

**Analisis Ekstrak Tiga Varietas Jahe (*Zingiber officinale*) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophyla*, Hematologi dan Respon Imun Ikan Lele (*Clarias gariepinus*)**

***Analysis of Extracts of Three Ginger Varieties (*Zingiber officinale*) on the Inhibitory Power of *Aeromonas hydrophyla* Bacteria, Hematology and Immune Response of Catfish (*Clarias gariepinus*)***



**Musfirah  
L012201012**



**PROGRAM MAGISTER ILMU PERIKANAN  
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**



**Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)**

**Analisis Ekstrak Tiga Varietas Jahe Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophyla*, Hematologi dan Respon Imun Ikan Lele (*Clarias gariepinus*)**

**MUSFIRAH M  
L012201012**



**PROGRAM MAGISTER ILMU PERIKANAN  
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

## PERNYATAAN PANGAJUAN

**Analisis Ekstrak Tiga Varietas Jahe Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophyla*,  
Hematologi dan Respon Imun Ikan Lele (*Clarias gariepinus*)**

Tesis  
Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister  
Program Studi Ilmu Perikanan

Disusun dan diajukan oleh

MUSFIRAH M  
L012201012

Kepada



**PROGRAM MAGISTER ILMU PERIKANAN  
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**HALAMAN PENGESAHAN****TESIS**

**Analisis Ekstrak Tiga Varietas Jahe Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophyla*,  
Hematologi dan Respon Imun Ikan Lele (*Clarias gariepinus*)**

**MUSFIRAH M  
L012201012**

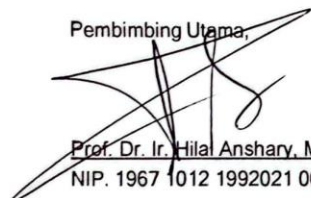
Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Magister pada tanggal 7 bulan Agustus tahun 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

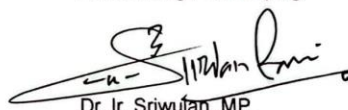
Program Study Magister Ilmu Perikanan  
Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

Mengesahkan:

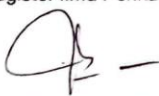
Pembimbing Utama,

  
Prof. Dr. Ir. Hila Anshary, M.Sc  
NIP. 1967 1012 1992021 001

Pembimbing Pendamping,

  
Dr. Ir. Sriwulan, MP  
NIP. 19660630 199103 2 002

Ketua Program Studi  
Magister Ilmu Perikanan,

  
Dr. Ir. Badraeni, M.P  
NIP. 19651023 199103 2 001

Dekan Fakultas Ilmu Kelautan dan  
Perikanan, Universitas Hasanuddin

  
Prof. Safruddin, S.Pi., MP., Ph.D  
NIP. 19750611 200312 1 003



## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul “ Analisis Ekstrak Tiga Varietas Jahe Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophyla*, Hematologi dan Respon Imun Ikan Lele (*Clarias gariepinus*)” adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing Prof. Dr. Ir. Hilal Anshary, M.Sc dan Dr. Ir. Sriwulan, M.P. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di ( African Journal of Biological Sciences, Volume 6, Hal 2438-2445, <https://doi.org/10.48047/AFJBS.6.8.2024.2437-2445>) sebagai artikel dengan judul “Analysis of Giving Ethanol Extract of Red Ginger in Feed on Hematology and Differential Leukocytes in Catfish (*Clarias gariepinus*)”. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 19 Agustus 2024



**MUSFIRAH M**  
**L01 2201 012**



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

## UCAPAN TERIMA KASIH

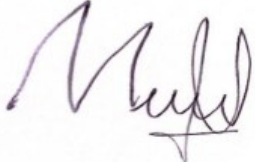
Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis dengan judul “Analisis Ekstrak Tiga Varietas Jahe Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophyla*, Hematologi dan Respon Imun Ikan Lele (*Clarias gariepinus*)” pada 2024. Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan gelar Magister Ilmu Perikanan pada Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penelitian yang penulis lakukan dapat terlaksana dan tesis ini dapat dirampungkan berkat dukungan, motivasi dan bimbingan dari Prof. Dr. Ir. Hilal Anshary, M.Sc. sebagai pembimbing utaman, Dr. Ir. Sriwulan, MP. sebagai pembimbing kedua, Dr. Ir. Gunarto Latama, M.Sc.. sebagai penguji 1, Asmi Citra Malina, S.Pi, M.Agr, PhD. sebagai penguji 2, dan Dr. Andi Aliah Hidayani, S.Si, M.Si sebagai penguji 3. Oleh karenanya, terima kasih yang sebesar-besarnya penulis haturkan.

Ucapan terima kasih juga penulis haturkan kepada Prof. Syafruddin, M.Sc, Ph.D, selaku Dekan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin dan Dr. Ir. Badraeni, M. P. selaku ketua Program Studi Magister Ilmu Perikanan, Universitas Hasanuddin, serta kepada seluruh staf dan pengajar Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan khususnya para dosen Program Studi Magister Ilmu Perikanan yang turut membantu dan memberikan saran pada penyusunan tesis ini.

Kepada kedua orang tua tercinta Bapak Ir. H. Mustading dan Ibu Dra. Hj. Hasniati, Suami terkasih Madani Rahmatullah S.Sos dan adik Mustainah S.H penulis mengucapkan terima kasih atas segala doa, dukungan, motivasi dan pengorbanan secara moril serta materil selama penulis menempuh pendidikan. Ucapan terima kasih yang besar juga penulis sampaikan kepada sahabat dan teman Magister Ilmu Perikanan 2020 yang turut membantu, memberikan motivasi dan dukungan yang tak ternilai.

Penulis,



Musfirah M



## ABSTRAK

**Musfirah.** L012201012. “ Analisis Ekstrak Tiga Varietas Jahe (*Zingiber officinale*) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas hydrophila*, Hematologi, dan Respon Imun Ikan Lele (*Clarias gariepinus*)” (Hilal Anshary dan Sriwulan)

**Latar Belakang.** Ikan lele (*Clarias gariepinus*) merupakan spesies akuakultur penting, khususnya di Indonesia. Infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan prevalensi yang tinggi pada ikan lele budidaya berdampak negatif pada produksi dan menimbulkan kerugian ekonomi. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kemampuan Ekstrak Jahe dalam menghambat dan membunuh bakteri *A. hydrophila* pada Ikan Lele serta respon hematologi dan imun ikan lele. **Metode.** Tiga varietas jahe (*Zingiber officinale* var Rubrum, *Z. officinale* var Amaram, dan *Z. officinale* var. *Officinarum*) diekstraksi menggunakan etanol lalu dilakukan uji daya hambat dan uji *Minimum Inhibiting Concentration* (MIC) untuk menentukan ekstrak jahe yang mampu menghambat bakteri *A. hydrophila*. Metode penelitian eksperimen dengan rancangan acap lengkap (RAL) terdiri atas lima perlakuan dengan masing-masing tiga kali ulangan, sehingga terdapat 15 satuan percobaan. Perlakuan pada penelitian ini adalah dosis ekstrak jahe merah dalam pakan, yaitu perlakuan A: 50 ppm, B: 100 ppm, C: 150 ppm, D: 200 ppm, E : Tanpa ekstrak. Pemeliharaan hewan uji selama 14 hari di Hatchery Fakultas ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin Makassar. Hewan uji yang digunakan adalah Ikan Lele. Parameter yang diamati uji fitokimia, daya hambat, uji MIC, hematologi dan respon imun. **Hasil.** Uji fitokimia menunjukkan bahwa semua ekstrak mengandung fenolik, alkaloid, dan flavonoid. Uji MIC menunjukkan ekstrak jahe merah 50 ppm memiliki nilai absorbansi 0.653, mendekati nilai *Chloramphenicol* sebagai kontrol positif (0.590) jika dibandingkan jahe emprit (0.726) dan jahe gajah (0.885). Pada Uji Daya hambat menunjukkan ekstrak jahe merah memiliki zona bening yang tergolong kuat dibanding ekstrak jahe emprit dan ekstrak jahe gajah. Ekstrak jahe merah dengan berbagai konsentrasi (50, 100, 150, 200 ppm) dicampur dengan pakan komersial dan diberikan kepada ikan lele selama 14 hari pemeliharaan. Hasil menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh signifikan ( $P>0,05$ ) pada jumlah sel eritrosit dan sel leukosit antar perlakuan. Namun, terdapat pengaruh signifikan ( $P<0,05$ ) pada limfosit dan monosit, tetapi tidak pada neutrofil ( $P>0,05$ ). Aktivitas fagositosis tidak menunjukkan pengaruh signifikan dari semua perlakuan ( $P>0,05$ ), sementara aktivitas lisozim menunjukkan perbedaan signifikan ( $P<0.05$ ) antara penambahan ekstrak yang lebih tinggi dibandingkan kontrol. **Kesimpulan.** Penelitian ini merekomendasikan penggunaan ekstrak jahe merah dengan konsentrasi 125 ppm untuk meningkatkan performa hematologi dan respon imun ikan lele terhadap infeksi *A. hydrophila*. Penelitian ini memberikan wawasan baru tentang potensi jahe sebagai agen imunostimulan dalam akuakultur.

Kata kunci : *Aeromonas hydrophila*, Ikan Lele, Hematologi, Respon Imun





## ABSTRACT

**Musfirah** . L012201012. " Analysis Extract Several Types of Ginger Against Inhibitory Power *Aeromonas hydrophila* bacteria , Hematology , and the Immune Response of Catfish ( *Clarias gariepinus* )" ( **Hilal Anshary and Sriwulan** )

**Background** . Catfish (*Clarias gariepinus* ) is species aquaculture important , especially in Indonesia. Infection bacteria *Aeromonas hydrophila* with high prevalence in catfish cultivation impact negative on production and give rise to loss economy. **Objective** . Study This aim For analyze ability Extract Ginger inside inhibit and kill bacteria *A. hydrophila* in catfish as well as response Hematology and immunity of catfish . **Method** . Three varieties ginger (*Zingiber officinale* var *Rubrum* , *Z. officinale* var *Amarum* , and *Z. officinale* var. *Officinarum* ) were extracted use ethanol Then power test is carried out inhibitors and *Minimum Inhibiting Concentration* (MIC) tests for determine extract capable ginger hinder *A. hydrophila* bacteria . Research methods experiment with design often complete (RAL) consists over five treatments with three repetitions each , so that there are 15 units test . Treatment in research This is dose extract ginger red in feed , that is Treatment A: 50 ppm, B: 100 ppm, C: 150 ppm, D: 200 ppm, E: Without extract . Maintenance test animals for 14 days at the Faculty Hatchery knowledge Maritime Affairs and Fisheries Hasanuddin University Makassar. Test animals used is Catfish. Parameters observed in phytochemical tests , power inhibition , MIC test, hematology and response immune . **Results** . Phytochemical test show that all extract contain phenolics , alkaloids and flavonoids. MIC test shows extract ginger red 50 ppm has mark absorbance 0.653, close mark *Chloramphenico* l as control positive (0.590) if compared to ginger emprit (0.726) and ginger elephant (0.885). In the Inhibitory Test show extract ginger red has a classified clear zone strong compared extract ginger emprit and extract ginger elephant . Extract ginger red with various concentrations (50, 100, 150, 200 ppm) are mixed with feed commercial and given to catfish for 14 days maintenance . The results show that No There is influence significant ( $P>0.05$ ) on the number cell erythrocytes and cells leukocytes between treatment . However , there are influence significant ( $P<0.05$ ) in lymphocytes and monocytes , but not in neutrophils ( $P>0.05$ ). Activity phagocytosis No show influence significant from all treatment ( $P>0.05$ ), while activity lysozyme show difference significant ( $P<0.05$ ) between addition more extract tall compared to control . **Conclusion** . Study This recommend use extract ginger red with concentration of 125 ppm for increase performance hematology and response catfish immunity to infection *A. hydrophila* . Study This give outlook new about potency ginger as agent immunostimulant in aquaculture .

