



PENGARUH EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) TERHADAP PROFIL DARAH DAN KELULUSHIDUPAN IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Intan Eska Amalia Syahida¹, Sarjito^{1*}, Slamet Budi Prayitno¹, Angela Mariana L²

1. Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto Tembalang-Semarang
2. Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar, Bogor
Jl. Sempur No. 1, Bogor, Jawa Barat

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap profil darah yang meliputi total eritrosit, total leukosit, diferensial leukosit (DL), indeks fagositosis (IF) dan tingkat kelulushidupan ikan mas yang diinfeksi *A. hydrophila* serta mengetahui konsentrasi terbaik bahan ini sebagai imunostimulan maupun dalam pengobatan ikan mas yang terserang *A. hydrophila*. Penelitian ini dilakukan di Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPPBAT), Bogor. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan dalam penelitian adalah penambahan berbagai dosis ekstrak daun sirih merah pada pakan ikan yaitu 0 gr/kg pakan (perlakuan A), 5 gr/kg pakan (perlakuan B), 10 gr/kg pakan (perlakuan C) dan 15 gr/kg pakan (perlakuan D). Perlakuan diberikan selama 21 hari. Hasil penelitian diperoleh bahwa penambahan berbagai dosis ekstrak daun sirih merah (*P. crocatum*) dalam pakan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap total eritrosit ($0,65 \times 10^6$ sel/mm³), persentase limfosit (72 %) dan indeks fagositosis (49%), berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap total leukosit ($2,6 \times 10^4$ sel/mm³) dan persentase monosit (25%), akan tetapi tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap persentase netrofil (2%) dan kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) pasca uji tantang *A. hydrophila* (40%). Hasil penelitian menunjukkan pula bahwa dosis terbaik penambahan ekstrak daun sirih merah pada pakan sebagai imunostimulan adalah 5 g/kg pakan.

Kata kunci : *Cyprinus carpio*, Sirih Merah, *Aeromonas hydrophilla*, Imunostimulan

ABSTRACT

The study aimed was to know the influence of *Piper crocatum* extract on the blood profile included total erythrocyte, total leukocyte, differential leukocyte (DL), phagocytosis indeks (IF) and survival rate of common carp (*Cyprinus carpio*) infected by *Aeromonas hydrophila* and the best concentration of *P. crocatum* for immunostimulatory common carp of infected *A. hydrophila*. The research was conducted at Research and Development of Freshwater Aquaculture, Bogor. The methods used in this research is experimental methods by using random design complete (RAL) with 4 treatments and three replicates. The research was conducted at Research and Development of Freshwater Aquaculture, Bogor. The treatments of different addition of *P. crocatum* extract on fish feed, 0 gr/kg feed (treatment A), 5 gr/kg feed (treatment B), 10 gr/kg feed (treatment C), 15 gr/kg feed (treatment D). The treatment was given 21 days. The research results obtained additional *P. crocatum* extract significantly different effect ($P < 0,05$) on total erythrocytes ($0,65 \times 10^6$ sel/mm³), percentage of limfosit (72 %) and indeks fagositosis (49%), highly significant effect ($P < 0,01$) on total leukocyte ($2,6 \times 10^4$ sel/mm³) and percentage of monosit (25%), not significantly different ($P > 0,05$) on percentage of netrofil (2%) and survival rate of common carp (*C. carpio*) infected by *A. hydrophila* (40%), the best concentration of *P. crocatum* on feed for immunostimulant common carp of infected *A. hydrophila*, the result showed the best dose 5 g/kg feed

Key word : *Cyprinus carpio*, *Piper crocatum*, *Aeromonas hydrphilla*, Imunostimulant

*corresponding author (Email: sarjito_msdp@yahoo.com)



PENDAHULUAN

Ikan mas (*Cyprinus carpio*) merupakan jenis ikan air tawar yang banyak dibudidayakan di Jawa Barat. Pada proses budidaya, permasalahan yang sering dihadapi adalah kematian ikan akibat serangan penyakit (Khairuman dkk., 2008). Penyakit yang sering menyerang ikan mas (*C. Carpio*) adalah *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) atau yang dikenal dengan penyakit bercak merah. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* (Agustina, 2007).

Umumnya mengatasi serangan MAS pada ikan diobati dengan menggunakan antibiotik. Suhermanto dkk., (2011) mengatakan bahwa penggunaan obat-obatan berupa antibiotik dapat menimbulkan efek resisten terhadap bakteri dan dampak negatif berupa pencemaran lingkungan. Untuk itu perlu adanya alternatif pengobatan yang lebih ramah lingkungan. Upaya yang dapat dilakukan adalah meningkatkan daya tahan tubuh ikan dengan pemberian imunostimulan. (Andayani, 2009). Imunostimulan merupakan zat kimia, obat-obatan, yang bekerja meningkatkan respon imun ikan yang berinteraksi secara langsung dengan sel sistem imun (Suhermanto dkk., 2011).

Sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan salah satu tanaman obat alternatif yang telah banyak digunakan masyarakat. Hasil penelitian Balitro (2012) diperoleh bahwa daun sirih merah mengandung senyawa fitokimia antara lain : alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid sebagai senyawa aktif. Juliantina (2009) dan Wardani (2011) melaporkan bahwa ekstrak daun sirih merah (*P. crocatum*) berfungsi sebagai antibakterial gram positif dan gram negatif.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui dosis terbaik penggunaan ekstrak daun sirih merah (*P. crocatum*) dalam pakan terhadap profil darah (total eritrosit, total leukosit, diferensial leukosit, indeks fagositosis) dan tingkat kelulushidupan ikan mas yang diinfeksi *A. hydrophila*.

Kegiatan penelitian ini dilakukan pada bulan Desember - Februari 2013 di Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPPBAT) Bogor. Proses ekstraksi daun sirih merah dilakukan di Laboratorium Obat Alam Universitas Diponegoro pada bulan November 2012.

METODOLOGI PENELITIAN

Ikan Uji

Ikan uji berupa ikan mas (*C. carpio*) ukuran 8-10 cm sebanyak 120 ekor yang diperoleh dari Kp. Situ Daun Ciampea, Bogor. Ikan uji di aklimatisasi selama 7 hari pada 3 buah bak fiber kemudian dilakukan penyortiran ukuran dan di aklimatisasi kembali selama 7 hari dengan kepadatan 10 ekor per 40 liter pada 12 box plastik.

Bakteri Uji

Bakteri yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Pathology Balai Penelitian dan Pengembangan Air Tawar (BPPBAT), Bogor, meliputi bakteri *A. hydrophila* untuk uji tantang pada bagian otot punggung (*intra muscular*) ikan mas dengan kepadatan bakteri 10^8 cfu/ml sebanyak 0,1 ml per ekor (Widiani, 2011). Serta bakteri *Staphylococcus aureus* untuk perhitungan indeks fagositosis.

Daun Sirih Merah

Daun sirih merah (*P. crocatum*) diperoleh dari Mejasem Tegal. Pembuatan ekstrak daun sirih merah menggunakan metode *soxhlet* dan *rotary evaporator*.

Pakan Uji

Pakan yang digunakan adalah pakan pellet komersil. Penambahan ekstrak pada pakan mengacu pada penelitian Setyati dkk., (2007), bahan perlakuan diekstrak dan dicampurkan pada pakan kemudian ditambahkan putih telur sebagai binder. Frekuensi pemberian pakan dilakukan 3 kali sehari, yaitu pagi, siang dan sore selama 21 hari.



Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah dilakukan setiap 7 hari selama pemberian pakan uji dan 4 hari pasca ujiantang. Pengambilan darah menggunakan spuit suntik 1 ml yang telah dibasahi dengan larutan EDTA 10%. Variabel yang diamati meliputi total eritrosit, total leukosit, diferensial leukosit, indeks fagositosis dan kelulushidupan.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Perlakuan berupa penambahan berbagai dosis ekstrak daun sirih merah (*P. crocatum*) pada pakan diantaranya 0 g/kg pakan (perlakuan A), 5 g/kg pakan (perlakuan B), 10 g/kg pakan (perlakuan C) dan 15 g/kg pakan (perlakuan D). Penentuan dosis ekstrak sirih merah mengacu pada penelitian Setyati dkk., (2007). Perlakuan berupa penambahan berbagai dosis ekstrak daun sirih merah (*P. crocatum*) pada pakan diantaranya 0 gr/kg pakan (perlakuan A), 5 gr/kg pakan (perlakuan B), 10 gr/kg pakan (perlakuan C) dan 15 gr/kg pakan (perlakuan D)

Total Eritrosit

Penghitungan jumlah eritrosit mengacu pada metode Blaxhall dan Daisley (1973) yaitu : $\text{Jumlah eritrosit} = \text{Jumlah eritrosit terhitung} \times 10^4 \text{ sel/mm}^3$

Total Leukosit

Penghitungan jumlah eritrosit mengacu pada metode Blaxhall dan Daisley (1973) yaitu :

$$\text{Jumlah leukosit} = \text{Jumlah sel terhitung} \times 50 \text{ sel/mm}^3$$

Diferensial Leukosit

Pengamatan diferensial leukosit mengacu pada Anderson dan Siwicki (1993). Jenis leukosit yang diamati berupa limfosit, monosit dan netrofil. Sel tersebut dihitung dalam 100 sel leukosit menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x.

