

## Ketahanan ikan lele sangkuriang, *Clarias gariepinus* Burchell 1822 terhadap *Aeromonas hydrophila* pasca pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) melalui pakan

[The resistance of sangkuriang catfish (*Clarias gariepinus* Burchell 1822) against *Aeromonas hydrophila* bacteria given moringa leaf extracts (*Moringa oleifera* L.) through the feed]

Rosidah<sup>1</sup>✉, Ibnu Dwi Buwono<sup>1</sup>, Walim Lili<sup>1</sup>, Ibnu Bangkit Suryadi<sup>1</sup>, Ade Reza Triandika<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran

<sup>2</sup> Alumni Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran

Program Studi Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran  
Jalan Raya Bandung - Sumedang km 21 Jatinangor 40600 Sumedang Jawa Barat

Diterima: 1 Oktober 2018; Disetujui: 8 Januari 2018

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi yang efektif dari ekstrak daun kelor untuk menginduksi ketahanan tubuh ikan lele sangkuriang terhadap serangan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental Rancangan Acak Lengkap dengan enam perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan penelitian yang digunakan adalah penambahan ekstrak daun kelor ke dalam pakan dengan konsentrasi 0 ppm (A), 100 ppm (B), 125 ppm (C), 150 ppm (D), 175 ppm (E) dan 200 ppm (F). Parameter yang diamati meliputi jumlah total sel darah, peningkatan jumlah sel darah putih, gejala klinis, dan sintasan. Data peningkatan jumlah sel darah putih dan sintasan dianalisis menggunakan uji F dan uji jarak berganda pada taraf kepercayaan 5%, sedangkan data gejala klinis dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun kelor efektif untuk menginduksi ketahanan tubuh lele sangkuriang. Konsentrasi 150 ppm menghasilkan rata-rata jumlah sel darah putih tertinggi 23,46±6,46% dan setelah diuji tantang tidak menunjukkan gejala klinis, serta tingkat sintasan yang tertinggi sebesar 80,0±5,00%. Berdasarkan analisis regresi konsentrasi ekstrak daun kelor memberikan pengaruh sebesar 95,62% dengan konsentrasi optimum sebesar 153,95 ppm terhadap sintasan ikan lele sangkuriang setelah di uji tantang dengan *Aeromonas hydrophila*.

Kata penting : ekstrak daun kelor, gejala klinis, ketahanan lele, sintasan, sel darah putih.

### Abstract

This study aims to reveal effective concentration of moringa leaf extract which is inducing body resistance of sangkuriang catfish against *Aeromonas hydrophila*. This study used as experimental method of completely randomized design (CRD) with six treatments and three replications. The treatment used in this research were the addition of moringa leaf extract into feed with concentration of 0 ppm (A), 100 ppm (B), 125 ppm (C), 150 ppm (D), 175 ppm (E) and 200 ppm (F). Observed parameters were total leukocyte count, increase in leukocyte, clinical sign and survival rate. Increase in leukocyte and survival rate data were analyzed using F test and Duncan test with significance level 0.05, while clinical sign data was analyzed descriptively. The results showed that moringa leaf extract was effective to induce the immune of sangkuriang catfish. The treatment of 150 ppm has the highest total leukocyte count of 23.46 ± 6.46% and didn't have clinical symptoms after challenge with *Aeromonas hydrophila* and the highest survival rate 80.0 ± 5.00%. Based on the regression analysis, 153.95 ppm of Moringa leaf extract is the optimum concentration with 95.62% on the survival of sangkuriang catfish after challenge with *Aeromonas hydrophila*.

Keywords: moringa leaf extract, clinical symptom, catfish resistance, leukocyte cell, survival rate.

### Pendahuluan

Ikan lele sangkuriang merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang paling banyak di-

budidayakan oleh masyarakat Indonesia terutama di pulau Jawa. Keunggulan ikan lele sangkuriang antara lain pertumbuhan cepat, fekunditas tinggi, mampu hidup dengan kepadatan tinggi, dan dapat dibudidayakan di lahan yang terbatas (Hastuti & Subandiyono 2014).

✉ Penulis korespondensi

Alamat surel: [ros\\_ahdi@yahoo.com](mailto:ros_ahdi@yahoo.com)

Usaha budi daya ikan lele sering dihadapakan dengan penyakit yang menyebabkan kematian pada ikan. Penyakit pada ikan disebabkan oleh virus, bakteri, dan jamur (Ikeogu *et al.* 2010). Sistem pemeliharaan ikan dengan kepadatan tinggi dan kualitas air yang buruk dapat memicu stres pada ikan yang akan memengaruhi kesehatan ikan (Novriadi *et al.* 2014). Salah satu penyakit patogen pada ikan lele sangkuriang adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*, biasa disebut “*Motil Aeromonas Septicemia*” (MAS). Bakteri *A. hydrophila* menyebabkan luka pada tubuh ikan, borok, pendarahan, dan kematian (Anyanwu *et al.* 2014).

Penanggulangan penyakit MAS pada ikan biasanya dilakukan setelah ikan terinfeksi penyakit. Dalam usaha budi daya, penanggulangan seperti ini akan merugikan petani karena membutuhkan biaya yang tinggi. Solusi yang dapat dilakukan adalah melakukan tindakan pencegahan (*preventif*). Penanggulangan penyakit melalui tindakan pencegahan dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain menjaga kualitas air, pemberian pakan, dan pemberian imunostimulan. Menurut Buchmann (2014), imunostimulan merupakan zat atau obat yang dapat mengembalikan ketidakseimbangan sistem kekebalan tubuh yang terganggu dengan cara merangsang dan memperbaiki fungsi sistem kekebalan tubuh. Pemberian imunostimulan dapat diberikan melalui injeksi, pakan (oral), dan perendaman (Maqsood *et al.* 2011). Mekanisme pertahanan tubuh ikan terdapat dua bagian yaitu spesifik dan non spesifik. Pertahanan spesifik terjadinya respon imun yang menghasilkan antibodi untuk menangkal serangan bakteri, virus, jamur dan parasit. Pertahanan non spesifik yaitu merupakan pertahanan pertama dalam tubuh

yang berperan sebagai garis pertahanan pertama sebelum zat asing menimbulkan infeksi. Pertahanan non spesifik adalah suatu proses terjadinya pembentukan penghalang (*barrier*) pada kulit untuk perlindungan dari patogen yang berasal dari luar kulit (Mohapatra *et al.* 2012, Labh & Shakya 2014, Dhama *et al.* 2015).

Pencegahan penyakit dengan penggunaan bahan-bahan yang bersifat imunostimulan baik yang bersifat alami maupun sintesis dapat meningkatkan aktivitas pertahanan non spesifik serta merangsang organ pembentuk antibodi dalam tubuh untuk bekerja secara maksimal. Imunostimulasi biasa dilakukan dengan pemberian komponen mikrobial seperti  $\beta$ -glukan dan lipopolisakarida (LPS) atau sel bakteri yang telah dimatikan (Dalmo & Bogwald 2008). Kendala dari imunostimulan tersebut adalah harganya relatif mahal, sehingga diperlukan sumber imunostimulan lain yang murah dan mudah penanganannya dengan menggunakan tumbuhan.

