

ARTIKEL ILMIAH

**DIFERENSIASI LEUKOSIT IKAN JAMBAL SIAM
(*Pangasius hypophthalmus*) YANG DIRENDAM DALAM LARUTAN DAUN
INAI (*Lawsonia inermis* L.)**

OLEH:

SAMPANG HOTRAMADI HASUGIAN

1304112510



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

**DIFERENSIASI LEUKOSIT IKAN JAMBAL SIAM
(*Pangasius hypophthalmus*) YANG DIRENDAM DALAM LARUTAN DAUN
INAI (*Lawsonia inermis* L.)**

Oleh
Sampang Hotramadi Hasugian¹, Morina Riauwaty², Henni Syawal²,
Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan,
Universitas Riau, Pekanbaru, Provinsi Riau
e-mail: sampanghasugian@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai Oktober 2017 bertempat di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan larutan daun inai meningkatkan respon imun non-spesifik ikan jambal siam dengan melihat total leukosit, diferensiasi leukosit dan indeks fagositosis. Metode yang digunakan adalah eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor lima taraf perlakuan. Dosis yang digunakan adalah kontrol negatif (Kn) tanpa perendaman larutan daun inai dan tidak diinfeksi bakteri *A. hydrophila*, kontrol positif (Kp) tanpa perendaman larutan daun inai dan diinfeksi bakteri *A. hydrophila*, 2000 ppm (P1), 3000 ppm (P2), dan 4000 ppm (P3), dan perendaman dilakukan sebanyak lima kali dengan selang waktu tujuh hari sekali selama 5 menit. Larutan daun inai dapat meningkatkan respons imun non-spesifik ikan jambal siam. Dosis larutan daun inai 2000 ppm merupakan dosis terbaik untuk meningkatkan respon imun non-spesifik ikan jambal siam dengan nilai limfosit 83,33%, neutrofil 8,33%, monosit 8,33%, total leukosit $11,27 \times 10^4$ sel/mm³, indeks fagositosis 63,33%, pertambahan bobot mutlak 6,97 g dan tingkat kelulushidupan 93,33%,

Kata kunci: Leukosit, *Pangasius hypophthalmus*, *Lawsonia inermis* L, Fagositosis, *Aeromonas hydrophila*

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

**LEUKOCYTES DIFFERENTIATION OF *Pangasius hypophthalmus*
THAT WERE IMMERSSED IN *Lawsonia inermis* L.**

By
Sampang Hotramadi Hasugian¹, Morina Riauwaty², Henni Syawal²,
Aquaculture Department, Faculty of Fisheries and Marine Science,
University of Riau, Pekanbaru, Riau Province
sampanghasugian@gmail.com

ABSTRACT

The research was conducted in June to October 2017 in Parasites and Fish Diseases Laboratory Faculty of Fisheries and Marine Science, University of Riau.

The purpose of this research was to determine total leucocyte, leukocytes differentiation, and phagocytosis index of *Pangasius hypophthalmus*. There were five treatments applied namely negative control (Kn) was the fishes were not infected with *Aeromonas hydrophila* and were not immersed with *Lawsonia inermis* L. solution, positive control (Kp) was the fishes were not immersed with *Lawsonia inermis* L. solution but were infected with *Aeromonas hydrophila*. The dose of *Lawsonia inermis* L. solution were 2000 ppm (P₁), 3000 ppm (P₂), 4000 ppm (P₃). The fishes were immersed for five minute in once a week for five times. Based on the data, it can be uncluded that the immersion with *Lawsonia inermis* is able to increace the immune system of the *Pangasius hypophthalmus*. The best dose was at 2000 ppm wich was shown by lymphocyte 83,33%, neutrophils 8,33%, monocyte 8.33%, total leukocyte 11,27x10⁴ cell/mm³, fagocyte index 63,33%, the average of weight 6,97 g and survival rate 93,33%.

Keyword: Leukocytes, *Pangasius hypophthalmus*, *Lawsonia inermis* L, phagocytosis, *Aeromonas hydrophila*

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

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*) adalah salah satu ikan air tawar yang cukup potensial dan memiliki nilai ekonomis yang besar dalam kegiatan budidaya dan terus berkembang seiring dengan permintaan pasar yang terus meningkat. Kendala yang dihadapi dalam usaha budidaya ikan air tawar khususnya jambal siam adalah adanya serangan penyakit bakterial seperti *Aeromonas hydrophila*. Bakteri *A. hydrophila* merupakan penyebab penyakit *hemoragic septicaemia* yang juga disebut sebagai MAS (*Motile Aeromonas Septicaemia*).

Bakteri ini sangat ganas dan dapat menyebabkan kematian lebih dari 90% dalam waktu sekitar tiga hari (Swann, 1995 dalam Syadza, 2012). Sedangkan menurut Kharisma (2011), bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan pada ikan *catfish* hingga 100% dalam kurun waktu satu minggu.