Indeks Fagositosis

Penghitungan indeks fagositosis mengacu pada Anderson dan Siwicki (1993). Sel yang menunjukkan aktivitas fagositosis dihitung dengan menggunakan mikroskop perbesaran 1000x.

Kelulushidupan

Kelulushidupan ikan dihitung berdasarkan jumlah persentase ikan yang hidup pada akhir pemeliharaan selama 4 hari pascainfeksi. Menurut Effendi (1979), data kelangsungan hidup diukur dengan

$$\text{menggunakan rumus: } SR = \frac{\text{Nt}}{\text{No}} \times 100 \%$$

Keterangan :

SR = Kelulushidupan (%)

Nt = Jumlah ikan mas pada akhir pengamatan pasca ujiantang

No = Jumlah ikan mas pada awal pengamatan pasca ujiantang.



HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Total eritrosit

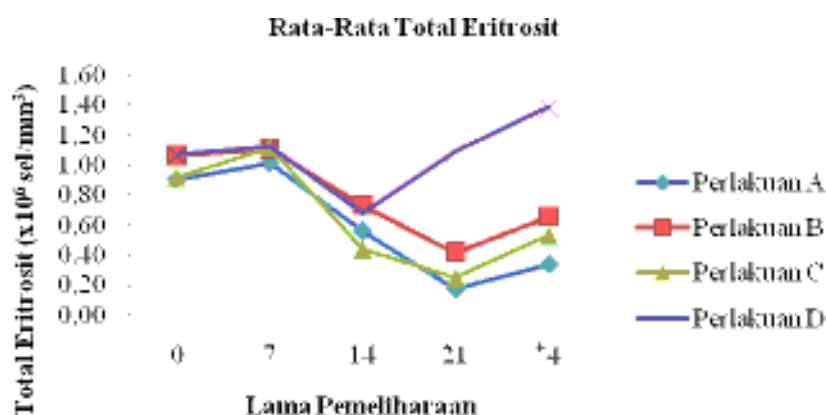
Eritrosit merupakan jumlah sel darah yang paling banyak pada ikan. Pengamatan total eritrosit ikan mas dilakukan sebanyak 5

kali. Nilai rata-rata total eritrosit ikan mas selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Nilai Rata-Rata Total Eritrosit ($\times 10^6$ sel/mm³) Ikan Mas

Perlakuan	Lama Pemeliharaan				
	0	7	14	21	Pasca Uji Tantang
A	0,91±0.11	1,02±0.04	0,56±0.05 ^a	0,17±0.08 ^{ab}	0,34±0,02 ^{ab}
B	1,06±0.10	1,11±0.02	0,73±0.05 ^b	0,42±0.09 ^a	0,65±0,13 ^{ab}
C	0,92±0.09	1,12±0.04	0,44±0.12 ^b	0,25±0.03 ^{ab}	0,53±0,10 ^{ab}
D	1,07±0.12	1,12±0.08	0,68±0.05 ^{ab}	1,09±0.45 ^a	1,39±0,51 ^b

Keterangan : Huruf dengan *superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan antar perlakuan, 0 gr/kg pakan (A), 5 gr/kg pakan (B), 10 gr/kg pakan (C), 15 gr/kg pakan (D).



Gambar 1. Grafik Rata-Rata Total Eritrosit Ikan Mas

Tabel 1, menunjukkan bahwa kisaran eritrosit pada penelitian ini adalah perlakuan A ($0,17-1,02 \times 10^6$ sel/mm³), perlakuan B ($0,42-1,11 \times 10^6$ sel/mm³), perlakuan C ($0,25-1,12 \times 10^6$ sel/mm³), dan perlakuan D merupakan kisaran tertinggi ($0,68-1,39 \times 10^6$ sel/mm³). Nilai kisaran tersebut dalam kisaran normal. Roberts (2001) menyatakan bahwa kisaran normal jumlah eritrosit pada ikan adalah $1,05 \times 10^6$ sel/mm³. Gambar 1, juga menunjukkan bahwa total eritrosit pada perlakuan A, B dan C meningkat setelah pemberian pakan uji selama 7 hari, tetapi cenderung menurun hingga pemberian selama 21 hari, kemudian meningkat kembali hingga hari ke-4 pasca ujiantang. Pada perlakuan D, meningkat setelah pemberian pakan uji selama 7 hari, tetapi menurun setelah 14 hari, kemudian meningkat kembali hingga hari ke-4 pasca ujiantang.

