

JURNAL

DIFERENSIASI LEUKOSIT IKAN JAMBAL SIAM *Pangasius hypophthalmus* YANG TERINFEKSI *Aeromonas hydrophila* DAN DIobati DENGAN EKSTRAK DAUN *Rhizophora* sp.

**OLEH
CHANDRA
1304111866**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2018**

DIFERENSIASI LEUKOSIT IKAN JAMBAL SIAM *Pangasius hypophthalmus* YANG TERINFEKSI *Aeromonas hydrophila* DAN DIOBATI DENGAN EKSTRAK DAUN *Rhizophora* sp.

Oleh

Chandra¹, Henni Syawal², Iesje Lukistyowati²

Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan,
Universitas Riau, Pekanbaru, Provinsi Riau
e-mail:chandrainwansaputra@gmail.com

ABSTRAK

Rhizophora sp. adalah salah satu jenis tumbuhan mangrove yang berpotensi dijadikan sebagai antibakteri, karena banyak mengandung senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dosis terbaik dari ekstrak daun *Rhizophora* sp. untuk mengobati ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* (MAS) dilihat dari diferensiasi leukosit. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yang terdiri empat taraf perlakuan dan tiga kali ulangan. Perlakuan tersebut adalah P₀ (tanpa pengobatan) dan pengobatan dengan larutan ekstrak daun *Rhizophora* sp. dosis P₁ (1300 ppm), P₂ (1600 ppm), dan P₃ (1900 ppm). Pengobatan dengan cara perendaman selama 5 menit dilakukan sebanyak dua kali dengan selang waktu 24 jam. Ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*) yang digunakan berukuran 13-15 cm sebanyak 120 ekor yang terinfeksi *A. hydrophila*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perendaman dengan ekstrak daun *Rhizophora* sp. dosis 1600 ppm telah mampu mengobati *P. hypophthalmus* dari penyakit *Motile Aeromonas Septicaemia* (MAS), dilihat dari rata-rata total leukosit $69,61 \times 10^3$ sel/mm³, diferensiasi leukosit (limfosit 81,33%, neutrofil 9,66% dan monosit 9,00%), indeks fagositik 36,66%, dan kelulushidupan 84,61%.

Kata kunci: Diferensiasi Leukosit, *Pangasius hypophthalmus*, Ekstrak daun *Rhizophora* sp.

-
1. Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau
 2. Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

LEUKOCYTES DIFFERENTIATION OF *Pangasius hypophthalmus* WHICH INFECTED BY *Aeromonas hydrophila* AND TREATED WITH *Rhizophora* sp.

By

Chandra¹, Henni Syawal², Iesje Lukistyowati²

Aquaculture Departement, Marine and Fisheries Faculty
Riau University, Pekanbaru, Riau Province
chandrainwansaputra@gmail.com

ABSTRACT

Rhizophora sp. is one of the mangrove plant which potentially for antibacterial compound, because it has an alkaloids, saponins, flavonoids and tannins. This research purpose was to know the proper dose of *Rhizophora* sp. leaves extract in

healing the MAS disease (*Motile Aeromonas Septicaemia*), which can be seen through the leukocytes differentiation of *Pangasius hypophthalmus*. The method in this research was the experimental method using the Completely Randomized Design (CRD) with one factor, four treatment levels and three times replication. The treatments were P₀ (without immersion) and the immersion with leaves extract at dose P₁ (1300 ppm), dose P₂ (1600 ppm), and dose P₃ (1900 ppm). The immersion was implemented twice in 24 hours for about 5 minutes. The fishes were used at 13-15 cm of length for 120 fishes which were infected by leaves extract. The results showed that the immersion of *Rhizophora* sp. leaves extract at dose 1600 ppm of leaves extract dose could treat the MAS disease (*Motile Aeromonas Septicaemia*) of *Pangasius hypophthalmus*. The total average of leukocytes was $69,61 \times 10^3 \text{ cell/mm}^3$, leukocytes differentiation was 81,33% of lymphocytes, 9,66% of neutrophils, 9,00% of monocytes. The fagocyte index was 36,66% and the survival rate was 84,61%.

Key Words : Leukocytes, *Pangasius hypophthalmus*, *Rhizophora* sp. leaves extract

1. Student of Marine and Fisheries Faculty, Riau University
2. Lecturer of Marine and Fisheries Faculty, Riau University

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) merupakan jenis ikan *catfish* yang berasal dari Perairan Negara Thailand dan Vietnam. Salah satu desa di Provinsi Riau, yaitu Desa Koto Mesjid saat ini telah menjadikan *central* budidaya ikan patin dengan luas usaha budidaya mencapai 62 Ha, dan telah memproduksi sebanyak 60 ton perhari (Anonim, 2014).

Aeromonas hydrophila adalah bakteri yang dapat menimbulkan penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicaemia*) atau disebut juga penyakit bercak merah. Bakteri ini termasuk patogen oportunistik yang hampir selalu ada di air dan siap menyerang apabila ikan dalam kondisi kurang sehat. Menurut Mulia (2012), serangan bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan kematian sebesar 80-100% dari jumlah populasi yang dibudidayakan hanya dalam waktu satu minggu, sehingga dapat menyebabkan petani mengalami kerugian karena gagal panen.

