

JURNAL

**GAMBARAN LEUKOSIT IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) YANG
TERINFEKSI *Aeromonas hydrophila* DAN DIobati DENGAN LARUTAN
BIJI MANGGA HARUMANIS (*Mangifera indica* L.)**

OLEH

DEA SWITZELIN HENDRIANI



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

**DESCRIPTION OF LEUKOSIT *Pangasius hypophthalmus* THAT IS
INFECTED BY *Aeromonas hydrophila* AND TREATED WITH SOLUTION OF
Mangifera indica L.**

By

Dea Switzelin H ¹⁾, Iesje Lukistyowati ²⁾, Henni Syawal ²⁾

Aquaculture Departemen, Faculty of Fisheries and Marine, University of Riau, Riau
Provinsie

Email: deaswitzelin01@gmail.com

ABSTRAK

This research was conducted from October to December 2018 at the Laboratory of Parasites and Fish Diseases, Faculty of Fisheries and Marine, University of Riau. This study aims to obtain the best dose from the solution of harumanis mango seeds (*Mangifera indica* L.) to treat catfish (*P. hypophthalmus*) infected with *A. hydrophila* seen from the picture of leukocytes. While the expected benefits are a solution of harumanis mango seeds can be used as a medicine to treat *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) disease. The method used in the research is the experimental method using a completely randomized design (CRD) with five levels of treatment, namely (Kn): Infected fish *A. hydrophila* and untreated mango seed solution, (Kp): Fish infected *A. hydrophila* are not treated with mango seed solution, (P1): Fish infected *A. hydrophila* were soaked with mango seed solution at a dose of 1600 ppm, (P2): Fish infected *A. hydrophila* were immersed in a manga seed solution at a dose of 1800 ppm (P3): Infected fish *A. hydrophila* is soaked in a solution of mango seeds at a dose of 2000 ppm. The leukocyte parameters measured were total leukocytes, leukocrit percentage, leukocyte differentiation and phagocytic activity. The results showed that the solution of harumanis mango seeds was influential in treating catfish infected with *A. hydrophila*, the dose of 2000 ppm mango seed solution was the best dose in the treatment of catfish infected with *A. hydrophila* seen from a total leukocyte of 7.37×10^4 cells / mm³, leukocrit levels of 2%, phagocytic index of 35.67%, and survival rate reached 80%. While the percentage of 81% lymphocytes, 10.67% monocytes and 8.33% neutrophils. The results of measurements of water quality during the study, namely temperature 28.2-28.50C, pH 5-6.7 dissolved oxygen 5-6.7 mg / L, and ammonia 0.02 mg / L.

Keywords: Description of Leukosit, *Pangasius hypophthalmus*, *Mangifera indica* L., *Aeromonas hydrophila*

-
1. Students of the Faculty of Fisheries and Marine University of Riau
 2. Lecturer of the Faculty of Fisheries and Marine University of Riau

**GAMBARAN LEUKOSIT IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) YANG
TERINFEKSI *Aeromonas hydrophila* DAN DIOBATI DENGAN LARUTAN
BIJI MANGGA HARUMANIS (*Mangifera indica* L.)**

Oleh

Dea Switzelin H¹⁾, Iesje Lukistyowati²⁾, Henni Syawal²⁾

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

Email: deaswitzelin01@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini telah dilaksanakan bulan Oktober sampai Desember 2018 bertempat di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dosis terbaik dari larutan biji mangga harumanis (*Mangifera indica* L.) untuk mengobati ikan patin (*P. hypophthalmus*) yang terinfeksi *A. hydrophila* dilihat dari gambaran leukosit. Sedangkan manfaat yang diharapkan adalah larutan biji mangga harumanis (*Mangifera indica* L.) dapat digunakan sebagai obat untuk mengatasi penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS). Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima taraf perlakuan yaitu (Kn): Ikan tidak terinfeksi *A. hydrophila* dan tidak diobati larutan biji mangga, (Kp): Ikan terinfeksi *A. hydrophila* tidak diobati larutan biji mangga, (P₁): Ikan terinfeksi *A. hydrophila* direndam larutan biji mangga dengan dosis 1600 ppm, (P₂): Ikan terinfeksi *A. hydrophila* direndam larutan biji mangga dengan dosis 1800 ppm, (P₃): Ikan terinfeksi *A. hydrophila* direndam larutan biji mangga dengan dosis 2000 ppm. Parameter leukosit yang diukur adalah total leukosit, persentase leukokrit, diferensiasi leukosit dan aktifitas fagositosis. Hasil penelitian menunjukkan Larutan biji mangga harumanis berpengaruh nyata $P < 0,05$ dalam mengobati ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, dosis larutan biji mangga 2000 ppm merupakan dosis terbaik dalam pengobatan ikan patin yang terinfeksi *A. hydrophila* dilihat dari total leukosit $7,37 \times 10^4$ sel/mm³, kadar leukokrit sebesar 2%, indeks fagositik sebesar 35,67%, dan tingkat kelulushidupan mencapai 80%. Sedangkan persentase limfosit 81%, monosit 10,67% dan neutrophil 8,33%. Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian, yaitu suhu 28,2-28,5⁰C, pH 5-6,7 oksigen terlarut 5-6,7 mg/L, dan amoniak 0,02 mg/L.