Terjadinya peningkatan eritrosit setelah 7 hari pemberian pakan uji pada perlakuan B, C dan D diduga karena ikan mengalami stres akibat pemberian perlakuan pakan uji. Irianto (2003), mengatakan adanya tindakan

pengobatan atau pencegahan penyakit dapat menyebabkan ikan mengalami stress.

Penurunan total eritrosit yang terjadi setelah 7 hari pemberian pakan uji pada tiap perlakuan, diduga karena adanya serangan dari bakteri *A. hydrophila* pada media budidaya. Irianto (2003), mengatakan bakteri *A. hydrophila* bersifat *pathogen oportunistik*, pada keadaan yang lingkungan yang baik tidak akan menimbulkan infeksi pada tubuh ikan, sedangkan apabila daya tahan tubuh ikan menurun, mengalami stress serta lingkungan yang buruk akan menimbulkan infeksi hingga kematian. Hal ini ditunjang oleh hasil uji SPF (*Spesific Pathogen Free*) yang menunjukkan dari 10 sampel ikan uji (ikan mas) yang diamati, sebanyak 4 ekor ikan mas sudah terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Haditomo (2011), dalam penelitiannya berpendapat bahwa terjadi kerusakan organ tubuh dan organ penghasil darah menyebabkan terjadinya penurunan eritrosit akibat serangan bakteri *A. hydrophila*. Peningkatan total eritrosit 4 hari pasca ujiantang, diduga karena serangan bakteri *A. hydrophila*. Haditomo



(2011), dalam penelitiannya berpendapat bahwa ikan yang terinfeksi *pathogen* akan berupaya untuk memproduksi sel darah lebih banyak untuk menggantikan eritrosit yang lisis akibat infeksi *A. hydrophila*. Hal ini ditunjang oleh pendapat Affandi & Tang (2002), kondisi lingkungan yang buruk bagi kehidupan ikan serta ditunjang oleh adanya mikroorganisme patogen, akan menyebabkan terjadinya infeksi pada ikan. Ikan akan memberikan reaksi dalam tubuhnya untuk melawan benda asing.

Hasil analisa ragam total eritrosit menunjukkan bahwa pemberian berbagai dosis ekstrak daun sirih merah dalam pakan tidak memberikan pengaruh yang nyata

b. Total leukosit

Leukosit memiliki bermacam-macam fungsi, erat kaitannya untuk menghilangkan benda asing (termasuk mikroorganisme patogen) serta sebagai system pertahanan

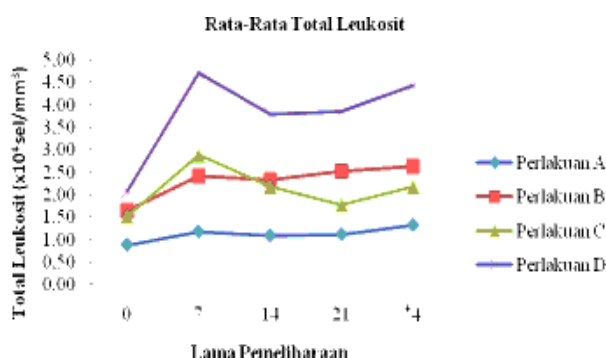
($P > 0,05$) setelah pemberian 7 hari tetapi memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap total eritrosit setelah pemberian 14 hari dan hari ke-4 pasca ujiantang. Hal ini diduga berkaitan dengan adanya kandungan flavonoid yang ada pada sirih merah (*P. crotaicum*) yang mampu mengurangi terjadinya infeksi *A. hydrophila* sehingga jumlah eritrosit dapat meningkat. Wahjuningrum dkk. (2008), mengatakan bahwa flavonoid memiliki aktivitas antiradang dan antibakteri sehingga dapat menghambat darah yang keluar dari pembuluh dan menghambat aktivitas bakteri dalam memproduksi toksin.

tubuh ikan. Nilai rata-rata total leukosit ikan mas selama penelitian tersaji dalam Tabel 2 dan Gambar 2.

Tabel 2. Nilai Rata-Rata Total Leukosit ($\times 10^4$ sel/ mm^3) Ikan Mas

Perlakuan	Lama Pemeliharaan				Pasca Uji Tantang
	0	7	14	21	
A	0,88 \pm 0,126	1,18 \pm 0,20	1,1 \pm 0,32	1,11 \pm 0,17	1,7 \pm 0,1
B	1,65 \pm 0,26	2,41 \pm 0,88 ^{ad}	2,33 \pm 0,20 ^{ad}	2,51 \pm 0,34 ^{acd}	2,6 \pm 0,4 ^{ad}
C	1,51 \pm 0,252	2,83 \pm 0,88 ^{ad}	2,1 \pm 0,57 ^{ad}	1,78 \pm 0,12 ^{ad}	2,2 \pm 0,4 ^a
D	1,51 \pm 0,252	2,83 \pm 0,88 ^a	2,1 \pm 0,57 ^a	1,78 \pm 0,12 ^a	2,2 \pm 0,4 ^a

Keterangan : Huruf dengan *superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan antar perlakuan, 0 gr/kg pakan (A), 5 gr/kg pakan (B), 10 gr/kg pakan (C), 15 gr/kg pakan (D).