Pengobatan dan pemberantasan *A. hydrophila* menggunakan bahan alami untuk mencegah maupun mengobati penyakit pada ikan, perlu dikembangkan seiring dengan dilarangnya penggunaan antibiotik (Lukistyowati, 2012). Oleh karena itu perlu dicari alternatif lain yang efektif, murah, ramah lingkungan, dan aman terhadap manusia.

Beberapa peneliti telah membuktikan bahwa tanaman obat efektif mengatasi penyakit ikan dan memiliki beberapa keuntungan, salah satunya bahan alami antibakteri yang berpotensi sebagai obat adalah tanaman mangrove, salah satunya mangrove jenis *Rhizophora* sp. yang memiliki potensi sebagai antibiotik alami karena mengandung senyawa antibakteri seperti alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin (Rohaeti *et al.*, 2010). Hasil uji sensitivitas ekstrak daun *Rhizophora* sp. terhadap bakteri *A. salmonicida* dan *V. harvey*, zona hambat yang dihasilkan berkisar antara 8,50-14,80 mm (Suciati *et al.*, 2012), dan terhadap bakteri *Edwardsiella tarda* 7,00 mm (Kurniawan, 2017).

Berdasarkan uraian diatas maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai diferensiasi leukosit ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan diobati dengan ekstrak daun *Rhizophora* sp..

Tujuan dan Manfaat

Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan dosis terbaik dari ekstrak daun *Rhizophora* sp. yang dapat mengobati ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* dilihat dari diferensiasi leukosit. Sedangkan manfaat yang diharapkan adalah ekstrak daun *Rhizophora* sp. dapat digunakan sebagai obat untuk menanggulangi penyakit *Motile Aeromonas Septicaemia* (MAS).

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei - Agustus 2017 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau, serta di Laboratorium Kimia Terpadu Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Riau.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor, empat taraf perlakuan, dan untuk mengurangi tingkat kekeliruan dilakukan ulangan sebanyak tiga kali sehingga diperoleh 12 unit percobaan.

P₀ :Ikan terinfeksi *A. hydrophila* tanpa dilakukan pengobatan

P₁ :Pengobatan dengan dosis 1300 ppm

P₂ :Pengobatan dengan dosis 1600 ppm

P₃ :Pengobatan dengan dosis 1900 ppm

Persiapan Ekstrak Daun *Rhizophora* sp.

Pembuatan ekstrak daun *Rhizophora* sp, sebagai berikut: Daun *Rhizophora* sp. dicuci dengan air mengalir dan dipotong kecil-kecil, kemudian dikeringanginkan selama 7 hari pada suhu ruangan. Daun yang sudah kering dihaluskan menggunakan *blender*, dan diayak menggunakan saringan *meshsize* 100 µm hingga didapatkan tepung daun (*simplisia*) berupa butiran halus dan seragam. *Simplisia* daun *Rhizophora* sp. siap untuk dilakukan ekstraksi dengan cara maserasi (*perendaman*)tepung daun *Rhizophora* sp.dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1: 5 (b/v) dilarutkan didalam botol kaca.

Botol kaca tersebut disimpan pada suhu ruang selama 24 jam, sesekali diaduk untuk mempercepat kontak antara sampel dengan pelarut. Setelah itu, sampel disaring dengan kertas saring *meshsize* 50 µm sehingga diperoleh filtrate dan residu. Selanjutnya dilakukan remaserasi (*perendaman* kembali menggunakan pelarut dan cara yang sama) terhadap residu, remaserasi dilakukan sebanyak 7 kali sampai diperoleh filtrate berwarna bening. Filtrat yang dihasilkan ditampung menjadi satu dan dipekatkan menggunakan *Rotary vacuum evaporator* dengan suhu 40-60°C dengan kecepatan 250 rpm hingga pelarut habis menguap, dan diperoleh ekstrak kental ekstrak daun *Rhizophora* sp. berupa gel (Handayani, 2013).

Penyediaan Isolat *A. hydrophila*

Isolat *A. hydrophila* yang diperoleh dari Laboratorium Parasit Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan dilakukan peremajaan bakteri. Isolat diperbanyak pada media TSA (*Tryptic Soy Agar*), media GSP (*Pseudomonas Aero-*

monas Selektiv Agar) dan dibuat stok pada media agar miring, supaya biakan bertahan lebih lama. Setelah 24 jam, biakan bakteri dikultur kembali ke dalam media TSB (*Triptic Soy Broth*) yang baru. Setelah 24 jam, media tersebut dapat diambil dan digunakan untuk melakukan uji patogenitas terhadap ikan jambal siam.

