

JURNAL

**DIFERENSIASI LEUKOSIT IKAN JAMBAL SIAM
(*Pangasius hypophthalmus*) YANG DIBERI PAKAN MENGANDUNG
EKSTRAK DAUN *Rhizophora apiculata***

OLEH:

**ELFIRA STEFANI PRISKA
1404113377**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2019**

Diferensiasi Leukosit Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang Diberi Pakan Mengandung Ekstrak Daun *Rhizophora apiculata*

Oleh:

Elfira Stefani Priska¹⁾, Henni Syawal²⁾, Morina Riau waty²⁾

Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan,
Universitas Riau, Pekanbaru, Provinsi Riau

Email: elfirapriska@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dosis terbaik ekstrak daun *Rhizophora apiculata* yang ditambahkan ke dalam pakan untuk mencegah *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang dilihat dari diferensiasi leukosit ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*). Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), satu faktor dengan 5 taraf perlakuan dan tiga kali ulangan. Kn: Kontrol negatif (pemberian pakan tanpa diberi ekstrak daun *R. apiculata* dan tanpa diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*), Kp: Kontrol positif (pemberian pakan tanpa diberi ekstrak daun *R. apiculata* dan diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*), P₁: Pakan yang mengandung ekstrak daun *R. apiculata* dengan dosis 1,5 mg/kg pakan, P₂: dosis 1,6 mg/kg pakan, P₃: dosis 1,7 mg/kg pakan. Ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*) ukuran 8-10 cm dipelihara dalam akuarium berukuran 40×30×30 cm dengan padat tebar 10 ekor/akuarium, pemberian pakan sebanyak 10% dari bobot tubuh ikan dan diberikan pakan tiga kali sehari. Pengambilan darah ikan uji dilakukan sebanyak 3 kali, yaitu pada awal pemeliharaan, setelah pemeliharaan 30 hari dan 14 hari pasca uji tantang dengan *A. hydrophila*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa P₃ (Pakan yang mengandung ekstrak daun *R. apiculata* dengan dosis 1,7 mg/kg pakan) merupakan perlakuan terbaik dengan nilai Total Leukosit $11,72 \times 10^4$ sel/mm³, Limfosit 83,33%, Monosit 8,67%, Neutrofil 8,00%, Aktivitas Fagositosis 36,33%, dan Kelulushidupan 80%. Dapat disimpulkan bahwa pemberian pakan yang mengandung ekstrak daun *R. apiculata* dapat mencegah penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) dan dapat meningkatkan respon imun non spesifik ikan jambal siam.

Kata kunci: Leukosit, *Pangasius hypophthalmus*, *Rhizophora apiculata*, *Aeromonas hydrophila*

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

LEUKOCYTES DIFFERENTIATION OF *Pangasius hypophthalmus* FED WITH *Rhizophora apiculata* EXTRACT ENRICHED PELLETS

By:

Elfira Stefani Priska¹⁾, Henni Syawal²⁾, Morina Riau waty²⁾

Aquaculture Departement, Faculty of Fisheries and Marine,
Riau University, Pekanbaru, Riau Province

Email: elfirapriska@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to obtain the best dose of *Rhizophora apiculata* leaf extract added to the feed to prevent *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) as seen from the differentiation of leukocytes of siam jambal fish (*Pangasius hypophthalmus*). The method used is the experimental method with Completely Randomized Design (CRD), one factor with 5 levels of treatment and three replications. Kn: Negative control (feeding without being given *R. apiculata* leaf extract and without being challenged with *A. hydrophila* bacteria), Kp: Positive control (feeding without being given *R. apiculata* leaf extract and tested challenged with *A. hydrophila* bacteria), P₁: Feed containing *R. apiculata* leaf extract at a dose of 1.5 mg/kg of feed, P₂: Dose of 1.6 mg/kg of feed, P₃: Dose of 1.7 mg/kg of feed. Siam Jambal fish (*P. hypophthalmus*) in size 8-10 cm are kept in an aquarium measuring 40×30×30cm with a stocking densities of 10 tail/aquarium, feeding as much as 10% of the body weight of fish and feeding three times a day. Taking the blood of the tested fishes was done 3 times, namely at the beginning of maintenance, after 30 days of maintenance and 14 days after the test challenged with *A. hydrophila*. The results of research show that P₃ (Feed containing *R. apiculata* leaf extract with a dose of 1.7mg/kg of feed) was the best treatment with a total value of Leukocytes 11.72×10^4 cells/mm³, Lymphocytes 83.33%, Monocytes 8.67%, Neutrophils 8.00%, Phagocytic Activity 36.33%, and Survival Rate 80%. It can be concluded that feeding containing *R. apiculata* leaf extract can prevent *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) disease *A. hydrophila* and can increase the non-specific immune response of siam jambal fish.

Keywords: Leukocyte, *Pangasius hypophthalmus*, *Rhizophora apiculata*, *Aeromonas hydrophila*

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

PENDAHULUAN

Jambal siam (*P. hypophthalmus*) merupakan ikan yang banyak dibudidayakan di Indonesia dan banyak digemari oleh seluruh lapisan masyarakat khususnya di Daerah Riau karena rasanya yang enak dan dagingnya yang tebal. Seiring dengan meningkatnya permintaan pasar maka para pembudidaya ikan jambal siam diminta untuk memenuhi permintaan pasar.

Budidaya ikan jambal siam terdapat beberapa kendala yang dapat menurunkan produksi ikan, salah satu kendala adanya serangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Salah satu bakteri yang sering menyebabkan kematian ikan air tawar adalah *A. hydrophila* (Rahmaningsih, 2012). Bakteri ini sangat ganas dan dapat menyebabkan kematian lebih dari 90% dalam waktu sekitar tiga hari (Syadza, 2016).

Pengobatan *A. hydrophila* dengan bahan alami untuk mencegah maupun mengobati penyakit pada ikan, perlu dikembangkan seiring dengan dilarangnya penggunaan antibiotik (Lukistyowati, 2012). Beberapa peneliti telah menyatakan bahwa tanaman obat efektif mengatasi penyakit ikan, salah satunya bahan alami adalah tanaman mangrove jenis *Rhizophora apiculata* memiliki potensi sebagai antibiotik alami karena mengandung senyawa antibakteri, seperti *flavonoid*, *saponin*, *steroid*, *terpenoid*, *fenol*, dan *tanin* (Hadi *et al.*, 2016).