Penanggulangan penyakit ikan telah sering dilakukan dengan menggunakan berbagai antibiotik, namun tindakan ini sangat merugikan. Penggunaan antibiotik secara terus menerus dapat menyebabkan bakteri patogen menjadi resisten, terjadi penimbunan residu obat-obatan di dalam tubuh ikan dan lingkungan perairan yang akhirnya berbahaya bagi konsumen (Lukistyowati dan Syawal, 2013).

Peningkatan sistem kekebalan tubuh ikan dapat dilakukan dengan pemberian imun. Aplikasi imun dilakukan pada beberapa jenis ikan baik melalui pakan, perendaman maupun melalui suntikan. Tanaman herbal menjadi pilihan utama dalam pengobatan di berbagai belahan dunia, karena metabolit sekunder yang dihasilkan tanaman telah diakui memiliki banyak aktivitas farmakologi seperti tanaman inai (*Lawsonia inermis* L.).

Hasil uji fitokimia daun inai (*Lawsonia inermis* L.) terdapat berbagai senyawa metabolit antibakteri dan antioksidan diantaranya, *alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, tannin, quinons, steroid, terpenoid dan fitosterol* (Wagini *et al.*, 2014).

Larutan daun inai sensitif terhadap bakteri *A. hydrophila* dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* pada dosis 60% (6.000 ppm) dengan rata-rata zona hambat sebesar 9,22 mm. Hasil uji toksisitas LD₅₀ larutan daun inai terhadap ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*) dengan cara perendaman selama 24 jam adalah 5727 ppm (Lubis, 2017).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan larutan daun inai meningkatkan respon imun non-spesifik ikan jambal siam dengan melihat total leukosit, diferensiasi leukosit dan indeks fagositosis..

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni-Oktober 2017 bertempat di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan rancangan acak lengkap (RAL), satu faktor dengan 5 taraf perlakuan. Masing-masing perlakuan adalah:

Kn= Kontrol negatif (tanpa perendaman larutan daun inai dan tidak diinfeksi bakteri *A. hydrophila*); Kp= Kontrol positif (tanpa perendaman larutan daun inai dan diinfeksi bakteri *A. hydrophila*); P1= Perendaman larutan daun inai dengan dosis 2000 ppm; P2=

Perendaman larutan daun inai dengan dosis 3000 ppm; P3= Perendaman larutan daun inai dengan dosis 4000 ppm.

PROSEDUR PENELITIAN

Pembuatan larutan daun inai

Daun inai yang digunakan yaitu daun ketiga dan keempat dibawah pucuk, kemudian dipisahkan dari tangkainya, dicuci dengan air mengalir lalu dikeringanginkan. Daun inai yang sudah dibersihkan, dihaluskan dengan mortar, kemudian disaring menggunakan kertas *Whatman* sehingga didapatkan larutan stok. Larutan tersebut dipanaskan di atas *hot plate* sampai suhu mencapai 40°C. Selanjutnya larutan daun inai siap digunakan untuk perendaman.

Pemeliharaan dan Perendaman Ikan

Pemeliharaan ikan uji dilakukan selama 30 hari dan selama pemeliharaan ikan diberi pakan komersil berupa pelet tiga kali sehari, yaitu pada pukul 09:00, 13:00, dan 17:00 WIB secara *add satiation* dan penyiponan dilakukan sekali dua hari. Ikan uji direndam dalam air yang telah diberi larutan daun inai selama 5 menit, sesuai dengan dosis masing-masing perlakuan. Setelah itu ikan dikembalikan ke media pemeliharaan secara perlahan yang berisi air bersih. Perendaman dengan larutan daun inai dilakukan sebanyak lima kali dengan selang waktu tujuh hari.

Uji Tantang Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Setelah ikan jambal siam dipelihara selama 30 hari, ikan diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Uji tantang dilakukan dengan menyuntikkan sebanyak 0,1 mL/ekor ikan secara intramuskular.

Pemeliharaan pasca uji tantang dilakukan selama 14 hari dan selama waktu itu ikan tetap diberi pakan serta diamati gejala klinisnya.

Pengambilan Darah Ikan

Syringe dan mikrotube yang digunakan dibasahi dengan Na-sitrat 3,8% untuk mencegah pembekuan darah. darah ikan diambil dengan menggunakan *syringe* 1 mL, darah yang telah diambil dimasukkan ke dalam tabung eppendorf. Pengambilan darah ikan uji dilakukan sebanyak tiga kali, yaitu pada awal pemeliharaan, setelah 30 hari pemeliharaan dan hari ke-14 pasca uji tantang bakteri *A. hydrophila*.

Pengamatan Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis dilihat selama 72 jam pascainfeksi *Aeromonas hydrophila*, meliputi perubahan morfologi dan tingkah laku. Perubahan tingkah laku seperti pergerakan dan respons terhadap makanan menurun, sedangkan perubahan morfologi yang terjadi seperti pendarahan, pembengkakan pada mata (*exophthalmia*) serta timbulnya ulcer pada bagian bekas suntikan.