Beberapa tumbuhan dapat menjadi sumber imunostimulan, antara lain meniran, lidah buaya, mengkudu, teh hijau, jintan hitam, rumput laut, sirsak, dan lain-lain (Sajid *et al.* 2011, Bairwa *et al.* 2012). Vitamin yang terkandung dalam tumbuhan yang berfungsi sebagai imunostimulan adalah vitamin C dan E (Mastan 2015, Bairwa *et al.* 2012). Senyawa bioaktif pada tumbuhan yang berfungsi sebagai agen imunostimulan adalah alkaloid, flavanoid, fenol dan terpenoid, steroid (Hai 2015).

Salah satu tumbuhan yang mempunyai kandungan yang sama dengan beberapa tumbuhan di atas (meniran, lidah buaya, mengkudu, teh hijau, jintan hitam, rumput laut dan sirsak) adalah daun kelor. Kandungan kimiawi pada daun kelor adalah vitamin (A, C, E, K, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>,

B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub>), flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid (Kasolo *et al.* 2010, Gopalkrishnan *et al.* 2016).

Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan konsentrasi ekstrak daun kelor (*M. oleifera* L.) yang efektif untuk menginduksi ketahanan lele sangkuriang terhadap bakteri *A. hydrophila* pascapemberian ekstrak daun kelor melalui pakan.

### Bahan dan metode

Penelitian dilaksanakan dari bulan Februari sampai Mei 2017 di Laboratorium Fisiologi Hewan Air Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran.

#### Bahan dan alat

Bahan penelitian yang digunakan meliputi: lele sangkuriang berasal dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Tawar Sukabumi sebanyak 500 ekor berukuran  $7 \pm 0,5$  cm, isolat bakteri *Aeromonas hydrophila* dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Unpad dengan kepadatan  $10^8$  cfu mL<sup>-1</sup>, daun kelor bagian pucuk sampai daun tua diaduk secara komposit, pakan komersial PF 800 dengan kandungan protein 39-41%, media agar NA (*Nutrient Agar*), akuades, dan khlorin

Alat penelitian yang digunakan meliputi akuarium berukuran 40cm x 30cm x 30cm sebanyak 18 buah, timbangan digital UTE, kertas saring Whatman no. 42, *evaporator*, *haemocytometer*, *hand counter*, pH meter, DO meter, *maserator*, *autoclave*, jarum ose, cawan petri, inkubator, termometer, spektrofotometer, dan pemanas air.

#### Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Leng-

kap yang terdiri atas enam perlakuan dan tiga ulangan. Setiap perlakuan menggunakan 20 ekor ikan lele sangkuriang. Perlakuan yang diberikan adalah pemberian ekstrak daun kelor melalui pakan dengan konsentrasi berdasarkan hasil uji LC<sub>50</sub>, yaitu :

Perlakuan A	: 0 ppm (Kontrol)
Perlakuan B	: 100 ppm
Perlakuan C	: 125 ppm
Perlakuan D	: 150 ppm
Perlakuan E	: 175 ppm
Perlakuan F	: 200 ppm

#### Pembuatan ekstrak daun kelor

Daun kelor segar dikering anginkan tanpa paparan sinar matahari, setelah kering ditimbang sebanyak 500 g. Selanjutnya dilakukan maserasi dengan maserator untuk memisahkan kandungan kimiawi pada daun dengan penambahan etanol 96% sebagai pelarut. Perbandingan daun kering dengan pelarut yang digunakan adalah 1:5. Penggunaan perbandingan pelarut mengacu pada Jayaraman *et al.* (2008) yaitu 1:5, artinya 1 kg bahan ekstrak dilarutkan dalam 5 L etanol. Hasil proses maserasi kemudian disaring dengan kertas saring Whatman no. 42. Ekstrak hasil maserasi atau filtrat yang dihasilkan ditampung menjadi satu dan diuapkan dengan *rotatory vacuum evaporator* pada suhu 60°C dengan kecepatan 65 rpm sampai pelarut habis menguap, sehingga didapatkan ekstrak daun kelor pekat (*gel*).

#### Uji LC<sub>50</sub> ikan lele sangkuriang

Uji LC<sub>50</sub> (*Lethal Concentration 50%*) dilakukan untuk mengetahui batas maksimum penggunaan ekstrak daun kelor yang mengakibatkan mortalitas 50% pada ikan lele sangkuriang setelah dilakukan perendaman selama

24 jam. Perlakuan yang digunakan dalam uji LC<sub>50</sub> adalah perendaman ikan dalam larutan ekstrak daun kelor dengan konsentrasi 0 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm, 1000 ppm 3000 ppm masing-masing sebanyak dua kali ulangan. Sebelum dilakukan uji LC<sub>50</sub> ikan lele diadaptasikan selama tiga hari dalam akuarium.

Prosedur dalam Uji LC<sub>50</sub> sebagai berikut: 12 buah akuarium diisi air sebanyak 5 liter, lalu dimasukkan ekstrak daun kelor sesuai dengan konsentrasi perlakuan. Ikan uji dimasukkan secara acak pada setiap akuarium masing-masing sebanyak 10 ekor. Pengamatan dilakukan setiap 15 menit, 30 menit, 1 jam, 2 jam, 4 jam, 8 jam, 16 jam, sampai 24 jam. Kemudian hasil uji LC<sub>50</sub> dianalisis dengan menggunakan piranti lunak *EPA Probit Analysis*. Hasil *EPA Probit Analysis* memperlihatkan konsentrasi ekstrak daun kelor sebesar 577,352 ppm mematikan ikan uji 50%, konsentrasi 217,053 ppm mematikan ikan uji 15% sebesar, konsentrasi 172,205 ppm mematikan ikan uji 10%, dan konsentrasi 122,234 ppm mematikan ikan uji 5%. Dengan demikian konsentrasi yang digunakan dalam penelitian adalah antara 217,053 ppm sampai 122,234 ppm, dengan kematian antara 5 % sampai 15 %.

#### *Pencampuran pakan dengan ekstrak daun kelor*

Ekstrak daun kelor dimasukkan ke dalam gelas ukur berbeda untuk setiap konsentrasinya, yaitu 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm, 175 ppm, 200 ppm. Kemudian ekstrak dicampur dengan putih telur sampai merata, untuk merekatkan ekstrak dengan pakan. Selanjutnya dicampurkan dengan pakan yang telah ditimbang sesuai dengan kebutuhan bobot ikan per minggu. Pakan yang telah mengandung ekstrak daun kelor siap untuk diberikan pada ikan uji.

#### *Pemberian perlakuan pada ikan uji*

Sebanyak 18 akuarium disiapkan, setiap akuarium diisi dengan air sebanyak 10 liter, kemudian diaerasi selama 24 jam. Sementara itu seluruh ikan uji sebelum digunakan diaklimatisasi dalam bak fiber selama 7 hari untuk meyakinkan bahwa ikan dalam kondisi sehat, diperlihatkan dengan respon yang baik terhadap kejutan dan pakan yang diberikan, tidak cacat dan tidak ada kerusakan tubuh. Selanjutnya ikan uji dimasukkan ke dalam akuarium dengan kepadatan 20 ekor per akuarium. Setelah diaklimatisasi ikan uji diberi perlakuan, yaitu diberi pakan yang telah dicampur ekstrak daun kelor, diberikan selama 21 hari. Pemberian pakan sebanyak 5% dari biomassa tubuh ikan, diberikan tiga kali per hari pada pukul 08:00, 11:00 dan 16:00.