Akibat dari infeksi pada ikan adalah terjadinya perubahan pada gambaran darah, yaitu total leukosit, diferensiasi leukosit, dan aktivitas fagositosis. Oleh karena itu penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang “Diferensiasi Leukosit Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang Diberi Pakan Mengandung ekstrak daun *Rhizophora apiculata*”.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Juli 2018 sampai Agustus 2018

di Laboratorium Parasit dan Penyakit ikan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Pembuatan ekstrak daun *R. apiculata* di Laboratorium Kimia Organik dan Bahan Alami Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor dengan lima taraf perlakuan, untuk mengurangi tingkat kekeliruan maka dilakukan ulangan sebanyak tiga kali sehingga diperlukan 15 unit percobaan. Penentuan dosis ekstrak *R. apiculata* dalam pakan mengacu kepada Chandra(2018). Perlakuan yang digunakan adalah :

- Kn : Pemberian pakan tanpa diberi ekstrak daun *R. apiculata*
- Kp : Pemberian pakan tanpa diberi ekstrak daun *R. apiculata* dan diuji tantang
- P₁ : Penambahan ekstrak daun *R. apiculata* pada pakan dengan dosis 1,5 mg/kg dan diuji tantang
- P₂ : Penambahan ekstrak daun *R. apiculata* pada pakan dengan dosis 1,6 mg/kg dan diuji tantang
- P₃ : Penambahan ekstrak daun *R. apiculata* pada pakan dengan dosis 1,7 mg/kg dan diuji tantang

Pengambilan dan Prevarasi Sampel Daun *Rhizophora apiculata*

Daun *R. apiculata* diambil pada bagian pangkal ujung urutan daun ke-1 sampai daun ke-5, setelah itu daun dibersihkan dan diiris tipis-tipis, kemudian dikeringanginkan selama dua minggu pada suhu ruangan dan daun yang sudah kering di *blender* tidak sampai halus.

Pembuatan Ekstrak Daun *Rhizophora apiculata*

Daun *R. apiculata* yang sudah di *blender* kemudian direndam (*maserasi*). Maserasi dilakukan perbandingan 1 : 5, yaitu 1 kg tepung dengan 5 L pelarut. Maserasi disimpan suhu ruangan selama 24 jam, remaserasi dilakukan 3 kali pengulangan. Filtrat yang dihasilkan dievaporasi menggunakan alat *Rotary Evaporator* untuk proses penguapan atau

pemurnian ekstrak dengan etanol 96% pada suhu 60°C dan kecepatan 60-90 rpm, hingga pelarut habis menguap diperoleh ekstrak kental daun *R. apiculata*. Kemudian di partisi menggunakan *n*-heksan 300 mL setelah itu hasil partisi pelarut *n*-heksan dipartisi kembali dengan etil asetat 300 mL. Hasil partisi etil asetat kemudian dievaporasi hingga berupa gel. Lalu ditutup plastik aseptik agar ekstrak tidak rusak, di atasnya dibolongi dan disimpan kekulkas hingga gel tersebut menjadi kering.

Formulasi dan Cara Pembuatan Pakan yang Mengandung Ekstrak daun *Rhizophora apiculata*

Komposisi bahan ditentukan sesuai dengan kebutuhan protein, yaitu sebesar

Tabel 1. Formulasi Pakan Uji dengan Ekstrak Daun *R. apiculata* yang diberikan pada Ikan Jambal Siam (*P. hypophthalmus*) dengan Kandungan Protein 30%

Bahan	Protein Bahan	Perlakuan				
		Kp	Kn	P1	P2	P3
Tepung Ikan	41 %	400 (g)	400 (g)	400 (g)	400 (g)	400 (g)
Tepung Terigu	7 %	140 (g)	140 (g)	140 (g)	140 (g)	140 (g)
Tepung Kedelai	46 %	400 (g)	400 (g)	400 (g)	400 (g)	400 (g)
Vitamin	2 %	20 (g)	20 (g)	20 (g)	20 (g)	20 (g)
Mineral	2 %	20 (g)	20 (g)	20 (g)	20 (g)	20 (g)
Minyak Ikan	2 %	20 (g)	20 (g)	20 (g)	20 (g)	20 (g)
Ekstrak Daun <i>R. apiculata</i>	-	0	0	1,5 mg/Kg	1,6 mg/Kg	1,7 mg/Kg
Jumlah	100 %	1000 g				

Keterangan : Kp (Kontrol positif); Kn (Kontrol negatif); P₁ (1,5 mg ekstrak daun *R. apiculata* /Kg Pakan); P₂ (1,6 mg ekstrak daun *R. apiculata* /Kg Pakan); P₃ (1,7 mg ekstrak daun *R. apiculata* /Kg Pakan)

Persiapan Wadah Pemeliharaan

Akuarium yang digunakan berukuran 40×30×30cm sebanyak 15 buah. Sebelum akuarium digunakan, terlebih dahulu dibersihkan dengan larutan KMnO₄ selama 24 jam kemudian dibilas dan dikeringkan. Selanjutnya tiap wadah dilengkapi dengan selang aerasi dan diisi air sebanyak 30 L.

Adaptasi Ikan Uji

Ikan uji berukuran 8-10 cm yang diperoleh dari BBI sei tibun kampar, Riau. Ikan jambal siam diadaptasikan selama satu minggu dan selama adaptasi ikan diberi pakan komersil dengan frekuensi pemberian pakan 3 kali sehari (08.00, 12.00, dan 18.00) secara ad libitum.

30%. Proporsi ekstrak daun *R. apiculata* ditentukan sesuai kebutuhan masing-masing perlakuan. Komposisi dari pakan uji yang akan diaplikasikan dapat dilihat pada Tabel 1. Pencampuran bahan dilakukan secara bertahap, mulai dari jumlah yang paling sedikit hingga yang paling banyak agar campuran menjadi homogen (Gusrina, 2008). Ekstrak daun *R. apiculata* dilarutkan dengan DMSO kemudian dicampurkan air hangat 100 mL, dan ke dalam komposisi bahan pakan. Pellet dicetak pada penggilingan dengan ukuran 4 mm, kemudian dilakukan pengeringan dengan penjemuran di bawah sinar matahari.