Kata Kunci: Gambaran Leukosit, *Pangasius hypophthalmus*, *Mangifera indica* L., *Aeromonas hydrophila*

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

PENDAHULUAN

Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) merupakan ikan air tawar yang mempunyai nilai ekonomis yang tinggi untuk dikembangkan, karena memiliki pertumbuhan yang cepat dan mudah dibudidayakan. Pembudidaya ikan patin pada umumnya sudah menggunakan sistem budidaya intensif dengan padat penebaran yang tinggi, sehingga dapat mengakibatkan ikan menjadi stress, persaingan oksigen dan ruang gerak yang terbatas sehingga dapat menyebabkan semakin rentan ikan terserang penyakit bakteri. Hal yang dapat menghambat produksi budidaya ikan adanya penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* yang dapat menimbulkan penyakit salah satunya *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS).

Motile Aeromonas Septicemia (MAS) merupakan salah satu jenis penyakit yang biasa menyerang ikan air tawar. Menurut Mulia (2012), serangan bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan kematian sebesar 80-100% dari jumlah populasi yang dibudidayakan dalam waktu satu minggu. Koto mesjid merupakan salah satu desa di kabupaten Kampar Provinsi Riau, saat ini telah menjadi *Centra* budidaya ikan patin dengan luas lahan mencapai 62 Ha dengan produksi 60 Ton perhari. Budidaya ikan patin tidak lepas dari kendala, antara lain serangan penyakit. Data tersebut menunjukkan bahwa perlu dilakukan pengendalian penyakit (Tahapari *et al.*, 2010).

Beberapa peneliti telah membuktikan bahwa tanaman obat efektif mengatasi penyakit ikan dan memiliki keuntungan, salah satu pemanfaatan biji mangga telah diteliti kegunaannya dalam aktivitas

antibakteri, yaitu terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dengan zona hambat yang terbentuk sebesar 16,8 mm dan *Salmonella* sp. sebesar 14 mm (Albertina, 2015). Sensitivitas larutan biji mangga harumanis (*Mangifera indica* L.) terhadap bakteri *A. hydrophila* mampu menghambat pertumbuhannya hingga dosis 100% rata-rata zona hambat sebesar 17,00 mm. Dosis minimum (*Minimum Inhibitory Concentration*) larutan biji mangga harumanis sebesar 0,1% dengan rata-rata jumlah koloni yang tumbuh 270,66 CFU/mL. Hasil uji toksisitas LD₅₀ larutan biji mangga harumanis terhadap ikan Patin (*Pangasius* sp.) dengan cara perendaman selama 24 jam adalah 2115 ppm (21,15 %).

Tujuan penelitian adalah mendapatkan dosis terbaik dari larutan biji mangga harumanis (*Mangifera indica* L.) untuk mengobati ikan patin (*P. hypophthalmus*) yang terinfeksi *A. hydrophila* dilihat dari gambaran leukosit. Sedangkan manfaat yang diharapkan adalah larutan biji mangga harumanis (*Mangifera indica* L.) dapat digunakan sebagai obat untuk penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan bulan Oktober sampai Desember 2018 bertempat di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain ikan Patin berukuran 8-10 cm sebanyak 150 ekor yang berasal dari Balai Benih Ikan (BBI) Tibun, Kampar, Riau, biji mangga harumanis yang berasal dari kebun mangga masyarakat di

Rumbai Kota Pekanbaru, Riau dan isolat bakteri *A. hydrophila* yang berasal dari koleksi Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor, lima taraf perlakuan dan untuk mengurangi tingkat kekeliruan dilakukan ulangan sebanyak tiga kali sehingga diperoleh 12 unit percobaan. Dosis yang digunakan mengacu pada hasil dosis LD₅₀ dari penelitian yang telah dilakukan oleh (Telaumbanua, 2018), yaitu dosis LD₅₀ ikan patin dengan perendaman larutan biji mangga harumanis (*Mangifera indica* L) adalah 2115 ppm. Maka dosis perlakuan yang digunakan dibawah 2115 ppm. Adapun dosis perlakuan yang digunakan adalah:

- Kn : Ikan tidak terserang bakteri *A. hydrophila* tanpa diobati larutan biji mangga.
- Kp : Ikan terinfeksi bakteri *A. hydrophila* tanpa diobati larutan biji mangga.
- P₁ : Ikan terinfeksi bakteri *A. hydrophila* direndam larutan biji mangga dengan dosis 1600 ppm.
- P₂ : Ikan terinfeksi bakteri *A. hydrophila* direndam larutan biji mangga dengan dosis 1800 ppm.
- P₃ : Ikan terinfeksi bakteri *A. hydrophila* direndam larutan biji mangga dengan dosis 2000 ppm.

Pembuatan Larutan Biji Mangga

Sampel buah mangga yang digunakan adalah buah mangga yang telah matang, dikupas dan daging buahnya disisihkan sehingga yang

tertinggal hanyalah biji mangga. Selanjutnya dikupas kembali biji mangga hingga didapatkan daging biji mangga yang paling dalam, kemudian dicuci dengan air mengalir lalu dikering anginkan selama 20 menit. Setelah kering ditimbang kemudian diparut menggunakan parutan. Hasil parutan diperas menggunakan kain kasa. Hasil perasan disaring kembali menggunakan kertas saring Whatman nomor 42 µm sehingga didapatkan larutan stok 100 % yang digunakan untuk penelitian.