#### *Persiapan isolat bakteri *Aeromonas hydrophila**

Alat disterilkan dalam autoklaf. Nutrient agar (NA) sebanyak 3 gram ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 100 ml akuades dalam *erlenmeyer* sampai homogen, dipanaskan di atas hot plate, ditutup dengan *aluminium foil*, selanjutnya media agar disterilkan. Larutan NA dituangkan pada cawan petri steril hingga merata, dan dibiarkan hingga dingin dan beku. Bakteri diinokulasi dalam media agar (NA) disebar secara merata sebanyak 2 ose, kemudian diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 27<sup>0</sup>C selama 24 jam. Isolat bakteri hasil kultur dipanen dengan menggunakan jarum ose, kemudian dimasukkan ke dalam tabung falcon yang telah berisi NaCl fisiologi steril, selanjutnya di vortex hingga homogen. Setelah homogen kemudian kepadatan bakteri dihitung dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm dan absorban (OD) 0,235. Penambahan NaCl fisiologis atau

isolat bakteri terus dilakukan sampai diperoleh nilai absorban (OD) 0,235, diasumsikan OD 0,235 setara dengan kepadatan bakteri  $10^8$  CFU  $\text{mL}^{-1}$  atau larutan Mc Farland no. 1.

#### *Uji tantang*

Ikan uji setelah diberi perlakuan selama 21 hari kemudian diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan  $10^8$  CFU $\text{mL}^{-1}$ . Uji tantang dilakukan dengan cara ikan diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan metode imersi, larutan bakteri dimasukkan ke dalam setiap akuarium sebanyak 10 mL. Setelah ikan diuji tantang dilakukan pengamatan gejala klinis dan sintasan sampai hari ke 14.

#### *Parameter pengamatan*

##### Jumlah leukosit (sel darah putih)

Pengamatan jumlah leukosit (sel darah putih) ikan uji diamati sebanyak tiga kali, yaitu sebelum ikan diberi perlakuan, setelah ikan diberi perlakuan dan setelah diuji tantang *A. hydrophila*. Prosedur yang dilakukan untuk mengamati jumlah leukosit adalah sebagai berikut. Ikan uji disayat bagian vena caudalis-nya sampai darah keluar, kemudian darah yang keluar dihisap dengan pipet sahli sampai skala 0,5 dilanjutkan dengan menghisap larutan *Turk's* sampai skala 11, kemudian dikocok hingga homogen. Larutan yang sudah homogen diteteskan pada *haemocytometer* dengan volume (0,2 x 0,2 x 0,1)  $\text{mm}^3$ , lalu ditutup dengan kaca penutup. Langkah selanjutnya *haemocytometer* diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 kali. Sel darah putih yang teramati dihitung dengan menggunakan rumus berikut (Nabib & Pasaribu 1989):

$$\text{SDP} = \frac{A}{N} \times \frac{1}{V} \times \text{FP}$$

Keterangan: SDP= jumlah sel darah putih, A= jumlah sel darah putih terhitung, N= jumlah kotak *haemocytometer* yang diamati, V= volume kotak *haemocytometer* yang diamati, FP= faktor pengenceran

##### Gejala klinis ikan terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Pengamatan gejala klinis meliputi perubahan tingkah laku, perubahan morfologi dengan melihat kerusakan di permukaan tubuh berupa bercak merah (*hyperamia*), nekrosis, pendarahan (*hemorrhagic*), mata menonjol (*exophthalmia*) dan perut membuncit (*dropsy*), perubahan warna kulit ikan dan tingkah laku ikan (gerak renang, respon terhadap pakan dan keseimbangan tubuh). Pengamatan gejala ikan dilakukan selama 14 hari setelah ikan dilakukan uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*.

##### Sintasan

Pengamatan sintasan ikan lele sangkuriang dilakukan setelah ikan diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Perhitungannya dilakukan menggunakan rumus sebagai berikut (Effendie 1997) :

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

Keterangan: SR = laju sintasan (%),  $N_t$  = jumlah ikan hidup pada akhir pemeliharaan (ekor),  $N_o$  = jumlah ikan pada awal pemeliharaan (ekor)

##### *Analisis data*

Data jumlah sel darah putih dan sintasan, dianalisis dengan menggunakan uji F (ANOVA) dengan taraf 5 %. Jika terdapat terdapat pengaruh, dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (Gasperz 1995). Gejala klinis dianalisis secara deskriptif.

#### **Hasil**

##### *Jumlah sel darah putih (leukosit)*

Pengamatan jumlah sel darah putih dilakukan untuk mengetahui perubahan jumlah sel

darah putih ikan lele sangkuriang sebelum diberi perlakuan, setelah diberi perlakuan dengan ekstrak daun kelor, dan setelah diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Berdasarkan hasil pengamatan sel darah putih sebelum dan setelah diberi perlakuan (Tabel 1) dan setelah diuji tantang (Tabel 2) memperlihatkan jumlah sel darah putih yang berbeda.

Berdasarkan hasil pengamatan, ikan uji pada setiap perlakuan mengalami persentase peningkatan jumlah sel darah putih yang berbeda-beda setelah diberi ekstrak daun kelor. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun kelor yang diberikan, jumlah sel darah putih semakin meningkat, namun peningkatan jumlah sel darah putih terjadi sampai konsentrasi 150 ppm (perlakuan D). Di atas konsentrasi 150 ppm terjadi sedikit penurunan jumlah sel darah putih, yaitu pada konsentrasi 175 ppm (perlakuan E) dan 200 ppm (perlakuan F) (Tabel 1).

Hasil analisis sidik ragam memperlihatkan pemberian ekstrak daun kelor memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap peningkatan jumlah sel darah putih lele sangkuriang.

Hasil uji Duncan pada taraf kepercayaan 5% memperlihatkan perlakuan A (0 ppm) berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, sedangkan perlakuan B (100 ppm), C (125 ppm), D (150 ppm), E (175 ppm) dan F (200 ppm) tidak memberikan perbedaan yang nyata. Ikan uji yang tidak diberi ekstrak daun kelor (perlakuan A) memperlihatkan peningkatan sel darah putih terkecil, yaitu sebesar  $9,33 \pm 2,48\%$  dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Ikan uji yang diberi ekstrak daun kelor mengalami peningkatan jumlah sel darah putih yang tidak memberikan perbedaan yang nyata untuk setiap perlakuan, namun ikan uji pada perlakuan D (150 ppm) cenderung menghasilkan peningkatan jumlah sel darah putih dengan nilai tertinggi yaitu sebesar  $23,16 \pm 6,46\%$  (Tabel 1).

Jumlah sel darah putih setelah diberi perlakuan ekstrak daun kelor, kemudian diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* menghasilkan jumlah sel darah putih yang bervariasi berkisar antara  $0,774 \times 10^5$  sel  $\text{mm}^{-3}$  sampai  $1,03 \times 10^5$  sel  $\text{mm}^{-3}$  (Tabel 2).