Pemeliharaan Ikan

Pemeliharaan ikan dilakukan selama 47 hari dengan pemberian pakan mengandung ekstrak daun *R. apiculata* dan diuji tantang dengan *A. hydrophila*. Pemberian pakan 10% dari bobot tubuh dilakukan tiga kali sehari, yaitu pada pukul 08.00, 12.00, dan 18.00 WIB. Setiap 10 hari sekali dilakukan pengukuran bobot tubuh ikan untuk mengetahui jumlah pakan. Penyiponan setiap sekali sehari, yaitu sore hari.

Pembuatan Media Kultur Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Staphylococcus aureus*

Isolat *Aeromonas hydrophila* diperoleh dari koleksi pada Laboratorium

Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau, isolat diperbanyak pada media GSP dan dibuat stok pada agar miring, agar biakkan bertahan lebih lama. Setelah 24 jam, biakkan bakteri dikultur ke media TSB yang baru. Setelah 24 jam, media tersebut dapat diambil dan digunakan sebagai bakteri ujiantang dengan kepadatan 10^8 CFU/mL.

Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh dari Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Universitas Riau dilakukan peremajaan. Isolat diperbanyak pada media NB, setelah itu biakkan bakteri *S. aureus* ke media NB dan diinkubasi. Setelah 24 jam, media dapat digunakan untuk melakukan uji aktivitas fagositosis.

Uji Tantang dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Setelah dipelihara selama 30 hari, ikan diuji tantang pada hari ke-33 dengan bakteri *A. hydrophila* secara *intramuscular* menggunakan *syringe* ukuran 1 mL sebanyak 0,1 mL/ekor. Setelah ikan diuji tantang, ikan dipelihara dalam akuarium selama 14 hari.

Pengamatan Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis dapat dilihat selama masa pemeliharaan sampai pasca uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*, meliputi: perubahan morfologi dan tingkah laku. Hasil pengamatan terhadap gejala klinis dideskripsikan dalam bentuk tabel.

Pengambilan Darah Ikan

Pengambilan darah ikan jambal siam dilakukan sebanyak tiga kali, yaitu pada awal pemeliharaan, 30 hari setelah pemeliharaan, dan 14 hari pasca uji tantang. Sebelum pengambilan darah, ikan uji terlebih dahulu dibius dengan minyak cengkeh sebanyak 0,1 mL/L menggunakan *syringe* ukuran 1 mL dan tabung *ependorf* dibilas dengan EDTA 10% untuk mencegah pembekuan darah. Pengambilan darah dilakukan dibagian *vena caudalis* dengan kemiringan 45° , darah yang

diambil sebanyak 0,2 mL yang berada dalam *syringe* dimasukkan ke dalam tabung *ependorf*. Pengambilan darah dilakukan untuk pemeriksaan total leukosit, diferensiasi leukosit, dan aktivitas fagositosis.

Total Leukosit

Metode perhitungan total leukosit mengacu pada 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 lalu darah ditetaskan pada kotak *haemocytometer* dan ditutup dengan *cover glass*. Selanjutnya diamati di mikroskop pembesaran $1000\times$. Jumlah total leukosit dihitung pada 4 kotak besar *haemocytometer* dengan rumus :

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

Dimana : $\sum n$ = Jumlah total leukosit pada 4 kotak besar
50 = Faktor pengenceran

Diferensiasi Leukosit

Perhitungan jenis leukosit mengikuti prosedur Syatma (2016), yaitu dengan cara mengambil darah ikan, kemudian ditetaskan di kaca objek lalu diratakan dengan kaca objek kemiringan 30° . Setelah itu preparat ulas dikering anginkan, setelah kering difiksasi dengan larutan Metanol 95% selama 5 menit, kemudian dibilas akuades lalu dikeringanginkan, dan dilanjutkan pewarnaan Giemsa selama 30 menit, setelah itu dicuci dengan air, kemudian dikeringanginkan, lalu diamati di mikroskop pembesaran $1000\times$. Jenis leukosit yang diamati adalah limfosit, monosit, dan neutrofil kemudian dihitung sampai berjumlah 100 sel dan dihitung dengan rumus:

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

Dimana : $\sum n$ = Jumlah sel yang dihitung

Aktivitas Fagositosis

Prosedur untuk menentukan aktivitas fagositosis, yaitu darah diambil dalam tabung *ependorf*, kemudian sampel darah di centrifuge dengan cara berpasangan agar seimbang dengan kecepatan 11.000 rpm selama 3 menit. Kemudian ambil plasma berwarna bening, dimasukkan ke dalam tabung *ependorf*, tambahkan 50 μ l bakteri *Staphylococcus aureus*. Isolat bakteri *S. aureus* diperoleh dari Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Universitas Riau dilakukan peremajaan. Isolat diperbanyak pada media NB, setelah itu biakkan bakteri *S. aureus* ke tabung reaksi media NB dan di inkubasi. Setelah 24 jam bakteri sudah dapat digunakan dengan kepadatan 10^7 sel/mL. Kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya 1 tetes dibuat preparat ulas pada kaca objek lalu dikeringanginkan. Setelah difiksasi dengan Metanol 95% selama 5 menit, dikeringanginkan dan dilanjutkan dengan pewarnaan menggunakan larutan Safranin dan dikeringanginkan kembali selama 20 menit. Selanjutnya dibilas dengan air mengalir untuk menghilangkan kelebihan warna dan dikeringanginkan. Setelah itu

preparat ulas dapat diamati di bawah mikroskop. Mengamati jumlah sel-sel yang memfagosit bakteri hingga berjumlah 100 sel dan dihitung dengan rumus :

$$A.Fagositosis = \frac{\sum \text{Sel Fagosit}}{100} \times 100\%$$

Dimana : $\sum$ sel fagosit = Jumlah sel fagositosis

Kelulushidupan Ikan Uji

Menurut Effendie (2002), bahwa tingkat kelulushidupan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$SR = \frac{Nt}{No} \times 100\%$$