Gambar 2. Grafik Rata-Rata Total Leukosit Ikan Mas

Tabel 2, menunjukkan bahwa total leukosit pada penelitian ini adalah perlakuan A ($0,88-1,7 \times 10^4$ sel/ mm^3), perlakuan B ($1,65-2,6 \times 10^4$ sel/ mm^3), perlakuan C ($1,51-2,83 \times 10^4$ sel/ mm^3), perlakuan D ($1,51-2,83 \times 10^4$ sel/ mm^3). Kisaran total leukosit pada penelitian ini masih dalam kisaran normal. Menurut Vonti (2008), kisaran normal leukosit ikan mas

adalah 20.000 sel/ mm^3 - 150.000 sel/ mm^3 . Gambar 2 juga menunjukkan bahwa total leukosit setelah pemberian pakan uji selama 7 hari mengalami peningkatan, kemudian cenderung meningkat sampai 21 hari tetapi pada perlakuan A dan perlakuan C cenderung menurun, meningkat kembali pada 4 hari pasca ujiantang. Peningkatan leukosit pada 7 hari setelah pemberian pakan



uji diduga ikan mengalami stress. Anderson & Siwicki (1993), berpendapat peningkatan total leukosit di awal merupakan tanda adanya fase awal infeksi, stres, ataupun leukemia.

Penurunan pada perlakuan A dan perlakuan C setelah 7 hari pemberian pakan uji, diduga karena serangan *A. hydrophila* yang terdapat pada media budidaya. Haditomo (2011), dalam penelitiannya berpendapat bahwa penurunan leukosit menandakan leukosit belum mampu mengatasi infeksi serangan *A. hydrophila* dalam darah. Peningkatan leukosit pasca ujiantang diduga berkaitan dengan adanya flavonoid yang sudah mampu menstimulasi produksi leukosit untuk pertahanan tubuh ikan mas dari infeksi yang akan melawan bakteri *A. hydrophila*.

Anderson (1993), menyatakan bahwa leukosit merupakan salah satu komponen darah yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik yang akan memfagosit bakteri

c. Diferensial leukosit

Pengamatan diferensial leukosit dilakukan dengan menghitung persentase jenis-jenis leukosit yaitu limfosit, monosit, dan neutrofil. Nilai diferensial leukosit yang

melalui proses fagositosis. Alamanda dkk., (2007) juga menyatakan peningkatan total leukosit mengindikasikan adanya respon perlawanan tubuh terhadap antigen penyebab penyakit.

Hasil analisa ragam total leukosit menunjukkan bahwa pemberian berbagai dosis ekstrak daun sirih merah berpengaruh sangat nyata terhadap total leukosit ($P < 0,01$) sampai hari ke-4 pasca ujiantang. Hal tersebut menunjukkan bahwa bahan aktif terutama flavonoid dalam ekstrak daun sirih merah (*P. crocatum*) mampu berperan dalam menstimulasi leukosit sebagai pertahanan non spesifik sehingga bahan aktif tersebut dapat berfungsi sebagai immunostimulan. Wahjuningrum dkk. (2008), menyatakan peningkatan total leukosit menunjukkan bahwa flavonoid dapat meningkatkan produksi leukosit. Flavonoid juga memacu sistem imun karena leukosit sebagai pemakan benda asing lebih cepat diaktifkan.

diambil merupakan rata-rata proporsi tiga jenis sel leukosit yaitu limfosit, monosit, dan neutrofil.

c.1. Persentase limfosit

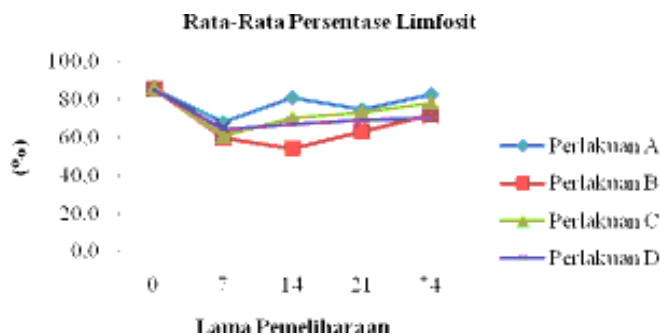
Pengamatan persentase limfosit dilakukan pada hari ke-0, hari ke-7, hari ke-14, hari ke-21 selama perlakuan dan hari ke-4 pasca ujiantang. Hasil pengamatan

persentase limfosit ikan mas selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 3.