Total Leukosit

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 membentuk angka delapan selama lima menit. Setelah homogen, darah dibuang sebanyak dua tetes untuk menghilangkan udara, lalu darah diteteskan pada kotak *haemocytometer* dan ditutup dengan

kaca penutup. Selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 40. Jumlah total leukosit dihitung dengan menggunakan mikroskop pada 4 kotak besar *haemocytometer* dengan rumus sebagai berikut :

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

Diferensiasi Leukosit

Sampel darah diambil dari mikrotube, kemudian dibuat preparat ulas darah pada kaca objek lalu dikeringanginkan, selanjutnya difiksasi dengan larutan methanol 95% selama 5 menit, setelah itu dibilas dengan akuades lalu dikeringanginkan, dan dilanjutkan dengan pewarnaan Giemsa selama 30 menit, setelah itu dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringanginkan, lalu diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10X40. Jenis leukosit yang diamati adalah limfosit, monosit, dan neutrofil.

Indeks Fagositosis

Sampel darah diambil sebanyak 50 μ l dan dimasukkan ke dalam mikrotiter *plate*. Setelah itu, ditambahkan sebanyak 50 μ l suspensi *Staphylococcus aureus*. Kemudian, suspensi tersebut dihomogenkan dan diinkubasi dalam inkubator selama 20 menit. Selanjutnya diambil suspensi tersebut dan dibuat preparat ulas kemudian dikeringanginkan. Preparat ulas yang telah kering lalu difiksasi dalam larutan Methanol selama 5menit. Setelah itu, preparat ulas dikeringanginkan. Preparat ulas direndam dalam larutan Giemsa selama 5 menit. Selanjutnya dibilas dengan akuades dan kembali dikeringanginkan. Setelah itu,

preparat ulas dapat diamati di bawah mikroskop. Persentase sel-sel fagositosis dapat dihitung dengan cara mengamati jumlah sel-sel yang memfagosit bakteri.

Tingkat Kelulushidupan

Kelulushidupan ikan uji selama penelitian dihitung dengan menggunakan rumus (Effendi, 2002), yaitu:

$$SR = Nt/No \times 100\%$$

Keterangan :

SR : Kelulushidupan (%)

Nt : Jumlah ikan pada akhir penelitian (ekor)

No : Jumlah ikan pada awal penelitian (ekor)

Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur adalah suhu, pH, DO, dan amoniak. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali, yaitu awal, tengah dan akhir penelitian.

Analisis Data

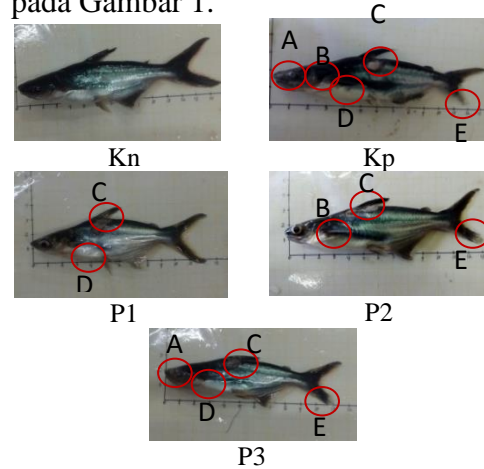
Data total leukosit, diferensiasi leukosit, indeks fagositik, kelulushidupan ditabulasikan dalam bentuk tabel atau grafik. Data kemudian dianalisis homogenitasnya dan selanjutnya dianalisa menggunakan analisa variansi (ANOVA). Apabila perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata dimana $P < 0.05$ maka dilakukan uji lanjut Newman-Keuls untuk menentukan perbedaan dari masing-masing perlakuan (Sudjana, 1992).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis ikan jambal siam selama 72 jam pascainfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* adalah perubahan tingkah laku seperti respon terhadap makanan menurun dan perubahan morfologi yang terjadi seperti pendarahan pada sirip, *exophthalmia*, serta timbul ulcer pada bagian bekas infeksi. Gejala klinis ikan yang

terinfeksi *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 1.



Keterangan : A: *Exophthalmia*,
B: Peradangan,
C: Ulcer,
D: Perut gembung,
E: Sirip geripis

Pascainfeksi *A. hydrophila* ikan jambal siam, yaitu timbulnya ulcer pada bekas suntikan. Ulcer yang terlihat paling parah, yakni pada ikan perlakuan kontrol positif (Kp). Ikan yang diberi perlakuan perendaman larutan daun inai gejala klinis (ulcer) akibat infeksi *A. hydrophila* berangsur-angsur mulai membaik pada hari kelima, tanda-tanda luka bekas penyuntikan tersebut kemudian terlihat mengecil diduga larutan daun inai berpengaruh penting dalam proses penyembuhan luka pada tubuh ikan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wagini *et al.*, (2014) senyawa *alkaloid* dan *flavonoid* yang terkandung dalam daun inai memiliki aktivitas biologis untuk mencegah infeksi bakteri.

Hasil pengamatan setelah penginfeksi *A. hydrophila* terlihat produksi lendir berlebihan, hal ini diduga bentuk pertahanan tubuh ikan terhadap serangan bakteri *A. hydrophila*. Menurut Irianto (2005) dalam Purwaningsih (2013) lendir berfungsi dalam menghambat kolonisasi mikroorganisme pada kulit dan insang.