Keywords : *Aeromonas hydrophila* , Catfish, Hematology , Immune Response





## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN PENGAJUAN .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS .....	v
UCAPAN TERIMAKASIH .....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan dan Manfaat .....	2
1.4 Hipotesis .....	2
1.5 Landasan Teori.....	3
1.5.1 Morfologi Ikan Lele .....	3
1.5.2 Kebiasaan makan ikan lele.....	3
1.5.3 Syarat dan kebiasaan hidup ikan lele.....	4
1.5.4 Penyakit ikan lele .....	4
1.5.5 Bakteri patogen <i>aeromonas hydrophyla</i> .....	5
1.5.6 Diskripsi varietas tanaman jahe.....	6
1.5.7 Kandungan senyawa kimia tanaman jahe.....	8
1.5.8 Ekstraksi.....	10
1.5.9 Hematologi Ikan .....	10
1.5.10 Respon imun .....	11
1.6 Kerangka pikir .....	12
BAB II. METODE PENELITIAN .....	14
2.1 Waktu dan Tempat.....	14
bahan .....	14
penelitian.....	14
iliasi peralatan .....	14
yediaan bakteri uji .....	14



	x
2.3.3	Persiapan dan ekstraksi tanaman jahe ..... 14
2.3.4	Hewan uji ..... 15
2.3.5	Persediaan wadah ..... 15
2.3.6	Persiapan pakan uji ..... 15
2.3.7	Pemeliharaan ikan uji ..... 15
2.4	Perlakuan dan rancangan percobaan ..... 15
2.5	Parameter yang diamati ..... 16
2.5.1	Uji Minimum Inhabitation concentration ..... 16
2.5.2	Uji daya hambat varietas jahe ..... 16
2.5.3	Uji fitokimia tanaman jahe ..... 16
2.5.4	Performa hematologi ..... 17
2.5.5	Respon imun ikan lele ..... 17
2.6	Kualitas Air..... 18
2.7	Analisis data ..... 18
<b>BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN..... 19</b>	
3.1	Hasil ..... 19
3.1.1	MIC ..... 19
3.1.2	Uji daya hambat..... 20
3.1.3	Uji fitokimia ekstrak varietas jahe ..... 20
3.1.4	Performa hematologi ..... 21
3.1.5	Respon imun..... 22
3.1.6	Kualitas Air..... 23
3.2	Pembahasan..... 24
3.2.1	MIC ..... 24
3.2.2	Uji daya hambat..... 24
3.2.3	Uji fitokimia varietas jahe ..... 25
3.2.4	Eritrosit..... 25
3.2.5	Leukosit ..... 26
3.2.6	Diferensial leukosit..... 26
3.2.7	Aktivitas Fagositosis ..... 27
3.2.8	Aktivitas lisozim ..... 27
3.2.9	Kualitas Air..... 28
<b>BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN ..... 29</b>	
4.1	Kesimpulan ..... 29



.....	29
.....	28
.....	37

## DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Tabel 1. Hasil Uji MIC Ekstrak Jahe Merah.....	19
2. Tabel 2. Hasil Uji MIC Ekstrak Jahe Gajah.....	19
3. Tabel 3. Hasil Uji MIC Ekstrak Jahe Emprit.....	19
4. Tabel 4. Hasil Uji Daya Hambat.....	20
5. Tabel 5. Hasil Uji Fitokimia Tiga Varietas Jahe.....	20
6. Tabel 6. Hasil Uji Flavonoid Ekstrak Jahe Merah.....	20
7. Tabel 7. Total eritrosit ikan lele <i>C.gariepinus</i> .....	21
8. Tabel 8. Total Leukosit ikan Lele <i>C.gariepinus</i> .....	22
9. Tabel 9. Diferensial Leukosit Ikan Lele <i>C.gariepinus</i> .....	22
10. Tabel 10. Aktivitas Fagositosis Ikan Lele <i>C.gariepinus</i> .....	23
11. Tabel 11. Aktivitas Lisozim Ikan Lele <i>C.gariepinus</i> .....	23
12. Tabel 12. Kualitas Air Selama Pemeliharaan.....	23
13. Tabel 13. Kategori diameter zona hambat .....	24



**DAFTAR GAMBAR**

Nomor urut	Halaman
1. Gambar 1. Ikan Lele ( <i>Clarias gariepinus</i> ).....	3
2. Gambar 2. Gambar varietas tanaman Jahe.....	8
3. Gambar 3. Kerangka pikir penelitian.....	13
4. Gambar 4. Gambar Sel eritrosit.....	21
5. Gambar 5. Gambar Sel Leukosit.....	21



**DAFTAR LAMPIRAN**

Nomor urut	Halaman
1. Lampiran 1. Hasil Laboratorium uji fitkomia dan Kadar Flavonoid.....	37
2. Lampiran 2. Data Anova.....	39
3. Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian.....	46



## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Salah satu komoditi budidaya perikanan yang jumlah peminatnya cukup tinggi di Indonesia adalah Ikan Lele, dikarenakan memiliki protein yang tinggi, mempunyai nilai ekonomis yang tinggi, dapat hidup dengan padat tebar yang tinggi, pertumbuhannya cepat, serta mudah untuk dibudidayakan (Yuliantoro *et al.*, 2017). Berdasarkan data Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) menyatakan bahwa produksi Ikan Lele di Sulawesi Selatan mengalami peningkatan lima tahun terakhir yaitu pada tahun 2016 sebanyak 2.365,60 ton menjadi 2.807,56 ton pada tahun 2019 dan mengalami sedikit penurunan di tahun 2020 yaitu 2.726,09 ton

Salah satu kendala bagi pembudidaya saat ini adalah terjadinya penurunan produksi pada Ikan Lele yang disebabkan berbagai faktor, yaitu, antara lain adalah serangan wabah penyakit ikan (Wise *et al.*, 2021) yang sifatnya patogenik seperti dari golongan parasit, jamur, virus, dan bakteri (Korni *et al.*, 2017; Hoa *et al.*, 2021). Salah satu jenis bakteri yang sering menyerang ikan lele adalah bakteri *Aeromonas hydrophila* (*A. hydrophila*) (Nasrullah *et al.*, 2021), yang menyebabkan penyakit serius *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) pada inang (Zubaidah *et al.*, 2021; Mulia *et al.*, 2023). Gejala klinis ikan lele yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* yaitu sirip sering berjumbai dan memerah disertai warna kulit yang memucat, kulit permukaan ikan terkelupas dan memperlihatkan otot di bawahnya (Saputra dan Indaryanto, 2018).

Penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) merupakan masalah serius bagi industri budidaya ikan di Mesir serta negara lain karena dapat menyebabkan kematian ikan hingga 80 % sehingga mempengaruhi produksi berbagai macam ikan air tawar lainnya (Korni *et al.*, 2017). Penanggulangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri umumnya menggunakan antibiotik (Mondal *et al.*, 2022). Penggunaan antibiotik telah banyak dilakukan terutama karena sifat antibiotik yang secara selektif dapat menghambat dan membunuh organisme patogen tanpa merusak inang yang diobati sejauh dosisnya tepat (Retnoningsih *et al.*, 2009). Tetapi penggunaan antibiotik tidak terkontrol dapat berdampak buruk karena dapat menimbulkan residu pada ikan dan dapat membahayakan kesehatan konsumen yang mengkonsumsi ikan dengan residu antibiotik (Anggraini *et al.*, 2017; guardone *et al.*, 2022). Penggunaan antibiotik secara berkelanjutan dan tak terkontrol akan dapat menimbulkan resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut. Selain itu, penggunaan antibiotik juga tidak ramah terhadap lingkungan. Menyikapi permasalahan tersebut maka perlu diupayakan penggunaan obat yang aman untuk mengendalikan *A. hydrophila*, salah satunya menggunakan sumber hayati dari tumbuh-tumbuhan (Kusumawardani *et al.*, 2008; Tadese *et al.*, 2022).

Pemanfaatan tanaman sebagai antimikroba karena memiliki kandungan kimia yang secara alami tidak menimbulkan efek samping berbahaya dan ramah lingkungan, tidak membutuhkan biaya yang besar dan tanamannya mudah tumbuh dan di dapatkan di lingkungan sekitar (Azkiyah, 2020). Penelitian tentang tumbuhan yang digunakan sebagai obat dalam budidaya ikan telah banyak dilakukan dan menunjukkan efektivitas tumbuhan sebagai obat, seperti penggunaan cinnamon powder and cinnamon leaf extract dalam mencegah Infeksi *A. hydrophila* (Susanti *et al.*, 2021); ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*) (Aisiah *et al.*, 2022), tanaman bakau (*Avicennia marina*) untuk pencegahan *A. hydrophila* (Mulia *et al.*, 2022). Daun Binahong dan Bawang putih pada Ikan Lele Dumbo yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila* (Fitriyanti *et al.*, 2020), Daun Inai pada Ikan Lele Sangkuriang (Karina *et al.*, 2015), dan Daun salam terbukti menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* (Tammi *et al.*, 2018).

Salah satu jenis tumbuhan yang dapat dijadikan obat adalah tanaman Jahe (*Zingiber officinale*).

*Zingiber officinale* merupakan salah satu tanaman yang sudah populer sebagai rempah-rempah dan jahe memiliki beberapa varietas yang sering digunakan yaitu Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubra*), Jahe Gajah (*Zingiber officinale* var. *Roscoe*) dan Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) (Snadi, 2017).

Tanaman jahe yang dimanfaatkan adalah bagian rimpangnya dan sebagai bahan baku obat maupun sebagai bahan tambahan pangan pada masakan. Kandungan senyawa



pada tanaman jahe yang dimanfaatkan merupakan hasil dari proses metabolit sekunder seperti golongan flavonoid, terpenoid dan minyak atsiri serta fenol. Kandungan senyawa tersebut berpotensi menghambat pertumbuhan dari beberapa bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit (Askiyah, 2020). Njobdi *et al.* (2018) menambahkan bahwa rimpang jahe kering mengandung sekitar 1- 4% minyak atsiri yang dianggap sebagai komponen aktif yang bertanggung jawab memberikan rasa dan bau yang khas. Gingerol adalah senyawa utama yang memberi rasa pedas dalam jahe yang juga dapat diubah menjadi zingerone, paradol dan shogaols. Gingerol telah terbukti memiliki efek anti-inflamasi, antipiretik, antitusif, analgesik dan hipotensi.

Hasil penelitian Indriani *et al.* (2014) menyatakan bahwa penggunaan ekstrak Jahe Merah (*Z. officinale var. Rubrum*) sebagai alternatif pengobatan terhadap Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan ekstrak ini mampu menyembuhkan luka (ulcer) pada ikan nila yang diinfeksi *A. hydrophila*. Selanjutnya hasil penelitian Nurjanah dan Fathia (2017) menemukan bahwa ekstrak Jahe kering memiliki aktivitas antimikroba terhadap beberapa bakteri patogen.

Kajian penggunaan ekstrak berbagai varietas jahe untuk menghambat bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan Lele masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kemampuan ketiga ekstrak varietas jahe yaitu jahe merah, jahe gajah dan jahe emprit dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hasil terbaik akan dilanjutkan dengan menganalisis performa hematologi dan efeknya dalam meningkatkan sistem imun ikan Lele (*Clarias gariepinus*).