Pembuatan Media GSP, TSA dan TSB

Pembuatan media selektif GSP (*Glutamate Stratch Phospat*) dengan perbandingan 45 g/L digunakan untuk membedakan antara bakteri *Pseudomonas* dan *Aeromonas*, kemudian media TSA (*Tryptic Soy Agar*) dengan perbandingan 40 g/L digunakan untuk memurnikan bakteri *A. hydrophila*, dan pembuatan media cair, yaitu media TSB (*Tryptic Soy Broth*) dengan perbandingan 30 g/L yang masing-masing media dilarutkan dalam 1 liter aquades. Media tumbuh tersebut dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* dan diberi *stirrer* kemudian dididihkan di atas *hotplate*. Setelah mendidih, untuk media GSP dan TSA langsung disterilkan ke dalam *autoclave*, sedangkan untuk media TSB dimasukkan terlebih dahulu ke dalam tabung reaksi, dan ditutup dengan kain kassa secara aseptik, kemudian di sterilkan di dalam *autoclave*. Setelah semua media steril, media GSP dan TSA bersuhu suam-suam kuku, dituangkan kedalam cawan petri secara aseptik di bawah *laminar*

flow, kemudian ditunggu hingga media agar padat (mengeras), untuk media TSB setelah dingin siap untuk digunakan.

Pengobatan dengan Larutan Biji Mangga Harumanis

Pengobatan dilakukan dengan cara perendaman. Perendaman dilakukan di dalam 5 liter air yang sudah berisi larutan biji mangga harumanis (*Mangifera indica* L.) sesuai dengan dosis perlakuan.

Perendaman dilakukan sebanyak 3 kali selama 5 menit dengan selang waktu dua hari. 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 setiap hari.

Persiapan Wadah Pemeliharaan

Persiapan wadah dimulai dari proses pembersihan akuarium berukuran 40x30x30 cm sebanyak 15 unit. Wadah pemeliharaan terlebih dahulu dibersihkan, diisi air sampai penuh lalu diberi larutan KMnO_4 (Kalium Permanganat) 25 ppm, dan diaerasi selama 24 jam agar bebas dari mikroorganisme patogen. Setelah itu dibilas, dan dikeringkan selama satu hari. Masing-masing akuarium diisi dengan air setinggi 25 cm dengan (volume 30 L) dan ikan uji dengan ukuran 8-10 cm dimasukkan ke wadah pemeliharaan dengan padat tebar 1 ekor/3L yang digunakan untuk wadah penelitian.

Adaptasi Ikan Uji

Ikan patin berukuran 8-10 cm sebanyak 150 ekor yang berasal dari Balai Benih Ikan (BBI) Tibun,

Kampar, Riau. Ikan di adaptasikan pada media pemeliharaan. Setelah adaptasi, ikan ditimbang dan diukur panjang dan berat serta diambil darah untuk mendapatkan data awal pemeliharaan. Kemudian ikan dimasukkan dalam wadah pemeliharaan dengan kepadatan 10 ekor/wadah. Selama pemeliharaan, benih ikan diberi pakan berupa pelet. Pemberian pakan diberikan secara *add libitum* sebanyak tiga kali sehari sekitar pukul 07.00 WIB, 12.00 WIB dan 17.00 WIB.

Persiapan Ikan Uji yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Sebelum penginfeksian, ikan dibius dengan cara perendaman dalam air yang telah diberi minyak cengkeh 0,1 mL/L. Setelah itu dilakukan penginfeksian ikan dengan menginfeksikan sebanyak 0,1 mL/ekor dengan kepadatan suspensi bakteri 10^8 CFU/mL secara *intramuscular* dan disetarakan dengan larutan Mc Farland 1 (Sudarno *et al.*, 2011). Setelah lebih kurang 15 jam pascainfeksi dan apabila sudah ada gejala klinis yang terjadi, seperti pendarahan pada pangkal sirip, sirip geripis, produksi lendir yang berlebihan, dan diikuti dengan munculnya ulcer pada bagian bekas penginfeksian, kemudian ikan diambil secara acak dimasukkan dalam ke wadah yang berisi larutan biji mangga sesuai dengan dosis yang tetap diberi aerasi dan direndam selama 5 menit. Setelah perendaman ikan dimasukan kedalam wadah yang beraerasi.

Pengamatan Gejala Klinis

Pemeliharaan ikan uji pasca pengobatan dilakukan selama 14 hari. Pengamatan gejala klinis dapat dilihat setelah 10 jam pascainfeksi A.

hydrophila, meliputi perubahan morfologi dan tingkah laku.

Pengambilan Darah Ikan

Pengambilan darah dilakukan sebanyak tiga kali, yaitu pertama (sebelum ikan terinfeksi), kedua (pascainfeksi), dan ketiga (hari ke-14 pascapengobatan). Sebelum pengambilan darah, ikan dibius dengan minyak cengkeh dosis 0,1 mL/L, syringe 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 eppendorf dan selanjutnya digunakan untuk penghitungan total leukosit, leukokrit, aktifitas fagositosis, dan diferensiasi leukosit.

Parameter yang Diukur

Parameter yang diukur dalam penelitian ini antara lain: Total Leukosit, Kadar Leukokrit, Diferensiasi Leukosit, Aktifitas Fagositosis, Kelulushidupan Ikan Uji dan kualitas air.

Analisis Data

Data yang diperoleh yaitu total leukosit, diferensiasi leukosit, aktifitas fagositosis, tingkat kelulushidupan, dan pengukuran kualitas air yang diperoleh dari penelitian ini 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. Parameter kualitas air dan prosedur pengamatan gejala klinis ikan ditabulasikan dalam bentuk table dan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Leukosit

Pengukuran total leukosit dilakukan untuk melihat perubahan total leukosit yang terjadi setelah dilakukan pengobatan dengan larutan biji mangga harumanis selama 5 menit sebanyak 3 kali masing-masing dengan selang waktu 2 hari. Adapun total leukosit dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan Total Leukosit pada Ikan Patin (*P. hypophthalmus*) Selama Penelitian.

