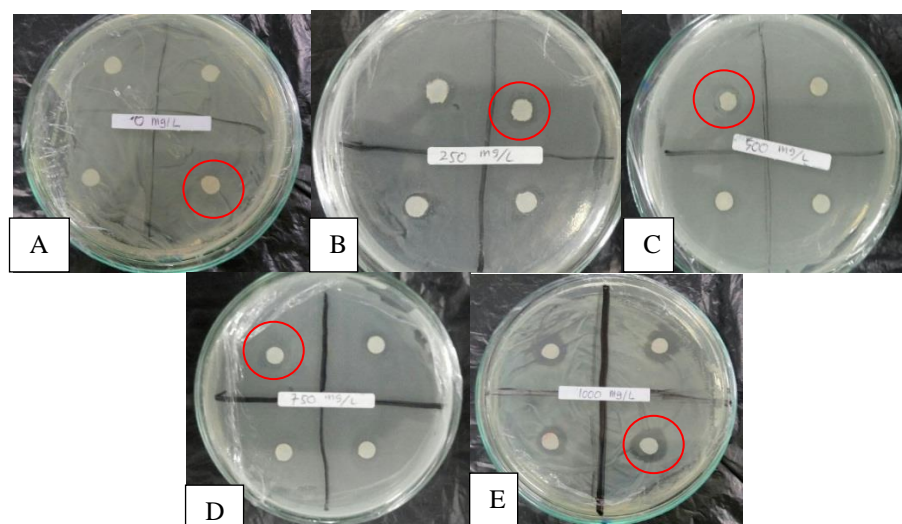
Uji *in vivo* dilakukan dengan menyutikkan bakteri *A. hydrophila* sebanyak 0,1 ml dengan kepadatan bakteri 10^6 CFU/ml secara intramuskular. Uji *in vivo* bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun tembakau dalam mengobati ikan nila yang diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Setelah muncul gejala klinis kemudian dilakukan perendaman dalam ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*) selama 10 menit tanpa *refreshing*. Pengamatan kemampuan ekstrak daun tembakau dalam mengobati ikan nila pasca infeksi, parameter yang diamati berupa gejala klinis, mortalitas dan histopatologi hati ikan nila. Pengamatan histopatologi dilakukan untuk mengetahui perubahan jaringan pada organ hati. Pengamatan histopatologi dilakukan sebanyak 3 kali yaitu sebelum infeksi *A. hydrophila*, pasca infeksi *A. hydrophila* dan pasca perendaman ekstrak daun tembakau atau setelah akhir penelitian 14 hari. Organ hati difiksasi menggunakan BNF 10% dan pembuatan preparat histopatologi mengacu pada Munthia (2001). Kualitas air media pemeliharaan selama penelitian ini dengan kisaran suhu 25,8 – 26,9°C; pH pada kisaran 7,89 – 8,21 dan oksigen terlarut 2,46 – 3,59 mg/l.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji *in vitro*, terlihat bahwa ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*) memiliki kemampuan menghambat bakteri *A. hydrophila*. Hal ini dibuktikan dengan adanya zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram. Diameter zona hambat yang terbentuk tersaji pada tabel 1 dan gambar 1.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Tembakau (*N. tabacum*)

Konsentrasi ekstrak	Ulangan (mm)				Rerata (mm)
	1	2	3	4	
0 mg/l	0	0	0	0	0
250 mg/l	10,80	9,80	7,20	9,20	9,25±1,09
500 mg/l	10,30	8,80	8,20	10,10	9,35±0,67
750 mg/l	10,80	9,90	11,40	8,90	10,25±0,38
1000 mg/l	10,82	10,02	13,00	12,00	11,46±0,45



Gambar 1. Hasil uji *in vitro* ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*)

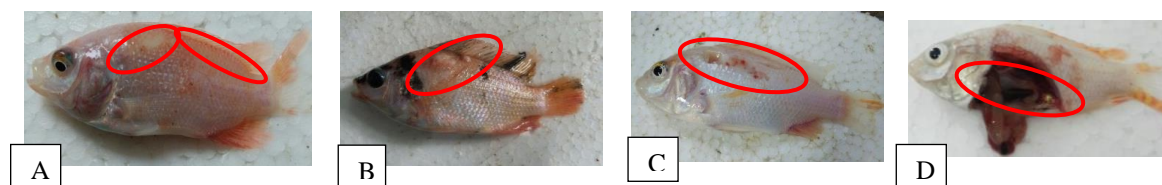
Keterangan : A (Dosis 0 mg/l) ; B (Dosis 250 mg/l); C (Dosis 500 mg/l); D (Dosis 750 mg/l) dan E (Dosis 1000 mg/l)