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Jenis jahe apa saja yang memiliki daya hambat tinggi terhadap bakteri *A. hydrophila*
2. Golongan senyawa metabolik sekunder apa saja yang terdapat pada ekstrak tanaman jahe yang didapatkan?
3. Bagaimana efek pemberian ekstrak tanaman Jahe terhadap performa hematologi Ikan Lele ?
4. Bagaimana efek pemberian ekstrak tanaman Jahe terhadap respon imun Ikan Lele ?

## 1.3 Tujuan dan Kegunaan

Berdasarkan uraian tersebut diatas, maka dapat dirumuskan tujuan penelitian ini adalah :

1. Menganalisis kemampuan ekstrak berbagai jenis tanaman Jahe dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* pada Ikan Lele
2. Identifikasi senyawa metabolik sekunder yang terkandung dalam ekstrak berbagai jenis tanaman jahe.
3. Menganalisis efek pemberian ekstrak tanaman jahe terhadap performa hematologi Ikan Lele
4. Menganalisis efek pemberian ekstrak tanaman jahe terhadap respon imun Ikan Lele

Kegunaan penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan informasi mengenai ekstrak berbagai jenis jahe sebagai antibakteri dan kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Selain itu juga dapat dijadikan acuan untuk para pembudidaya dalam meningkatkan produksi Ikan Lele dan penurunan penggunaan antibiotik.

## 1.4. Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Ekstrak berbagai jenis tanaman jahe mempunyai kemampuan yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*
  2. Ekstrak berbagai jenis tanaman jahe memiliki senyawa metabolik sekunder yang berbeda
- Ekstrak Jahe Merah mampu meningkatkan performa hematologi Ikan Lele.  
Ekstrak Jahe Merah mempengaruhi respon imun Ikan Lele





## 1.5 Landasan Teori

### 1.5.1 Morfologi Ikan Lele (*Clarias gariepinus*)

Klasifikasi Ikan Lele Dumbo sebagai berikut (Burchell, 1822) :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Teleostei
Ordo	: Siluriformes
Famili	: Claridae
Genus	: <i>Clarias</i>
Spesies	: <i>Clarias gariepinus</i>

Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) adalah sejenis ikan konsumsi yang hidup di air tawar. (Gambar 1.) Lele mudah dikenali karena tubuhnya yang licin dan agak pipih memanjang, Secara morfologi ikan ini tidak bersisik, berlendir dan agak bulat pada bagian tengah badanya, dengan kepala pipih kebawah (*depressed*), sedangkan bagian belakang tubuhnya berbentuk pipih kesamping (*compressed*). Sekitar mulut terdapat empat pasang sungut peraba yang berfungsi sebagai alat peraba saat mencari makan atau saat bergerak. Dekat sungut terdapat pula alat olfaktori yang berfungsi untuk perabaan dan penciuman serta penglihatan lele yang kurang berfungsi dengan baik (Saputri dan Razak, 2018).

Kepala bagian atas dan bawah tertutup oleh tulang pelat. Tulang pelat ini membentuk ruangan rongga diatas insang. Di sinilah terdapat alat pernafasan tambahan yang tergabung dengan busur insang kedua dan keempat. Mulut terletak pada ujung moncong (terminal) dengan dihiasi 4 sungut (kumis). Lubang hidung yang depan merupakan tabung pendek berada di belakang bibir atas, sedangkan lubang hidung sebelah belakang merupakan celah yang kurang lebih bundar berada di belakang sungut nasal. Mata berbentuk kecil dengan tepi orbital yang bebas (Kordi, 2010).

Sirip ekor lele membulat dan tidak bergabung dengan sirip punggung maupun sirip anal. Sirip ekor berfungsi untuk bergerak maju. Sementara itu, sirip perut membulat dan panjangnya mencapai sirip anal. Sirip dada lele dilengkapi sepasang duri tajam yang umumnya disebut patil untuk membela diri dari gangguan luar. Alat pernapasan yang dimiliki Ikan Lele berupa insang serta labirin sebagai alat pernapasan tambahan (Mahyuddin, 2008).



Gambar 1. Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) (Dokumentasi penelitian, 2023).

### 1.5.2 Kebiasaan Makan Ikan Lele

Kebiasaan makan adalah makanan yang dimakan ikan mencakup jenis dan jumlah makanan. Kebiasaan makan ikan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain habitat hidup, kesukaan terhadap jenis makanan tertentu, musim, umur, dan ukuran ikan. Faktor-faktor yang menentukan suatu spesies ikan akan memakan jenis organisme makanan adalah ketersediaan makanan, ukuran makanan, warna, rasa, tekstur, dan selera ikan terhadap makanan (Astriana *et al.*, 2021).



memakan hewan dan pemakan bangkai. Makanannya berupa binatang renik, seperti *Amphipoda*, *Cladocera*, *Copepoda*) cacing larva (jentik-jentik serangga), siput kecil dan lele juga memakan makanan yang membusuk seperti bangkai hewan dan kotoran manusia. Ikan lele mencari makanan di dasar perairan, tetapi bila ada makanan yang terapung maka lele akan menyambarnya. Dalam mencari makanan, lele tidak mengalami kesulitan karena

mempunyai alat peraba (sengut) yang sangat peka terhadap keberadaan makanan, baik di dasar, pertengahan, maupun permukaan perairan (Kordi, 2010).

Secara alami ikan lele bersifat nokturnal, yang aktif pada malam hari atau lebih menyukai tempat yang gelap. Pada siang hari ikan lele lebih memilih berdiam diri dan berlindung di tempat-tempat gelap. Ikan lele termasuk dalam golongan ikan pemakan segala (omnivora) tapi cenderung pemakan daging (karnivora) (Irfandi *et al.*, 2019).

Lele dikenal sebagai ikan yang rakus dalam hal makan, walaupun dikenal sebagai pemakan hewan (karnivor) tetapi juga menyantap apa saja yang diperolehnya, termasuk sisa-sisa dapur, seperti nasi dan dedak yang diberikan di kolam. Jika lele diberi pakan yang banyak mengandung protein nabati maka pertumbuhannya lambat. Pertumbuhan lele dapat dipacu dengan pemberian pakan berupa pellet yang mengandung protein minimal 25% juga diberikan pakan tambahan berupa bangkai ayam, bangkai itik, ikan rucah, daging bekicot, siput air, dan sebagainya (Primaningtyas *et al.*, 2015).

### 1.5.3 Syarat dan Kebiasaan Hidup Ikan Lele

Ikan Lele dapat hidup pada lingkungan perairan dengan kadar oksigen rendah dan kadar CO<sub>2</sub> tinggi. Karena sifatnya itu pula, lele dapat hidup pada perairan tenang yang keruh seperti waduk, danau, rawa dan genangan air lainnya. Kebanyakan lele tidak suka berenang dan lebih suka bersembunyi di dalam lumpur (Romola *et al.*, 2013).

Lele dapat hidup di lingkungan dengan kualitas air kurang baik yaitu kandungan ammonia mencapai 5,70 mg/L, namun untuk memperoleh hasil optimal sebaiknya dibudidayakan dalam air dengan kisaran suhu 24-28°C, berkadar O<sub>2</sub> cukup dan kandungan karbondioksida (CO<sub>2</sub>) dalam air kurang dari 12 ppm dengan derajat keasaman 6,5-7, kandungan ammonia (NH<sub>3</sub>) yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kematian lele (Ernawati *et al.*, 2021).

Lele mempunyai alat pernafasan tambahan yang disebut arborescent organ, yaitu membran yang berlipat-lipat penuh dengan kapiler darah yang terletak di bagian atas lengkung insang kedua dan ketiga, serta berbentuk mirip dengan pohon atau bunga-bunga. Oleh karena itu, lele dapat mengambil oksigen langsung dari udara dengan cara menyembul ke permukaan air. Dengan demikian, lele dapat bertahan hidup di perairan yang airnya mengandung sedikit oksigen. Lele juga relatif tahan terhadap pencemaran bahan organik. Oleh karena itu lele tahan di comberan yang airnya kotor dan tergenang.

Lele hidup dengan baik di dataran rendah sampai pada ketinggian 600 meter di atas permukaan laut (dpl) dengan suhu 25-30° C. pada ketinggian diatas 700 meter dpl, pertumbuhan Ikan Lele kurang baik. Lele tidak cocok hidup di air payau atau asin, walaupun sering berenang hingga ke bagian air yang agak payau.

Lele termasuk hewan malam (nokturnal) dan menyukai tempat yang gelap. Aktif bergerak mencari makan pada malam hari dan memilih berdiam diri atau bersembunyi di tempat terlindung pada siang hari. Seseekali ikan ini muncul di permukaan untuk menghirup oksigen langsung dari udara.

### 1.5.4 Penyakit pada Ikan Lele

Penyakit bakteri yang menyerang Ikan Lele merupakan salah satu jenis penyakit infeksius. Ketidakserasian antara tiga komponen utama, yaitu lingkungan, biota dan organisme penyebab penyakit. Oleh karena itu, penyakit bakterial menjadi “*Big Concern*” bagi para pembudidaya. Bakteri yang pernah dilaporkan menjadi agensia penyakit bakteri pada Ikan Lele adalah *Aeromonas sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Edwardsiella sp.* dan *Vibrio sp.* Gejala klinis yang ditunjukkan oleh ikan yang terserang bakteri adalah nafsu makan berkurang, ikan cenderung tidak aktif, berenang tidak wajar, insang rusak, kadang-kadang terdapat bintik-bintik putih, berwarna pucat dan geripis. Selain itu ikan akan megap-megap seperti kesulitan bernafas (Saputri dan Razak, 2018).

Banyak jenis ikan banyak yang termasuk golongan bakteri Gram negatif seperti *Aeromonas*, bakteri *Aeromonas* dapat menyerang hampir semua jenis ikan air tawar dan ikan kakap di tambak bersalinitas rendah. Berbagai jenis bakteri yang dapat menginfeksi ikan. Gejala-gejala klinis misalnya pendarahan, borok, sirip yang hancur dan lesi. Penyakit hampir selalu terdapat dalam kolam, di permukaan tubuh ikan dan pada bagian tubuh (dalam lainnya) yaitu antara lain: *Pseudomonas flourescens*, *Vibrio anguillarum*,



*Streptococcus faecalis*, *Mycobacterium*, *Aeromonas hydrophila* dan *Nocardia asteroides* (Yuliantoro *et al.*, 2017).

Infeksi bakteri yang disebabkan oleh anggota genus *Aeromonas* adalah salah satu penyakit yang paling umum dan mengganggu ikan yang dibesarkan di kolam. *Aeromonas spp.* Merupakan patogen yang penting dan merupakan ancaman bagi sektor akuakultur. Penyebaran bakteri ini secara luas di lingkungan perairan diakibatkan oleh tingkat stress yang tinggi pada praktik budidaya intensif mengakibatkan ikan rentan terinfeksi. Tingkat kematian pada infeksi ini dapat mencapai 100 persen, dalam banyak kasus infeksi yang disebabkan spesies aeromonas motil mesofilik menunjukkan lesi patologis yang hanya dapat dilihat pada kulit dan organ dalam (Unver dan Bakici, 2021).

Salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* yaitu penyakit MAS (*Motile aeromonas septicema*) yang sampai saat ini merupakan salah satu kendala besar dalam budidaya ikan air tawar, tidak terkecuali ikan Lele Dumbo. Serangan bakteri ini dapat menyebabkan kematian benih ikan Lele 80 – 100% dalam waktu sekitar satu minggu (Setyani *et al.*, 2018). Sejak wabah *Motile aeromonas septicema* pada tahun 2009 di daerah Mississippi Timur Amerika Serikat telah menyebabkan kerugian pada budidaya Ikan Lele sebesar tiga juta pound ukuran ikan konsumsi di setiap tahunnya. Sampai saat ini kondisi nyata yang menyebabkan wabah penyakit ini sebagian besar tidak diketahui dan tidak ada pengelolaan penyakit yang direkomendasikan yang pernah berhasil di masa lalu yang tampaknya efektif dalam membatasi atau mencegah wabah penyakit ini (Zhangy *et al.*, 2016).