Pengamatan	Perlakuan	Ikan Terinfeksi <i>A. hydrophila</i>	Hari Ke-14 Pascapengobatan
Total Leukosit ($\times 10^4 \text{ sel/mm}^3$)	Kn	$7,25 \pm 0,90^a$	$7,23 \pm 0,80^b$
	Kp	$10,53 \pm 0,75^b$	$0,00 \pm 0,00^a$
	P ₁	$10,24 \pm 0,11^b$	$9,87 \pm 0,11^d$
	P ₂	$10,32 \pm 0,09^b$	$8,70 \pm 0,72^c$
	P ₃	$10,32 \pm 0,19^b$	$7,37 \pm 0,17^b$

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$); $\pm$ Standar Deviasi (SD). (Kn*), Ikan yang tidak diinfeksi dan diobati [Normal], (Kp). Semua ikan mengalami kematian

Berdasarkan Tabel 1, terjadi peningkatan total leukosit pada ikan

patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* pada tiap perlakuan (KP,

P1, P2, dan P3) berkisar antara $10,24-10,53 \times 10^4$ sel/mm³. Jika dibandingkan dengan perlakuan Kn (ikan yang tidak terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, yaitu $7,25 \times 10^4$ sel/mm³). Peningkatan total leukosit pada ikan patin masih dalam kisaran normal (Farouq 2011) bahwa jumlah sel darah putih pada ikan berkisar antara 20.000 - 150.000 sel/mm³.

Terjadinya peningkatan total leukosit ini disebabkan karena leukosit berfungsi sebagai pertahanan dalam tubuh, yang bereaksi dengan cepat terhadap masuknya antigen ke dalam tubuh ikan. Menurut Talpur dan Ikhwanudin (2013), leukosit berfungsi sebagai salah satu garis pertama pertahanan tubuh non spesifik dan jumlah leukosit meningkat saat terjadi infeksi dan stres.

Pascapengobatan dengan larutan biji mangga harum manis, total leukosit mengalami penurunan jika dibandingkan total leukosit ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, berkisar antara $7,37-9,87 \times 10^4$ sel/mm³. Berdasarkan hasil uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pengobatan menggunakan larutan biji mangga harumanis memberikan pengaruh terhadap total leukosit ikan patin ($P < 0,05$), sehingga dilakukan uji lanjut menggunakan Student Newman Keuls (SNK) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Berdasarkan uji lanjut menunjukkan tiap perlakuan memberikan pengaruh, yaitu P₁ berbeda nyata terhadap perlakuan lainnya, namun P₃ tidak berbeda nyata dengan Kn.

Total leukosit pada perlakuan P₁ masih tinggi mengindikasikan bahwa sel leukosit 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. Menurut Bahariansyah (2014) bahwa peningkatan jumlah leukosit disebabkan karena leukosit berfungsi sebagai pertahanan dalam tubuh yang bereaksi cepat terhadap masuknya antigen ke dalam tubuh ikan.

Peningkatan total leukosit dikarenakan adanya kandungan flavonoid dalam larutan biji mangga yang mampu meningkatkan kerja organ penghasil darah sehingga produksi darah putih dapat meningkat. Menurut Wahjuningrum *et al.* (2008), peningkatan total leukosit menunjukkan bahwa flavonoid dapat meningkatkan produksi leukosit dan flavonoid juga memacu sistem imun karena leukosit sebagai pemakan (fagositosis) benda asing lebih cepat diaktifkan (Salisbury dan Ross, 1995). Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa dan menghemolisis darah (Handayani, 2013).

Leukokrit

Hasil pemeriksaan terhadap parameter kadar leukokrit darah pada ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan pascapengobatan dengan larutan biji mangga harumanis dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengamatan Leukokrit pada Ikan Patin (*P. hypophthalmus*) Selama Penelitian.

Pengamatan	Perlakuan	Ikan Terinfeksi <i>A. hydrophila</i>	Hari Ke-14 Pascapengobatan
Leukokrit ($\times 10^4$ sel/mm ³)	Kn	1,33 $\pm$ 0,58	1,67 $\pm$ 0,58 ^b
	Kp	1,33 $\pm$ 0,58	0,00 $\pm$ 0,00 ^a
	P ₁	1,67 $\pm$ 0,58	1,67 $\pm$ 0,58 ^b
	P ₂	1,67 $\pm$ 0,58	1,33 $\pm$ 0,58 ^b
	P ₃	1,67 $\pm$ 0,58	2,00 $\pm$ 1,00 ^b

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$); $\pm$ Standar Deviasi (SD). (Kn*), Ikan yang tidak diinfeksi dan diobati [Normal], (Kp). Semua ikan mengalami kematian.

Persentase leukokrit ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* berkisar 1,33–1,67%. Setelah dilakukan pengobatan menggunakan larutan biji mangga harumanis kadar leukokrit ikan patin berkisar antara 1,33–2%. Berdasarkan hasil uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pengobatan menggunakan larutan biji mangga harum manis memberikan tidak berpengaruh terhadap kadar leukokrit ikan patin ($P < 0,05$). perlakuan Kp berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, sedangkan Kn, P₁, P₂, dan P₃ tidak berbeda nyata. Menurut Anderson dan Siwicki (1994) pengukuran kadar leukokrit bertujuan untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan. Rendahnya jumlah

leukokrit disebabkan karena infeksi kronis, kualitas nutrisi yang rendah, kekurangan vitamin, dan adanya kontaminasi. Persentase leukokrit pada ikan patin yang diobati dengan larutan biji mangga masih berada pada kisaran normal.