Tabel 1. Rata-rata peningkatan jumlah sel darah putih (leukosit) ikan lele sangkuriang setelah diberi ekstrak daun kelor

Perlakuan	Rata-rata jumlah sel darah putih		Persentase peningkatan jumlah sel darah putih (%)
	Sebelum pemberian ekstrak ( $\times 10^5$ sel $\text{mm}^{-3}$ )	Setelah pemberian ekstrak ( $\times 10^5$ sel $\text{mm}^{-3}$ )	
A (0 ppm)	0,702	0,774	$9,33 \pm 2,48^a$
B (100 ppm)	0,673	0,866	$22,33 \pm 3,09^b$
C (125 ppm)	0,685	0,868	$21,00 \pm 2,03^b$
D (150 ppm)	0,701	0,914	$23,16 \pm 6,46^b$
E (175 ppm)	0,696	0,883	$21,13 \pm 2,91^b$
F (200 ppm)	0,684	0,862	$20,63 \pm 2,57^b$

Keterangan : Nilai yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata

Tabel 2. Rata-rata peningkatan jumlah sel darah putih (leukosit) ikan lele sangkuriang setelah uji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*

Perlakuan	Setelah pemberian ekstrak ( $\times 10^5$ sel $\text{mm}^{-3}$ )	Setelah uji tantang ( $\times 10^5$ sel $\text{mm}^{-3}$ )	Persentase peningkatan sel darah putih (%)
A (0 ppm)	0,774	1,033	$25,09 \pm 3,81^a$
B (100 ppm)	0,867	0,942	$8,69 \pm 2,93^b$
C (125 ppm)	0,868	0,945	$8,83 \pm 2,27^b$
D (150 ppm)	0,915	0,956	$4,51 \pm 0,84^b$
E (175 ppm)	0,883	0,934	$5,42 \pm 3,11^b$
F (200 ppm)	0,862	0,929	$7,17 \pm 1,93^b$

Keterangan: nilai yang diikuti dengan huruf sama tidak berbeda nyata

Tabel 2 memperlihatkan ikan uji pada semua perlakuan setelah diuji tantang menghasilkan jumlah sel darah putih yang lebih tinggi dibandingkan sebelum diuji tantang. Ikan uji yang tidak diberi ekstrak daun kelor setelah diuji tantang menghasilkan jumlah sel darah putih tertinggi. Semua ikan uji yang diberi perlakuan mengalami peningkatan jumlah sel darah putih sampai batas 150 ppm, diatas 150 ppm mengalami sedikit penurunan, sehingga yang terendah terjadi pada perlakuan F (200 ppm).

Ikan uji pada perlakuan A mengalami peningkatan jumlah sel darah putih tertinggi, yaitu sebesar  $25,09 \pm 3,81\%$ . Ikan uji yang diberi perlakuan dengan ekstrak daun kelor setelah diuji tantang menghasilkan peningkatan persentase jumlah sel darah putih yang jauh jauh lebih rendah dibandingkan perlakuan A, yaitu berkisar  $4,51 \pm 0,84\%$  sampai  $8,83 \pm 2,27\%$ . Perlakuan D cenderung mengalami peningkatan terendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya, yaitu sebesar  $4,51 \pm 0,84$ .

#### Gejala klinis ikan lele sangkuriang yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Pengamatan gejala klinis pada ikan lele sangkuriang sebagai ikan uji setelah diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* kepadatan  $10^8$  cfu  $\text{mL}^{-1}$ . Gejala klinis yang diamati yaitu kerusakan tubuh ikan, respon terhadap pakan, dan kejutan. Kerusakan tubuh ikan meliputi bercak

merah (*hyperamia*), nekrosis, pendarahan (*hemorrhagic*), mata menonjol (*exophthalmia*), dan perut membuncit (*dropsy*).

#### Kerusakan tubuh

Berdasarkan hasil pengamatan, kerusakan tubuh pada ikan uji mulai terlihat jam ke -24 setelah dilakukan infeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Kerusakan tubuh pada tiap ikan uji tidak timbul merata pada setiap ikan uji (Tabel 3).

Berdasarkan Tabel 3, ikan uji perlakuan A (0 ppm), B (100 ppm), C (125 ppm), D (150 ppm), E (175 ppm), dan F (200 ppm) pada hari ke-1 setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* belum terlihat adanya kerusakan tubuh. Pada hari ke- 2 ikan uji pada perlakuan A (0 ppm) mulai mengalami kerusakan tubuh berupa kulit kemerahan atau bercak merah (Gambar 1a), berenang tidak beraturan dan perut ikan membuncit (Gambar 1b). Pada hari ke- 14 kerusakan tubuh berupa bercak merah semakin parah dan timbulnya kerusakan pada sirip ikan (Gambar 1c).

Ikan uji perlakuan B (100 ppm), C (125 ppm) dan D (150 ppm) pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-14 tidak memperlihatkan timbulnya gejala klinis terserang *A. hydrophila*. Pada hari ke-12 perlakuan E (175 ppm) dan F (200 ppm) memperlihatkan gejala klinis ringan berupa bercak merah dan pada hari ke-14 hanya beberapa ikan mengalami *dropsy* (perut membuncit).

Tabel 3. Kerusakan tubuh ikan lele sangkuriang selama ujiantang terhadap bakteri *A. hydrophila*

Penga- matan hari ke-	Konsentrasi ekstrak daun kelor (ppm)																	
	0 (A)			100 (B)			125 (C)			150(D)			175 (E)			200 (F)		
	Ulangan ke-																	
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	ab	-	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	ab	a	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	ab	a	ab	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	abc	ab	ab	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	abc	abc	abc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	abc	abc	abc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	abc	abc	abc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	abc	abc	abc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	a
11	abc	abc	abc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	a	a	-
12	abc	abc	abc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	a	a	a	a	a	-
13	abc	abc	abc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	a	ab	a	a	a	a
14	abc	abc	abc	-	-	-	-	-	-	-	-	-	a	b	ab	ab	a	ab

Keterangan : (a) : bercak merah (hiperami) (b) : Perut buncit (dropsy)  
(c) : Sirip geripis (-) : tidak ada gejala klinis



(a) Bercak merah/hiperami



(b) Perut membuncit (dropsy)



(c) Sirip geripis

Gambar 1. Gejala klinis ikan lele sangkuriang pasca ujiantang



Respons lele sangkuriang terhadap pakan

Pengamatan respons ikan terhadap pakan dilakukan selama 14 hari. Pengamatan dilakukan dengan cara melihat respons ikan ketika diberi pakan dan mengamati sisa pakan yang mengendap di dasar akuarium. Pada hari ke-1 setelah penyuntikan semua ikan uji tidak memberikan respons terhadap pakan yang diberikan. Ikan uji pada perlakuan A tidak menunjukkan respons terhadap pakan sampai hari ke-5. Pada

perlakuan B (100 ppm), C (125ppm), D (150 ppm), E (175 ppm), dan F (200 ppm) respons pakan mulai terlihat pada hari ke-3 ketika ikan muncul ke permukaan air dan memakan pakan yang diberikan. Pada perlakuan E (175 ppm) dan F (200 ppm) pada hari ke-12 mengalami penurunan respons terhadap pakan (Tabel 4), terlihat sisa pakan yang mengendap di dasar akuarium, namun jumlah lebih sedikit dibandingkan perlakuan A (0 ppm).