Berdasarkan uji *in vitro* diketahui bahwa dosis ekstrak daun tembakau 1000 mg/l dan 750 mg/l termasuk mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri golongan kuat, dan dosis 500 mg/l dan 250 mg/l termasuk dosis golongan sedang. Hal ini diperkuat oleh Menurut Janata *et al.* (2014), kriteria kekuatan daya antibakteria sebagai berikut; diameter zona hambat ≤ 5 mm dikategorikan lemah, diameter 5 – 10 mm



dikategorikan sedang, dan diameter 10 – 20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat ≥ 20 mm dikategorikan sangat kuat. Berdasarkan uji toksisitas yang telah didapat pada dosis 1000 mg/l ikan hanya mampu bertahan sampai menit ke-7 sedangkan pada dosis 750 mg/l ikan mampu bertahan hingga menit ke-10, hal ini diduga akibat senyawa alkaloid nikotin yang dimiliki oleh daun tembakau yang dapat bersifat toksik. Hal ini diperkuat oleh Rudyanti (2010), menyatakan bahwa alkaloid nikotin dalam daun tembakau dapat membuat racun terhadap ikan nila seperti mengakibatkan racun perut, kejang-kejang hingga kematian. Oleh karena itu pada dosis 1000 mg/l tidak digunakan pada percobaan *in vivo* disebabkan pada dosis ini ikan nila hanya mampu bertahan kurang dari 10 menit

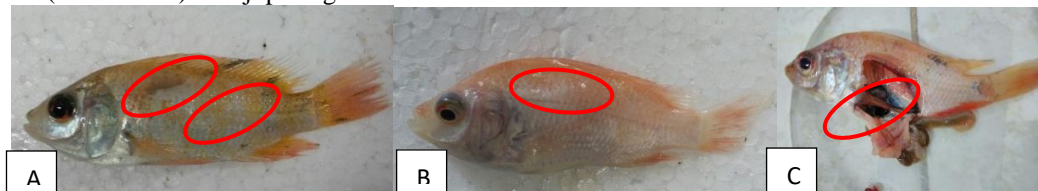
Gejala klinis pada ikan nila (*O. niloticus*) pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* ditandai dengan perubahan tingkah laku pada 6 jam setelah infeksi. Perubahan tingkah laku ditandai dengan ikan berenang abnormal, ikan berdiam diri didasar *aquarium*, berenang mendekati aerasi dan nafsu makan menurun. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hardi *et al.* (2014), ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* menyebabkan munculnya gejala abnormalitas pada pola berenang dan penurunan nafsu makan. Selain gejala klinis tingkah laku terdapat pula perubahan organ eksternal dan internal pada semua perlakuan yang muncul 24 jam pasca infeksi berupa adanya peradangan, kemerahan pada punggung, timbulnya luka pada bagian bekas suntikan dan juga rongga perut berisi cairan (*dropsy*) dan pembengkakan pada organ internal ikan nila. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mangunwardoyo *et al.* (2010); Wahjuningrum *et al.* (2010); Lukistyowati dan Kurniasih (2012); Yulianto *et al.* (2013); dan Olga (2014), melaporkan bahwa ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* memiliki gejala klinis berupa timbul hiperemia (tanda kemerahan) yang selanjutnya akan muncul peradangan luka borok yang melebar dibekas suntikan dan bagian rongga perut berisi cairan dan pembengkakan pada bagian internal seperti limpa, hati dan lambung. Gejala klinis ikan nila pasca infeksi *A. hydrophila* pasca perendaman ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*) tersaji pada gambar 2.