Tabel 3. Nilai Rata-Rata Persentase Limfosit Ikan Mas

Perlakuan	Lama Pemeliharaan				
	0	7	14	21	Pasca Uji Tantang
A	86±7,8	68±2	81±4,58 ^{bc}	74±8,62	82±11,15
B	85±8,5	59±1,1	54±6,02 ^a	63±3,51	72±6,55
C	86±6,0	61±6,08	72±9,16 ^c	73±7,09	78±7,02
D	85±7,09	64±2,5	67±7,64 ^{ab}	69±4,5	70±9,60

Keterangan : Huruf dengan *superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan antar perlakuan, 0 gr/kg pakan (A), 5 gr/kg pakan (B), 10 gr/kg pakan (C), 15 gr/kg pakan (D).



Gambar 3. Grafik Rata-Rata Persentase Limfosit Ikan Mas



Tabel 3, menunjukkan bahwa kisaran persentase limfosit selama penelitian dalam kisaran normal yaitu perlakuan A (68-86%), perlakuan B (54-85%), perlakuan C (61-86%), perlakuan D (64-85%). Affandi & Tang (2002) melaporkan bahwa persentase limfosit pada ikan berkisar antara 71.12-82.88% dari total leukosit. Suhermanto dkk. (2011), menyatakan jumlah sel limfosit yang terinfeksi *hemorrhagic septicemia* adalah 58% dari total leukosit.

Gambar 3 juga memperlihatkan persentase limfosit menurun setelah pemberian pakan uji selama 7 hari pada semua perlakuan, tetapi ada kecenderungan naik selama 14 hari pada perlakuan A, C dan D. Setelah pemberian pakan uji selama 21 hari hingga 4 hari pasca uji tantang cenderung meningkat.

Peningkatan nilai tersebut diduga adanya benda asing berupa bakteri *A. hydrophila* yang menyebabkan meningkatnya produksi

antibodi setelah 21 hari pemberian pakan uji. Hal ini sesuai dengan pendapat Vonti (2008) bahwa setelah 2-3 hari injeksi bakteri, jumlah limfosit meningkat dan meningkatkan produksi antibodi.

Adanya daun sirih merah setelah pemberian 14 hari mampu meningkatkan produksi limfosit. Hasil ini diperkuat pada hasil analisa ragam persentase limfosit ikan mas yang menunjukkan bahwa pemberian berbagai dosis ekstrak daun sirih merah berpengaruh nyata ($P < 0,05$) pada pemberian 14 hari dan tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) pada pemberian 7 hari, 21 hari dan 4 hari pasca uji tantang. Wahjuningrum dkk. (2008), mengatakan kandungan flavonoid dari ekstrak daun sirih merah (*P. crocatum*) yang dapat meningkatkan produksi leukosit. Moyle dan Cech (1988), menyatakan bahwa limfosit berfungsi sebagai penghasil antibodi untuk kekebalan tubuh dari gangguan penyakit.

c.2. Persentase monosit

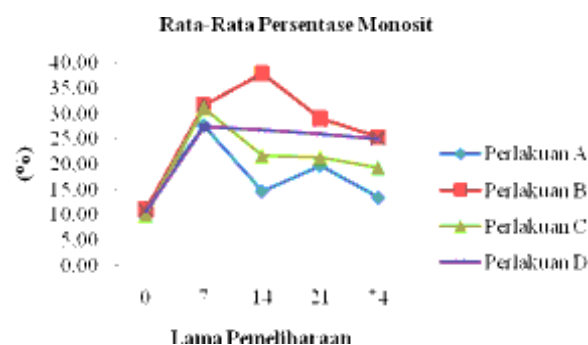
Pengamatan persentase monosit dilakukan pada hari ke-0, hari ke-7, hari ke-14, hari ke-21 selama perlakuan dan hari ke-4 pasca uji tantang. Hasil pengamatan

persentase monosit ikan mas selama penelitian tersaji dalam Tabel 4 dan Gambar 4.

Tabel 4. Nilai Rata-Rata Persentase Monosit Ikan Mas

Perlakuan	Lama Pemeliharaan				
	0	7	14	21	Pasca Uji Tantang
A	11±6,43	27±3,51	14±5,03 ^{ab}	19±4,16	13±7,57
B	11±6,93	31±1,15	38±1,73 ^b	29±1,73	25±6,11
C	10±5	31±2	21±7,50 ^{ab}	21±7,09	19±7,51
D	10±7,02	27±2,51	26±6,51 ^{ab}	26±3,61	25±9,17

Keterangan : Huruf dengan *superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan antar perlakuan, 0 gr/kg pakan (A), 5 gr/kg pakan (B), 10 gr/kg pakan (C), 15 gr/kg pakan (D).