Sebelum bakteri stok digunakan untuk uji patogenitas, dilakukan Postulat Koch untuk meningkatkan virulensi dari isolat. Setelah itu, bakteri diinjeksikan secara intramuscular ke 10 ekor ikan sebanyak 0.1 ml/ekor ikan. Ikan dipelihara selama 24-48 jam, selanjutnya diamati gejala klinis yang muncul. Ikan yang menunjukkan gejala klinis terserang *A. hydrophila* diambil dan diisolasi organ ginjal ke media GSP untuk mengetahui penyebab kematian. Bakteri hasil Postulat Koch inilah yang akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Persiapan Ikan yang Terinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sebelum penginfeksian, ikan dibius dengan cara perendaman dalam air yang telah diberi minyak cengkeh 0,1 mL/L. Setelah itu dilakukan penginfeksian ke ikan dengan menginfeksikan sebanyak 0,1 mL/ekor dengan kepadatan suspensi bakteri 10^8 CFU/mL secara intramuscular. Setelah 15 jam pascainfeksi menunjukkan gejala klinis yang terjadi, seperti pendarahan pada pangkal sirip, sirip geripis, produksi lendir yang berlebihan, dan diikuti dengan munculnya ulcer pada bagian bekas penginfeksian, Setiap akuarium diisi dengan 10 ekor ikan yang terinfeksi *A. hydrophila*. Selanjutnya dilakukan pengacakan terhadap ikan untuk

dimasukkan ke wadah pemeliharaan dan dilakukan pengobatan dengan ekstrak daun *Rhizophora* sp..

Pengobatan dengan Ekstrak Daun *Rhizophora* sp.

Pengobatan dilakukan dengan cara perendaman. Perendaman dilakukan di dalam 5 liter air yang sudah berisi larutan ekstrak daun *Rhizophora* sp. sesuai dengan dosis selama 5 menit sebanyak dua kali dengan selang waktu 24 jam. Selama perendaman tetap diberikan aerasi, setelah itu ikan dikembalikan ke media pemeliharaan dan dilanjutkan pemeliharaan hingga hari ke-14 pascapengobatan. Selama pemeliharaan ikan uji tetap diberikan pakan tiga kali sehari (pagi, siang, dan sore), Untuk menjaga kualitas air dilakukan penyiponan.

Pengamatan Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis dilakukan setelah 10-15 jam pascainfeksi, dan pascapengobatan. Gejala yang diamati adalah perubahan morfologi dan tingkah laku ikan. Perubahan morfologi yang terjadi, seperti pendarahan pada pangkal sirip, sirip geripis, produksi lendir yang berlebihan dan diikuti dengan timbulnya ulcer pada bagian bekas suntikan. Sedangkan perubahan tingkah laku ikan berenang tidak teratur dan respons terhadap pakan menurun.

Pengambilan Darah Ikan

Pengambilan darah dilakukan sebanyak tiga kali, yaitu pertama (sebelum ikan terinfeksi), kedua (15 jam pascainfeksi), dan ketiga (hari ke-14 pascapengobatan). Sebelum pengambilan darah, ikan dibius dengan minyak cengkeh dosis 0,1 mL/L, syrenged dan tabung eppendorf dibilas terlebih dahulu dengan antikoagulan, yaitu EDTA

10%. Darah ikan diambil dari bagian *vena caudalis* dengan menggunakan *syringe* 1 mL, darah yang telah diambil dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* dan selanjutnya digunakan untuk penghitungan total leukosit, diferensiasi leukosit dan pengukuran indeks fagositik.

Pengukuran Parameter

Total Leukosit

Prosedur perhitungan total leukosit mengacu pada Blaxhall dan Daisley (1973) dalam Syatma (2016), yaitu dengan cara sampel darah dihisap dari mikrotube dengan menggunakan pipet leukosit hingga skala 0,5 dan ditambah larutan Turk hingga garis 11, setelah itu dihomogenkan dengan cara menggoyang-goyangkan pipet leukosit seperti membentuk angka delapan selama lima menit. Setelah homogen, darah dibuang sebanyak dua tetes dengan tujuan untuk menghilangkan udara, lalu darah diteteskan pada kotak *haemocytometer* dan ditutup dengan *cover glass*. Selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 x. Jumlah total leukosit dihitung dengan menggunakan mikroskop pada 4 kotak besar *haemocytometer* dengan rumus sebagai berikut :

$$\sum \text{Leukosit} = \sum n \times 50 \text{ sel/mm}^3$$

Dimana :

$\sum n$ = Jumlah total leukosit pada 4 kotak besar

50 = Faktor pengenceran

Diferensiasi Leukosit

Penghitungan jenis leukosit mengikuti prosedur Blaxhall dan Daisley (1973) dalam Syatma (2016), yakni dengan cara mengambil darah ikan, kemudian diteteskan di atas kaca objek lalu diratakan dengan kaca objek lain dengan kemiringan 30°. Setelah itu

Kelulushidupan

preparat ulas darah dikering anginkan, setelah kering difiksasi dengan larutan metanol 95% selama 5 menit, kemudian dibilas dengan akuades lalu dikering anginkan, dan dilanjutkan dengan pewarnaan Giemsa selama 30 menit, setelah itu dicuci dengan air mengalir secara perlahan, kemudian dikering anginkan, lalu diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 x. Jenis leukosit yang diamati adalah limfosit, monosit, dan neutrofil, kemudian dihitung sampai berjumlah 100 sel dan dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persentase sel} = \sum n \times 100\%$$

Dimana :

$\sum n$ = jumlah sel yang dihitung

Indeks Fagositik

Prosedur untuk menentukan indeks fagositik, mengacu pada Anderson dan Siwicki (1993) dalam Farouq (2011), yaitu sampel darah diambil sebanyak 50 μL dan dimasukkan ke dalam mikrotube, setelah itu ditambahkan sebanyak 50 μL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kepadatan 10^7 sel/mL. Kemudian suspensi tersebut dihomogenkan dan diinkubasi dalam suhu ruang selama 20 menit. Selanjutnya dibuat preparat ulas darah dan diamati di bawah mikroskop.