Gambar 2. Gejala klinis ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. hydrophila*

Keterangan : a. Peradangan pada bekas suntikan dan kemerahan pada sirip; b. timbul nanah; c. timbul luka pada tubuh ikan dan warna tubuh pucat; d. Perut berisi cairan dan hati berwarna merah-kehitaman

Timbulnya luka dan pendarahan pada tubuh ikan nila disebabkan oleh toksin yang disebabkan oleh *A. hydrophila* salah satunya adalah toksin hemolisin. Cipriano (2001) dan Huys *et al.* (2002) menyatakan bahwa toksin hemolisin berperan dalam memecah sel-sel darah merah, menyebabkan sel keluar dari pembuluh darah dan menimbulkan warna kemerahan pada permukaan kulit. Hari kedua pasca munculnya gejala klinis pada ikan nila dilakukan perendaman menggunakan ekstrak daun tembakau selama 10 menit tanpa ada proses *refreshing*. Pengobatan dengan sistem perendaman merupakan cara paling aplikatif dibandingkan dengan penyuntikan dan pemberian pakan karena dapat mempermudah proses pengobatan terutama untuk ikan yang berukuran kecil dalam skala yang banyak (Supriyadi dan Rukyani, 1990). Gejala klinis ikan pasca perendaman ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*) tersaji pada gambar 3.



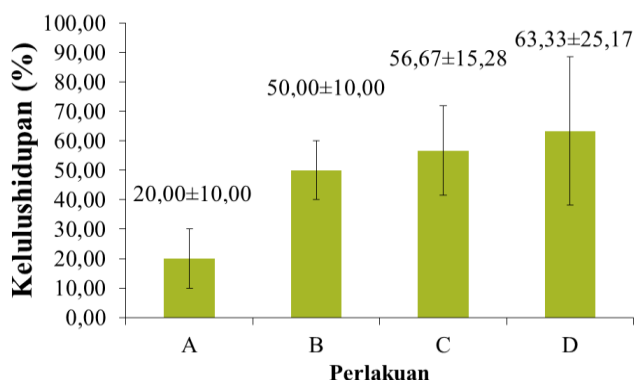
Gambar 3. Perubahan morfologi ikan nila (*O. niloticus*) pasca perendaman ekstrak duan tembakau (*N. tobacum*)
Keterangan: a. Luka mulai mengecil dan warna tubuh kembali normal; b. Luka menutup; c. Tidak ditemukan cairan dalam rongga perut dan hati berwarna merah kecoklatan.

Kondisi ikan nila semakin membaik setelah dilakukan perendaman dengan ekstrak daun tembakau. Pada perlakuan C dan D luka lebih cepat pulih dibandingkan dengan perlakuan A dan B. Hari ke-5 luka pada perlakuan C dan D sudah mulai menutup dan warna tubuh mulai normal. Sedangkan, pada perlakuan A dan B rata-rata luka mulai menutup pada hari ke-7 pasca perendaman lebih lama dibandingkan dengan dua perlakuan lainnya. Pada hari ke-10 perlakuan C dan D terlihat sembuh. Menutupnya luka ikan nila disebabkan didalam ekstrak daun tembakau memiliki kandungan flavonoid dan alkaloid. Hal ini diperkuat oleh Maqsood *et al.*



(2011) dan Marzouk *et al.* (2017), menyatakan senyawa flavonoid dan alkaloid memiliki sifat antibakteri yang mampu menghambat dan membunuh bakteri. Syahidah *et al.* (2014) dan chakraborty *et al.* (2015) menambahkan bahwa flavonoid dan alkaloid mampu meningkatkan imun bawaan ikan sehingga dapat membunuh toksin yang masuk kedalam tubuh ikan.

Kelulushidupan ikan nila tertinggi yaitu pada perlakuan D sebesar $63,33 \pm 25,17$, diikuti pada perlakuan C sebesar $56,67 \pm 15,28$, perlakuan B sebesar $50,00 \pm 10,00$ dan kelulushidupan terendah pada perlakuan A sebesar $20,00 \pm 10,00$. Berdasarkan data kelulushidupan tersebut dilakukan uji normalitas, homogenitas dan aditifitas. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa data kelulushidupan menyebar normal, bersifat homogen dan aditif. Oleh karena itu data tersebut dilanjutkan untuk uji ragam. Berdasarkan hasil analisa ragam diketahui bahwa $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ ($P < 0,05$) sehingga hasil yang diperoleh adalah penggunaan ekstrak daun tembakau berpengaruh nyata terhadap kelulushidupan ikan nila yang diinfeksi *A. hydrophila*. Berdasarkan hasil perhitungan analisa ragam yang berpengaruh nyata maka dilanjutkan uji *Duncan*. Selanjutnya untuk mengetahui dosis optimum terhadap kelulushidupan ikan nila dilakukan uji Polinomial Orthogonal diperoleh hubungan yang berpola kuadratik ($y = 248,89x^3 - 373,33x^2 + 197,78x + 20$) dan $R^2 = 0,6068$ dan titik optimum dosis ekstrak daun tembakau terdapat pada perlakuan D (750 mg/l). Nilai R^2 menunjukkan bahwa 61% kelulushidupan ikan nila dipengaruhi oleh pemberian ekstrak daun tembakau dalam perendaman dan 31% dipengaruhi oleh faktor lain. Kelulushidupan ikan nila pada akhir penelitian dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram kelulushidupan ikan nila pasca perendaman ekstrak daun tembakau
Keterangan : Perlakuan A(0 mg/l); Perlakuan B (250 mg/l); perlakuan C (500mg/l) dan Perlakuan D (750 mg/l)