Gambar 4. Grafik Rata-Rata Persentase Monosit

Tabel 4, menunjukkan bahwa persentase monosit pada setiap perlakuan adalah perlakuan A (13-27%), perlakuan B (11-38%), perlakuan C (10-31%), perlakuan D

(10-27%). Persentase monosit ini masih dalam kisaran normal, hal ini ditunjang oleh Yulawati (2010), bahwa persentase monosit



ikan normal berkisar antara 0,1-3% dari total leukosit.

Gambar 4 juga memperlihatkan persentase monosit cenderung menurun setelah pemberian pakan uji selama 7 hari, tetapi meningkat kembali setelah 21 hari dan menurun kembali selama 4 hari pasca uji tantang. Hal ini diduga monosit meninggalkan pembuluh darah menuju daerah yang terinfeksi pada 4 hari pasca uji tantang. Hal ini ditunjang oleh pendapat Fujaya (2004), bahwa monosit meninggalkan pembuluh darah menuju daerah yang terinfeksi dan memfagosit bakteri karena monosit memiliki kemampuan memfagosit lebih besar dari pada netrofil. Moyle dan Cech (1988) menyatakan bahwa monosit berfungsi sebagai fagosit terhadap benda-benda asing, termasuk agen penyakit *A. hydrophila*.

c.3. Persentase netrofil

Pengamatan persentase netrofil dilakukan pada hari ke-0, hari ke-7, hari ke-14, hari ke-21 selama perlakuan dan hari ke-4 pasca uji tantang. Hasil pengamatan

Hasil analisa ragam persentase monosit menunjukkan bahwa pemberian berbagai dosis ekstrak daun sirih merah memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) pada pemberian 14 hari dan tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) pada pemberian 7 hari, 21 hari dan 4 hari pasca uji tantang. Hal ini diduga karena kandungan flavonoid pada sirih merah yang mampu menstimulasi produksi leukosit, mulai mampu berfungsi meningkatkan persentase monosit dalam leukosit ikan mas setelah 14 hari pemberian pakan uji.

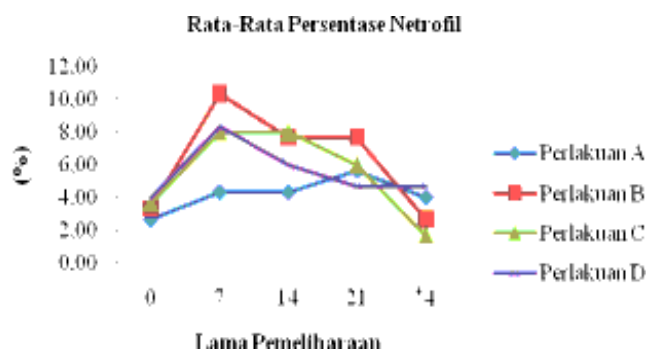
Sirih merah (*P. crotacum*) mengandung flavonoid (Juliantina dkk., 2009) dan mampu meningkatkan produksi leukosit (Wahjuningrum dkk., 2008), serta melalui aktivitas fagositosis yang dilakukan oleh monosit yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh (Suryati, 2010)

persentase netrofil ikan mas selama penelitian tersaji dalam Tabel 5 dan Gambar 5.

Tabel 5. Nilai Rata-Rata Persentase Netrofil Ikan Mas

Perlakuan	Lama Pemeliharaan				Pasca Uji Tantang
	0	7	14	21	
A	2±2,08	4±1,52	4±0,57	5±5,68	4±3,6
B	3±2,08	10±2,51	7±6,4	7±5,03	2±0,57
C	3±1,15	8±4,58	8±1,73	6±2	1±0,57
D	4±1,73	8±2,51	6±2	4±1,15	4±0,57

Keterangan : Huruf dengan *superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan antar perlakuan, 0 gr/kg pakan (A), 5 gr/kg pakan (B), 10 gr/kg pakan (C), 15 gr/kg pakan (D).



Gambar 5. Rata-Rata Persentase Netrofil

Tabel 5, menunjukkan bahwa kisaran persentase netrofil selama penelitian masih dalam kisaran normal yaitu perlakuan A (2-3%), perlakuan b (2-10 %), perlakuan C (1-8%), perlakuan D (4-8%). Hal ini sesuai dengan pendapat Yuliawati (2010), bahwa

persentase neutrofil dalam populasi leukosit ikan normal berkisar antara 6-8% dari total leukosit.