Persentase sel-sel fagositik dapat dihitung dengan cara mengamati jumlah sel-sel yang menunjukkan proses fagositosis dari 100 sel fagosit yang teramati. Adapun cara perhitungannya adalah sebagai berikut :

$$\text{Indeks fagositik} = \frac{\sum \text{sel fagosit}}{100} \times 100\%$$

Menurut Effendie (2002) dalam Bertha (2016), kelulushidupan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

Dimana :

No = Jumlah ikan yang hidup pada awal penelitian (ekor)

Nt = Jumlah ikan yang hidup pada akhir penelitian (ekor)

SR = Kelulushidupan (%)

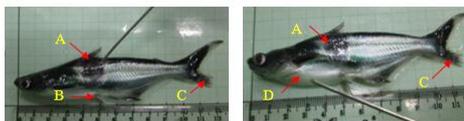
Analisis Data

Data yang diperoleh yaitu total leukosit, diferensiasi leukosit, indeks fagositik, yang diperoleh dari penelitian ini ditabulasikan dalam bentuk tabel. Data kemudian dianalisis homogenitasnya dan selanjutnya dianalisis menggunakan analisa variansi (ANOVA). Apabila perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata dimana $P < 0.05$ maka dilakukan uji lanjut Newman-Keuls. Data penunjang seperti gejala klinis, tingkat kelulushidupan dan kualitas air, ditabulasikan dalam bentuk table dan dianalisa secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Klinis

Gejala klinis ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* mengalami gejala klinis berupa warna tubuh gelap pucat, pergerakan lambat, produksi lendir berlebihan, sirip ekor tidak normal. Untuk lebih jelas gejala klinis ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 5.

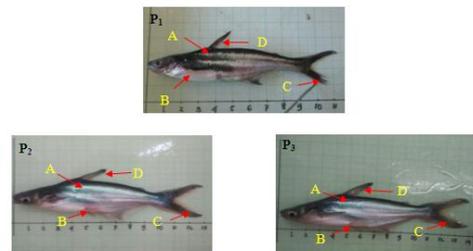


Gambar 5. Gejala Klinis Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang terinfeksi *A. hydrophila*

Keterangan: A). Luka pada bekas suntikan, B). Pendarahan pada pangkal sirip, C). Geripis pada sirip, dan D). Perut mengembung

Gejala klinis ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* pada jam ke-15 yang terlihat pada Gambar 5, mengalami gejala klinis yakni, luka dibagian infeksi terlihat semakin membesar hingga menyebabkan ulkus (borok). Ikan lebih sering berada di dekat aerasi, sesekali ikan bergerak hiperaktif bahkan meloncat ke permukaan akuarium dan berenang tidak teratur, hal ini disebabkan terjadinya geripis pada sirip punggung, disertai pendarahan pada sirip perut dan anal.

Ikan uji pada perlakuan P_0 mengalami kematian total pada jam ke-72. Sedangkan pada ikan uji yang dilakukan pengobatan, yakni; P_1 (1300 ppm), P_2 (1600 ppm), dan P_3 (1900 ppm) mengalami pemulihan berupa menutupnya lesi (luka) pada bekas penginfeksian, warna tubuh mendekati normal, produksi lendir normal, diikuti dengan pergerakan ikan yang mulai aktif. Untuk lebih jelas perubahan gejala klinis ikan jambal siam setelah pengobatan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Gejala Klinis Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*) Hari ke-14 Pasca-pengobatan dengan Ekstrak Daun *Rhizophora* sp.

Keterangan: P_1 = A). Borok/luka sudah hilang B). Pendarahan pada sirip punggung dan perut, C). Geripis pada pangkal sirip ekor, D). Sirip punggung normal, P_2 = A). Borok/luka sudah hilang B). Pendarahan pada sirip perut sudahhilang, C). Sirip ekor normal, D) Sirip punggung normal, P_3 = A). Borok/luka sudah hilang B). Pendarahan pada sirip perut sudah hilang, C). sirip ekor normal D). Sirip punggung normal.

Kemampuan ekstrak daun *Rhizophora* sp. mengobati luka pada bagian infeksi dikarenakan adanya kandungan fitokimia, yakni saponin dan flavonoid. Mekanisme kerja senyawa saponin dalam mengobati luka adalah dengan memacu pembentukan kolagen, yaitu struktur protein yang berperan dalam proses penyembuhan luka (Harborne, 1987 dalam Haryani *et al.*, 2012). Senyawa flavonoid bermanfaat untuk melindungi sel, antiinflamasi, anti-

biotik, dan memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C (meningkatkan efektivitas vitamin C).