Ekstrak daun tembakau mampu mengobati infeksi bakteri *A. hydrophila* sehingga menghasilkan kelulushidupan ikan nila lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol (0 mg/l) diduga hal ini disebabkan karena pada ekstrak daun tembakau mengandung senyawa antibakteri berupa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Hal ini diperkuat oleh Swain *et al.* (2015), daun tembakau mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin yang dapat menghambat pertumbuhan tujuh bakteri patogen. Syaidah *et al.* (2014) dan chakraborty *et al.* (2015), Flavonoid dan alkaloid mampu meningkatkan imun bawaan ikan sehingga dapat membunuh toksin yang masuk. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan terjadinya kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler keluar (Ngajow *et al.*, 2013). Apabila saponin berinteraksi dengan sel bakteri, bakteri tersebut akan pecah atau lisis (Peoleongan dan Pratiwi, 2010).

Dilakukan pengamatan gejala klinis organ dalam ikan nila sebelum dilakukan nekropsi (pemotongan organ) hati meliputi pengamatan warna hati dan tekstur hati. Pengamatan hati ikan nila dilakukan sebelum infeksi *A. hydrophila*, pasca infeksi *A. hydrophila* dan pasca perendaman. Perubahan warna hati ikan nila tersaji pada tabel 2.

Tabel 2. Perubahan Warna Hati Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Warna dan tekstur
K	Merah terlihat segar
I	Merah kehitaman terlihat pucat
A	Merah kehitaman terlihat pucat
B	Merah kehitaman terlihat pucat
C	Merah kecoklatan terlihat pucat
D	Merah kecoklatan terlihat segar

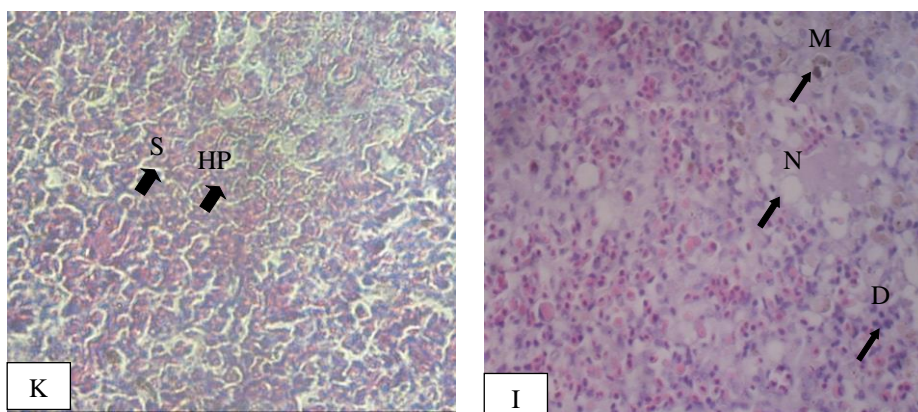
Keterangan : K = Warna hati ikan nila kontrol/ sebelum diinfeksi bakteri *A. hydrophila*



- I = Warna hati ikan nila pasca infeksi *A. hydrophila*
- A = Warna hati ikan nila pasca perendaman ekstrak daun tembakau perlakuan A (0 mg/l).
- B = Warna hati ikan nila pasca perendaman ekstrak daun tembakau perlakuan B (250 mg/l)
- C = Warna hati ikan nila pasca perendaman ekstrak daun tembakau perlakuan C (500 mg/l).
- D = Warna hati ikan nila pasca perendaman ekstrak daun tembakau perlakuan D (750 mg/l)

Berdasarkan tabel 2. Diketahui bahwa kondisi hati ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* berwarna merah kehitaman dan terlihat pucat. Sedangkan, hati ikan nila kontrol atau sebelum diinfeksi bakteri *A. hydrophila* berwarna merah dan terlihat lebih segar. Hardi *et al.* (2014), melaporkan bahwa kondisi organ dalam hati ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* terlihat tidak segar dengan kondisi hati berwarna kehitaman dan ginjal berwarna kekuningan.