Hasil penelitian pada perlakuan P1 (perendaman dengan dosis 2000 ppm menunjukkan gejala klinis yang lebih ringan dari pada perlakuan kontrol positif (Kp), P2 (perendaman dengan dosis 3000 ppm) dan P2 (perendaman dengan dosis 4000 ppm) yaitu hanya terjadi peradangan dibagian bekas infeksi pada 48 jam pascainfeksi dan hanya bertahan selama dua hari peradangan itu sudah kembali normal. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan kekebalan tubuh ikan jambal siam yang berasal dari perendaman larutan daun inai. Hal ini dikarenakan senyawa-senyawa metabolit antibakteri dan antioksidan seperti, *alkaloid*, *flavonoid*, yang terkandung dalam daun inai (*Lawsonia inermis* L.) mempunyai sifat antibakteri yang membantu proses penyembuhan atau pencegahan penyakit bakterial (Wagini *et al.*, 2014).

Nafsu makan ikan pascainfeksi pada tiap perlakuan juga berbeda-beda, dimana pada perlakuan P1 nafsu makannya lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan P2 dan P3 yaitu pada hari ke 3 disusul oleh P2 pada hari ke 4 dan P3 pada hari ke 5. Hal ini diduga larutan daun inai dapat memperbaiki nafsu makan ikan, sesuai dengan pernyataan Normalina (2010) bahwa senyawa *glikosida* dan *quinons* yang terkandung dalam tanaman herbal dapat meningkatkan kerja organ pencernaan yang memicu pengosongan lambung.

Total Leukosit

Total leukosit menunjukkan peningkatan setelah uji tantang, berarti sel leukosit ikan melakukan perlawanan terhadap benda asing. Adapun total leukosit dari masing-masing perlakuan selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Total leukosit (sel/mm³) pada ikan jambal siam selama penelitian

Perlakuan	Total Leukosit (10 ⁴ sel/mm ³)	
	30 hari pemeliharaan	Setelah uji tantang
Kn	8,0067±0,19 ^a	8,0683±0,98 ^a
Kp	8,0050±0,21 ^a	16,3200±3,02 ^d
P ₁	10,0500±0,95 ^a	11,2700±2,46 ^c
P ₂	8,6333±1,18 ^a	10,2333±0,64 ^b
P ₃	7,4667±0,48 ^b	11,0350±1,10 ^b

Keterangan: Superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda nyata P<0,05

Jumlah rata-rata leukosit pada ikan jambal setelah 30 hari pemeliharaan berkisar antara 7,4667-10,0500 x10⁴ sel/mm³. Menurut Dontriska *et al.*, (2014), total leukosit ikan patin normal 7,24-11,98 x10⁴ sel/mm³.

Hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan total leukosit ikan jambal siam pada perlakuan P1 tidak berbeda nyata terhadap perlakuan Kn, Kp, dan P2, sedangkan dengan P3 berbeda nyata. Hal ini diduga, dikarenakan pada

perlakuan P3 dengan dosis 4000 ppm dosis yang digunakan terlalu tinggi dimana ada zat saponin yang terkandung dalam larutan daun inai yang menyebabkan ikan mengalami stress dilihat dari gejala klinis yang timbul setelah perendaman seperti pergerakan tidak beraturan dan nafsu makan turun. Hal ini sesuai dengan pernyataan Royan (2014), bahwa penurunan jumlah leukosit disebabkan faktor stress sehingga adanya gangguan pada fungsi organ

ginjal dan limpa dalam memproduksi leukosit.

Hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan perendaman dengan larutan daun inai memberikan pengaruh nyata terhadap peningkatan total leukosit pada ikan jambal siam pascainfeksi *A. hydrophila* ($P < 0,05$). Pascainfeksi dengan *A. hydrophila* jumlah total leukosit berkisar $8,6833- 16,3200 \times 10^4$ sel/mm³. Peningkatan jumlah leukosit terendah pascainfeksi terdapat pada perlakuan Kn dan P1 sedangkan yang tertinggi pada perlakuan Kp dan P3. Hal ini karena pada perlakuan Kn tidak diinfeksi dengan bakteri sehingga jumlah sel leukositnya tidak terjadi perubahan yang signifikan. Sedangkan pada perlakuan P1 tidak mengalami peningkatan jumlah leukosit karena kekebalan tubuh ikan jambal siam sudah terbentuk setelah dilakukan perendaman daun inai. Hal ini diduga karena larutan daun inai mengandung zat flavonoid yang dapat meningkatkan kekebalan tubuh ikan sehingga tidak terinfeksi bakteri. Hasil penelitian Yoelanda *et al.*, (2011) menyatakan, bahwa senyawa *flavonoid* dari tanaman herbal memberikan pengaruh nyata

terhadap kenaikan jumlah eritrosit dan penurunan jumlah leukosit.