Total Leukosit, Diferensiasi Leukosit, dan Indeks Fagositik pada Ikan Jambal Siam

Hasil perhitungan terhadap rerata diferensiasi leukosit, total leukosit, dan indeks fagositik pada ikan jambal siam dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata Total Leukosit, Diferensiasi Leukosit, dan Indeks Fagositik pada Ikan Jambal Siam Selama Penelitian

Pengamatan	Perlakuan	Rerata Total Leukosit ($\times 10^3$ sel/mm ³)	Rerata Diferensiasi Leukosit			Rerata Indeks Fagositik (%)
			Limfosit (%)	Monosit (%)	Neutrofil (%)	
Jam ke- 15 Ikan Terinfeksi <i>A. hydrophila</i>	P ₀	106,58 ± 5,12	71,33 ± 1,52	16,33 ± 1,15	12,33 ± 0,57	43,33 ± 0,57
	P ₁	105,55 ± 5,34	70,66 ± 1,15	16,66 ± 0,57	12,66 ± 1,52	43,00 ± 2,00
	P ₂	106,72 ± 4,28	71,33 ± 0,57	16,00 ± 1,15	12,00 ± 1,00	43,66 ± 0,57
	P ₃	106,16 ± 3,36	70,66 ± 0,57	16,66 ± 0,57	12,66 ± 0,57	43,33 ± 1,52
Hari ke-14 Pascapengobatan <i>Rhizophora</i> sp.	P ₀	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
	P ₁	75,36 ± 0,87 ^c	70,66 ± 1,15 ^b	16,00 ± 1,00 ^c	13,33 ± 1,52 ^d	30,33 ± 2,51 ^b
	P ₂	73,43 ± 3,11 ^c	83,33 ± 1,15 ^c	9,66 ± 0,57 ^b	7,00 ± 1,00 ^b	36,66 ± 2,08 ^c
	P ₃	69,61 ± 0,52 ^b	81,33 ± 1,52 ^c	9,66 ± 0,57 ^b	9,00 ± 1,00 ^c	35,33 ± 3,21 ^c

*Superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda nyata P<0,05

Keterangan: P₀; Terinfeksi *A. hydrophila* dan tanpa perendaman ekstrak daun *Rhizophora* sp, P₁; Terinfeksi *A. hydrophila* dan perendaman ekstrak daun *Rhizophora* sp dosis 1300 ppm, P₂; Terinfeksi *A. hydrophila* dan perendaman ekstrak daun *Rhizophora* sp dosis 1600 ppm, P₃; Terinfeksi *A. hydrophila* dan perendaman ekstrak daun *Rhizophora* sp dosis 1900 ppm.

Total Leukosit

Berdasarkan Tabel 4, Jumlah rata-rata leukosit pada ikan jambal siam yang terinfeksi *A. hydrophila* pada tiap perlakuan berkisar antara 105,55-106,72 $\times 10^3$ sel/mm³. Menurut Rastogi (1977) dalam Farouq (2011) bahwa jumlah sel darah putih pada ikan berkisar antara 20-150 $\times 10^3$ sel/mm³. Total leukosit tertinggi pascapengobatan terdapat pada perlakuan P₁ (dosis 1300 ppm), yaitu 75,36 $\times 10^3$ sel/mm³ sedangkan yang terendah pada perlakuan P₃ (dosis 1900 ppm) yaitu 69,61 $\times 10^3$ sel/mm³.

Hasil uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan perendam-

an dengan ekstrak daun *Rhizophora* sp. setelah dilakukan pengobatan berpengaruh nyata terhadap total leukosit ikan jambal siam (P<0,05). Sehingga dilakukan uji lanjut studi Newman-Keuls untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yaitu P₃ berbeda nyata terhadap P₂ dan P₁, sedangkan P₂ dan P₁ tidak berbeda nyata.

Total leukosit pada perlakuan P₁ masih tinggi mengindikasikan bahwa sel pada tubuh ikan merespons terhadap adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Hal ini sependapat dengan pernyataan Kresno (2001) dalam Iman, (2017),

bahwa tingginya sel leukosit merupakan refleksi keberhasilan sistem imunitas ikan dalam mengembangkan respons imunitas seluler (non spesifik) sebagai pemicu untuk respons kekebalan.

Perlakuan P₃ memiliki selisih jumlah total leukosit yang lebih rendah disebabkan karena infeksi *A. hydrophila* dan kelebihan dosis yang diberikan sangat tinggi, yaitu 1900 ppm sehingga menyebabkan ikan menjadi stres dan juga terjadi penurunan total leukosit. Menurut Haditomo (2011), dalam penelitiannya berpendapat bahwa penurunan leukosit menandakan leukosit belum mampu mengatasi infeksi *A. hydrophila* dalam darah. Menurut hasil penelitian Syawal *et al.*, (2008) menyatakan bahwa tingginya dosis yang diberikan menyebabkan ikan tidak mampu beradaptasi dan menjadi stres, dengan demikian daya tahan tubuhnya dapat menurun. Lebih lanjut menurut El-mostehy *et al.*, (1998) dalam Syawal *et al.*, (2008), senyawa kimiawi mengandung senyawa tannin dan saponin yang dalam konsentrasi tinggi dapat menjadi toksik terhadap ikan uji.