Tabel 4. Respons ikan lele sangkuriang terhadap pakan

Pengamatan hari ke-	Konsentrasi ekstrak daun kelor (ppm)																		
	0 (A)			100 (B)			125 (C)			150(D)			175 (E)			200 (F)			
	Ulangan ke-																		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
3	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
4	-	-	-	+	+	+	++	+	+	++	++	++	+	+	+	+	++	+	+
5	-	-	-	+	+	+	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	++	++	++
6	-	+	-	+	+	+	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	++	++	++
7	-	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++
8	-	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
9	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
10	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
11	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	++	++
12	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+
13	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+
14	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+

## Keterangan:

- (-) Respons terhadap pakan tidak ada
- (+) Respons terhadap pakan rendah (ada sisa pakan)
- (++) Respons terhadap pakan normal (pakan tidak bersisa)

*Respon ikan lele sangkuriang terhadap kejutan*

Uji terhadap kejutan atau gerak refleksi dilakukan dengan menepuk dinding akuarium sebanyak tiga kali ketukan. Pada hari ke-1 sampai hari ke-3 semua ikan uji tidak ada refleksi terhadap kejutan yang diberikan. Pada perlakuan A (0 ppm) dari hari ke-1 sampai hari ke-6 tidak ada respons terhadap kejutan yang diberikan. Ikan muncul ke permukaan hanya untuk mengambil oksigen dan makan. Pada hari ke-7 hingga akhir masa pemeliharaan ikan mulai menunjukkan respons terhadap kejutan; yang dapat terlihat dari ketukan pada dinding akuarium, namun respons yang diberikan masih rendah. Berbeda dengan ikan uji pada perlakuan

B (100 ppm), C (125 ppm), D (150 ppm), E (175 ppm) dan F (200 ppm); hanya pada hari ke-1 sampai hari ke-3 tidak ada respons terhadap kejutan. Pada perlakuan B (100 ppm), E (175 ppm), dan F (200 ppm) pada hari ke-4 hingga ke-6 respons kejutan masih rendah, sedangkan dari hari ke-7 hingga akhir masa pemeliharaan ikan mengalami peningkatan dalam merespons kejutan yang diberikan. Pada perlakuan C (125 ppm) dan D (150 ppm), respons terhadap kejutan yang rendah terjadi pada hari ke-4 dan ke-5 dan mengalami peningkatan tinggi pada hari ke-6 hingga akhir pemeliharaan, terlihat dari hasil pergerakan yang lincah (Tabel 5).

Tabel 5. Respons ikan lele sangkuriang terhadap kejutan

Pengamatan hari ke-	Konsentrasi ekstrak daun kelor (ppm)																	
	A (0)			B (100)			C (125)			D (150)			E (175)			F (200)		
	Ulangan ke-																	
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	-	-	-	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	++
7	+	-	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
8	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
9	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
10	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
11	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
12	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
13	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
14	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Keterangan :

- (-) Respons terhadap kejutan tidak ada
- (+) Respons terhadap kejutan rendah
- (++) Respons terhadap kejutan tinggi (gerakan lincah)

*Sintasan ikan lele sangkuriang*

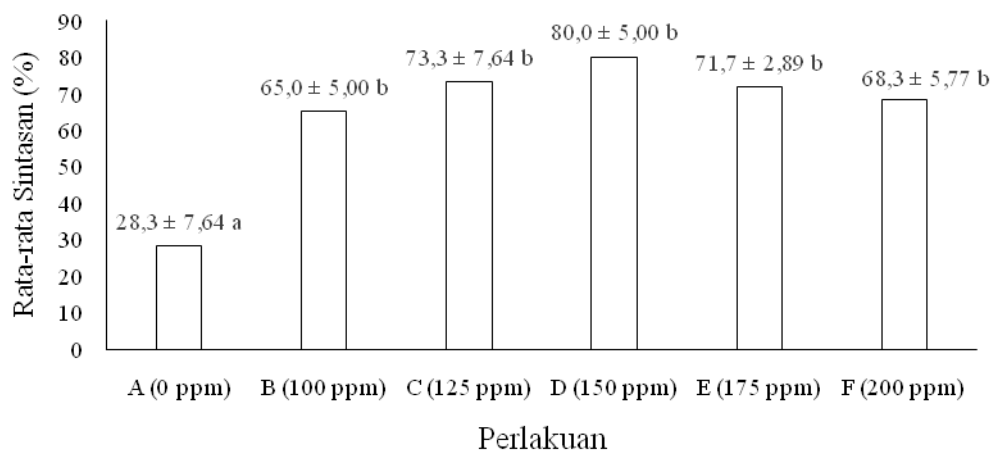
Pengamatan sintasan lele sangkuriang dilakukan setelah penginfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* selama 14 hari pemeliharaan. Hasil pengamatan menunjukkan tingkat sintasan yang bervariasi pada setiap perlakuan (Gambar 2).

Pada Gambar 2 perlakuan A (0 ppm) menghasilkan sintasan yang paling rendah dibandingkan dengan perlakuan B (100 ppm), C (125 ppm), D (150 ppm), E (175 ppm) dan F (200 ppm). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun kelor yang diberikan, sintasan lele semakin meningkat, namun peningkatan terjadi sampai pada konsentrasi 150 ppm. Di atas konsentrasi 150 ppm, sintasan mengalami sedikit penurunan, yaitu pada konsentrasi 175 ppm dan 200 ppm. Maka tingkat sintasan tertinggi terdapat pada perlakuan D (150 ppm). Hasil uji Duncan memperlihatkan perlakuan A (0 ppm) berbeda nyata dengan perlakuan B (100 ppm), C (125 ppm), D (150 ppm), E (175 ppm) dan F (200 ppm); sedangkan perlakuan B (100 ppm), C

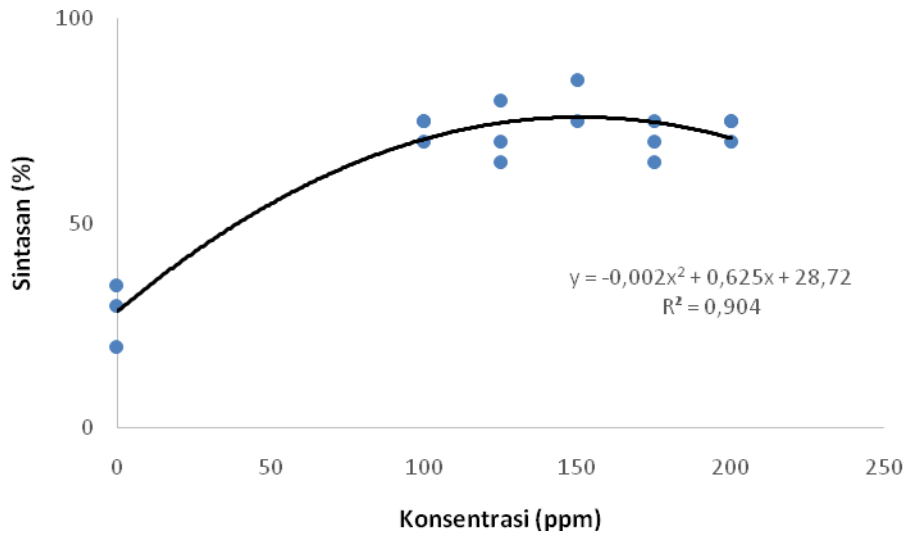
(125 ppm), D (150 ppm), E (175 ppm) dan F (200 ppm) tidak memberikan perbedaan yang nyata.