Pada perlakuan Kp menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, dimana terjadi peningkatan jumlah sel leukosit yang sangat tinggi daripada perlakuan lainnya. Peningkatan jumlah leukosit mengindikasikan bahwa ikan memberikan respon terhadap adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Jumlah leukosit akan meningkat ketika ikan terserang penyakit dan jumlah leukosit juga dapat menurun bila ikan dalam kondisi stress (Kimbali, 1988 dalam Yanto *et al.*, 2015). Menurut Sukenda *et al.*, (2008) dalam Bahariansyah (2014), bahwa peningkatan jumlah leukosit disebabkan karena leukosit berfungsi sebagai pertahanan dalam tubuh terhadap masuknya antigen ke dalam tubuh ikan.

Diferensiasi Leukosit

Perhitungan diferensiasi leukosit dilakukan untuk melihat perubahan jenis-jenis leukosit setelah dilakukan perendaman dengan larutan daun inai dan pascainfeksi dengan *A. hydrophila*. Hasil pengamatan terhadap diferensiasi leukosit pada ikan jambal siam dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Diferensiasi Leukosit pada Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*) Selama Penelitian

Diferensiasi Leukosit	Perlakuan	Limfosit (%)	Neutrofil (%)	Monosit (%)
30 hari pemeliharaan	Kn	84.00±1.00	7.67±0.58 ^b	8.33±0.58
	Kp	85.00±1.00	7.33±1.15 ^b	7.67±1.53
	P1	85.33±0.58	6.67±0.58 ^a	8.00±1.00
	P2	85.33±0.58	6.67±1.15 ^b	8.00±1.00
	P3	85.33±1.15	7.33±0.58 ^{ab}	7.33±1.53
hari ke 14 pascainfeksi	Kn	84.33±0.58 ^c	7.67±0.58 ^a	8.00±1.00 ^a
	Kp	69.00±2.00 ^a	18.00±1.00 ^c	13.00±1.00 ^b
	P1	83.33±2.08 ^c	8.33±1.53 ^a	8.33±0.58 ^a
	P2	77.00±2.65 ^b	13.00±1.00 ^b	10.00±3.00 ^a
	P3	72.00±1.00 ^a	13.33±1.53 ^b	14.67±0.58 ^b

Keterangan: Superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda nyata $P < 0,05$

Limfosit

Presentase limfosit ikan jambal siam setelah pemeliharaan selama 30 hari berkisar antara 84-85,33%. Hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan perendaman dengan larutan daun inai memberikan pengaruh terhadap jumlah leukosit ikan jambal siam ($P < 0,05$). Jumlah ini masih berada pada kisaran normal presentase normal limfosit ikan yaitu berkisar antara 74-86% (Preager *et al.*, 2016).

Hasil penelitian pascainfeksi ikan jambal siam dengan *A. hydrophila* menunjukkan bahwa jumlah limfosit mengalami penurunan yang berkisar antara 69-84% dimana yang tertinggi pada perlakuan Kn dengan presentase 84% dan yang terendah pada perlakuan Kp dengan presentase 69%. Penurunan jumlah limfosit disebabkan karena limfosit merupakan pertahanan terdepan tubuh dalam melawan infeksi (Alamanda *et al.*, 2007). Setelah terjadinya infeksi, neutrofil akan lebih aktif dibanding limfosit karena antibodi dari limfosit akan teraktifasi setelah neutrofil bekerja. Perlakuan Kp ikan masih terserang bakteri patogen karena sistem kekebalan tubuh yang rendah sedangkan pada perlakuan P1 ikan sudah mulai normal karena sistem kekebalan tubuh sudah terbentuk. Hal ini dikarenakan senyawa *flavonoid* dalam daun inai dapat mencegah infeksi bakteri. Limfosit merupakan pusat dari sistem kekebalan tubuh yang berfungsi melindungi tubuh dari infeksi patogen dan mengatur aktivitas sel lainnya (Preager *et al.*, 2016).

Neutrofil

Persentase jumlah neutrofil setelah pemeliharaan 30 hari berada

pada kisaran 6,67-7,67%. Setelah 14 hari pemeliharaan pascainfeksi jumlah neutrofil mengalami perubahan yang signifikan dan berada pada kisaran 7,67-18%. Peningkatan persentase sel neutrofil pada semua perlakuan menunjukkan sel neutrofil menyerang antigen. Hal ini didukung oleh pendapat Suhermanto *et al.*, (2013) bahwa keluarnya sel neutrofil pada saat terjadinya infeksi disebabkan oleh adanya pengaruh rangsangan kimiawi eksternal diantaranya distimulasi oleh imunostimulan. Sel neutrofil dalam darah meningkat dapat diindikasikan bahwa terjadi peradangan akibat masuknya agen penyakit maupun benda asing dalam tubuh. Hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan ikan jambal siam yang direndaman dalam larutan daun inai dan diinfeksi bakteri *A. hydrophila* memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah neutrofil ($P < 0,05$). Uji lanjut studi Newman Keuls menunjukkan P1 berbeda nyata terhadap Kn dan Kp tetapi tidak berbeda nyata dengan P2 dan P3.