Dimana : SR = Kelulushidupan (%)

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

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Leukosit

Perhitungan total leukosit dilakukan untuk melihat perubahan total leukosit yang terjadi selama pemeliharaan ikan jambal siam 30 hari dan setelah diuji tantang dengan *A. hydrophila*. Adapun total leukosit selama penelitian yang terhitung dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Total Leukosit (Sel/mm³) pada Ikan Jambal Siam Selama Penelitian

Perlakuan	Total Leukosit (x10 ⁴ sel/mm ³)		
	Data Awal	Sebelum uji tantang (hari ke - 30 pemeliharaan)	Pasca uji tantang (hari ke - 47 pemeliharaan)
Kn	7,40	7,37±0,15 ^a	8,73±0,51 ^a
Kp	7,40	7,54±0,06 ^a	0,00±0,00
P ₁	7,40	8,39±0,09 ^b	10,69±0,32 ^b
P ₂	7,40	8,65±0,07 ^c	11,08±0,29 ^{bc}
P ₃	7,40	8,56±0,09 ^{bc}	11,72±0,21 ^c

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$); $\pm$ Standar Deviasi (SD).

Berdasarkan Tabel 2, Pemberian pakan mengandung ekstrak daun *R. apiculata* pada P₂ ($8,65 \times 10^4$ sel/mm³) menghasilkan total leukosit tertinggi. Sedangkan total leukosit pada setiap perlakuan masih dalam kisaran normal. Menurut Iman (2017), bahwa jumlah sel darah putih pada ikan berkisar antara $2,00 - 15,00 \times 10^4$ sel/mm³.

Peningkatan terjadi pasca uji tantang pada perlakuan P₁, P₂, dan P₃ karena leukosit bekerja saat bakteri menyerang ikan dan diberi pakan mengandung ekstrak *R. apiculata*, sedangkan pada Kp, jumlah total leukosit rendah karena pakan tidak mengandung ekstrak *R. apiculata* dan diuji tantang. Pada Kn pakan tidak mengandung ekstrak *R. apiculata* dan tidak diuji tantang sehingga fungsi leukosit tidak terjadi pada

perlakuan Kn dan Kp, oleh karena itu jumlah total leukosit rendah.

Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang mengandung ekstrak daun *R. apiculata* memberikan pengaruh nyata terhadap total leukosit pada ikan jambal siam setelah 30 hari pemeliharaan ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut Newman-Keuls menunjukkan perlakuan P_2 berbeda nyata terhadap Kn, Kp, dan P_1 .

Persentase sel leukosit pasca uji tantang terdapat pada P_3 ($11,72 \times 10^4$ sel/mm³) karena mengindikasikan bahwa sel leukosit pada tubuh ikan merespons terhadap adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Pada Kp terdapat kematian ikan mencapai 100% pada hari ke tiga pasca uji tantang bakteri *A.*

hydrophila, sehingga tidak ada data hasil total leukosit pasca uji tantang.

Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang mengandung ekstrak daun *R. apiculata* memberikan pengaruh nyata terhadap total leukosit pada ikan jambal siam pasca uji tantang ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut Newman-Keuls menunjukkan perlakuan P_3 berbeda nyata dengan Kn, P_1 , dan P_2 .

Diferensiasi Leukosit

Jenis-jenis leukosit pada ikan terdiri dari limfosit, monosit, dan neutrofil. Hasil pengamatan terhadap diferensiasi leukosit pada ikan jambal siam dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Diferensiasi Leukosit pada Ikan Jambal Siam (*P. hypophthalmus*) Selama Penelitian

Diferensiasi Leukosit	Perlakuan	Limfosit	Monosit	Neutrofil
Data awal	-	80,8	11,2	8
Sebelum uji tantang (hari ke 30 pemeliharaan)	Kn	77,67±0,58 ^a	13,33±1,15 ^b	9,00±1,00 ^a
	Kp	77,67±0,58 ^a	11,33±1,52 ^a	11,00±1,00 ^a
	P_1	79,67±0,58 ^b	10,67±0,58 ^a	9,67±0,58 ^a
	P_2	81,33±0,58 ^c	9,33±0,58 ^a	9,33±0,58 ^a
	P_3	81,00±1,00 ^c	9,67±1,15 ^a	9,33±0,58 ^a
Pasca uji tantang (hari ke 47 pemeliharaan)	Kn	78,00±1,00 ^a	10,67±0,58 ^b	11,33±0,58 ^b
	Kp	80,67±1,53 ^b	9,33±0,58 ^a	10,00±2,00 ^{ab}
	P_1	81,67±0,58 ^{bc}	8,67±0,58 ^a	9,67±0,58 ^{ab}
	P_2	83,33±0,58 ^c	8,67±0,58 ^a	8,00±1,00 ^a
	P_3	77,67±0,58 ^a	13,33±1,15 ^b	9,00±1,00 ^a

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$); ± Standar Deviasi (SD)

Limfosit

Hasil morfologi sel limfosit dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi Sel Limfosit (Pembesaran 1000×)

Berdasarkan Tabel 3, Perlakuan P_2 memiliki persentase limfosit tertinggi, yaitu 81,33%. Berdasarkan uji statistik

analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang diperkaya ekstrak *R. apiculata* setelah 30 hari pemeliharaan memberikan pengaruh terhadap jumlah limfosit ikan jambal siam ($P < 0,05$). Dimana perlakuan P_2 berbeda nyata terhadap P_1 , Kp, dan Kn. Persentase limfosit ikan jambal siam masih berada pada kisaran normal sesuai pendapat Preager *et al.*, (2016), menyatakan bahwa persentase normal limfosit ikan berkisar antara 71,12-82,88%.