Ikan uji pada perlakuan E (175 ppm) dan F (200 ppm), walaupun konsentrasinya lebih tinggi, namun cenderung memiliki sintasan yang lebih rendah dibandingkan perlakuan C (125 ppm) dan D (200 ppm).

Berdasarkan hasil analisis regresi, hubungan antara konsentrasi daun kelor dan sintasan ikan lele sangkuriang yang terinfeksi *A. hydrophila* menunjukkan hubungan kuadrat dengan persamaan  $Y = -0,002x^2 + 0,6258x + 28,72$  dengan hubungan determinasi ( $R^2$ ) = 0,904 (Gambar 3) sehingga hubungan korelasi ( $R$ ) = 0,9508, artinya penggunaan ekstrak daun kelor memberikan pengaruh sebesar 95,08% terhadap sintasan ikan lele sangkuriang. Hasil nilai optimum konsentrasi pemberian ekstrak daun kelor pada pakan untuk meningkatkan tingkat sintasan ikan lele sangkuriang yang terinfeksi *A. hydrophila* didapatkan sebesar 153,95 ppm.



Gambar 2. Rata-rata sintasan ikan lele sangkuriang setelah diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Keterangan: Nilai yang diikuti dengan huruf sama tidak berbeda nyata



Gambar 3. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak daun kelor terhadap tingkat sintasan ikan lele sangkuriang setelah ujiantang

## Pembahasan

### Jumlah sel darah putih

Jumlah sel darah putih ikan lele sangkuriang setelah diberi perlakuan dengan ekstrak daun kelor selama 21 hari yang ditambahkan ke dalam pakan mengalami peningkatan, namun jumlah tersebut masih ada dalam kisaran normal (77.400 – 91.467 sel  $\text{mm}^{-3}$ ). Sebagaimana pendapat Lagler *et al.* (1977) bahwa jumlah sel darah putih pada ikan berkisar antara 20.000-150.000 sel  $\text{mm}^{-3}$ . Peningkatan sel darah putih merupakan respons untuk mengatasi maupun menghancurkan benda asing yang masuk ke dalam tubuh yang akan mengganggu atau merusak fungsi tubuh (Kataranovski *et al.* 2009).

Peningkatan jumlah sel darah putih pada perlakuan A (0 ppm) terjadi karena bertambahnya umur dan bobot ikan, ketika ikan dipelihara selama 21 hari. Sebagaimana pendapat Claver & Quaglia (2009) bahwa umur dan bobot ikan memengaruhi sistem darah ikan salah satunya dengan bertambahnya sel darah putih.

Ikan uji yang diberi ekstrak daun kelor (perlakuan B, C, D, E dan F) mengalami peningkatan jumlah sel darah putih lebih tinggi dibandingkan ikan uji yang tidak diberi daun kelor. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun kelor mampu menginduksi peningkatan jumlah sel darah putih, dengan perkataan lain ekstrak daun kelor memiliki aktifitas imunomodulator yang berperan membuat sistem imun lebih aktif dalam menjalankan fungsinya, menguatkan sistem imun tubuh. Sebagaimana hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Rhamadhan *et al.* (2015) nila (*Oreochromis niloticus* L.) sultana setelah diberi tanaman obat daun kecubung (*Datura metel* L.) yang ditambahkan ke dalam pakan mengalami peningkatan jumlah sel darah putih dari kisaran 23.533 – 24.200 sel  $\text{mm}^{-3}$  meningkat menjadi 67.600-78-334 sel  $\text{mm}^{-3}$ .

Senyawa aktif ekstrak daun kelor yang berperan sebagai imunostimulan yang dapat memicu ketahanan tubuh adalah flavonoid, saponin, vitamin A, B, C, E dan alkaloid. Menurut

Kasolo (2010) kandungan kimia pada daun kelor adalah vitamin (A, C, E, K, B1, B2, B3, B6), senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid. Menurut Mastan (2015) pada tumbuhan herbal senyawa yang berfungsi sebagai imunostimulan adalah vitamin C dan E. Menurut Hai (2015), flavonoid dan vitamin E dapat memicu imunostimulan. Menurut Shahbazi & Bolhassani (2016), salah satu kemampuan imunostimulan adalah dapat meningkatkan ketahanan tubuh ikan non spesifik yaitu dengan meningkatkan sel-sel fagosit. Sel-sel ini berperan melakukan proses fagositosis yaitu melakukan penghancuran terhadap benda-benda asing yang berasal dari luar tubuh ikan.

Saponin dalam jumlah normal berperan sebagai imunostimulan, yang akan bereaksi jika antigen masuk kedalam tubuh ikan (Hashemi & Davoodi 2012). Menurut Hai (2015), senyawa polisakarida, terpenoid, alkaloid, dan polifenol berperan sebagai agen imunostimulan untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh ikan. Sebagaimana hasil penelitian Kurnianingtyas *et al.* (2013) pemberian daun *Polycias obtusa* yang mengandung senyawa saponin, flavonoid, tanin dan alkaloid dapat meningkatkan sel darah putih dalam proses fagositosis pada ayam.

Mekanisme kerja imunostimulan pada ikan teleostei adalah terjadinya respons imunitas yang dibentuk oleh jaringan *limfoid* yang menyatu dengan *mieloid* atau disebut juga *limfomielioid*. Jaringan *limfomielioid* menghasilkan sel-sel darah dan respons imunitas baik seluler maupun humoral. Pada ikan teleostei jaringan limfomielioidnya adalah limfa, timus, dan ginjal depan. Pada ikan terdapat populasi sel B dan sel T, yang berperan dalam respons imunitas baik seluler maupun humoral (Levraud & Boudinot 2009). Sel T akan memproduksi *interferon* yang

mampu membangkitkan kembali sel makrofag, sehingga memfagosit bakteri, virus, dan partikel asing lainnya yang masuk ke dalam tubuh (Takahashi & Urbinati 2014).

Jumlah sel darah putih ikan uji pada perlakuan E (175 ppm) dan F (200 ppm) terjadi sedikit penurunan dibandingkan dengan perlakuan D (150 ppm), mungkin karena adanya saponin yang berlebihan pada konsentrasi tersebut. Sebagaimana menurut Hashemi & Davoodi (2012), saponin dalam jumlah yang melebihi batas normal akan berperan sebagai immunospresor, yaitu zat yang dapat menurunkan sistem imun.