Diferensiasi Leukosit

Pemeriksaan darah dapat digunakan untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan, baik itu non spesifik pada ikan, tingkat kesetresan terhadap kesehatan ikan dan lainnya. Hasil pengamatan parameter diferensiasi leukosit pada ikan patin (*P. hypophthalmus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan pascapengobatan dengan larutan biji mangga dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengamatan Diferensiasi Leukosit Ikan Patin (*P. hypophthalmus*) Selama Penelitian

Pengamatan	Perlakuan	Diferensiasi Leukosit		
		Limfosit (%)	Monosit (%)	Neutrofil (%)
Ikan Terinfeksi <i>A. hydrophila</i>	Kn	84,00 $\pm$ 1,00 ^b	9,00 $\pm$ 1,00 ^a	7,00 $\pm$ 1,00 ^a
	Kp	73,00 $\pm$ 2,00 ^a	15,67 $\pm$ 2,31 ^b	11,33 $\pm$ 1,15 ^b
	P ₁	71,67 $\pm$ 0,58 ^a	15,67 $\pm$ 0,57 ^a	12,67 $\pm$ 0,58 ^b
	P ₂	71,67 $\pm$ 0,58 ^a	15,00 $\pm$ 1,00 ^b	12,67 $\pm$ 0,58 ^b
	P ₃	73,33 $\pm$ 0,58 ^a	15,00 $\pm$ 1,00 ^b	11,67 $\pm$ 1,15 ^b
Pascapengobatan biji manga	Kn	82,00 $\pm$ 1,00 ^d	9,67 $\pm$ 0,58 ^b	8,33 $\pm$ 0,58 ^b
	Kp	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a
	P ₁	74,33 $\pm$ 1,15 ^b	14,00 $\pm$ 1,00 ^d	11,67 $\pm$ 1,53 ^c
	P ₂	79,67 $\pm$ 0,58 ^c	11,33 $\pm$ 0,58 ^c	9,00 $\pm$ 1,00 ^b
	P ₃	81,00 $\pm$ 1,00 ^{cd}	10,67 $\pm$ 0,58 ^{bc}	8,33 $\pm$ 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). (Kn*), Ikan yang tidak diinfeksi dan diobati [Normal], (Kp). Semua ikan mengalami kematian

Limfosit

Persentase limfosit ditemukan lebih tinggi dari monosit dan neutrophil, persentase limfosit pada ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* berkisar antara 71,67-73,33%, persentase limfosit ini lebih rendah dari perlakuan Kn (tanpa diinfeksi bakteri *A. hydrophila*, yaitu 84%. Menurut Preager *et al.* (2016), persentase limfosit pada ikan normal berjumlah 71,12-82,88% dari total leukosit dalam darah ikan.

Berdasarkan hasil uji analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pengobatan menggunakan larutan biji mangga harumanis berpengaruh terhadap persentase limfosit ikan patin ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut Student Newman Keuls menunjukkan bahwa Kn berbeda nyata terhadap perlakuan Kp, P₁, P₂ dan P₃. Sedangkan pP, P₁, P₂ dan P₃ tidak berbeda nyata.

Pascapengobatan dengan larutan biji mangga harumanis, persentase limfosit ikan patin mengalami penurunan, berkisar antara 74,33-81,00%, masih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan Kn yaitu 82%. Perlakuan P₃ (81,00%) memberikan persentase limfosit tertinggi, dan terendah pada P₁ (74,33%). Berdasarkan analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa pengobatan menggunakan larutan biji mangga harumanis memberikan pengaruh terhadap persentase limfosit ($P < 0,05$).

Monosit

Persentase monosit pada ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* berkisar antara 15,00-15,67%. Kisaran ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan patin yang tidak terinfeksi bakteri *A. hydrophila* (Kn), yaitu 9,00%. Persentase monosit tertinggi pada perlakuan P₁

dan Kp (15,67%), sedangkan terendah pada perlakuan P₂ dan P₃ (15,00).

Pascapengobatan menggunakan larutan biji mangga harumanis, persentase monosit mengalami penurunan jika dibandingkan dengan persentase monosit ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* berkisar antara 10,67-14,00%. Persentase monosit tertinggi pada perlakuan P₁ (14,00%) dan terendah pada perlakuan P₃ (10,67%). Sedangkan pada Kp (0,00%) tidak dapat diamati, disebabkan karena ikan mengalami kematian mencapai 100%.

Hasil uji analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pengobatan menggunakan larutan biji mangga harumanis memberikan pengaruh terhadap persentase monosit pada ikan patin ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut Student Newman Keuls menunjukkan Perlakuan P₁ berbeda nyata dengan perlakuan Kn, Kp, P₂ dan P₃. Perlakuan P₃ berbeda nyata dengan perlakuan Kp, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan P₂ dan Kn.

Neutrofil

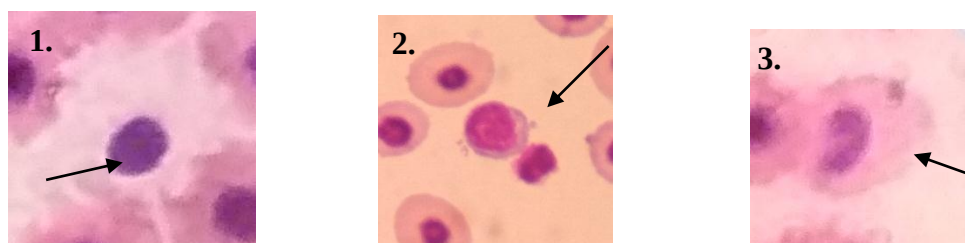
Persentase neutrophil pasca pengobatan menggunakan larutan biji mangga mengalami penurunan pada tiap perlakuan hingga mendekati ikan normal (Kn), berkisar antara 8,33-11,67%.