Wabah penyakit MAS biasanya dikaitkan dengan perubahan berganda faktor lingkungan termasuk fluktuasi mendadak suhu air, penanganan yang kasar, amoniak yang tinggi, rendahnya kadar oksigen terlarut dan cedera epidermis akibat infeksi jamur dan parasit (Monir *et al.*, 2020).

Pengendalian penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) yang disebabkan oleh *A. hydrophila* selama ini masih mengandalkan penggunaan obat dan antibiotik, padahal dengan cara ini banyak menimbulkan masalah yaitu daging ikan yang pernah diterapi dengan beberapa antibiotik tidak diterima di banyak negara, harga obat dan antibiotik yang cukup mahal serta resisten pada bakteri dapat meningkat dengan penggunaan obat secara terus-menerus (Azhar dan Wirasisya, 2019).

### 1.5.5 Bakteri Patogen *Aeromonas hydrophila*

*Aeromonas hydrophila* mulai dikenal di Indonesia sekitar tahun 1980. Bakteri ini menyebabkan wabah penyakit pada ikan karper di Jawa Barat dan berakibat pada kematian ikan sebanyak 125 ton. Di tahun yang sama, kejadian serupa juga terjadi di mana dikenal dengan nama penyakit borok/penyakit merah, yang mengakibatkan kematian sekitar kurang lebih 173 ton ikan mas, termasuk di dalamnya 30% ikan-ikan kecil/benih. Kematian ini disebabkan oleh bakteri *Aeromonas sp.* (Arwin *et al.*, 2016).

*A. hydrophila* merupakan bakteri Gram negatif yang bersifat patogen. Beberapa bakteri golongan Gram negatif tidak mengeluarkan cairan racun, tetapi membuat endotoksin yang dilepaskan apabila sel mati atau pecah. Endotoksin merupakan lipopolisakarida pada dinding sel bakteri. Bakteri juga menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menyerang ikan sehat (Muslikha *et al.*, 2016). Morfologi koloni dari *A. hydrophila* yaitu berwarna krem, elevasi cembung, dan tepiannya halus, sedangkan morfologi selnya berbentuk batang dan bersifat gram negatif (Wahjuningrum *et al.*, 2013).

Anggraini *et al.* (2016) menemukan kisaran hidup *A. hydrophila* pada suhu diantara 15°C - 37°C, pH atau derajat keasaman 5,5 - 9. Kualitas air yang buruk dapat mengakibatkan ikan menjadi stres dan dapat menurunkan sistem imun pada ikan sehingga bakteri *A. hydrophila* yang bersifat patogen oportunistik mudah menginfeksi ikan yang dipelihara.

Bakteri ini menginfeksi Ikan Lele dan menyebabkan penyakit penyakit bercak merah. Saat masuk ke dalam pembuluh darah *A. hydrophila* menghasilkan enzim hemolisin yang merupakan eksotoksin. Hemolisin memiliki kemampuan untuk melisis sel darah merah sehingga jumlah sel darah merah pada pembuluh darah cenderung berkurang (Pulungan *et al.*, 2022). Ditambahkan oleh Fitriyanti *et al.* (2020)

pendarahan diduga karena adanya toksik yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* yang menimbulkan peradangan dan luka pada ikan disebabkan oleh enzim-enzim *A. hydrophila* yang menghasilkan enzim hemolisin, yang kemudian masuk ke dalam tubuh ikan dan dapat menyebabkan kerusakan tubuh yang terinfeksi, karena pada jaringan otot dan saluran darah terdapat protein. Toksin hemolisin memecah sel-sel darah merah sehingga sel keluar dari



pembuluh yang dapat menimbulkan warna kemerahan pada permukaan tubuh ikan. Munculnya borok atau ulcer disebabkan oleh tingginya kepadatan bakteri tersebut.

Infeksi bakteri *Aeromonas* telah diketahui selama bertahun-tahun dengan berbagai nama diantaranya *motil aeromonas septicaemia (MAS)*, *motil aeromonas infeksi (MAI)*, *hemorrhagi septicaemia*, *red pest* (hama merah) dan penyakit merah. Beberapa dapat menyebabkan penyakit tersebut antara lain *Aeromonas hydrophila* dan *Aeromonas caviae*. *Motil Aeromonas* mampu beradaptasi pada lingkungan dengan berbagai pH, salinitas, dan suhu. Bakteri ini tersebar luas di lingkungan perairan, *Aeromonas* dianggap sebagai patogen oportunistik, yang dapat menimbulkan penyakit ketika daya tahan tubuh ikan di populasi melemah atau sebagai infeksi sekunder yang menyertai penyakit ikan lainnya. Penyakit akibat bakteri *A. hydrophila* sangat mudah menular pada ikan lain yang berada disekitar ikan yang terkena penyakit (Yuliantoro *et al.*, 2017).

Gejala klinis Ikan Lele yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* yaitu warna tubuh menjadi gelap, timbul pendarahan yang kemudian akan menjadi borok (*hemorrhagic*) diikuti dengan luka-luka borok pada kulit yang dapat meluas ke jaringan otot, hemoragi insang, rongga mulut, sirip dan sisik (Fitriyanti *et al.*, 2020). Ditambahkan oleh Azhar *et al.* (2020) gejala yang ditunjukkan oleh ikan yang terkena penyakit yang disebabkan bakteri biasanya kehilangan nafsu makan, pendarahan pada insang, perut membesar berisi cairan, sisi dan sirip ekor lepas dan jika dilakukan pembedahan akan terlihat pembekakan serta kerusakan pada hati ginjal dan Limpa ikan.

Penelitian Hardi *et al.* (2014) menginformasikan bahwa pada ikan nila yang terinfeksi *A. hydrophila* melalui injeksi intramuscular (IM) pada jam ke-24 pasca-infeksi berenang lemah, gerakan operkulum melemah, dan nafsu makan berkurang. Hal ini disebabkan karena bakteri ini bersifat septicemia yang berkembang di dalam darah sehingga penyebaran bakteri lebih cepat terjadi melalui IM yang ditandai dengan munculnya gejala abnormalitas pada pola renang dan penurunan nafsu makan yang lebih cepat dibandingkan dengan jalur penginfeksi yang lain. Penginfeksi melalui pakan menyebabkan abnormalitas yang paling lambat. Ikan nila berenang gasping (ikan berenang tegak dengan posisi mulut tepat dibawah permukaan air) dan diam di dasar akuarium baru muncul pada jam ke-96 sedangkan jalur infeksi yang lain gejala tersebut sudah muncul pada jam ke 48-72 jam. Hal ini disebabkan karena perkembangan dan penyebaran bakteri dalam tubuh inang terhambat oleh adanya enzim dalam saluran pencernaan.

Kemampuan *A. hydrophila* dalam menimbulkan penyakit cukup tinggi. Patogenisitas yang ditunjukkan dengan LD50 cukup bervariasi, yaitu berkisar antara 104 – 106 sel/ml. Bakteri *A. hydrophila* menghasilkan bermacam-macam enzim, seperti gelatinase, caseinase, elastase, lipase, lecithinase, staphylolyase, deoxyribonuclease dan ribonuclease. Selain itu, *A. hydrophila* menghasilkan bermacam-macam toksin antara lain eksotoksin, seperti  $\alpha$  dan  $\beta$  hemolisin, cytotoxin, enterotoksin dan endotoksin, yaitu LPS (Lipopolisakarida) (Olga, 2010).

### 1.5.6 Diskripsi Varietas Tanaman Jahe

Klasifikasi tanaman jahe adalah sebagai berikut (USDA Plants database):

Divisi : Spermatophyta  
 Subdivisi : Angiospermae  
 Kelas : Monocotyledoneae  
 Ordo : Zingiberales  
 Famili : Zingiberaceae  
 Genus : *Zingiber officinale*

Jahe (*Zingiber officinale*) merupakan tanaman rempah yang berasal dari Asia Selatan, dan sekarang telah tersebar ke seluruh dunia. Masyarakat China telah memanfaatkan jahe sebagai penyedap ke 6 S.M., dan para pedagang Arab telah mengenalkan jahe dan rempah-rempah itu ke kawasan Mediterania sebelum abad pertama sesudah Masehi, dan ke Eropah berupa buku-buku resep masakan yang menggunakan berbagai Yunani, jahe digunakan pertama kali sebagai obat herbal untuk mengatasi penyakit dan mabuk perjalanan. Pada abad ke 16, di Inggris Raja Hendry ke VIII



merekomendasikan jahe untuk mengatasi wabah penyakit (Plague), sedangkan Ratu Elizabeth I menganjurkan jahe untuk meningkatkan gairah seksual (Aryanta, 2019).

Jahe merupakan komoditas pertanian yang memiliki peluang dan prospek yang cukup baik untuk dikembangkan di Indonesia. Jahe tidak hanya digunakan sebagai bahan rempah dan obat, tetapi juga sebagai bahan makanan, minuman dan juga kosmetika. Bahan aktif pada jahe terutama minyak atsiri, gingerol, shogal dan zingeron, dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal terstandar maupun fitofarmaka (Aryanti *et al.*, 2015).

Dikenal tiga jenis tanaman jahe yang dibudidayakan di Indonesia, yaitu Jahe Merah, jahe putih besar dan jahe putih kecil yang merupakan hasil dari pengembangan varietas lokal dan bukan hasil dari pemuliaan yang terprogram (Devy dan Sastra, 2006) (Gambar 2.) Kegunaan praktis ketiganya kadang-kadang berbeda. Jahe Gajah yang ukurannya besar, berkulit putih atau kuning dan rasanya tidak terlalu pedas dapat diolah sebagai manisan atau asinan. Jahe Emprit yang ukurannya kecil, berkulit putih atau kuning dan sangat pedas sering digunakan untuk bumbu masakan dan obat. Jahe Merah yang ukurannya sedang dan berkulit merah umumnya digunakan untuk obat. Di antara Jahe Gajah dan Jahe Emprit terdapat berbagai variasi ukuran jahe. Jahe ini paling umum ditanam dan sering diperdagangkan berdasarkan daerah asalnya (Lallo *et al.*, 2018).

### 1. Tanaman Jahe Merah

Klasifikasi Jahe Merah adalah sebagai berikut (USDA Plants database):

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledone
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber officinale var. rubrum</i>

Jahe Merah merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang memiliki nama latin *Zingiber officinale var. Rubrum*. Jahe Merah merupakan tanaman jenis rimpang-rimpangan yang tumbuh di daerah seperti dataran rendah sampai dengan wilayah pegunungan (Ulum *et al.*, 2020).

Jahe Merah memiliki rimpang yang berwarna kemerahan dan lebih kecil dibandingkan dengan jahe putih kecil atau sama seperti jahe kecil dengan serat yang kasar. Jahe ini memiliki kandungan minyak atsiri sekitar 2,58-3,90% dari berat kering. Jika dilihat dari kandungan air, Jahe Gajah memiliki kandungan air sebanyak 82%, jahe putih kecil/emprit 50,2% dan Jahe Merah 81% (Setyaningrum dan Saparianto, 2013).

Berdasarkan berbagai studi ekstrak jahe merah diidentifikasi mengandung beberapa senyawa fitokimia yaitu senyawa fenolik dan terpena. Senyawa fenolik yang terkandung terdiri dari gingerol; shogaol, zingerone, dan paradol yang dapat mengakibatkan berbagai aktivitas farmakologis pada jahe merah. Beberapa aktivitas farmakologis pada jahe merah yang diidentifikasi yaitu antioksidan, antiinflamatori, antimikroba dan antikanker (Solikhati *et al.*, 2022).