Monosit

Persentase sel monosit ikan jambal siam setelah pemeliharaan 30 hari berkisar antara 7,67-8,33%. Ikan masih dalam keadaan normal karena belum ada infeksi dari bakteri yang masuk ke dalam tubuh yang merangsang monosit di dalam tubuh. Pascainfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* sel monosit meningkat menjadi 8-14,67%. Peningkatan sel monosit tersebut karena distimulasi oleh zat larutan daun inai yang berfungsi untuk membunuh bakteri patogen (Pratiwi, 2014). Peningkatan monosit menunjukkan adanya peningkatan respon imun pada ikan (Shoemaker *et al.*, 2011 dalam

Puspasari, 2010). Suhermanto *et al.*, (2013) menyatakan bahwa monosit berfungsi dalam proses fagositosis terhadap serangan patogen berbahaya, dan untuk menghilangkan sel mati, sekarat atau rusak dalam darah.

Indeks Fagositosis

Tabel 3. Persentase Leukosit Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang Melakukan Aktivitas Fagositosis Selama Penelitian

Perlakuan	Rerata Sel Leukosit Yang Melakukan Aktivitas Fagositosis (Sel)	
	Setelah Pemeliharaan (30 hari)	14 hari pascainfeksi
Kn	33,00±2,65 ^a	32,67±2,08 ^b
Kp	32,00±2,00 ^a	19,00±2,00 ^a
P1	41,00±2,00 ^b	65,33±3,06 ^e
P2	37,00±3,00 ^{ab}	50,33±5,51 ^d
P3	35,00±2,00 ^a	42,33±1,53 ^c

Keterangan : Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan berbeda nyata ± Standar Deviasi (SD)

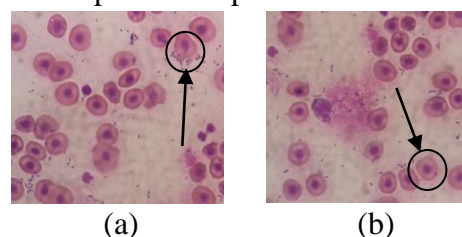
Persentase indeks fagositosis setelah pemeliharaan selama 30 hari adalah 32-41%. Nilai terendah terdapat pada perlakuan Kp (32%) dan tertinggi pada perlakuan P3 (41%). Hal ini menunjukkan bahwa perendaman dengan larutan daun inai mampu meningkatkan aktivitas fagositosis sel leukosit ikan jambal siam. Menurut Utami *et al.*, (2012) bahwa fagositosis merupakan mekanisme yang paling penting dan merupakan fungsi utama sel leukosit saat terjadi peradangan. Hal ini sesuai dengan pendapat Mims (2001) dalam Nuryati (2010) bahwa fagosit adalah bagian paling kuat dan paling penting dari sistem pertahanan tubuh yang dapat beroperasi segera dalam melawan invasi mikroorganisme setelah melintasi permukaan tubuh dan masuk ke dalam tubuh.

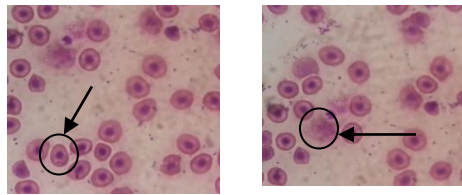
Indeks fagositosis ikan jambal siam pascainfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* berkisar antara 19-63,33%. Pada perlakuan Kn dan Kp menunjukkan penurunan jumlah

Perhitungan indeks fagositik dilakukan untuk melihat kemampuan sel leukosit untuk memfagosit benda asing bersifat patogen yang masuk dalam tubuh. Hasil pengamatan indeks fagositosis sel leukosit ikan jambal siam selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

sel leukosit yang melakukan aktivitas fagositosis dan pada perlakuan P1, P2, dan P3 mengalami peningkatan. Hal ini diduga karena larutan daun inai mampu menstimulasi aktivitas sel fagosit (Wagini *et al.*, 2014).

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa larutan daun inai mempengaruhi fungsi fagosit dalam darah ikan. Hal ini sesuai dengan pendapat Pratiwi (2014), bahwa larutan daun inai berpotensi besar dalam aktivitas farmakologi sebagai anti inflamatori, anti karsinogenik, dan anti infeksi dengan meningkatkan respons imunseluler. Aktivitas fagositosis jambal siam yang direndam dengan larutan daun inai dapat dilihat pada Gambar 2.





(c) (d)

Keterangan:(a) Tahap kemotaksis,
(b) Pelekatan, (c) Penelanan,
(d) Penghancuran

Tingkat Kelulushidupan

Kelulushidupan ikan jambal siam selama penelitian dilihat setelah pemeliharaan selama 30 hari dan setelah dilakukan infeksi bakteri *A. hydrophila*. Kelulushidupan ikan dapat dijadikan salah satu indikator apakah perendaman dengan larutan daun inai dapat mempengaruhi kesehatan ikan setelah diinfeksi dengan bakteri. Pengamatan terhadap kelulushidupan ikan jambal siam selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Tingkat Kelulushidupan

Perlakuan	Tingkat Kelulushidupan (%)	
	30 hari pemeliharaan	14 hari pascainfeksi
Kn	100	100±0,00 ^c
Kp	100	30±30,00 ^a
P1	100	93,33±5,78 ^c
P2	100	70±10,00 ^{bc}
P3	100	53,33±20,82 ^{ab}

Keterangan : Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan berbeda nyata ± Standar Deviasi (SD).