Pada perlakuan P₁ persentase neutrophil masih tinggi, hal ini menunjukkan pada perlakuan P₁ sel masih bekerja dalam menekan infeksi. Sedangkan pada P₃ persentase neutrophil telah menurun yaitu 8,33%, hal ini menunjukkan pada perlakuan P₁ dengan dosis yang diberikan mampu mencegah infeksi bakteri *A. hydrophila*. Menurut Lagler *et al.*, (1997) jumlah neutrofil

pada ikan normal adalah sekitar 6-8% dari total leukosit dalam darah ikan.

Hasil uji analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pengobatan menggunakan larutan biji mangga harumanis memberikan pengaruh terhadap persentase neutrophil dalam

darah ikan patin ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut Student Newman Keuls menunjukkan perlakuan P1 berbeda nyata dengan Kn, Kp, P₂, dan P₃. Perlakuan P₃ berbeda nyata dengan KP dan P₁, namun tidak berbeda nyata dengan P₂ dan Kn.



Gambar 1. Diferensiasi Leukosit

Keterangan: 1. Limfosit, 2. Monosit, 3. Neutrofil

Aktifitas Fagositosis

Hasil pemeriksaan terhadap parameter aktifitas fagositik pada ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*

dan pascapengobatan dengan larutan bijimangga dapat dilihat pada Tabel 4.

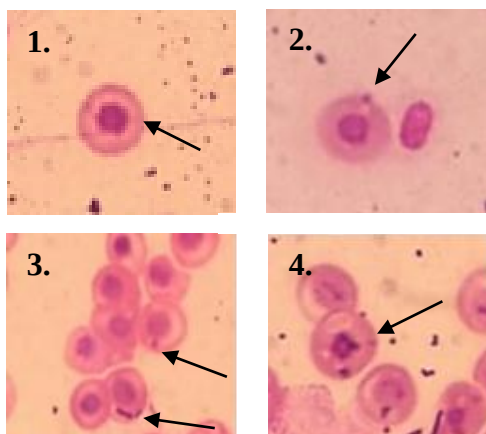
Tabel 4. Pengamatan Aktifitas Fagositik pada Ikan Patin (*P. hypophthalmus*) Selama Penelitian.

Pengamatan	Perlakuan	Ikan Terinfeksi <i>A. hydrophila</i>	Hari Ke-14 Pascapengobatan
Aktifitas Fagositik ($\times 10^4 \text{ sel/mm}^3$)	Kn	$36,00 \pm 1,73^a$	$36,00 \pm 2,00^b$
	Kp	$40,00 \pm 2,00^b$	$0,00 \pm 0,00^a$
	P ₁	$41,00 \pm 1,73^b$	$30,33 \pm 2,52^b$
	P ₂	$43,00 \pm 1,73^b$	$34,67 \pm 2,52^b$
	P ₃	$44,00 \pm 1,00^b$	$35,67 \pm 2,52^b$

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$); $\pm$ Standar Deviasi (SD). (Kn*). Ikan yang tidak diinfeksi dan diobati [Normal], (Kp). Semua ikan mengalami kematian

Tabel 4. menunjukkan ikan patin yang terinfeksi *A. hydrophila* didapatkan bahwa persentase leukosit yang melakukan aktivitas fagositosis cenderung tinggi di setiap perlakuan, yaitu 40-44 %, jika dibandingkan dengan perlakuan Kn yang memiliki nilai aktivitas fagositosis berkisar 36%. Berdasarkan hasil uji analisis variansi (ANOVA) menunjukan infeksi *A. Hydrophila* memberikan

pengaruh terhadap aktivitas fagositosis ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut Student Newman Keuls menunjukan perlakuan Kn berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, sedangkan perlakuan Kp, P₁, P₂, dan P₃ tidak berbeda nyata.



Gambar 2. Aktivitas Fagositosis (Dosis 2000 ppm, Perbesaran 1000 X)

Keterangan: 1. Sel fagosit, 2. Pelekatan Antigen, 3. Penelanan Antigen, 4. Aktivitas fagositosis.

Pascapengobatan menggunakan larutan biji mangga harumanis, aktivitas fagositosis berkisar antara 30,33–35,67%, kisaran ini lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan Kn. Berdasarkan hasil uji analisis variansi (ANOVA) menunjukkan memberikan pengaruh terhadap aktivitas fagositosis ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut Student Newman Keuls menunjukkan perlakuan Kn berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, sedangkan perlakuan Kp, P₁, P₂, dan P₃ tidak berbeda nyata.

Gejala Klinis Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*)

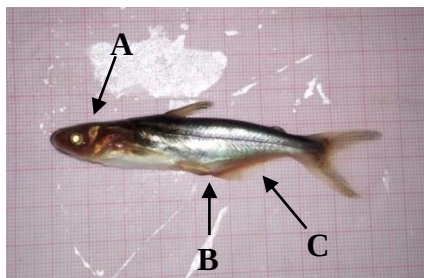
Gejala klinis ikan patin pascaterinfeksi *A. hydrophila* pada jam ke-10 mengalami gejala klinis yaitu, perut ikan membesar, produksi lendir yang tidak normal atau berlebih, terdapat luka dibagian infeksi yang terlihat seperti borok, terjadinya geripis pada sirip punggung dan sirip ekor, disertai pendarahan pada sirip perut, anal dan mata. Ikan juga lebih sering berada di dekat aerasi, berenang tidak teratur dan pergerakan yang tidak seimbang.