Persentase limfosit pasca ujiantang yang tertinggi pada perlakuan P_3 , yaitu 83,33%, sedangkan pada perlakuan Kp tidak bisa diamati karena kematian ikan mencapai 100% sebelum dilakukan pengambilan darah, sehingga tidak ada data hasil limfosit pada perlakuan Kp. Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang mengandung ekstrak daun *R. apiculata* pasca ujiantang memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah limfosit ikan jambal siam ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut studi Newman-Keuls menunjukkan P_3 berbeda nyata terhadap Kn , P_1 , dan P_2 .

Menurut Gabaudan dan Verlhac (2011), bahwa peningkatan intensitas infeksi oleh patogen tertentu akan memicu kebutuhan sel darah putih (limfosit) dan peningkatan kebutuhan tersebut mengakibatkan pengurangan jumlah sel agen penyedia zat kebal tubuh, yaitu limfosit.

Monosit

Hasil pengamatan sel monosit dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Morfologi Sel Limfosit (Pembesaran 1000×)

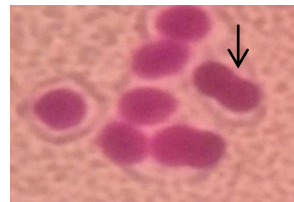
Berdasarkan Tabel 3, Jumlah monosit menunjukkan hasil yang bervariasi antara tiap perlakuan. Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang diperkaya ekstrak daun *R. apiculata* setelah 30 hari pemeliharaan memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah monosit ikan jambal siam ($P < 0,05$). Dimana perlakuan Kn berbeda nyata terhadap P_1 , P_2 , P_3 , dan Kp.

Persentase sel monosit perlakuan Kp tidak dapat diamati karena tingkat mortalitas mencapai 100%, sehingga tidak ada data hasil monosit pada perlakuan Kp.

Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang mengandung ekstrak daun *R. apiculata* pasca ujiantang memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah monosit ikan jambal siam ($P < 0,05$).

Neutrofil

Hasil pengamatan terhadap morfologi sel neutrofil dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Morfologi Sel Neutrofil (Pembesaran 1000×)

Berdasarkan Tabel 3, Jumlah neutrofil menunjukkan hasil yang bervariasi antara tiap perlakuan. Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang mengandung ekstrak daun *R. apiculata* setelah 30 hari pemeliharaan tidak memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah neutrofil ikan jambal siam ($P > 0,05$).

Perlakuan Kp tidak dapat diamati karena kematian ikan mencapai 100% pasca ujiantang bakteri *A. hydrophila*, sehingga tidak ada data hasil neutrofil pada perlakuan Kp. Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang mengandung ekstrak daun *R. apiculata* pasca ujiantang *A. hydrophila* memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah neutrofil ikan jambal siam ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut studi Newman-Keuls menunjukkan P_1 berbeda nyata terhadap Kn , P_2 , dan P_3 .

Sel neutrofil ini bekerja dalam proses menekan infeksi bakteri yang terjadi. Sedangkan pada perlakuan penambahan ekstrak daun *R. apiculata* jumlah neutrofilnya menurun, diduga kondisi ikan sudah mulai membaik karena pakan mengandung ekstrak daun *R. apiculata*.

Aktivitas Fagositosis

Perhitungan aktivitas fagositosis dilakukan untuk melihat kemampuan sel leukosit untuk memakan benda asing khususnya serangan bakteri patogen pada ikan setelah dipelihara selama 30 hari

maupun pasca uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Hasil pengamatan aktivitas fagositosis sel leukosit ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*) selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Presentase Aktivitas Fagositosis Ikan Jambal Siam (*P. hypophthalmus*) Selama Penelitian

Perlakuan	Rerata Sel Leukosit yang Melakukan Aktivitas Fagositosis (%)		
	Data awal	Sebelum uji tantang (hari ke - 30 pemeliharaan)	Sebelum uji tantang (hari ke - 30 pemeliharaan)
Kn	25	26,33±2,08 ^a	26,33±2,08 ^a
Kp	25	25,33±2,08 ^a	25,33±2,08 ^a
P1	25	29,33±1,53 ^b	29,33±1,53 ^b
P2	25	31,00±1,00 ^b	31,00±1,00 ^b
P3	25	30,67±0,58 ^b	30,67±0,58 ^b

keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$); $\pm$ Standar Deviasi (SD).

Berdasarkan Tabel 4, Nilai yang terendah terdapat pada perlakuan Kp (25,33%) dan tertinggi pada perlakuan P₂ (31,00%). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian pakan dengan penambahan ekstrak daun *R. apiculata* mampu meningkatkan aktivitas fagositosis sel leukosit ikan jambal siam. Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang mengandung ekstrak daun *R. apiculata* setelah 30 hari pemeliharaan memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas fagositosis ikan jambal siam ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut studi Newman-Keuls menunjukkan bahwa P₂ berbeda nyata terhadap Kp, Kn, P₁, dan P₃.

Aktivitas fagositosis ikan jambal siam pasca uji tantang pada perlakuan Kp tidak dapat teramati karena mortalitas ikan mencapai 100%, sehingga tidak ada data hasil aktivitas fagositosis pada perlakuan Kp. Aktivitas fagositosis tertinggi pada perlakuan P₃, yaitu 36,33% hal ini dikarenakan respons imun non spesifik pada ikan jambal siam meningkat sehingga mampu memfagositosis bakteri.

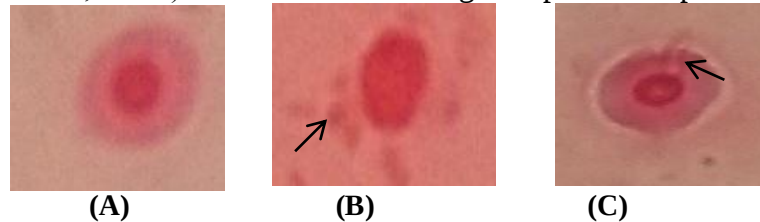
Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang mengandung

ekstrak daun *R. apiculata* pasca uji tantang memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas fagositosis ikan jambal siam ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut studi Newman-Keuls menunjukkan P₃ berbeda nyata terhadap Kn, P₁, dan P₂.