### 2. Tanaman Jahe Gajah

Klasifikasi Jahe Gajah adalah sebagai berikut (USDA Plants database):

Divisi	: Magnoliophyta
Subdivisi	: Spermatophyta
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae Martinov

*Zingiber Mill*

*Zingiber officinale Roscoe*

memiliki ukuran yang paling besar dibanding kedua varietas lainnya, rimpangnya dalam rimpang berwarna putih kekuningan, ujung daun runcing, berbentuk lanset, batang semu yang tegak, panjang helaian daun 15-25 cm dan lebar 20-35 cm. Tinggi





tanaman sekitar 85 cm. Batang berbentuk bulat besar dan berwarna hijau muda dan juga panjang daun 15-25cm (Sari dan Nasuha, 2021).

Kadar minyak atsiri rimpang jahe gajah (*Zingiberis officinale* var. *officinarum*) yang diekstraksi menggunakan air menghasilkan kadar sebesar 1,20% lebih tinggi dibanding jahe gajah yang di ekstrak dengan pelarut alkohol (Nuryani *et al.*, 2020).

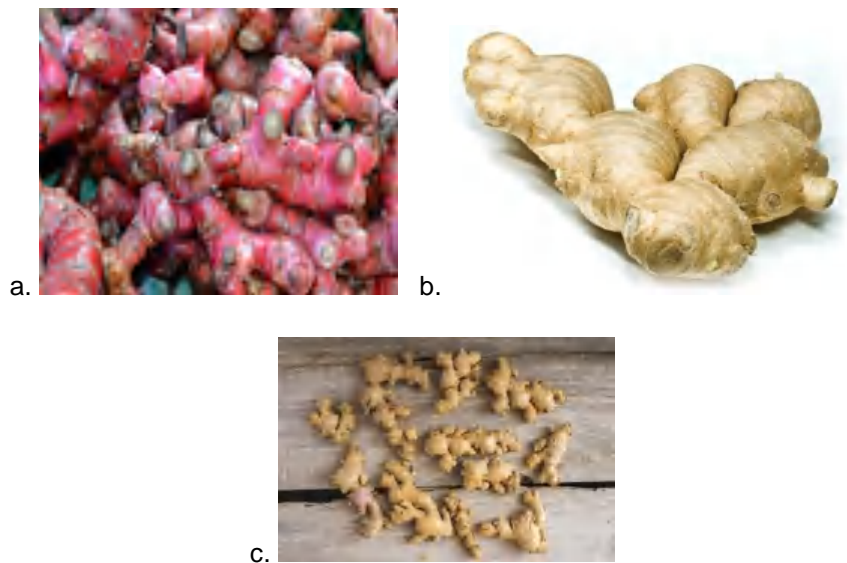
### 3. Tanaman Jahe Emprit

Klasifikasi Jahe Merah adalah sebagai berikut (USDA Plants database):

Divisi : Spermatophyta  
 Sub divisi : Angiospermae  
 Kelas : Monocotyledone  
 Ordo : Zingiberales  
 Famili : Zingiberaceae  
 Genus : Zingiber  
 Spesies : *Zingiber officinale* var. *amarum*

Jahe emprit memiliki rimpang dengan bobot 0,5-0,7 kg per rumpun, rimpangnya berukuran kecil dan berlapis-lapis, Panjang rimpang sekitar 11 cm, daging rimpang berwarna putih kekuningan. Tinggi tanaman 40-60 cm (Sari dan Nasuha, 2021). Jahe emprit mengandung oleoresin dan minyak atsiri dan kandungan fenolik aktif seperti sogaol, gingerol, gingerone yang berpotensi sebagai antioksidan (Yuliastuti *et al.*, 2022).

Jahe emprit yang diekstrak menggunakan etanol positif mengandung senyawa flavonoid, saponin triterpenoid/ steroid, serta fenol dan negative alkalod dan tanin (Rahmanpiu *et al.*, 2020). Jahe emprit mengandung oleoresin dan minyak atsiri dan kandungan fenolik aktif seperti sogaol, gingerol dan gingerone yang berpotensi sebagai antioksidan (Wiendarlina dan Sukaesih, 2019).



Gambar 2. a. Jahe Merah, b. Jahe Gajah, c. Jahe Emprit

#### 1.5.7 Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Jahe

Tanaman Jahe telah banyak digunakan dalam budidaya perikanan sebagai pengganti vaksin, bahan kimia sintetik dan antibiotik untuk mencegah penyakit pada ikan dan untuk meningkatkan imunitas dan status antioksidan karena senyawa bioaktifnya. Beberapa penelitian telah menunjukkan hasil penggunaan tanaman jahe seperti pada penelitian Aqmasjed *et al.* (2023) yang memberi pakan mengandung ekstrak jahe 0,5% mencapai jumlah total leukosit yang mungkin disebabkan oleh adanya senyawa bioaktif seperti *Zingerone* dalam Jahe yang dapat meningkatkan jumlah limpa serta merangsang sekresi leukosit dari organ tersebut.



Penelitian lain melaporkan bahwa terjadi peningkatan kinerja pertumbuhan pada Ikan Patin Siam yang diberikan pakan dengan ekstrak jahe. Hal ini disebabkan kandungan jahe yaitu *zingiberene* dan *terpene* yang dikenal dengan aroma dan rasanya yang menarik. Selain itu jahe mengandung gingerol yang dapat meningkatkan palatabilitas pakan dan menghasilkan efisiensi penggunaan pakan di usus ikan (Azhy *et al.*, 2023). Penambahan Tepung rimpang Jahe pada pakan sebanyak 10 g/kg juga berhasil memacu pertumbuhan pada Ikan Tengadak (*Barbonymus schwanenfeldii*) dibanding dengan Ikan tanpa substitusi tepung rimpang jahe (Robiansyah *et al.*, 2018).

Liu *et al.* (2022) juga melaporkan bahwa senyawa 1,8-sineol yang ada pada minyak atsiri dapat berfungsi sebagai agen anti stres ikan bass (*Micropterus salmoides L.*) pada proses pengangkutan, senyawa ini akan menekan jumlah sel darah merah yang meningkat pada kondisi stres untuk mengakomodasi peningkatan metabolisme dan peningkatan kebutuhan oksigen pada ikan bass yang mengalami stress.

Komponen senyawa kimia yang terkandung pada jahe terdiri dari minyak menguap, minyak tidak menguap dan pati. Minyak atsiri termasuk minyak menguap dan merupakan komponen yang memberi bau khas, kandungan minyak atsiri Jahe Gajah yaitu mengandung minyak sekitar 1,18-1,68%, jahe putih kecil/emprit sekitar 3,3% dan Jahe Merah sekitar 2,58-2,72% (Setyaningrum dan Saparianto 2013). Senyawa minyak atsiri pada jahe memiliki aktivitas antimikroba yaitu linalool dan geraniol yang merupakan golongan alkohol dengan mekanismenya menghambat pertumbuhan mikroba melalui denaturasi protein. Terjadinya denaturasi protein mengakibatkan sel bakteri tidak dapat melakukan fungsinya secara normal, sehingga akan menghambat pertumbuhan bakteri dan bahkan dapat berakibat mematikan sel bakteri (Amin *et al.*, 2022). Oleoresin, yang terdiri dari atas gingerol, zingiberen, shogaol, termasuk minyak tidak menguap yang memberi rasa pahit dan pedas. Zingibren adalah senyawa aktif yang bersifat antimikroba. Penyulingan minyak jahe dan oleoresin yang berasal dari rimpang jahe semakin berkembang untuk dijadikan bahan baku pembuatan obat pada perusahaan farmasi (Rahmadani *et al.*, 2018).

Rimpang Jahe mempunyai kandungan gingerol yang memiliki aktivitas seperti antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, antikarsinogenik, antimutagenik dan antitumor. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman rimpang jahe adalah antimikroba golongan fenol, flavonoid, terpenoid dan minyak atsiri yang terdapat dalam ekstrak jahe dan merupakan golongan senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Ulum *et al.*, 2020).

Kandungan fitokimia yang utama adalah fenol yang merupakan senyawa yang berasal dari tumbuhan yang umumnya ditemukan di dalam vakuola. Sel fenol terdiri dari beraneka ragam struktur dengan ciri khas berupa cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Salah satu golongan terbesar fenol adalah flavonoid dan beberapa golongan bahan polimer penting lainnya antara lain : Lignin, melanin dan tanin. Senyawa fenol memiliki beberapa sifat antara lain : mudah larut dalam air, cepat membentuk kompleks dengan protein dan sangat peka terhadap oksidasi enzim. Anggota fenol yang sederhana merupakan zat padat dengan titik lebur rendah. Karena adanya ikatan hidrogen antara molekul-molekul, maka titik didih cairannya tinggi. Fenol (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH) sedikit larut dalam air (9 g per 100 g air) karena bobot molekul air itu rendah dan turun titik beku dari fenol itu tinggi yaitu 7,5 maka campuran fenol dengan 5-6% air telah terbentuk cair pada temperatur biasa. Bila dalam struktur fenol tidak terdapat gugus penyebab timbulnya warna maka senyawanya juga tidak berwarna (Tambun *et al.*, 2016).

Aktivitas antibakteri ekstrak jahe tergantung pada kandungan kimianya. Gingerol merupakan senyawa turunan fenol yang berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorbs dengan melibatkan ikatan hidrogen. Fenol pada kadar rendah berinteraksi dengan protein membentuk kompleks protein fenol. Ikatan antara protein dan fenol adalah ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian. Fenol yang bebas akan berpenetrasi ke dalam sel, menyebabkan presipitasi dan denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein sehingga membrane sel mengalami lisis (Handrianto, 2016).

Flavonoid merupakan salah satu senyawa golongan fenol alam terbesar yang memiliki beragam s, salah satunya sebagai antibakteri. Selain itu flavonoid juga memiliki aktivitas seperti antioksidan, antivirus, antibakteri, antiinflamasi, antimutagenik, antidiabetes genik. Sehingga flavonoid ini memiliki efek untuk meningkatkan kesehatan dengan . flavonoid ditemukan pada tanaman yang berkontribusi memproduksi pigmen ma merah, kuning, biru, orange, dan warna ungu dari buah, bunga, dan daun (Ulum





### 1.5.8 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang diperoleh diperlukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Jenis-jenis metode ekstraksi dapat dilakukan dengan metode maserasi, ultrasound–Assisted Solvent Extraction, soxhlet, reflux dan destilasi uap, dan juga perkolasi (Hadyprana *et al.*, 2021).

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut seperti etanol, metanol, etil asetat, heksana dan air mampu memisahkan senyawa-senyawa yang penting dalam suatu bahan. Pemilihan pelarut yang akan dipakai dalam proses ekstraksi harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang akan diisolasi. Sifat yang penting adalah polaritas dan gugus polar dari suatu senyawa. Pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya sehingga akan mempengaruhi sifat fisikokimia ekstrak yang dihasilkan. Metode ekstraksi yang digunakan diduga juga mempengaruhi sifat fisikokimia dari ekstrak tersebut. Ekstraksi dapat dilakukan dengan satu tahap ekstraksi maupun bertingkat. Pada ekstraksi satu tahap hanya digunakan satu pelarut untuk ekstraksi, sedang pada ekstraksi bertingkat digunakan dua atau lebih pelarut (Septiana dan Asnani, 2012).

Metode ekstraksi maserasi adalah metode ekstraksi yang dilakukan untuk menghindari kerusakan dari sebagian senyawa golongan flavonoid yang tidak tahan panas. Selain itu senyawa flavonoid juga mudah teroksidasi pada suhu yang tinggi. Metode maserasi ini memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode lainnya khususnya dalam hal isolasi senyawa bahan alam, karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan adanya perendaman sampel dengan pelarut maka akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel yang diakibatkan oleh adanya gaya difusi (Rahayu *et al.*, 2015).