Kelulushidupan ikan jambal siam yang direndam dengan larutan daun inai pascainfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* yang terbaik adalah pada perlakuan P1, yaitu (93,33%), diikuti P2 (70%), P3 (53,33%), dan yang terendah pada perlakuan Kp hanya mencapai 30%. Hal ini disebabkan karena larutan daun inai mampu menghambat infeksi *A. hydrophila* dan dapat meningkatkan ketahanan tubuh ikan

jambal siam. Heyne (1987) dalam Munfaati *et al.*, (2014) menyatakan bahwa zat *flavonoid* yang terkandung dalam daun inai dapat menghambat pertumbuhan bakteri, memperlancar metabolisme lemak, anti peradangan, antioksidan, dan juga dapat digunakan untuk meningkatkan kekebalan tubuh. Pada perlakuan P3 tingkat kelulushidupan ikan jambal siam pascainfeksi lebih kecil dari perlakuan P2 dan P1, diduga karena pada perlakuan P3 (dosis 4000 ppm) terdapat zat saponin sangat tinggi yang dapat menghambat kerja enzim proteolitik yang menyebabkan penurunan daya cerna makanan dan penggunaan protein serta iritasi pada selaput lendir yang dapat menghancurkan butir darah atau hemolisis pada darah (Mulia, 2010), sehingga ikan mengalami stress dan kekebalan tubuh menurun yang mengakibatkan ikan mudah terserang patogen.

Pertumbuhan Bobot Mutlak Ikan Jambal Siam (*P. hypophthalmus*) Selama Penelitian

Pertumbuhan bobot mutlak ikan diukur untuk mengetahui seberapa besar pertumbuhan ikan yang dipelihara selama 30 hari pemeliharaan dengan perendaman daun inai. Koesdarto (2001) dalam Purwati *et al.*, (2016) menyatakan bahwa meningkatnya pertumbuhan didukung dengan kesehatan yang baik pada ikan dan akan meningkatkan efisiensi penyerapan zat makanan untuk memenuhi kebutuhan hidup dan produksi yang ditunjukkan dengan pertambahan bobot. Hasil pengamatan terhadap pertumbuhan bobot mutlak ikan jambal siam selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Pertumbuhan Bobot Mutlak Ikan Jambal Siam Selama Penelitian

Perlakuan	Rerata bobot ikan selama penelitian (g)		Pertumbuhan bobot mutlak (g)
	Bobot awal (g)	Bobot akhir (g)	
Kn	16,27	23,20	6,93
Kp	16,13	23,07	6,93
P1	15,90	22,87	6,97
P2	16,10	22,67	6,57
P3	16,07	22,47	6,40

Berdasarkan hasil penelitian, pertumbuhan bobot ikan jambal siam tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Pertumbuhan bobot mutlak tertinggi pada perlakuan P1 (6,97 g) dan yang terendah pada perlakuan P3 (6,40 g). Hal ini dikarenakan pada perlakuan P3 saat dilakukan perendaman ikan mengalami stress akibat dari dosis larutan daun inai terlalu tinggi sehingga nafsu makan ikan menurun. Nafsu makan dilihat setelah pemberian pakan dimana pada P1 setelah perendaman dilakukan pakan yang diberikan hampir dihabiskan berbeda dengan P3 tidak terlalu aktif mencari pakan yang diberikan. Samsudin (2004) menyatakan bahwa pertumbuhan bobot pada ikan dapat terjadi karena adanya alokasi energi yang berasal dari pakan untuk pertumbuhan, setelah sebelumnya energi untuk mempertahankan kondisi tubuh dan sumber tenaga selama pemeliharaan terpenuhi.

Kualitas Air

Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada (Lampiran 21). Kualitas air dapat mempengaruhi kondisi kesehatan ikan jika berada pada kondisi yang tidak sesuai dengan kebutuhan ikan. Parameter kualitas air yang diukur, yaitu meliputi suhu, pH, oksigen terlarut (DO), dan amoniak (NH₃). Rata-rata dari hasil pengukuran masing-masing parameter kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Kisaran Kualitas Air

Parameter	Kisaran	*Baku mutu
Suhu (°C)	27,3-28,3	25-32
pH	6,2-6,7	6-7,5
DO (mg/L)	3,1-3,3	>3
NH ₃ (mg/L)	0,15-0,20	<1

Ket: *menurut Minggawati dan Saptono

Suhu air selama penelitian berkisar antara 27,3-28,3°C masih berada pada kisaran normal dimana baku mutu SNI suhu budidaya berkisar 25-32°C. Derajat keasaman (pH) air selama penelitian berkisar antara 6,2-6,7. Sularto *et al.*, (2007) dalam Setiawati (2013) menyatakan bahwa kisaran pH untuk pemeliharaan ikan patin berkisar 6-7,5.