Diferensiasi Leukosit

Persentase limfosit ditemukan lebih tinggi dari monosit dan netrofil dari awal sampai akhir pengamatan berkisar antara 70,66-71,33%, Menurut Preager *et al.*, (2016), persentase limfosit pada ikan normal berjumlah 71,12-82,88% dari total leukosit dalam darah ikan

Hasil uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan perendaman ekstrak daun *Rhizophora* sp. menunjukkan berpengaruh nyata terhadap persentase limfosit ikan jambal siam ($P < 0,05$). Nilai persentase limfosit terbaik terdapat

pada P₂ dibandingkan dengan P₁ dan P₃. Hasil uji lanjut studi Newman-Keuls menunjukkan P₂ tidak berbeda nyata terhadap P₃ tetapi P₂ berbeda nyata dengan P₁. Persentase limfosit mengalami perubahan yang berkisar antara 70,66-83,43% dimana yang tertinggi terdapat pada perlakuan P₂ (dosis 1600 ppm), yaitu 83,43%, dan yang terendah pada perlakuan P₁ (dosis 1300 ppm), yaitu 70,66%.

Hal ini dikarenakan dosis 1300 ppm yang diberikan tidak mampu untuk meningkatkan respons imun non spesifik sel limfosit dalam ikan uji terhadap infeksi *A. hydrophila*, sehingga bakteri patogen masih berkembang untuk menginfeksi ikan tersebut dan menyebabkan persentase sel limfosit masih sama dan masih rendah seperti pascainfeksi. Sedangkan peningkatan persentase limfosit dalam darah berperan besar dalam meningkatkan respon imun spesifik ikan uji terhadap infeksi *A. hydrophila*, dikarenakan limfosit berfungsi sebagai penghasil antibodi untuk kekebalan tubuh dari gangguan penyakit sependapat dengan (Moyle dan Cech, 1998). Menurut Subramani *et al.*, (2002) flavonoid berfungsi untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu fungsi mikroorganisme, termasuk bakteri patogen.

Persentase monosit pada pengamatan ikan terinfeksi berkisar antara 16,00-16,66%. Rerata hasil persentase monosit ikan terinfeksi *A. hydrophila* mengalami penurunan setelah pascapengobatan dengan ekstrak daun *Rhizophora* sp., yaitu berkisar antara 9,66-16,00%.

Hasil uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan perendaman ekstrak daun *Rhizophora* sp.

menunjukkan berpengaruh nyata terhadap persentase monosit ikan jambal siam ($P < 0,05$). Nilai persentase monosit tertinggi terdapat pada perlakuan P_1 dan yang terendah pada perlakuan P_2 dan P_3 . Hasil uji lanjut studi Newman-Keuls menunjukkan P_1 berbeda nyata dengan P_2 dan P_3 tetapi P_2 tidak berbeda nyata terhadap P_3 .

Persentase monosit pada dosis 1300 ppm nilainya masih tetap seperti pada ikan terinfeksi, dikarenakan sel monosit masih bekerja dalam memfagosit bakteri. Hal ini sependapat dengan Suhermanto *et al.*, (2013) menyatakan bahwa monosit bersifat fagosit lebih kuat sehingga mampu memfagosit partikel yang lebih besar, monosit yang matang disebut magrofag. Sedangkan persentase monosit pada pada dosis 1600 dan 1900 ppm terlihat bahwa persentase monosit menurun, dikarenakan kondisi ikan semakin membaik dengan dibuktikan dengan menurunnya gejala infeksi.

Dapat diketahui bahwa dosis yang diberikan sudah merespon sel monosit untuk melakukan fagositosis untuk menyingkirkan mikro-organisme patogen yang menginfeksi (Chinabut *et al.*, 1991). karena ekstrak daun *Rhizophora* sp. mengandung salah satu senyawa aktif, yaitu flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki fungsi sebagai zat antibakteri, antiviral, dan antiradang yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan menghambat produksi enterotoksin, sehingga organ yang memproduksi sel darah mampu kembali pada kondisi normal (Septiana, 2011).

Hasil persentase neutrofil pada ikan terinfeksi bervariasi jika

dibandingkan pascapengobatan. Persentase neutrofil ikan terinfeksi berkisar antara 12,00-12,66%, sedangkan pascapengobatan 7,00-13,33%. Menurut Lagler *et al.*, (1997) jumlah neutrofil pada ikan normal adalah sekitar 6-8% dari total leukosit dalam darah ikan. Persentase neutrofil tertinggi pada perlakuan P_1 (dosis 1300 ppm), yaitu 13,33%, sedangkan yang terendah pada perlakuan P_2 (dosis 1600 ppm), yaitu 7,00%.

Berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan perendaman ekstrak daun *Rhizophora* sp. berpengaruh nyata terhadap persentase neutrofil ikan jambal siam ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut studi Newman-Keuls menunjukkan P_1 berbeda nyata terhadap P_2 dan P_3 .