Pemberian pakan yang mengandung dengan ekstrak daun *R. apiculata* membuktikan bahwa mempengaruhi fungsi fagosit dalam darah. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun *R. apiculata*, yaitu *flavonoid*, dimana *flavonoid* bekerja terhadap limfokin yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis terhadap partikel asing yang masuk kedalam tubuh (Payung dan Monoppo, 2015). Mekanisme pertahanan tubuh terdiri beberapa tahapan yang penting, yaitu pengenalan musuh yang dihadapi (antigen). Aktivitas fagositosis dalam darah menunjukkan kondisi kesehatan ikan.

Pada pengamatan aktivitas fagositosis, sel fagosit yang lebih banyak ditemukan melakukan fagositosis adalah monosit. Menurut Suhermanto *et al.*, (2011), bahwa monosit bersifat fagosit lebih kuat sehingga mampu memfagosit partikel yang lebih besar, monosit yang

matang disebut makropag. Makropag merupakan monosit matang yang mampu memfagosit 100 bakteri, sedangkan satu neutrofil hanya dapat memfagosit 5 sampai 20 bakteri sebelum neutrofil menjadi tidak aktif atau mati (Mas'ud, 2013). Menurut



Gambar 4. Aktivitas Fagositosis Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*)

Keterangan : A) Sel monosit, B) Pelekatan antigen, C) Penelanan antigen

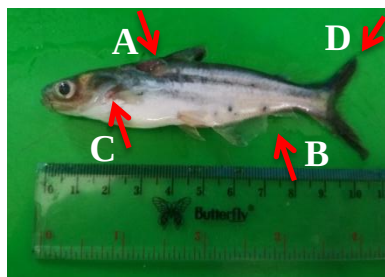
Persentase aktivitas fagositosis pada perlakuan P₃ persentase sel leukosit yang memfagositosis tertinggi, dikarenakan adanya kandungan senyawa antibakteri (*flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, dan tanin*) yang terdapat dalam daun *R. apiculata* yang dapat merespons sel monosit dalam memfagosit antigen. Menurut Nuryati *et al.*, (2010), bahwa peningkatan persentase aktivitas fagositosis menunjukkan adanya peningkatan fungsi sel-sel leukosit.

Persentase aktivitas fagositosis yang terendah, yaitu pada perlakuan Kp dikarenakan pada pellet tidak ada penambahan ekstrak daun *R. apiculata* sehingga saat dilakukan uji tantang dengan *A. hydrophila*, ikan memiliki antibodi rendah dan tidak dapat meningkatkan aktivitas fagositosis.

Eska (2013), bahwa monosit lebih kuat dibanding neutrofil dalam memfagositosis bakteri, bahkan dapat memfagositosis partikel yang lebih besar. Aktivitas fagositosis monosit dalam memfagositosis antigen dapat dilihat pada Gambar 4.

Gejala Klinis Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*)

Gejala klinis ikan jambal siam yang diuji tantang bakteri *A. hydrophila* pada ke - 10 jam, yaitu luka pada bagian bekas penginfeksi membesar yang menyebabkan *ulcer* (borok). Ikan bergerak hiperaktif (banyak bergerak) bahkan meloncat ke permukaan akuarium disebabkan ikan merasa tidak nyaman dengan keadaan setelah terserangnya bakteri *A. hydrophila* ke dalam tubuh ikan dan pasca uji tantang menyebabkan ikan mengalami gripis pada sirip, juga terdapat pendarahan pada pangkal sirip dan ikan juga cenderung berada didekat aerasi. Gejala klinis ikan yang diuji tantang bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Ikan yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila*

Keterangan : (A) Luka pada bekas penyuntikan, (C) Pendarahan pada pangkal sirip dada, (B) Geripis pada sirip anus, (D) Sirip ekor ikan putus

Gejala klinis yang ditimbulkan tersebut sesuai dengan pendapat Gardenia, *et al.*, (2010), menyatakan bahwa *A. hydrophila* menyebabkan penyakit *Motile Aeromonas Septicaemia* (MAS) ditandai dengan adanya lesi (luka) sampai *ulcer*

(borok), bercak merah pada seluruh tubuh, insang berwarna pucat, pendarahan pada pangkal sirip punggung, dada, perut dan ekor, hilang nafsu makan, gangguan keseimbangan tubuh maupun pembengkakan pada organ limfa dan

ginjal. Menurut Sartika (2011), bahwa faktor mempengaruhi pada ikan yang mengalami stress sehingga respons saraf bekerja untuk meningkatkan sistem imun tubuh yang memungkinkan terjadinya gangguan fisiologis ikan.

Ikan uji pada perlakuan Kn tidak diuji tantang, sedangkan pada perlakuan Kp dilakukan uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* menunjukkan gejala klinis adanya *ulcer* (borok) pada bekas penyuntikan dan terputusnya sirip ekor, seperti pada Gambar 3, hal ini disebabkan tingkat patogenitas bakteri *A. hydrophila*.

Perlakuan Kp mengalami kematian lebih dari 50% setelah 15 jam dan kematian total terjadi pada hari ke-3 pasca uji tantang. Sedangkan ikan uji pada perlakuan P₁ (1,5 mg/kg pakan), P₂ (1,6 mg/kg pakan), dan P₃ (1,7 mg/kg pakan) mengalami penyembuhan, seperti menutupnya lesi (luka) pada bekas suntikan, warna tubuh kembali normal, berkurangnya produksi lendir, dan pergerakan yang mulai aktif dikarenakan ikan pasca uji tantang tetap diberi pakan mengandung ekstrak *R. apiculata*. Adapun gejala klinis pada hari ke-14 pasca uji tantang dapat dilihat pada Tabel 5.