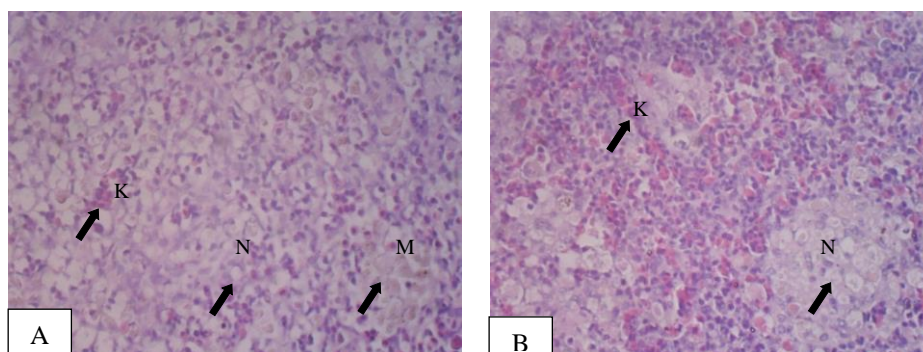
Hasil pengamatan preparat histopatologi hati ikan nila sebelum injeksi bakteri *A. hydrophila*, tidak ada kelainan atau kerusakan jaringan pada preparat hati ditandai dengan sel hepatosit pada preparat tersebut tersusun rapat dan dikelilingi oleh sinusoid yang membentuk seperti labirin. Sedangkan, pada preparat hati pasca infeksi *A. hydrophila* terdapat kelainan berupa melanomakrofag, nekrosis dan degenerasi hal ini diduga terjadi karena infeksi bakteri *A. hydrophila*. Hal ini diperkuat oleh Lusiasuti *et al.* (2016), proses metabolisme ikan terganggu akibat serangan bakteri *A. hydrophila* sehingga terjadi kerusakan jaringan pada organ hati. Sedangkan Asniatih *et al.* (2013), menyebutkan terjadi degenerasi pada organ hati yang di infeksi *A. hydrophila*. Histopatologi hati ikan nila sebelum dan pasca infeksi *A. hydrophila* tersaji pada gambar 5.

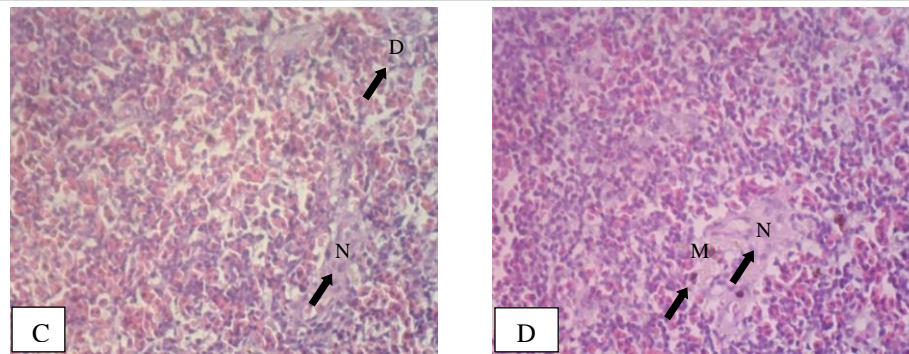


Gambar 5. Histopatologi Hati ikan nila (*O. niloticus*) dengan pewarnaan H-E sebelum infeksi dan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* (Perbesaran 400x).

Keterangan : Histopatologi hati ikan nila sebelum infeksi bakteri *A. hydrophila* (K) dan Histopatologi hati ikan nila pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* (I). Sinusoid (S); HP (Hepatosit); M (Melanomakrofag); D (Degenerasi) dan N (Nekrosis)

Berdasarkan hasil pengamatan histopatologi hati ikan (*O. niloticus*) nila pasca perendaman ekstrak daun tembakau dapat diketahui bahwa jaringan hati ikan nila memiliki tingkat kerusakan berbeda pada setiap perlakuannya. Histopatologi hati ikan nila pasca perendaman ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*) tersaji pada gambar 6.