Ekstrak tanaman secara umum telah banyak digunakan dan dieksplorasi untuk mencari manfaat dan kandungan potensial sehingga dapat digunakan dan dikembangkan sebagai bahan obat-obatan. Senyawa fitokimia yang dikandung oleh berbagai ekstrak tanaman telah diteliti efektif menghambat atau membunuh mikroorganisme dengan berbagai mekanisme diantaranya mengganggu biosintesis protein dan dinding sel bakteri, menghambat pembentukan asam nukleat, dan menghancurkan membran sel bakteri (Hadyprana *et al.*, 2021).

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi antara lain adalah: A. Ukuran bahan : Pengecilan ukuran bertujuan untuk memperluas permukaan bahan sehingga mempercepat penetrasi pelarut ke dalam bahan yang akan diekstrak. B. Suhu ekstraksi : Ekstraksi akan lebih cepat dilakukan pada suhu tinggi. C .Pelarut : Larutan yang akan dipakai sebagai pelarut merupakan pelarut pilihan yang terbaik.

### 1.5.9 Hematologi Ikan

Hematologi merupakan kajian yang biasa digunakan dalam mengetahui kondisi darah dan komponennya. Pemeriksaan hematologi dapat menggambarkan kualitas hidup dari suatu individu. Parameter hematologi yang bisa digunakan adalah penentuan jumlah eritrosit, kadar hemoglobin dan kadar hematokrit. Eritrosit mengandung hemoglobin yang berperan dalam pengangkutan oksigen pada darah. Tinggi rendahnya kadar eritrosit dipengaruhi oleh kadar hematokrit, karena nilai hematokrit merupakan instrumen penting dalam penentuan kapasitas pembawa oksigen dalam darah (Maharani *et al.*, 2017)

Metode hematologi cukup efektif untuk mendiagnosa penyakit ikan secara dini, yaitu dengan memperhatikan nilai-nilai parameter pada darah. Pengamatan kondisi hematologi ikan-ikan yang dibudidayakan sebagai sistem pertahanan non spesifik dapat dilakukan untuk mengetahui kondisi kesehatannya sebagai deteksi awal dalam diagnosis penyakit ikan, sehingga upaya pengobatan (treatment) dan pencegahan penyakitnya dapat dilakukan secara cepat dan tepat (Yanto *et al.*, 2015).

Sel darah merah atau eritrosit adalah sel berinti yang dapat mengandung organel dalam sel seperti mamalia. Terlepas dari perannya yang terkenal dalam pertukaran gas, baru-baru ini peran biologis baru pada sel darah merah terkait dengan respon imun telah ditemukan. Sel darah merah mampu memfagositosis dan bertindak sebagai sel penyaji antigen, dapat berinteraksi dengan molekul terkait patogen yang berbeda, memodulasi aktivitas leukosit, melepaskan sitokin, dan merespon infeksi virus (Marin *et al.*, 2019). Eritrosit (Sel darah merah) merupakan



sel darah yang paling banyak jumlahnya dibandingkan dengan sel lainnya. Dalam kondisi normal, jumlah eritrosit ikan air tawar mencapai hampir separuh dari volume darah yaitu berkisar antara 20.000 – 3.000.000 sel/mm<sup>3</sup> (Firman *et al.*, 2022).

Penggunaan tanaman jahe dalam pakan telah menunjukkan efek positif terhadap peningkatan sel darah merah (eritrosit) seperti pada penelitian, Pulungan *et al.* (2022) menjelaskan bahwa terjadi peningkatan jumlah sel eritrosit pada Ikan Jambal Siam yang diberikan ekstrak Jahe Merah dengan dosis 175 mL/kg pakan. Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang diberikan tambahan ekstrak jahe merah 0,2% - 0,4% memiliki sel eritrosit lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol yaitu tanpa suplementasi jahe merah (Mohammadi *et al.*, 2020). Amin *et al.* (2022) juga menambahkan penggunaan tepung jahe pada pakan ikan patin memberikan pengaruh terhadap total eritrosit pada pemeliharaan hari ke 14 dan 21.

Yanto *et al.* (2015) menyebutkan bahwa jumlah eritrosit pada hewan dipengaruhi oleh jenis kelamin Selain jenis kelamin, jumlah eritrosit juga dipengaruhi juga oleh umur, lingkungan dan status nutrisi serta kondisi hipoksia atau kekurangan oksigen.

### 1.5.10 Respon Imun

Ikan pada umumnya memiliki sistem imun spesifik dan sistem imun non-spesifik. Sistem imun adalah semua mekanisme yang digunakan untuk pertahanan tubuh terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup. Sistem imun terdiri dari sistem imun alamiah (non-spesifik) dan sistem imun didapat (spesifik) (Muahiddah dan Diamahesa, 2022).

Kesehatan ikan dapat dilihat dari gambaran sel darah, salah satunya adalah sel darah putih. Adanya infeksi bakteri pada ikan dapat menyebabkan terjadinya perubahan gambaran sel darah putih seperti total leukosit, diferensiasi leukosit, dan aktivitas fagositosis. Sel darah putih mempunyai peranan dalam sistem kekebalan tubuh ikan (Ginting *et al.*, 2021).

Leukosit merupakan komponen sel darah yang berperan sebagai sistem pertahanan tubuh ikan. jumlah leukosit pada ikan berkisar antara 20.000-150.000 sel per mm<sup>3</sup> darah (Lestari *et al.*, 2017). Hasil penelitian Lengka *et al.* (2013) memperlihatkan bahwa penambahan bubuk bawang putih dapat meningkatkan total leukosit pada ikan mas dimana nilainya  $1253.33 \pm 21.33 \times 10^5$  sel/ml. Jumlah leukosit yang ada pada suatu jenis ikan tertentu dapat berubah sesuai dengan tingkat kesehatan ikan yang bersangkutan. Apabila ikan terinfeksi oleh suatu bakteri patogen tertentu maka yang akan terjadi selanjutnya pada ikan tersebut adalah meningkatnya jumlah total leukosit atau menurunnya jumlah leukosit. Ikan yang kekurangan jumlah leukosit menjauhi batas normalnya akan menderita penyakit leukopenia.

Mahasri *et al.* (2011) menyatakan, bahwa peningkatan jumlah leukosit dapat dijadikan tanda adanya infeksi disebabkan faktor parasit dan stres. Peningkatan jumlah leukosit (limfosit, monosit, dan neutrofil) menunjukkan adanya respon perlawanan tubuh terhadap agen penyebab penyakit. Kurniawan *et al.* (2020) dalam penelitiannya penambahan suplemen herbal pada pakan ikan Patin dapat meningkatkan jumlah limfosit setelah 60 hari pemeliharaan seiring dengan penambahan dosis suplemen. Limfosit berfungsi menyediakan zat kebal atau sistem pertahanan dari serangan benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh, jumlah limfosit akan mengalami penurunan jika sudah terjadi infeksi dari mikroba karena sebagian besar limfosit berpindah dari sirkulasi darah dan berkompetisi kedalam jaringan tubuh dimana terdapat peradangan.

Limfosit merupakan proporsi sel darah putih, secara morfologi, limfosit berupa sel darah kecil dengan nukleus yang besar (menempati bagian terbesar dari sel) tidak bergranula dan dikelilingi sejumlah kecil sitoplasma. Peran sel limfosit sebagai sel pertahanan tubuh Pada dasarnya sel limfosit terdiri dari dua populasi : sel B dan sel T. Sel B mempunyai kemampuan untuk bertransformasi menjadi sel plasma yaitu sel yang memproduksi antibodi. Sel T sangat berperan dalam kekebalan berperantara sel (sel T sitotoksik) dan mengontrol respon imun (sel T supresor) (Maryani dan Rosdiana, 2020).

Monosit merupakan sel yang besar dan memiliki bentuk bervariasi, sering dijumpai adanya bentuk mikrofili pada membran sitoplasma. Monosit berfungsi sebagai makrofag dan benda asing yang masuk kedalam tubuh. Pada saat terjadi infeksi oleh benda asing, bergerak cepat meninggalkan pembuluh darah menuju daerah yang terinfeksi untuk fagositosis. Monosit memiliki kemampuan menembus dinding pembuluh darah kapiler, berperantara sel dan berdiferensiasi menjadi makrofag (Rustikawati, 2012).



Davis *et al.* (2008) menjelaskan sel neutrofil dari sistem imun yang berfungsi dalam memfagosit infeksi penyakit yang disebabkan oleh serangan suatu mikroorganisme atau serangan beda asing lainnya. Neutrofil/heterophils adalah fagosit utama leukosit, dan berkembang biak dalam menanggapi infeksi, peradangan dan stres. Berdasarkan fungsinya, sel neutrofil berfungsi untuk mempertahankan tubuh dari partikel berbahaya terutama bakteri tidak terlalu berperan dalam proses pertahanan tubuh terhadap perubahan lingkungan sehingga tubuh tidak melakukan produksi sel neutrofil dan persentasenya dalam darah menjadi berkurang (Salim *et al.*, 2016).

Aktivitas fagositosis merupakan proses memakan dan eliminasi mikroba atau partikel lain oleh sel-sel fagosit yaitu sel monosit dan neutrofil. Aktivitas fagositosis merupakan pertahanan pertama dari respon seluler yang dilakukan oleh monosit (makrofag) dan granulosit (neutrofil). Antigen yang masuk ke dalam tubuh akan difagosit oleh makrofag, selanjutnya makrofag akan mengirim pesan kepada limfosit yang aktif, limfosit akan membelah diri (proliferasi) dan akan membentuk antibodi (Darma *et al.*, 2014).