Menurut (Preager *et al.*, 2016) ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, dicirikan terdapat adanya luka di bagian tubuh, perut membesar, mengeluarkan lendir yang banyak dan ikan bergerak tidak aktif. Gardenia, *et al.*, (2010) menyatakan bahwa bakteri *A. hydrophila* menyebabkan penyakit (MAS) ditandai dengan adanya lesi (luka), bercak merah pada seluruh tubuh, insang berwarna pucat atau kebiruan, pendarahan pada pangkal sirip punggung, dada, perut dan ekor, juga terjadinya pendarahan pada sirip anus, gangguan keseimbangan tubuh maupun pembengkakan organ limfa dan ginjal.

Tabel 5. Gejala Klinis Ikan Patin yang Terinfeksi *A. hydrophila*

Perlakuan	Warna Tubuh	Produksi Lendir	Pergerakan	Sirip	Perut	Pendarahan
Kn	Cerah	Tidak berlebih	Berenang aktif	Sirip tidak geripis	Tidak membesar	Tidak terjadi pendarahan
Kp	-	-	-	-	-	-
P1	Pucat	Berlebih	Berenang tidak aktif	Sirip geripis	Membesar	Pendarahan pada mata
P2	Cerah	Berlebih	Berenang tidak aktif	Sirip geripis	Tidak membesar	Pendarahan pada sirip dan operkulum
P3	Cerah	Berlebih	Berenang tidak aktif	Sirip geripis	Membesar	Pendarahan pada mata dan pangkal ekor

Keterangan: : (Kn*). Ikan yang tidak diinfeksi dan diobati [Normal], (Kp). Semua ikan mengalami kematian.



Gambar 3. Gejala Klinis Ikan Patin yang Terinfeksi *A. hydrophila*
Keterangan: (A). Luka pada bagian operkulum, (B). Pendarahan pada sirip, (C). Gripis pada sisip anus.

Ikan uji pada perlakuan Kn tidak dilakukan infeksi bakteri *A. hydrophila* sedangkan ikan uji pada perlakuan Kp yang dilakukan infeksi bakteri *A. hydrophila* menunjukkan gejala klinis terdapat luka dibagian infeksi yang terlihat seperti borok, hal ini dikarenakan serangan *A. hydrophila* yang sangat ganas sehingga tidak hanya menyebabkan lesi pada bekas penginfeksian dan sekaligus terjadinya pendarahan pada sirip dan mata. Sehingga ikan uji pada perlakuan Kp mengalami kematian total setelah 15 jam pasca ikan terinfeksi *A. hydrophila*. Sedangkan pada ikan uji yang diberi pengobatan menggunakan larutan biji mangga harumanis (*Mangifera indica* L.) dengan cara perendaman sesuai dosis perlakuan yakni; P₁

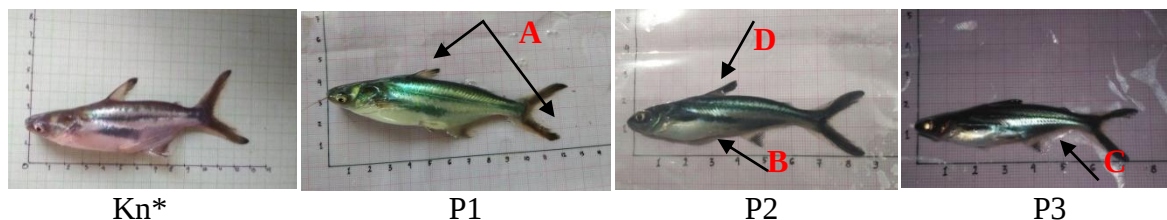
(1600 ppm), P₂ (1800 ppm), dan P₃ (2000 ppm) mengalami pemulihan berupa menutupnya luka borok pada bekas penginfeksian, hilangnya pendarahan pada sirip, warna tubuh mendekati normal, produksi lendir normal, diikuti dengan pergerakan ikan yang mulai aktif.

Pengamatan gejala klinis ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* setelah dilakukan pengobatan selama 14 hari menggunakan larutan biji mangga harumanis (*Mangifera indica* L.) dengan dosis 2000 ppm, ikan patin tersebut mengalami pemulihan. Untuk lebih jelas perubahan gejala klinis ikan patin (*P. hypophthalmus*) dapat dilihat pada Tabel 6 dan Gambar 4.

Tabel 6. Gejala Klinis Ikan Patin Hari Ke-14 Pascapengobatan

Perlakuan	Warna Tubuh	Produksi Lendir	Pergerakan	Sirip	Perut	Pendarahan
Kn*	Cerah	Tidak berlebih	Berenang aktif	Tidak geripis	Tidak membesar	Tidak terjadi pendarahan
Kp	-	-	-	-	-	-
P1	Cerah	Tidak berlebih	Berenang tidak aktif	Sirip geripis	Tidak membesar	Tidak ada pendarahan
P2	Cerah	Tidak berlebih	Berenang aktif	Tidak geripis	Tidak membesar	Tidak ada pendarahan
P3	Cerah	Tidak berlebih	Berenang aktif	Tidak geripis	Tidak membesar	Tidak ada pendarahan

Keterangan: : (Kn*). Ikan yang tidak diinfeksi dan diobati [Normal], (Kp). Semua ikan mengalami kematian.



Gambar 4. Gejala Klinis Ikan Patin (*P. hypophthalmus*) Hari ke-14 Pascapengobatan.