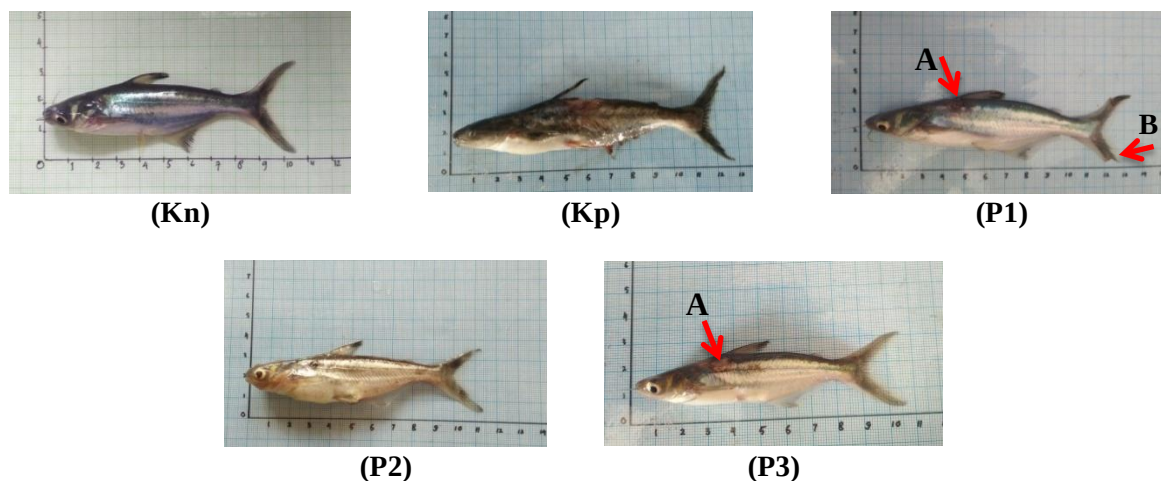
Tabel 5. Gejala klinis ikan hari ke-14 pasca uji tantang dengan *A. hydrophila*

Hari ke-14 pasca uji tantang <i>A. hydrophila</i>				
Perlakuan	Warna Tubuh	Pergerakan	Produksi Lendir	Sirip Ikan
Kn	Cerah	Berenang aktif	Normal	Normal
Kp	-	-	-	-
P ₁	Cerah	Berenang tidak aktif	Normal	Sirip ekor mulai pulih
P ₂	Pucat	Berenang tidak aktif	Normal	Normal
P ₃	Cerah	Berenang didekat aerasi dan mulai bergerak aktif	Normal	Normal

Keterangan : Kp : Ikan uji mengalami kematian total pada hari ke- 3 pasca uji tantang.

Ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*) pada perlakuan Kp mengalami kematian total pada hari ke-3 pasca uji tantang dengan gejala klinis, seperti: *ulcer* (borok) pada bagian infeksi yang lukanya membesar, sirip ekor mulai tumbuh, dan pendarahan pada bagian pangkal sirip. Ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*) yang diberi pakan mengandung ekstrak daun *R. apiculata* pada hari ke-14 pasca uji tantang pada perlakuan P₁ dengan dosis 1,5 mg/kg pakan terdapat sirip anus gripis dan sirip ekor mulai tumbuh, pergerakan yang tidak

aktif, sedangkan pada perlakuan P₂ dengan dosis 1,6 mg/kg pakan menunjukkan pergerakan yang tidak aktif dan warna kulit masih pucat, ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*) yang mengalami penyembuhan mendekati normal terdapat pada perlakuan P₃ dengan dosis 1,7 mg/kg pakan, kondisi ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*) mendekati normal dimana ikan sudah mulai bergerak aktif dan respons terhadap pakan yang diberikan. Adapun gejala klinis pada hari ke-14 pasca uji tantang dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Gejala Klinis pada Hari ke - 14 Pasca Uji Tantang

Keterangan: Kn = Pemberian pakan tanpa diberi ekstrak daun *R. apiculata* dan tidak diuji tantang bakteri *A. hydrophila*; Kp = Pemberian pakan tanpa diberi ekstrak daun *R. apiculata* dan diuji tantang bakteri *A. hydrophila*; P₁ = Penambahan ekstrak daun *R. apiculata* pada pakan dengan dosis 1,5 mg/kg; P₂ = Penambahan ekstrak daun *R. apiculata* pada pakan dengan konsentrasi 1,6 mg/kg; P₃ = Penambahan ekstrak daun *R. apiculata* pada pakan dengan konsentrasi 1,7 mg/kg; (A) Luka bekas penginfeksi mulai menutup; (B) Sirip ekor ikan mulai tumbuh.

Ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*) pada perlakuan P₁, P₂, dan P₃ yang diberi pakan mengandung ekstrak daun *R. apiculata* mampu bertahan hidup dan mengalami kesembuhan. Kemampuan ekstrak daun *R. apiculata* dalam mencegah terserangnya penyakit memiliki senyawa antibakteri, seperti *flavonoid*, *tanin*, *steroid*, *terpenoid*, dan *saponin* (Hadi *et al.*, 2016).

Menurut Rahman (2008), bahwa cara kerja zat antimikrobal *flavonoid*

terhadap bakteri *A. hydrophila* dengan menghambat kerja enzim bakteri.

Kelulushidupan Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*)

Kelulushidupan ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*) selama penelitian dilihat pemeliharaan selama 30 hari dan setelah dilakukan uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Pengamatan terhadap kelulushidupan ikan jambal siam selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Kelulushidupan Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*)

Perlakuan	Kelulushidupan (%)	
	Awal Pemeliharaan	Akhir Pemeliharaan
Kn	100	100
Kp	100	0
P ₁	100	63,3
P ₂	100	53,3
P ₃	100	80,0

keterangan: Kn = Kontrol negatif (tanpa diberi ekstrak daun *R. apiculata* dan tdk di uji tantang bakteri *A. hydrophila*); Kp = Kontrol positif (tanpa diberi ekstrak daun *R. apiculata* dan di uji tantang bakteri *A. hydrophila*); P₁ = Penambahan ekstrak daun *R. apiculata* 1,5 mg/kg; P₂ = Penambahan ekstrak daun *R. apiculata* 1,6 mg/kg; P₃ = Penambahan ekstrak daun *R. apiculata* 1,7 mg/kg.

Kelulushidupan ikan uji tertinggi terdapat pada P₃ dengan kelulushidupan 80% dan nilai kelulushidupan terendah pasca uji tantang terdapat pada perlakuan Kp, hal ini disebabkan ikan uji mengalami

kematian 100 % pada jam ke 72 atau tiga hari pasca uji tantang.