Setelah diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*, ikan uji perlakuan A mengalami peningkatan jumlah sel darah putih yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa ikan uji masih dalam kondisi sakit akibat serangan bakteri *A. hydrophila*, yang terlihat dari gejala klinis yang lebih parah dibandingkan dengan perlakuan lainnya (Tabel 3). Sebagaimana pendapat Dwinanti *et al.* (2014), meningkatnya jumlah sel darah putih menunjukkan ikan dalam kondisi terinfeksi dan tubuh ikan mengantisipasi kondisi tersebut dengan memproduksi sel darah putih lebih banyak sebagai respons imunitas. Ikan uji pada perlakuan B (100 ppm), C (125 ppm), D (150 ppm), E (175 ppm) dan F (200 ppm) tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap peningkatan jumlah leukosit setelah diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Hal ini memperlihatkan bahwa bahan aktif imunostimulan yang terkandung dalam ekstrak daun kelor memberikan efek yang hampir sama terhadap jumlah sel darah putih. Namun demikian, jumlah sel darah putih pada perlakuan D (150 ppm) menghasilkan nilai terendah, yaitu 4,51%, yang menunjukkan bahwa bahan aktif yang terkandung

dung dalam konsentrasi 150 ppm bekerja lebih baik sebagai imunostimulan untuk melawan serangan bakteri *A. hydrophila*.

Sel darah putih bekerja melawan serangan patogen melalui proses fagositosis. Fagositosis merupakan suatu proses atau cara memakan bakteri atau benda asing (Owen *et al.* 2013). Setelah bakteri melekat pada permukaan makrofag maka makrofag membentuk sitoplasma kemudian bakteri terperangkap di dalam sitoplasma, yaitu pada vakuola fagositik intra sel. Dalam vakuola terdapat lisozim yang berperan untuk mencerna bakteri.

#### *Gejala klinis*

##### Kerusakan tubuh

Ikan uji pada semua perlakuan pada hari ke-1 setelah penginfeksi belum menunjukkan adanya kerusakan tubuh atau gejala klinis lainnya. Hal ini disebabkan bakteri pada tahap penempelan, belum masuk ke dalam peredaran darah. Pada hari ke-2 terjadinya bercak merah pada ikan uji perlakuan A, memperlihatkan bakteri sudah mulai masuk ke dalam peredaran darah dan pertahanan tubuh alamiahnya, yaitu sel darah putih tidak mampu untuk mempertahankan serangan bakteri tersebut, diperlihatkan adanya bercak merah di permukaan kulit. Sebagaimana menurut Pratama *et al.* (2017) timbulnya warna kemerahan pada permukaan tubuh ikan diakibatkan oleh aktivitas enzim hemolisin yang dihasilkan bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan target memecah sel-sel darah merah, sehingga sel keluar dari pembuluh darah dan menimbulkan warna kemerahan pada permukaan kulit. Ikan uji perlakuan B (100 ppm), C (125 ppm), dan D (150 ppm) tidak memperlihatkan timbulnya gejala klinis. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun kelor pada konsentrasi ter-

sebut dapat meningkatkan ketahanan tubuh ikan, yang tampak dari jumlah leukosit yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan A (0 ppm) (Tabel 3). Peningkatan kadar leukosit sebagai indikator peningkatan ketahanan tubuh untuk melawan serangan bakteri patogen. Kandungan flavonoid pada daun kelor berfungsi sebagai imunostimulan, mampu meningkatkan produksi Interleukin 2 yang terlibat dalam aktivasi dan proliferasi sel limfosit atau sel T (Dewi *et al.* 2013).

Perlakuan E (175 ppm) dan F (200 ppm) menunjukkan gejala klinis ringan berupa bercak merah dan perut membuncit. Gejala ini muncul karena pada konsentrasi tersebut kadar saponin lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Kondisi ini akan memengaruhi daya tahan tubuh ikan. Saponin dalam jumlah yang melebihi batas normal akan berperan sebagai immunosupresor, yaitu zat yang dapat menurunkan sistem imun (Francis *et al.* 2002).

##### Respons terhadap pakan

Ikan lele sangkuriang pada perlakuan A (0 ppm) tidak menunjukkan adanya respons terhadap pakan yang diberikan. Hal ini menunjukkan ikan dalam kondisi sakit akibat pertahanan alami tubuh tidak mampu melawan serangan *A. hydrophila*. Ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* akan menurun nafsu makannya (Kabata 1985).

Pada perlakuan B (100 ppm), C (125 ppm), D (150 ppm), E (175 ppm), dan F (200 ppm) ikan memiliki respons terhadap pakan yang lebih baik, yang berarti ikan dalam kondisi

sehat tidak terserang oleh bakteri *A. hydrophila*. Pertahanan alamiah tubuh ikan meningkat dengan pemberian ekstrak daun kelor, sehingga mampu melawan serangan bakteri tersebut.

#### Respon terhadap kejutan

Respons ikan uji pada perlakuan A (0 ppm) terhadap kejutan rendah. Sebagaimana halnya ikan yang tidak merespons pakan yang diberikan, bahwa ikan dalam kondisi sakit akibat serangan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Sistem kekebalan tubuh alamiah ikan tidak mampu melawan serangan bakteri tersebut. Ikan uji yang sistem kekebalan alamiah mengalami peningkatan dengan pemberian ekstrak daun kelor respon terhadap kejutan normal, bergerak lincah, terlihat jelas pada ikan uji perlakuan C (125 ppm) dan D (150 ppm).

#### Sintasan

Ikan uji perlakuan A (0 ppm) menunjukkan tingkat sintasan yang rendah dibandingkan dengan perlakuan B (100 ppm), C (125 ppm), D (150 ppm), E (175 ppm), dan F (200 ppm). Hal ini disebabkan oleh rata-rata jumlah sel darah putih pada perlakuan yang diberi ekstrak daun kelor lebih tinggi, sehingga pada saat diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* daya tahan tubuhnya lebih tinggi, terlihat dari gejala klinisnya yang lebih ringan (Tabel 3). Menurut Abbas *et al.* (2010) peningkatan jumlah sel darah putih atau leukosit merupakan indikator aktivitas sistem imun. Bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak daun kelor memiliki senyawa yang dapat menginduksi sistem imun. Senyawa tersebut antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid (Kasolo *et al.* 2010). Harikrishnan (2011) menyatakan bahwa senyawa yang dihasilkan oleh tanaman memberi pengaruh terhadap respons imun bawaan maupun adaptif untuk

mencegah dan mengendalikan penyakit ikan maupun kerang.

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun kelor yang diberikan, maka tingkat sintasan semakin meningkat; karena bahan aktif yang berfungsi sebagai immunostimulanpun semakin tinggi, yang terlihat dari peningkatan jumlah sel darah putih yang semakin tinggi. Peningkatan sel darah putih adalah indikator peningkatan ketahanan tubuh ikan terhadap serangan bakteri patogen. Di atas konsentrasi 150 ppm mengalami sedikit penurunan sintasan, sehingga sintasan tertinggi yaitu pada perlakuan D (150 ppm) sebesar 80,0%. Pada perlakuan E (175 ppm) dan F (200 ppm) walaupun konsentrasinya lebih tinggi namun menghasilkan sintasan ikan yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan C (125 ppm) dan D (150 ppm). Jumlah sel darah putih pada perlakuan E (175 ppm) dan F (200 ppm) sedikit lebih rendah yang mengakibatkan penurunan daya tahan tubuh dan sintasan ikan uji.