Persentase neutrofil pada perlakuan dosis 1300 ppm, mengalami peningkatan setelah pascapengobatan dengan ekstrak daun *Rhizophora* sp. Peningkatan neutrofil dalam darah dikarenakan sel neutrofil masih bekerja dalam proses menekan infeksi bakteri yang terjadi. Sependapat dengan Dellman dan Brown (1989) dalam Abdullah (2008), pada saat terjadi infeksi bakteri, biasanya jumlah neutrofil dalam darah meningkat, hal ini disebabkan limfoid perlu melepas leukosit untuk melawan infeksi. Sedangkan pada perlakuan dosis 1600 dan 1900 ppm, mengalami penurunan tetapi masih diatas rata-rata kisaran neutrofil ikan normal. Penurunan jumlah neutrofil diduga kondisi ikan sudah membaik dan neutrofil berkumpul di tempat terjadinya pendarahan atau luka (Abdullah, 2008).

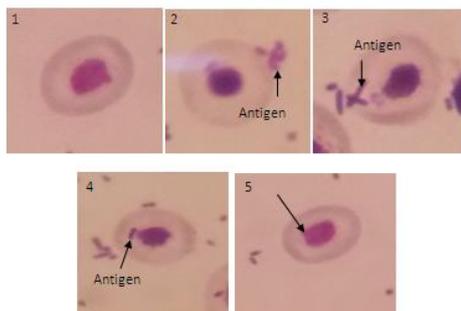
Penurunan persentase neutrofil dikarenakan perendaman ekstrak daun *Rhizophora* sp.

mengandung senyawa fitokimia (flavonoid dan alkaloid) yang berpengaruh terhadap sel neutrofil, sel tersebut bekerja aktif pada daerah terjadinya luka (tukak), sehingga sel neutrofil yang terdapat pada sirkulasi darah sedikit. Abdullah (2008) menyatakan bahwa sembuhnya tukak pada ikan dan menurunnya gejala klinis infeksi, maka organ limfoid tidak lagi memproduksi neutrofil dalam jumlah yang banyak.

Indeks Fagositik

Persentase indeks fagositik tertinggi pada perlakuan P₂ yaitu 36,66 dan terendah pada perlakuan P₁ yaitu 30,33%. Berdasarkan hasil uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan perendaman ekstrak daun *Rhizophora* sp. setelah dilakukan pengobatan berpengaruh nyata terhadap rerata indeks fagositik ikan jambal siam ($P < 0,05$). Rerata indeks fagositik terbaik terdapat pada perlakuan P₂. Hasil uji lanjut studi Newman-Keuls menunjukkan P₂ berbeda nyata terhadap P₁ tetapi tidak berbeda nyata terhadap P₃.

Pada pengamatan indeks fagositik, sel fagosit yang lebih banyak ditemukan melakukan fagositosis adalah monosit. Menurut Fujaya (2002) dalam Abdullah (2008), monosit lebih kuat dibanding neutrofil dalam memfagositosis bakteri, bahkan dapat memfagositosis partikel yang lebih besar.



Gambar 9. Aktivitas Fagositosis Ikan Jambal Siam

Keterangan:

Sel Monosit, 2) Pelekatan Antigen, 3) Penelanan Antigen, 4) Proses fagositosis, 5) Hasil fagositosis sudah selesai dengan ditandai bakteri sudah hancur

Hasil tersebut dapat diketahui bahwa perendaman ekstrak daun *Rhizophora* sp. menunjukkan perlakuan terbaik pada dosis 1600 ppm karena persentase sel leukosit yang memfagositosis tertinggi, dikarenakan respon imun non spesifik terhadap persentase monosit pada ikan jambal siam meningkat sehingga sistem pertahanan tubuh ikan sudah terbentuk dan siap memfagositosis bakteri. Sedangkan yang terendah yaitu pada perlakuan dosis 1300 ppm. Pada dosis 1300 ppm masih tergolong rendah sehingga belum mampu meningkatkan aktivitas fagositosis. Sedangkan dosis 1900 ppm merupakan dosis yang diberikan terlalu berlebihan sehingga masih belum sesuai kebutuhan ikan dan tidak memberikan pengaruh pada sistem imun bahkan bersifat toksik bagi ikan patin.

Kelulushidupan

Pengamatan terhadap kelulushidupan ikan jambal siam selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kelulushidupan Ikan Jambal Siam Selama Penelitian

P	Kelulushidupan/ SR (%)	
	Awal Pemeliharaan	Pasca pengobatan
P ₀	100	0
P ₁	100	33,33
P ₂	100	84,61
P ₃	100	66,67