Gambar 6. Histologi Hati ikan nila (*O. niloticus*) dengan pewarnaan H-E pasca perendaman ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*) (Perbesaran 400x).

Keterangan: Perlakuan A (0 mg/l); Perlakuan B (250 mg/l); perlakuan C (500mg/l) dan Perlakuan D (750 mg/l). M (Melanomakrofag); K (Kongesti); D (Degenerasi) dan N (Nekrosis).

Hasil pengamatan histopatologi hati ikan nila (*O. niloticus*) pasca perendaman ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*) kerusakan jaringan hati paling ringan terjadi pada perlakuan D (750 mg/l) terlihat sel hepatosit hati terlihat jelas dan nekrosis yang ditemukan lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan lainnya, sedangkan pada perlakuan A (0 mg/l) memiliki tingkat kerusakan paling berat dan tingkat nekrosis yang ditemukan memiliki paling banyak. Nekrosis merupakan kematian jaringan dalam organ tubuh ikan hal ini terjadi akibat dari adanya gangguan pada metabolisme tubuh. Hal ini diperkuat oleh Triadayani *et al.* (2010), Nekrosis adalah terjadinya kematian sel bersama dengan pecahnya membran plasma. Pada perlakuan C melanomakrofag tidak ditemukan hal ini diduga disebabkan perendaman ekstrak daun tembakau berpengaruh terhadap melanomakrofag. Ikhwan *et al.* (2013), melaporkan bahwa terjadi penurunan jumlah melanomakrofag pada hati ikan nila yang diberi tepung daun jalloh yang mengandung senyawa flavonoid. Menurut Sholicha *et al.* (2014), melanomakarofag ditandai dengan warna merah kecoklatan tampak gelap.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*) berpengaruh nyata terhadap kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* ($P < 0,05$).
2. Dosis optimum perendaman ekstrak daun tembakau terhadap kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* adalah 750 mg/l (perlakuan D)
3. Histopatologi hati ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* pasca perendaman ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*) dengan kerusakan paling ringan pada perlakuan D (750 mg/l).

Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut tentang ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*) menggunakan pelarut lainnya untuk mengobati ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.
2. Sebaiknya dilakukan isolasi bakteri kembali terhadap ikan nila uji pasca perendaman ekstrak daun tembakau setelah pemeliharaan 14 hari, untuk memastikan masih ada tidaknya infeksi bakteri *A. hydrophila* pada tubuh ikan.
3. Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan bahwa dosis 750 mg/l ekstrak daun tembakau (*N. tabacum*) dapat digunakan sebagai pengobatan serangan penyakit bakteri *A. hydrophila*.

Ucapan Terimakasih

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada Bapak Marsudi, Tim penyakit 2016, dan teman-teman BDP 2013 yang telah membantu dalam penelitian ini. Disampaikan pula terimakasih kepada Kepala Laboratorium BDP FPIK Undip, UPT. Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro dan Laboratorium Waspada, Semarang.

DAFTAR PUSTAKA

Adhanti. R. 2012. Konsentrasi Efektifitas Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotina tabacum*) Sebagai Pembersih Gigi Tiruan Resin Akrilik terhadap Jumlah *Streptococcus mutans*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Jember. Jember.