#### **Simpulan**

Ekstrak daun kelor yang dicampurkan ke dalam pakan efektif untuk menginduksi ketahanan tubuh lele sangkuriang terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. Konsentrasi 153,95 ppm merupakan konsentrasi optimum untuk meningkatkan ketahanan tubuh lele sangkuriang terhadap serangan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

#### **Daftar pustaka**

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. 2014. *Cellular and molecular immunology*. 8th Ed. Saunders Elsevier Philadelphia. 544 p.
- Anyanwu MU, Chah KF, Shoyinka VS. 2015. Evaluation of pathogenicity of motile *Aeromonas* species in African catfish. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2(3): 93-98.

- Bairwa MK, Jakhar JK, Satyanarayana Y, Reddy AD. 2012. Animal and plant originated immunostimulants used in aquaculture. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 2 (3): 397-400.
- Buchmann K. 2014. Evolution of innate immunity: clues from invertebrates via fish to mammals. *Frontiers in Immunology*, 23(5): 459.
- Claver JA, Quaglia AI. 2009. Comparative morphology, development, and function of blood cells in nonmammalian vertebrates. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 18(2): 87-97
- Dalmo RA, Bogwald J. 2008. IB-glucans as conductors of immune symphonies. *Fish and Shellfish Immunology*, 25 (4): 384-396.
- Dewi LK, Sri W, Rifai M. 2013. Pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap peningkatan Jumlah sel T CD<sup>4</sup> dan CD<sup>8</sup> pada timus mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Biotropika*, 1(1) : 24-26
- Dhama K, Saminathan M, Jacob SS, Singh M, Karthik K, Amarpal, Tiwari R, Sunkara LT, Malik YS, Singh RK. 2015. Effect of immunomodulation and immunomodulatory agents on health with some bioactive principles, modes of action and potent biomedical applications. *International Journal of Pharmacology*, 11(4): 253-90.
- Dwinanti SH, Sukenda Yuhana M, Lusiastuti AM. 2014. Toksisitas dan imunogenitas produk ekstraseluler *Streptococcus agalactiae* tipe non non hemolitik pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 2(1): 105-116.
- Effendie, M. 1997. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusatama. Yogyakarta .163 hlm.
- Francis G, Zohar K, Harinder PSN, Klaus B. 2002. The Biological action the saponins in animal system. *British Journal of nutrition*, 88(6): 587 – 605.
- Gaspersz V. 1995. *Metode Perancangan Percobaan untuk Ilmu-ilmu Pertanian dan Ilmu-ilmu Teknik biologi*. Penerbit CV. Armico Bandung. 472 hlm.
- Gopalakrishnan L, Doriya K, Kumar DS. 2016. *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food Science and Human Wellness*, 3(2): 49-56.
- Hai NV. 2015. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture*, 446: 88-96.
- Harikrishnan R, Balasundaram C, Heo MS. 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317: 1-15.
- Hashemi SR, Davoodi H, 2012. Herbal plants as new immuno-stimulator in poultry industry: A review.. *Asian Journal of Animal and Veterinery Advances*, 7(2): 105-116.
- Hastuti S, Subandiyono. 2014. Performa produksi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*, burch) yang dipelihara dengan teknologi biofloc. *Jurnal Saintek Perikanan*, 10(1): 37-42.
- Ikeogu FC, Nsofor CI, Ikpeze OO. 2010. A review of risk factors for fish diseases in aquatic environments. *Proceedings of the 6th National Conference of the Society for Occupational Safety and Environmental Health (SOSEH)*. Princess Alexandra Auditorium, University of Nigeria, Nsukka, Enugu State, Nigeria. 199-204.
- Jayaraman S, Manoharan MS, Illanchezian S. 2008. *In-vitro* antimicrobial and antitumor activities of *Stevia rebaudiana* (Asteraceae) Leaf Extracts. *Tropical Journal of pharmaceutical Research*, 7(4): 1143-1149
- Kabata Z.1985. *Parasites and Diseases of Fish Cultured in the Tropics*. Taylor and Francis London Philadelphia. 318 p
- Kataranovski MV, Radovic DL, Zolotarevski LD, Popov AD, Kataranovski DS. 2009. Immune-related health-relevant changes in natural populations of Norway rat (*Rattus Norvegicus* Berkenhout, 1769): White Blood Cell Counts, Leukocyte Activity, and Peripheral Organ Infiltration. *Archives of Biological Science*, 61(2): 213-223.
- Kasolo JN, Bimenya GS, Ojok L, Ochieng J, Ogwal-Okeng JW. 2010. Phytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves Ugandan rural communities. *Journal of*



- Medicinal Plants Research*, 4(9): 753-757.
- Kurnianingtyas E, Djati S, Rifa'i M. 2013. Aktivitas imunomodulator *Polyscias obtusa* terhadap sistem imunitas pada bone marrow broiler setelah pemberian *Salmonella typhimurium*. *The Journal of Experimental Life Science*, 3(1) : 24-30.
- Labh SN, Shakya SR. 2014. Application of immunostimulants as an alternative to vaccines for health management in aquaculture. *International Journal of Fisheries in Aquatic Study*, 2(1): 153-6.
- Lagler KF, Bardach JE, Miller RR, Pasino DRM. 1977. *Ichthyology*. John Willey and Sons Inc. New York. 506 p.
- Levraud JP, Boudinot P. 2009. The immune system of teleost fish. *International Journal of Medical Sciences*, 25(4): 405-411.
- Maqsood S, Singh P, Samoon M.H. Munir K. 2011. Emerging role of immunostimulants in combating the disease outbreak in aquaculture. *International Aquatic Research*, 3(3): 147-163.
- Mastan SA. 2015. Use of immunostimulants in aquaculture disease management. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2(4): 277-280
- Mohapatra S, Chakraborty T, Kumar V, Deboeck G, Mohanta KN. 2012 Review Article Aquaculture and stress management: A review of probiotic intervention. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 97(3): 405-430
- Nabib R, Pasaribu FH. 1989. *Patologi dan Penyakit Ikan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 158 hlm.
- Novriadi R, Agustatik S, Hendrianto R, Pramunanggit A, Wibowo H. 2014. *Penyakit infeksi pada budidaya ikan laut di Indonesia*. Balai Perikanan Budidaya Laut Batam. Batam. 38 hlm
- Owen JA, Punt J, Stranford S A. 2013. *Kuby Immunology*. International Edition. W. H. Freeman and Company. New York. 692 p
- Pratama RC, Rosidah, Sriati, Rustikawati I. 2017. Efektivitas ekstrak biji rambutan dalam mengobati benih ikan mas yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 8(1): 130-138.
- Rhamadhan I, Rosidah, Andriani Y. 2015. Efektivitas penambahan ekstrak daun kecubung (*Datura metel* L) pada pakan untuk pencegahan Streptococcus pada benih ikan nila sultana, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 15(3): 245 -255.
- Sajid M, Prabjeet S, Munir HS, Khusheeba M. 2011. Emerging role of immunostimulants in combating the disease outbreak in aquaculture. *International Aquatic Research*, 22(3): 147-163
- Shahbazi S, Bolhassani A. 2016. Mini review immunostimulants: Types and functions. *Journal Medical Microbiology and Infection Diseases*, 4(3-4): 45-51.
- Takahashi JDB, Urbinati EC. 2014. Fish immunology. The modification and manipulation of the innate immune system: Brazilian Studies. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 86(3): 1483-1495.