Keterangan: (Kn*). Ikan yang tidak diinfeksi dan diobati [Normal], (A). Sirip punggung dan ekor sudah mulai tumbuh, (B). Perut sudah mulai normal, (C). Pendarahan pada sirip sudah hilang, (D). Luka bekas suntikan sudah menutup.

Tingkat Kelulushidupan

Tingkat kelulushidupan ikan patin (*P. hypophthalmus*) dapat dijadikan indikator apakah pascapengobatan melalui perendaman larutan biji mangga harumanis

(*Mangifera indica* L.) mempengaruhi kesehatan ikan atau tidak. Pengamatan terhadap tingkat kelulushidupan ikan patin selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Tingkat Kelulushidupan Ikan Patin Selama Penelitian

Perlakuan	Tingkat Kelulushidupan (%)	
	Awal Pemeliharaan	Hari Ke-14 Pascapengobatan
Kn*	100%	100,00 ± 0,00 ^d
Kp	100%	0,00 ± 0,00 ^a
P₁	100%	50,00 ± 10,00 ^b
P₂	100%	63,33 ± 15,28 ^{bc}
P₃	100%	80,00 ± 10,00 ^c

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$); ± Standar Deviasi (SD). (Kn*). Ikan yang tidak diinfeksi dan diobati [Normal], (Kp). Semua ikan mengalami kematian.

Berdasarkan (Tabel 7). diatas tingkat kelulus hidupan ikan patin setiap perlakuan berbeda nyata, dimana Kn berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan Kp, P₁, P₂, dan P₃, sedangkan P₃ berbedanyata dengan Kp, P₁ dan P₂ dan untuk P₂ tidak berbeda nyata dengan P₁. Tingkat kelulushidupan ikan patin pascapengobatan 80%, diketahui bahwa perendaman ikan patin menggunakan larutan biji mangga harum manis memberikan tingkat

kelulushidupan lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan Kp (ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*) yang tingkat mortalitas -nya mencapai 100%.

Kualitas Air

Kondisi kualitas air selama perlakuan harus diperhatikan, agar tetap berada pada kisaran normal. Pengukuran kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Pengukuran Kualitas Air Selama Penelitian

Pengukuran	Pengambilan Sampel Air		Baku Mutu SNI 2000
	Awal Pemeliharaan	Pascapengobatan	
Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	28	28,2 - 28,5	25-30
Ph	7	7,2 - 7,6	6,5-8,5
DO (mg/L)	5	5 - 6,7	≥ 4
Amoniak (mg/L)	0,1	0,02	≤ 1

Kesimpulan

Larutan biji mangga harumanis berpengaruh nyata $P < 0,05$ dalam mengobati ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, dosis larutan biji mangga 2000 ppm merupakan dosis terbaik dalam pengobatan ikan patin yang terinfeksi *A. hydrophila* dilihat dari total leukosit $7,37 \times 10^4$ sel/mm³, kadar leukokrit sebesar 2%, sedangkan persentase limfosit 81%, monosit 10,67%, neutrophil 8,33%. Dan indeks fagositik sebesar 35,67%. Kelulushidupan mencapai 80%. Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian, yaitu suhu 28,2-28,5 $^{\circ}\text{C}$, pH 5-6,7 oksigen terlarut 5-6,7 mg/L, dan amoniak 0,02 mg/L.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka larutan biji mangga harumanis dapat digunakan untuk mengobati ikan yang terinfeksi *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) dengan dosis 2000 ppm. Selanjutnya penulis juga menyarankan untuk melakukan penelitian lanjutan melihat struktur jaringan dari ikan yang diobati menggunakan larutan biji mangga harumanis.

DAFTAR PUSTAKA

Albertina. H. 2015. Optimasi Ekstraksi Minyak dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform Biji Mangga (*Mangifera indica* L.). [Skripsi] Fakultas Sains dan Matematika Universitas Kristen Satya Wacana Salatiga.

Gardenia, L., Isti K., Hambali S., Tatik M., 2010. Aplikasi Deteksi *Aeromonas hydrophila* Penghasil Aerolysin dengan Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*. Jakarta. 66 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.

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.

Lagler K.F, Bardach J.E, Miller R.R, Passino D.R.M. 1977. *Ichthyology*. John Wiley and Sons Inc, New York-London. 506 hlm.

Farouq, A. 2011. Aplikasi Probiotik, Prebiotik dan Sinbiotik dalam Pakan untuk Meningkatkan Respons Imun dan Kelangsungan Hidup Ikan Nila *Oreochromis niloticus* yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,

- Institut Pertanian Bogor. Bogor. 78 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.
- Salisbury, Frank B dan Cleon W Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 2*. Bnadung: ITB.
- Sudarno, Setiorini FA dan Suprpto H. 2011. Efektivitas Ekstrak Tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri*) Sebagai Antibakteri *Edwardsiella tarda* secara *In Vitro*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 3(1) : 103-108.
- Tahapari E, Suryaningrum DT, Muljanah I, 2010. Profil sensori dan nilai gizi beberapa jenis ikan patin dan hibrid nasutus. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan* 5: 153–164.
- Talpur AD, Ikhwanudin M. 2013. *Azadirachta indica* (neem) leaf dietary effects on the immunity response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* challenged with *vibrio harveyi*. *Fish and Shellfish Immunology*, 34(1): 254-264 hlm.
- Telaumbanua SN. 2018. Sensitivitas Larutan Biji Mangga Harumanis (*Mangifera indica* L) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Wahjuningrum D, ashry N, dan Nurhayati S. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia cartapa*) untuk Pencegahan dan Pengobatan Ikan Patin (*Pangasionodon hypophthalmus*) yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 7(1): 79-94 hlm.