Kelulushidupan pada P₁ dan P₂ nilai kelulushidupan ikan uji tidak jauh berbeda, yaitu 63,3% pada P₁ dan 53,3% pada P₂.

Hal ini disebabkan karena dosis 1,5 mg/kg dan 1,6 mg/kg sudah mampu mengatasi serangan infeksi dari bakteri *A. hydrophila*, namun belum optimal sehingga masih ada aktivitas dari bakteri.

Kelulushidupan ikan diduga bahwa adanya penambahan ekstrak daun *R. apiculata* ke dalam pelet, kemudian jika diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* mampu tetap bertahan dikarenakan mengandung ekstrak daun *R. apiculata* yang memiliki senyawa, seperti: *flavonoid*, *tanin*, *steroid*, *terpenoid*, dan *saponin* (Syawal dan Karnila, 2016). Berbedanya nilai tingkat kelulushidupan pada masing-masing perlakuan membuktikan bahwa terdapat konsentrasi optimum dari senyawa aktif pada ekstrak daun *R. apiculata* dan dosis terbaik untuk tingkat kelulushidupan ikan uji terdapat pada P₃.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan ekstrak daun *R. apiculata* pada pakan memberikan pengaruh pada total leukosit, diferensiasi leukosit, aktivitas fagositosis, dan kelulushidupan ikan jambal siam. Dosis terbaik penambahan ekstrak daun *R. apiculata* ke dalam pakan adalah 1,7 mg/kg pakan (P₃) yang ditandai dengan total leukosit $11,72 \times 10^4$ sel/mm³, persentase jumlah limfosit 83,33%, monosit 8,67%, neutrofil 8,00%, aktivitas fagositosis 36,33%, dan kelulushidupan 80%.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka disarankan untuk memberikan informasi kepada pembudidaya dalam meningkatkan kesehatan ikan dengan penambahan ekstrak daun *R. apiculata* pada dosis 1,7 mg/kg dan melakukan penelitian lanjutan pada skala lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

Chandra. 2018. Diferensiasi Leukosit Ikan Jambal Siam (*P. hypophthalmus*) yang Terinfeksi *A. hydrophila* dan

diobati dengan Ekstrak Daun *Rhizophora* sp.. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau. Pekanbaru. Hal 2-3.

Effendi, H. 2002. *Telaah Kualitas Air bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. Hal 72.

Eska, I. A. S., Sarjito, Budi, S. P., dan Mariana, A. L. 2013. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Profil Darah dan Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*. *Journal of Aquaculture Manegement and Technology*. 2(4) : 94-107.

Gabaudan, J., and V, Verlhac. 2011. *Critical review of the requirements of ascorbic acid in cold and cool water fishes (salmonid, percids, plecoglossids and flatfishes)*. Ascorbic Acid in aquatic organisms: Status and perspectives, 33p.

Gardenia, L., I, Koesharyani., H, Supriyadi., dan T, Mufidah. 2010. *Aplikasi deteksi A. hydrophila penghasil aerolysin dengan menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Prosiding Forum Inovasi Akuakultur: 877 - 883.

Gusrina. 2008. *Budidaya Ikan Jilid II*. Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta.

Hadi, M., M, Irawati., & Suhadi. 2016. Karakteristik morfo - anatomi struktur vegetatis spesies *R. apiculata* (*Rhizoporaciae*). *Jurnal Pendidikan*. 1, 1688–1692.

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. Hlm 45.
- Lukistiyowati, I., dan Kurniasih. 2012. Pelacakan Gen Aerolysin Dari *A. hydrophila* pada Ikan Mas yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih. *Jurnal Veteriner* (2012). 13 (1) : 43-50.
- Mas'ud, F. 2013. Efektifitas *Candida* sp. Sebagai Imunostimulan Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Terhadap Infeksi *A. hydrophila*. *Jurnal Ilmu Eksakta*. 1(2) : 27 – 28.
- Nuryati, S. N., A. Maswan., Alimuiddin., Sukenda., K. Sumantadinata., F. H. Pasaribu, R. D. Soejoedono., dan A. Santika. 2010. Gambaran Darah Ikan Mas Setelah Divaksinasi dengan Vaksin DNA dan Diuji tantang dengan Koi Herpesvirus. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 9 (1): 9 - 15.
- Payung, N. C., dan H. Manoppo. 2015. Peningkatan Respons Kebal Non-Spesifik dan Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Melalui Pemberian Jahe (*Zingiber officinale*). *Jurnal Budidaya Perairan*. Vol 3(1): Hlm 11 – 18.
- Preagr, C. I. H., Utama, I. M., dan Karden. 2016. Gambaran Ulas Darah Ikan Lele di Denpasar Bali. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Udaya. Indonesia *Medicus Veterinus*. 5(2): 96-103
- Rahmaningsih, S. 2012. Pengaruh Ekstrak Sidawayah dengan Konsentrasi yang Berbeda untuk Mengatasi Infeksi Bakteri *A. hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan*. 1 (1) : 1 - 7.
- Rahman, M, F. 2010. Potensi Antibakteri Ekstrak Buah Pepaya pada Ikan Gurami yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Perairan Bogor: Bogor.
- Sartika, Y. 2011. Efektivitas Fitofarmaka dalam Pakan untuk Pencegahan Infeksi Bakteri *A. hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor. Hal 58.
- Suhermanto, A., S. Andayani., dan Maftuch. 2011. Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Untuk Meningkatkan Leukosit dan Diferensial Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi *A. hydrophila*. *Jurnal Kelautan*. 4 (2): 159-169.
- Syadza, M. 2016. Penambahan Simplisia Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Dalam Pakan Terhadap Diferensiasi Leukosit Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Yang Diinfeksi *A. hydrophila*. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau. Hal 145.
- Syatma, M. 2016. Penambahan Simplisia Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dalam Pakan terhadap Diferensiasi Leukosit Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Diinfeksi *A. hydrophila*. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau. Hal 112.
- Syawal, H., R. Karnila., A. Darta., dan R. Kurniawan. 2016. Ekstrak Daun *Rhizophora* sp. Menghambat Pertumbuhan Bakteri *S. agalactiae* dan *E. tarda*. *Jurnal Veteriner*. 18 (4) : 604 - 609.