- Amanu, S., Kurniasih dan S. Indaryulianto. 2014. Identifikasi Penyakit Aeromonas pada Budidaya Ikan Air Tawar di Bali. *Jurnal Venteriner*. 15(4): 474 – 486.
- Asniatih., M. Idris dan K. Sabilu. 2013. Studi Histopatologi pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Mina Laut Indonesia*. 03(12): 13 – 21.
- Chakaraborty, S.B., T. Molnar. L. Ardo. G. Jeney dan C. Hanez. 2015. Oral Administration of *Basella alba* Leaf Methanol Extract and Genistein Enhances the Growth and Non-Specific Immune Responses of *Oreochromis niloticus*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 15: 167 – 173 .
- Badan Standarisasi Nasional. 2009. Produksi Benih Ikan Nila Hitam (*Oreochromis niloticus bleeker*) Kelas Pembesaran di Kolam Air Tenang. SNI: 7550. Jakarta.
- Baroroh, H. F., L. Q. Aini, dan A. L. Abadi. 2014. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun dan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap *Blood Disease Bacterium*. *Jurnal HPT*, 2(2):87 – 97.
- Bakht, J. Azra dan M. Shafi. 2012. Antimicrobial Activity of Nicotina tabacum Using Diffrent Solvents Exctracts. *Journal Pak Bot*. 44(1):459 – 463.
- Centyana, E. Y. Cahyoko dan Agustono. 2014. Substitusi Tepung Kedelai dengan Tepung Biji Koro Pedang (*Canavalia ensiformis*) terhadap Pertumbuhan, Survival Rate dan Efisiensi Pakan Ikan Nila Merah. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 6(1); 7 – 14.
- Cipriano, R.C. 2001. *Aeromonas hydrophila* and *Motil Aeromonas Septicemia* of Fish. United States Departement of the Interior Fish and Wild Life Service Division of Fisheries Research, Washington DC, 25 pp
- DKP. 2014. Laporan Kinerja (LKJ) Direktorat Produksi Tahun 2014 Direktorat Jendral Perikanan Budidaya. Jakarta: Departemen Kelautan dan Perikanan. 85 Hlm.
- Hardi, E.H., C.A. Pebrianto., T. Hidayanti dan R.T. Handayani. 2014. Infeksi *Aeromonas hydrophila* Melalui Jalur yang Berbeda pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Loa Kulu Kutai Kartanegara Kalimantan Timur. *Jurnal Kedokteran*. 8(2):130 – 133.
- Huys, G., P. Kampfer., M.J. Albert., I khun., R. Denys dan J. Swings. 2002. *Aeromonas hydrophila* subsp Isolated from Children with Diaerhoea in Bangladesh. *International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology*. 52: 705 – 712.
- Ikhwan, Y., Nazaruiddin dan D. Aliza. 2013. Gambaran Histologis Hati Ikan Nia (*Oreochromis niloticus*) yang Diberi Cekaman Panas dan Tepung Daun Jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb). *Jurnal Medika Veterinaria*. 7(2): 130 – 134.
- Janata, R.H., A. Gunadi., T. Ernawati. 2014. Daya Antibakteri Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris mill*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal Kedoktran Gigi*. Universitas Jember. 6 hlm.
- Listiyati. A.K., U. Nurkalis. Sudyanti dan R. Hestningsih. 2012. Ekstraksi Nikotin Dari Daun Tembakau (*Nicotina Tabacum*) Dan Pemanfaatannya Sebagai Insektisida Nabati Pembunuh *Aedes Sp*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa* 2(2); 67 – 70.
- Lukistyowati, I dan Kurniasih. 2012. Pelacakan Gen Aerolysin dari *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas yang doberi Pakan Ekstrak Bawang Putih. *Jurnal Veteriner*.13(1): 43 – 50.
- Lusiastuti, A.M., M.F. Ulkhaq., Widanarni dan T.H. Prihadi. 2016. Evaluasi Pemberian Probiotik *Bacillus* pada Media Pemeliharaan terhadap Laju Pertumbuhan Dan Perubahan Histopatologi Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *jurnal Riset Akuakultur*. 11(2): 171 – 179.
- Machado P.A, Fu H., Kratochivl R.J., Yuan Y, Hahm T.S, Sabliov C.M., Wei C.I., lo Y.M. 2010. Recovery of Solanesol From Tobacco As A Value Added By Product For Alternative Applications. *Journal Bioresources Technology*. 101: 1091-1096.
- Mangunwardoyo W., R. Ismayasari dan E. Riani. 2010. Uji Patogenitas dan Virulensi *Aeromonas hydrophila* Stanier pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) Melalui Postulat Koch. *Jurnal Riset Akuakultur*. 5(2):245 – 255.
- Marzouk M.S.M., A.M.A Aziz., W.S. Soliman., H.H Abbas., S.Z. Mona. E. Awad dan B.A Sahr. 2017. Effect of Some Herbal Extract on the health Status of Cultured *Oreohromis niloticus*. *Research journal of Pharmaceutical, Biologu and Chemical Science*.8(1): 1457 – 1467.
- Maqsood. S., P. Singh., M. H. Samoon dan K. Munir. 2011. Emerging Role of Immunostimulan in Combating the Diseases Outbreak in Aquaculture. *International Journal of Aquaculture Resaerch*. 3: 147 – 163.
- Mayori, R., N. Marusin dan D.H. Tjong. 2010. Pengaruh Pemberian Rhodamin B Terhadap Struktur Histologis Ginjal Mencit Putih (*Mus musculus* L.). *Jurnal Biologi UA*. 2(1); 43 – 49.
- Muntiha, M. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E). Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- Ngajow M., J. Abidjulu., V.S. Kamu. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* secara *In vitro*. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 2(2): 128 – 132.