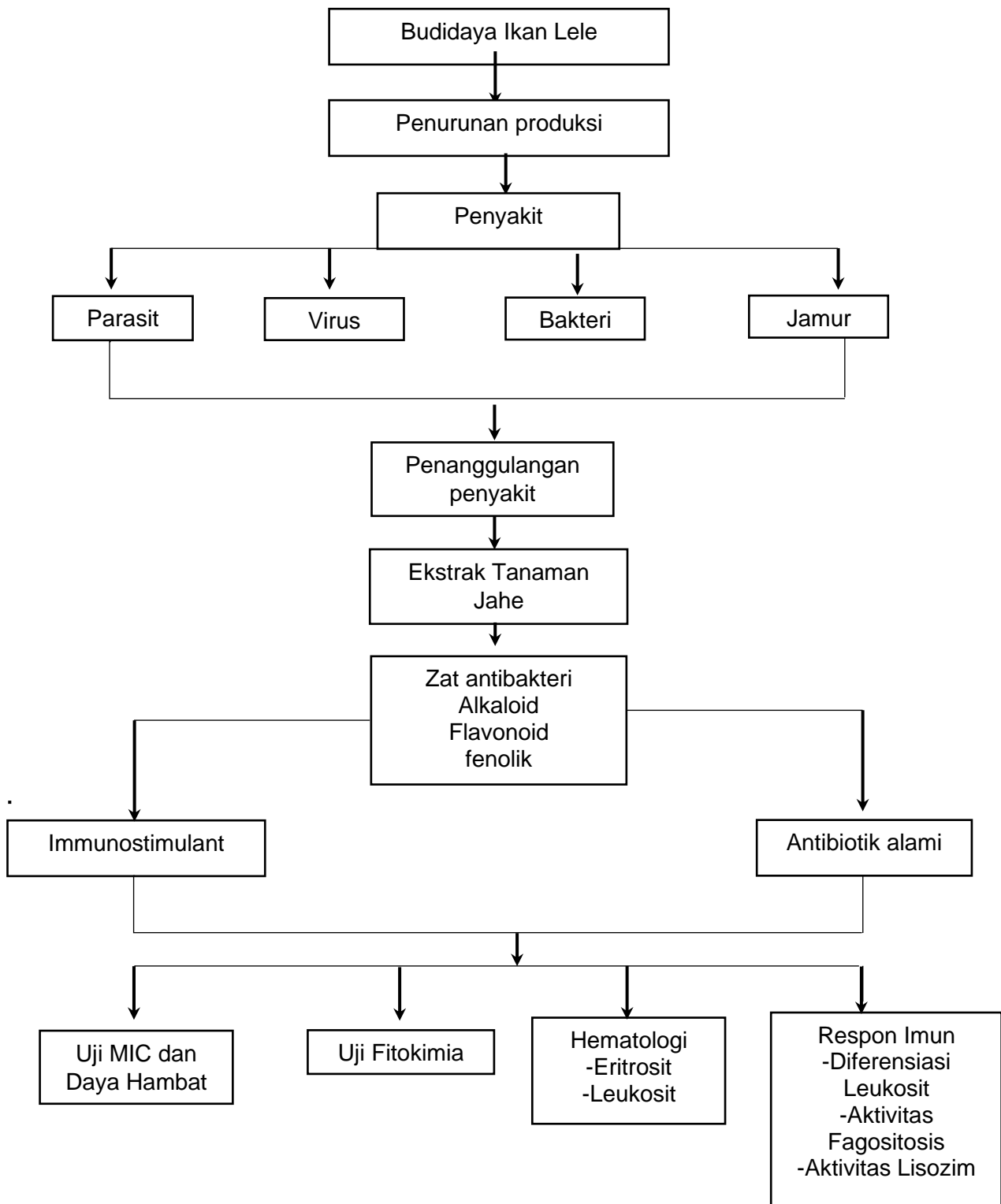
Lisozim adalah sistem pertahanan pertama pada ikan yang sangat penting dalam melawan serangan mikroba. Lisozim melisis dinding sel bakteri Gram positif dan membunuh bakteri Gram negative setelah komplemen dan enzim lainnya menghancurkan dinding sel terluar bakteri (Sumartini *et al.*, 2019). Lisozim adalah enzim yang mempunyai daya bakterisid yang banyak terdapat pada monosit dan neutrofil. Penambahan imunostimulan akan merangsang sel fagosit untuk memproduksi lebih banyak lisozim. Peningkatan aktivitas lisozim juga berkorelasi dengan aktivitas fagositosis, semakin tinggi nilai aktivitas lisozim maka semakin tinggi pula kemampuan sel dalam melakukan aktivitas fagositosis (Yin *et al.*, 2009 )

Penelitian yang dilakukan oleh Payung dan Manopo (2015) mengenai penambahan jahe dalam pakan ikan sebagai imunostimulan sebanyak 7,5 g memberikan pengaruh nyata terhadap kebal non spesifik ikan Nila. Hasil penelitian ini mendapatkan bahwa jahe memiliki potensi untuk meningkatkan respon kebal non-spesifik ikan. Hal ini disebabkan jahe mengandung bahan-bahan yang berfungsi sebagai imunostimulan.

## 1.6 Kerangka Penelitian

Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) merupakan salah satu ikan jenis air tawar yang mempunyai nilai ekonomis tinggi untuk dibudidayakan. Beberapa tahun terakhir dilaporkan terjadi penurunan produksi diakibatkan adanya penyakit yang menyerang disebabkan oleh Bakteri *A. hydrophila*. Pentingnya melakukan pencegahan untuk melindungi ikan ini dari serangan bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian ekstrak tanaman Jahe sebagai antibiotik alami. Pengamatan mengenai kandungan fitokimia dan kemampuan tanaman Jahe ini sebagai antibakteri perlu dilakukan serta melihat kemampuannya dalam meningkatkan performa hematologi dan respon imun. Hasil dari semua analisis ini akan dijadikan informasi untuk pengembangan budidaya dalam meningkatkan produksi Ikan Lele (*Clarias gariepinus*).





Gambar 3. Kerangka Pikir Penelitian



## BAB II METODE PENELITIAN

### 2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Juli 2023 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin serta kegiatan pembuatan ekstrak varietas jahe dilakukan di Laboratorium Kualitas Air, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin.

### 2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah autoclave, Erlenmeyer, sentrifus, cawan petri, penggerus, pisau, test tube, beaker glass, tabung ependof, kapas, lidi, jarum ose, pingset, kertas cakram (whatman no 42), kertas label, incubator, vortex, object glass, cover glass, mikroskop, botol film, pipet tetes, batang pengaduk, mikro pipet, kain kassa, lampu spiritus, karet timbangan, aluminium foil, pipet mikro 10 ml, jangka sorong, penggaris dan alat tulis.

Bahan yang digunakan adalah tiga jenis varietas jahe yaitu Jahe Merah (*Zingiber officinale var. rubrum*), Jahe Gajah (*Zingiber officinale Roscoe*), Jahe Emprit (*Zingiber officinale var. amarum*), aquades, alkohol 96%, alkohol 70%, nutrient agar, biakan murni bakteri *Aeromonas hydrophila*, Ikan Lele (*Clarias gariepinus*), dan pakan ikan komersil.

### 2.3 Prosedur Penelitian

#### 2.3.1 Sterilisasi Peralatan

Seluruh alat yang akan digunakan sebelumnya dicuci bersih, dikeringkan dan dibungkus dengan kertas. Setelah itu, disterilisasi menggunakan autoclave selama 15-30 menit dengan suhu 121°C.

#### 2.3.2 Penyediaan Bakteri Uji

Bakteri patogen yang digunakan adalah bakteri *aeromonas hydrophila* (*A. hydrophila*) yang berasal dari BKIPM Makassar, Sulawesi Selatan. Stok *A. hydrophila* pada TSA di agar miring disegarkan atau dimudakan (fasase) dengan mengkultur isolat pada media agar miring yang dilakukan sebanyak 2 kali. Penyiapan inokulum bakteri *A. hydrophila* dengan cara dilakukan pengkulturan ke dalam media cair (TSA). Satu ose penuh biakan bakteri dari agar miring (padat) dibiakkan ke dalam 10 ml medium TSA, diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 29-30°C selama 24 jam. Kemudian biakan diambil dari media yang telah dikultur selama 24 jam sebanyak 1 mL lalu dimasukkan ke dalam 9 ml medium TSA, diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 29-30°C selama 24 jam. Setelah itu bakteri siap dipanen.

#### 2.3.3 Persiapan dan ekstraksi tanaman jahe

Tiga jenis varitas jahe yaitu Jahe Gajah, Jahe Emprit dan Jahe Merah masing-masing sebanyak tiga kilogram diperoleh dari pasar tradisional di Makassar. Kemudian Jahe dicuci menggunakan air mengalir sampai bersih dan dibersihkan dari kotoran yang menempel yang tak terlihat kasat mata dan dibuang dari bagian rimpang yang tidak terpakai (busuk, kering dll). Kemudian dilakukan pengirisan dan dikeringkan dengan cara dijemur terhindar dari sinar matahari langsung sampai kering. Jahe yang telah kering dihaluskan dan diayak dengan mesh 30 sehingga menjadi serbuk simplisia dan disimpan di wadah tertutup.

Ekstraksi tanaman jahe dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut yang dapat menyaring Sebagian besar metabolit sekunder yang terkandung dalam jahe yaitu pelarut etanol. Memasukkan satu bagian serbuk kering simplisia ke dalam maserator, lalu menambahkan 10 bagian

selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Setelah itu dilakukan penyaringan dengan cara sentrifugasi, dekantasi atau filtrasi. Mengulangi proses penyaringan sebanyak dua kali dengan jenis pelarut yang sama dan jumlah volume pelarut sebanyak 10 bagian per volume serbuk pada penyaringan pertama. Mengumpulkan semua maserat, kemudian dikumpulkan dengan penguap vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental 10%.



### 2.3.4 Hewan Uji

Dalam penelitian ini hewan uji yang digunakan adalah Ikan Lele *C. gariepinus* sebanyak 120 ekor berukuran 8 -12 cm yang didapatkan dari pembudidaya ikan di wilayah Turikale Kabupaten Maros. Ikan Lele tersebut diaklimatisasi dalam wadah selama 3 hari kemudian ditebar masing-masing 10 ekor/wadah.

### 2.3.5 Persiapan wadah

Wadah yang digunakan dalam penelitian ini adalah bak fiber sebanyak 12 buah. Sebelum digunakan wadah penelitian dicuci bersih menggunakan desinfektan berupa kaporit setelah bersih masing-masing wadah diisi air sebanyak 10 liter kemudian instalasi aerasi dipasang pada masing-masing wadah dan terakhir ikan lele *C. gariepinus* dimasukkan ke dalam wadah pemeliharaan.

### 2.3.6 Persiapan pakan uji

Pakan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan komersil berupa pellet yang umum digunakan dalam budidaya ikan lele. Ekstrak yang ditambahkan dalam pakan berupa Ekstrak Jahe Merah. Ekstrak diencerkan sesuai konsentrasi yang dibutuhkan pada penelitian lalu diambil sebanyak 2 mL kemudian disemprotkan ke dalam 50 gr pakan. Pakan yang telah disemprotkan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sebelum diberikan ke ikan.

### 2.3.7 Pemeliharaan ikan uji

Ikan lele dipelihara dalam bak fiber selama 1 minggu untuk proses aklimatisasi dan diberi pakan pellet yang belum diberikan ekstrak jahe dengan dosis 3% dari berat badan/hari dengan frekuensi 3 (tiga) kali sehari. Setelah proses aklimatisasi, ikan dipindahkan ke dalam wadah penelitian yang dilengkapi dengan aerator sebanyak 10 ekor/wadah, namun sebelumnya dilakukan penimbangan berat awal setiap 3 ekor ikan sampel. Pemberian pakan perlakuan berlangsung selama 14 hari dengan dosis 3% dari berat badan/hari dengan frekuensi 3 (tiga) kali sehari. Selama masa pemberian pakan perlakuan, kualitas air tetap dijaga dalam kondisi yang baik dengan melakukan penggantian air dan pengukuran kualitas air.

## 2.4 Perlakuan dan Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan dua tahap, tahap pertama dilakukan uji fitokimia, uji *Minimum Inhabitation Concentration* (MIC) dan uji daya hambat untuk melihat kemampuan ekstrak tiga varietas jahe dalam menghambat bakteri *A. hydrophila*. Tahap kedua, ekstrak jahe yang memiliki zona hambat bakteri lebih besar akan ditambahkan dalam pakan untuk kemudian diberikan pada ikan Lele selama 14 hari untuk melihat performa hematologi dan respon imun.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas 5 perlakuan dengan 3 ulangan sehingga terdiri dari 15 satuan percobaan. Acuan yang digunakan untuk menentukan dosis ekstrak Jahe dalam penelitian ini adalah hasil dari melakukan uji *In vitro* menggunakan metode *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) dan uji cakram yaitu Jahe Merah dengan konsentrasi awal 50 ppm.

Perlakuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

A = Ekstrak tanaman Jahe Merah konsentrasi 50 ppm + Pakan

B = Ekstrak tanaman Jahe Merah konsentrasi 100 ppm + Pakan

C = Ekstrak tanaman Jahe Merah konsentrasi 150 ppm + Pakan

D = Ekstrak tanaman Jahe Merah konsentrasi 200 ppm + Pakan

E = Tanpa pemberian ekstrak Jahe Merah





## 2.5 Parameter yang diamati

### 2.5.1 Uji Minimum Inhabitation Concentration (MIC)

Pada Uji MIC, hal pertama yang harus dilakukan yaitu dengan menyiapkan tabung reaksi steril. Tabung reaksi tersebut diisi dengan media TSB steril sebanyak 4,5 ml. Kemudian ditambahkan ekstrak Jahe Merah, Gajah dan Emprit sebanyak 0.5 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi TSB dengan konsentrasi tertentu. Tabung reaksi 1 sampai dengan 5 diisi ekstrak jahe merah dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200 dan 250 ppm. Tabung ke 6 dan 7 diisi 2 kontrol, yaitu kontrol negatif dan kontrol positif, dimana kontrol positif dengan pemberian antibakteri sintetis (*Chloramphenicol*) sebanyak 50 ppm dengan volume 0,5 ml dan kontrol negatif tanpa perlakuan. Kemudian, masing-masing tabung diberi 0,1 ml isolat bakteri ( $10^7$  CFU/ml) selanjutnya diinkubasi pada suhu  $32^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Kemudian, media uji diperiksa tingkat kekeruhan dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer (panjang gelombang 600 nm). Uji MIC juga dapat dilihat kekeruhan pada media TSB yang telah dimasukan ekstrak dan ditanam bakteri dan dilakukan inkubasi selama 24 jam kemudian dilakukan perbandingan dengan tabung kontrol.

### 2.5.2 Uji Daya hambat ekstrak beberapa varietas jahe

Uji cakram adalah pengujian untuk melihat daya hambat karena pemberian ekstrak tanaman Jahe yang terlihat dari zona bening yang berada di sekitar kertas cakram. Prosedur dalam uji cakram ini mengacu pada penelitian Maftuch *et al.* (2018), prosedur untuk uji cakram adalah sebagai berikut :

Media *Trypticase Soy Agar* (TSA) disiapkan lalu dituang ke dalam cawan petri kemudian ditunggu hingga memadat. Sebanyak 0,1 mL suspensi bakteri *A. hydrophila* disebarkan secara merata pada media TSA dengan menggunakan stick triangle. Masing-masing media TSA diletakkan kertas cakram yang mengandung ekstrak jahe merah, jahe gajah dan jahe emprit sesuai dengan dosis perlakuan dan *chloramphenicol* sebagai kontrol positif. Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Daya hambat diamati dengan cara mengukur diameter zona bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong.

### 2.5.3 Uji fitokimia tanaman Jahe

Identifikasi senyawa antibakteri pada ekstrak etanol jahe merah, jahe gajah dan jahe emprit yaitu melalui Uji Fitokimia meliputi identifikasi fenolik, flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan triterpenoid.

#### 1. Analisis Fenolik

100 mg ekstrak dilarutkan etanol 96% sebanyak 1 mL, kemudian ditambah 2 tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif ditandai terbentuknya warna hijau, ungu, biru atau hitam, merah, ungu.

#### 2. Analisis Alkaloid

Ambil sampel uji beberapa tetes kedalam tabung reaksi. Sampel ditambahkan 2 tetes pereaksi dreagendroff. amati perubahannya selama 30 menit, hasil yang dinyatakan positif akan terbentuk larutan berwarna jingga.

#### 3. Analisis Flavonoid

Ambil sampel uji beberapa tetes kedalam tabung reaksi. Sampel ditambahkan dengan 2 mg serbuk Mg dan 3 tetes HCl pekat. Kocok sampel dan amati hingga terbentuk perubahan. Dapat dinyatakan positif jika larutan berwarna merah, kuning hingga jingga.

#### 4. Analisis Saponin

Ambil sampel uji beberapa tetes kedalam tabung reaksi. Tambahkan air panas kedalam sampel uji pada tabung reaksi. Kocok selama 10 detik, dinyatakan positif adanya senyawa saponin dapat terbentuknya busa selama 30 menit dan tidak hilang jika ditambahkan 1 tetes HCl 2 N

el beberapa tetes kedalam tabung reaksi. Tambahkan 2 tetes larutan  $\text{CHCl}_3$  dan 3  
rman Burchard. Amati perubahannya, dinyatakan positif akan terbentuk larutan  
a larutan pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau.

oid





250 mg ekstrak ditambahkan 2 mL kloroform, 3 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(p). Hasil positif ditandai dengan terbentuknya lapisan dipermukaan berwarna cokelat kemerahan.

## 2.5.4 Performa hematologi

### 1. Total Eritrosit

Prosedur pengamatan ikan diawali dengan mengambil darah ikan pada bagian pangkal ekor Ikan Lele dengan menggunakan spoit 1 ml, selanjutnya darah ikan yang telah diambil diletakkan pada tabung eppendorf yang telah diberi cairan EDTA. Kemudian darah yang telah ditampung dihisap dengan pipet thoma (yang berisi bulir pengaduk warna merah), lalu ditambahkan larutan Hayem's sampai skala 101, kemudian darah di dalam pipet dihomogenkan dengan mengayunkan tangan yang memegang pipet seperti membentuk angka delapan selama 3-5 menit sehingga darah tercampur rata. Dua tetes pertama larutan darah dalam pipet dibuang, selanjutnya diteteskan pada haemocytometer dan ditutup dengan kaca penutup (cover glass). Kemudian, hitung jumlah sel darah merah dengan bantuan mikroskop dengan perbesaran 400 x jumlah eritrosit total dihitung sebanyak 5 kotak kecil dan jumlahnya dihitung menurut rumus Blaxhall dan Daisley (1973), yaitu :

$$\Sigma \text{Eritrosit (sel/mm}^3\text{)} = \text{jumlah sel terhitung} \times 50 \times 200$$

### 2. Total Leukosit

Prosedur pengamatan diawali dengan mengambil darah ikan pada bagian pangkal ekor Ikan Lele dengan menggunakan spoit 1 ml kemudian ditampung pada eppendorf yang telah diberi EDTA. Selanjutnya mengambil darah yang telah ditampung menggunakan pipet Thoma Leukosit sampai pada skala 0,5 (untuk kemudian dilanjutkan dengan mengambil larutan Turk's sampai pada skala 11). Sampel darah kemudian dihomogenkan dengan cara menggoyang-goyangkan pipet membentuk angka 8 selama 3-5 menit agar homogeny. Darah yang telah dihomogenkan terlebih dahulu dibuang tetesan pertamanya, sedangkan tetesan selanjutnya dimasukkan ke dalam haemocytometer dan ditutup dengan menggunakan kaca penutup (cover glass). Kemudian melakukan perhitungan pada 4 kotak besar haemocytometer berdasarkan metode Blaxhall dan Daisley (1973) yaitu :

$$\Sigma \text{Leukosit (sel/mm}^3\text{)} = \frac{\Sigma \text{sel terhitung}}{0,4 \text{ mm}^3} \times 20$$

## 2.5.5 Respon imun Ikan Lele

Pengukuran respon imun pada Ikan Lele dilakukan pada akhir pemberian perlakuan meliputi parameter Diferensiasi Leukosit, aktivitas fagositosis (AF) dan aktivitas lizozim.

### 1. Diferensiasi Leukosit

Darah yang telah ditampung pada eppendof diambil dan diteteskan pada slide glass. Objek glass dipegang dengan telunjuk dan ibu jari, kemudian teteskan sedikit darah yang telah ditampung ke objek glass bersih bagian sebelah kanan. Kemudian letakkan objek glass lain di sebelah kiri tetesan darah membentuk sudut 30°. Tarik gelas objek ke kanan sampai menyentuh darah tersebut. Setelah darah menyebar sepanjang tepi gelas objek kedua, dorong gelas objek kedua tersebut ke kiri dengan tetap membentuk sudut 30° agar didapat preparat darah yang cukup tipis sehingga mudah diamati. Setelah itu ulas dikering udarakan. Untuk memudahkan pengamatan maka darah dapat diwarnai dengan pewarna Giemsa (Amlacher, 1970).

Darah yang baru diulas di objek glass dikeringudarakan (fiksasi udara), kemudian fiksasi dalam larutan metanol selama 5 menit. Setelah itu, rendam preparat ulas dalam larutan giemsa yang diencerkan hit. Kemudian, bilas dengan aquades dan dikeringudarakan. Preparat yang telah jadi bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Persentase sel-sel leukosit dihitung nati sebanyak 10 lapang pandang dan masing-masing jenis diferensial leukosit yang kan menurut jenisnya (limfosit, monosit, neutrofil). Perhitungan jumlah sel limfosit, l secara matematika adalah sebagai berikut :



$$\begin{aligned}\% \text{ limfosit} &= \frac{L}{100} \times 100\% \\ \% \text{ Monosit} &= \frac{M}{100} \times 100\% \\ \% \text{ Neutrophil} &= \frac{N}{100} \times 100\%\end{aligned}$$

## 2. Aktivitas Fagositosis

Aktivitas fagositosis diuji terlebih dahulu dengan mengambil darah ikan pada bagian pangkal ekor menggunakan spuit 1 ml, kemudian diletakkan pada effendoft yang telah ditetesi EDTA. Kemudian sebanyak 50 $\mu$ l bakteri *Micrococcus sp* (10<sup>7</sup>sel/ml). Dihomogenkan menggunakan vortex dan diinkubasi dalam suhu ruang selama 20 menit. Sebanyak 5 $\mu$ l ditetaskan pada objek glass dan dibuat preparat ulas dan dikeringkan di udara. Selanjutnya difiksasi dengan metanol selama 5-10 menit dan dikeringkan. Diredam dalam pewarna Giemsa selama 15-20 menit. Selanjutnya objek glass diamati dibawah mikroskop dan menghitung aktivitas fagosit berdasarkan persentase sel-sel fagositik yang pagositosis.

Aktivitas fagositik dihitung dengan rumus :

$$AF = \frac{\text{Jumlah sel fagosit yang melakukan fagositosis}}{\text{jumlah sel leukosit}} \times 100\%$$

## 3. Aktifitas lisozim

Metode yang digunakan adalah modifikasi dari metode Rowley (1993) dan Klontz (1997). Tahap pertama, sebelumnya hemolim ikan di sentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah itu, diambil dan dipindahkan ke eppendorf yang baru. Kemudian disiapkan agarose dengan konsentrasi 1% sebanyak 0,20 gram dilarutkan kedalam 20 ml larutan PBS, selanjutnya dipanaskan hingga larut kemudian *Micrococcus sp* sebanyak 0,3 gram ditambahkan kedalam agarose tersebut, lalu diaduk hingga homogen kemudian campuran tersebut disebarakan diatas objek glass dan ditunggu hingga dingin. Setelah itu bila agar pada gelas objek sudah memadat dibuat lubang pada media tersebut sebanyak 3 buah dan masukkan sampel uji kedalam lubang tersebut pada agarose menggunakan mikropipet.

Pada objek gelas tersebut dibuat lubang sebanyak tiga buah menggunakan pipet. Plasma darah sebanyak 15 $\mu$ l chicken egg white lysozyme (Sigma) sebagai kontrol positif dan satu lubang lagi diisi dengan lysozyme buffer (Sigma) sebagai control negative. Gelas objek tersebut dibiarkan selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian diinkubasi pada suhu 25<sup>o</sup>C selama 24 jam. Aktivitas lisozim diukur melalui diameter zona hambat yang terbentuk.

### 2.6 Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur meliputi oksigen terlarut diukur menggunakan alat dissolved oxygen meter (DO meter), pH diukur dengan menggunakan pH meter dan suhu.

### 2.7 Analisis Data

Data uji fitokimia, uji MIC, uji cakram dan kualitas air dianalisis secara deskriptif dengan bantuan tabel dan data performa hematologi dan respon imun dianalisis statistik menggunakan analisis ragam (ANOVA), dan jika didapatkan hasil berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji lanjut W-Tukey.