Oksigen terlarut (DO) selama penelitian berkisar antara 3,1-3,3 mg/L. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa kandungan oksigen terlarut masih dapat ditoleransi ikan jambal siam, sesuai dengan pernyataan Minggawati dan Saptono (2012) bahwa kisaran oksigen terlarut yang ideal untuk budidaya ikan jambal siam adalah >3 mg/L. Kadar amoniak selama penelitian berkisar 0,15-0,20 mg/L. Kisaran amoniak ini tidak terlalu tinggi dan baik untuk budidaya ikan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Minggawati dan Saptono (2012) bahwa kandungan amoniak yang baik untuk kegiatan budidaya adalah <1 mg/L.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Larutan daun inai dapat meningkatkan respons imun non-spesifik ikan jambal siam. Dosis larutan daun inai 2000 ppm

merupakan dosis terbaik untuk meningkatkan respon imun non-spesifik ikan jambal siam dengan nilai limfosit 83,33%, neutrofil 8,33%, monosit 8,33%, total leukosit $11,27 \times 10^4$ sel/mm³, indeks fagositosis 63,33%, penambahan bobot mutlak 6,97 g dan tingkat kelulushidupan 93,33%.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk pencegahan serangan bakteri berbeda dan pengaplikasian larutan daun inai dalam formulasi pakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bahariansyah, F.F. 2014. Aplikasi Probiotik Melalui Pakan Terhadap Gambaran Darah Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Departemen Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. 38 hlm
- Lubis, M. 2017. Sensitivitas Larutan Daun Inai (*Lawsonia inermis* L.) Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*. [Skripsi]. Pekanbaru. Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau. 34 hlm.
- Lukistyowati I. dan H. Syawal. 2013. Potensi Pakan yang Mengandung Sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) untuk Menanggulangi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Baung (*Mystus nemurus*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia* (2013) Vol. 1 No. (2):135-147.
- Minggawati, I dan Saptono. 2012. Parameter Kualitas Air Budidaya Ikan Patin (*Pangasius* sp.) di Karamba Sungai Kahayan, Kota Palangkaraya. *Jurnal Ilmu Hewani Tropika*. Vol. 1 No. (1). 4 hlm.
- Munfaati, P.N., E. Ratnasari., dan G. Trimulyono. 2014. Aktivitas Senyawa Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara *in Vitro*. [Jurnal]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Jurusan Biologi Universitas Negeri Surabaya. *Lentera Bio: Berkala Ilmiah Biologi*. 8 hlm. ISSN: 2252-3979.
- Normalina, I. 2010. Pemanfaatan Ekstrak Bawang Putih *Allium sativum* Untuk Pencegahan Dan Pengobatan Pada Ikan Patin *Pangasionodon hypophthalmus* Yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophilla*. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 58 hlm.
- Pratiwi, D.A.N., 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.) dan Bioautografi terhadap *Bacillus subtilis* dan *Shigella sonnei*. [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. 16 hlm.
- Preagrer C. I. H., Utama, I. M., Kardena. 2016. Gambaran Ulas Darah Ikan Lele di Denpasar Bali. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Udaya. *Indonesia Medicus Veterinus*. 5(2): 96-103
- Purwaningsih, I. (2013). Identifikasi Ektoparasit Protozoa pada Benih Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) di Unit Kerja Budidaya Air Tawar (UKBAT) Cangkringan Sleman DIY. [dissertation], UIN Sunan Kalijaga.
- Purwati, H. Herliwati, H. Fitriliyani, I. 2016. Pengaruh Penambahan Vitamin C dan

- Ekstrak Temulawak pada Pakan Komersil terhadap Pertumbuhan Post Larva Ikan Papuyu (*Anabas testudineus* Bloch). *Fish scientiae (Jurnal Ilmu-Ilmu Perikanan dan Kelautan)*. Universitas lambung mangkurat. 5(10): 60-72
- Puspasari, N. 2010. Efektifitas Ekstrak Rumpu Laut *Gracillaria verrucosa* Sebagai Immunostimulan Untuk Pencegahan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 61 hlm.
- Riauwaty, M. 2012. Histopatologi Hati dan Ginjal Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) yang Terinfeksi *Aeromona hydrophila* dan Diobati dengan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* ROXB.). [Jurnal]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru. 27 hal.
- Royan F. 2014. Pengaruh Salinitas yang Berbeda Terhadap Profil Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Mnagement and Technology*. 3(2) : 109-117.
- Sudjana. 1992. *Metode Statistic*. Tarsito. Bandung. 486 hlm.
- Syadza, 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. 145 hlm.
- Wagini, N.H., A.S. Soliman., M.S. Abbas., Y.A. Hanafy., and M.E. Badawy. 2014. Phytochemical Analysis of Nigerian and Egyptian Henna (*Lawsonia inermis* L.) Leaves Using TLC, FTIR and GCMS. [Jurnal]. *Science Publishing Group. Plant* 2014; 2(3): 27-32. 6 hlm.
- Yanto, H., H. Hasan., dan Sunarto. 2015. Studi Hematologi untuk Diagnosa Penyakit Ikan Secara Dini Di Sentra Produksi Budi Daya Ikan Air Tawar Sungai Kapuas Kota Pontianak. *Jurnal Akuatik*. 1(1): 11-20 hlm.