- Ningsih, D.R., Zufahair dan D. Kartika. 2016. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. *Jurnal Molekul*. 11(1): 101 – 111.
- Nuria, C.M., A. Faizatun dan Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu Pertanian*. 5(2); 26 – 37.
- Olga. 2014. Patogenitas Bakteri *Aeromonas hydrophila* ASB01 pada Ikan Gabus (*Ophicephalus striatus*). *Jurnal Sains Akuatik*. 14(1): 33 – 39.
- Palic R, Stojanovic G, Alagic S, Nikolic M, Lepojevic Z. 2002. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of The Essential Oil and CO2 Extracts of Semi-orientl Tobacco, Prilep. *Journal of Flavour Fragr* . 17:323-326.
- Plumb, J.A dan L.A, Hanson. 2011. Health Maintenance and Principal Microbial Disease of Cultured Fishes, Third Editon. Blackwell Publishing, Ames-Iowa, hlm 482.
- Poeleongan M dan Praptiwi. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn). *Jurnal Media Litbang Kesehatan*. XX(2): 65 – 69.
- Puspita, P.E. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tembakau Temanggung Varietas Genjah Kemloko. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Putri, R.H., I. Barid dan B. Kusumawardani. 2014. Daya Hambat Ekstrak Daun Tembakau terhadap Pertumbuhan Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut. *Jurnal Stomatogenic*. 11(2): 27 – 31.
- Supriyadi, H dan A. Rukyani. 1990. Imunoprofilaksis dengan cara Vaksinisasi pada Usaha Budidaya Ikan. Prosiding Seminar Nasional Penyakit ikan dan Udang. Balai Penelitian Air Tawar, Bogor. 227 hlm.
- Swain, S.S dan R.N. Padhy. 2015. *In vitro* Antibacterial Efficacy of Plants Used by an Indan Aboriginal Tribe Againts Pathogenic Bacteria Isolated From Clinical Samples. *Jpurnal of Taibah University Medical Sciences*. 10(4): 379 – 390.
- Syaidah, A., C.R. Saad., H.M. Daud dan Y.M Abdelhadi. 2015. Status and Potential of Herbal Application in Aquaculture. *Irian Journal of Fisheries Sciences*. 14(1): 27 – 44.
- Rahayu, T., A. Fudholi dan A. Fitria. 2016. Optimasi Formulasi Gel Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) dengan Variasi Kadar karbopol⁹⁴⁰ dan Tea Menggunakan Metode *Simplex Lattice Design* (SLD). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 12(1): 22 – 34.
- Rudiyanti, S. 2010. Toksisitas Daun Tembakau (*Nicotina tabacum*) Terhadap Pertumbuhan Ikan Nila. *Jurnal Saintek Perikanan*. 6(1): 56 – 61.
- Taiga, A., dan Friday. 2009. Variations in Phytochemical Properties Of Selected Fungicidal Aqueous Extracts of Some Plant Leaves in Kogi State, Nigeria. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*. 3(3):407 – 409.
- Tantu, W., R.A. Tumbol dan S.N.J. Londong. 2013. Deteksi Keberadaan Bakteri *Aeromonas* sp pada Ikan Nila yang Dibudidayakan di Keramba Jaring Apung Danau Tondano. *Jurnal Budidaya Perairan*. 1(3): 74 – 80.
- Triadayani, A.D., R. Aryawati dan G. Diansyah. 2010. Pengaruh logam timbal (pb) terhadap jaringan hati ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). *Jurnal Maspari*. 01: 42 – 47.
- Wahjuningrum, D., E.K. Hidayatus., T. Buiardi dan M. Setiawati. 2010. Pengendalian Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias Sp.*) dengan Campuran Meniran (*Phyllanthus niruri*) dan Bawang (*Allium sativum*) dalam Pakan. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 9(2): 93 – 103.
- Yulianto, R., Y.T. Adiputra dan Agus Setyawan. 2013. Perubahan Jaringan Organ Ikan Komet (*Carrasius auratus*) yang Diinfeksi dengan *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Rekrayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. II(1): 197 – 204.