Keterangan: P= Perlakuan

Berdasarkan Tabel 5, Kelulushidupan ikan uji pascapengobatan tertinggi pada perlakuan P₂ dengan

nilai kelulushidupan 84,61%. Hal ini diduga karena adanya kandungan zat bioaktif yang terdapat pada ekstrak daun *Rhizophora* sp. telah mampu meningkatkan sistem imun terhadap infeksi bakteri sehingga kematian ikan dapat ditekan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Ekstrak daun *Rhizophora* sp. telah mampu mengobati ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) dari penyakit *Motile Aeromonas Septicaemia* (MAS). Dosis ekstrak daun *Rhizophora* sp. 1600 ppm merupakan dosis terbaik untuk mengobati ikan jambal siam yang terinfeksi *A. hydrophila*, dilihat dari rata-rata total leukosit $69,61 \times 10^3$ sel/mm³, diferensiasi leukosit (limfosit 81,33%, neutrofil 9,66% dan monosit 9,00%), nilai indeks fagositik 36,66% dan kelulushidupan 84,61%.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan mengenai penerapan pengobatan dengan metode perendaman ekstrak daun *Rhizophora* sp. pada skala lapang agar dapat diterapkan oleh para petani ikan dengan skala besar sehingga hasilnya bisa dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

Abdullah Y. 2008. Efektivitas Ekstrak Daun Paci-Paci *Leucas lavandulaefolia* untuk Pencegahan dan Pengobatan Infeksi Penyakit MAS *Motile Aeromonas Septicaemia* ditinjau dari Patologi Makro dan Hematologi Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. 148 hlm.

Anonim. 2014. Kampong Patin Potensi Besar Eduwisata Di Riau. <http://tripriau.com/1054/kampong-patin-potensi-besar-eduwisata-d-riau.html>. Diunduh 13 April 2015.

Apriyanto H, Harpeni E, Setyawan A dan Tarsim. 2014. Pemanfaatan Ekstrak Buah *Rhizophora* sp. sebagai Antibakteri terhadap Bakteri Patogen Ikan Air Tawar. *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan* 3(1): 289-296 hlm.

Bertha A. 2016. Kelulushidupan Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang diberi Kurkumin Kunyit (*Curcuma domestica* V.) dan Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau. Pekanbaru. 93 hlm.

Chinabut S, Limsuwan C and Kitsawat P. 1991. *Histology of The Walking Catfish (Clarias batrachus)*. Departemen of Fisheries Thailand. Thailand. 96 hlm.

Farouq A. 2011. Aplikasi Probiotik, Prebiotik dan Sinbiotik dalam Pakan untuk Meningkatkan Respon Imun dan Kelangsungan Hidup Ikan Nila *Oreochromis niloticus* yang Diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. [Skripsi]. Departemen Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 78 hlm.

Haditomo A.H.C. 2011. Pemberian Probiotik pada Media Budidaya untuk Pengendalian *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). [Tesis]. IPB, Bogor. 72 hlm.

Handayani S. 2013. Kandungan Flavonoid Kulit Batang dan

- Daun Pohon Api-Api (*Avicennia marina*) sebagai Senyawa Aktif Antioksidan. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 51 hlm.
- Iman K.N. 2017. Diferensiasi Leukosit Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang diberi Pakan Mengandung Ekstrak Kurkumin Kunyit (*Curcuma domestica* V). [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau. Pekanbaru. 45 hlm.
- Kurniawan. 2017. Sensitivitas Ekstrak Daun *Rhizophora* sp. terhadap Bakteri *Edwardsiella tarda*. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau.
- Lukistyowati I. 2012. Studi Efektivitas Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) untuk Mencegah Penyakit *Edwardsiellosis* pada Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). *Berkala Perikanan Terubuk* 40(2) : 56-74 hlm.
- Mulia D.S. 2012. Penggunaan Vaksin Debris Sel *Aeromonas hydrophila* dengan Interval Waktu Booster Berbeda terhadap Respon Imun Lele Dumbo (*Clarias gariepinus* Burchell). *Sains Aquaticus*, 10(2): 86-95 hlm.
- Rohaeti E, Batubara I, Lieke A, dan Darusman. 2010. Potensi Ekstrak *Rhizophora* sp. sebagai Inhibitor Tirosinase. *Prosiding Semnas Sains III*. IPB, Bogor.
- Septiana R. 2011. Identifikasi dan Uji Aktivitas Bakteri Fraksi Teraktif Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav). [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 70 hlm.
- Subramani S, Casimir C, and Akoh. 2002. Flavonoids and Antioxidant Activity of Georgia Grown *Vidalia* onions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (19). 5338-5342.
- Suhermanto, A., S. andayani dan Maftuch. 2013. Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Untuk Meningkatkan Leukosit dan Diferensial Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Kelautan*. 4 (2): 159-156 hlm.
- Suciati A. Wardiyanto dan Sumino. 2012. Efektifitas Ekstrak Daun *Rhizophora mucronata* dalam Menghambat Pertumbuhan *Aeromonas Salmonicida* dan *Vibrio Harveyi*. *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan* 1(1): 1-9 hlm.
- Syatma M. 2016. Penambahan Simplisia Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dalam Pakan terhadap Diferensiasi Leukosit Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Riau. 112 hlm.
- Syawal H, Syafriadiman, Hidayah S. 2008. Pemberian ekstrak kayu siwak (*Salvadora persica* L.) untuk meningkatkan kekebalan ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) yang dipelihara dalam keramba. *Biodiversitas*, 9(1): 44-47 hlm.