Gambar 5 menunjukkan bahwa persentase netrofil meningkat setelah pemberian pakan uji selama 7 hari, tetapi



cenderung menurun hingga hari ke-4 pasca ujiantang. Tetapi hasil analisa ragam persentase netrofil sampai hari ke-4 pasca ujiantang menunjukkan bahwa pemberian berbagai dosis ekstrak daun sirih merah tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$). Hal ini diduga flavonoid pada daun sirih merah yang belum mampu meningkatkan persentase netrofil setelah 7 hari pemberian pakan uji. Peningkatan persentase netrofil

menunjukkan adanya peningkatan sistem imun (Alamanda dkk., 2007). Penurunan persentase netrofil sampai hari ke-4 pasca ujiantang diduga netrofil menuju ke tempat terjadinya infeksi. Hal ini diperkuat pendapat Sukenda (2008), bahwa dalam tubuh ikan telah terbentuk sistem pertahanan tubuh sehingga saat terjadi infeksi, netrofil menuju tempat terjadinya infeksi.

d. Indeks fagositosis

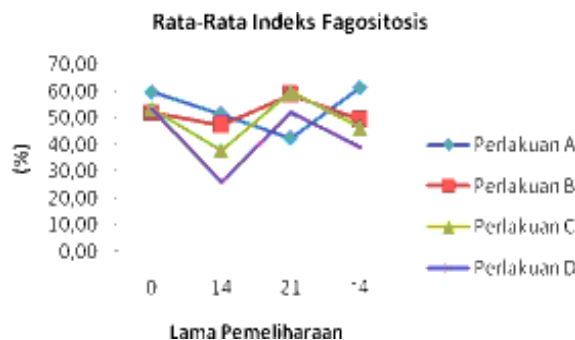
Pengamatan indeks fagositosis pada hari ke-0, hari ke-14, dan hari ke-21 selama perlakuan hingga hari ke-4 pasca ujiantang.

Hasil pengamatan indeks fagositosis ikan mas selama penelitian tersaji dalam Tabel 6 dan Gambar 6.

Tabel 6. Nilai Rata-Rata Indeks Fagositosis Ikan Mas

Perlakuan	Lama Pemeliharaan			
	0	14	21	Pasca Uji Tantang
A	60±4,50	51±3,21 ^b	42±1,15 ^a	61±4,61 ^{ab}
B	52±2	47±9,50 ^{ab}	59±3,05 ^{ab}	49±3,21 ^{ab}
C	53±8,32	8±1,73 ^{ab}	60±11,5 ^{ab}	46±8,02 ^{ab}
D	53±9,23	26±4,35 ^{ab}	52±6,24 ^{ab}	39±9,53 ^{ab}

Keterangan : Huruf dengan *superscript* yang berbeda menunjukkan perbedaan antar perlakuan, 0 gr/kg pakan (A), 5 gr/kg pakan (B), 10 gr/kg pakan (C), 15 gr/kg pakan (D).



Gambar 6. Rata-Rata Indeks Fagositosis

Tabel 6, menunjukkan bahwa kisaran indeks fagositosis selama penelitian adalah perlakuan A (42-61%), perlakuan B (47-59%), perlakuan C (8-60%), perlakuan D (26-53%). Gambar 6 menunjukkan bahwa rata-rata indeks fagositosis cenderung menurun hingga hari ke-14, kemudian meningkat kembali hingga hari ke-21 dan menurun kembali setelah 4 hari pasca ujiantang. Peningkatan persentase indeks fagositosis setelah hari 14 hari pemberian pakan uji diduga dengan adanya flavonoid yang menstimulasi produksi leukosit. Hasil pengamatan indeks fagositosis, sel fagosit yang lebih banyak ditemukan melakukan fagositosis adalah monosit. Menurut Fujaya (2002), monosit lebih kuat dibanding

neutrofil dalam memfagositosis bakteri, bahkan dapat memfagositosis partikel yang lebih besar.

Hasil analisa ragam indeks fagositosis menunjukkan bahwa pemberian berbagai dosis ekstrak daun sirih merah memberikan pengaruh yang nyata ($P<0,05$) pada pemberian 21 hari hingga 4 hari pasca ujiantang. Hal ini diduga berkaitan dengan penambahan berbagai dosis ekstrak daun sirih merah (*P. crocatum*) sebagai bahan imunostimulan yang mengandung bahan aktif antibakteri sudah mampu mengenali adanya benda asing berupa bakteri *A. hydrophilla*.

Sirih merah (*P. crotacum*) mengandung flavonoid, alkaloid senyawa polifenolat,



tanin dan minyak atsiri (Juliantina dkk., 2009). Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun sirih merah memacu sistem imun karena leukosit sebagai pemakan benda asing lebih cepat diaktifkan

(Wahjuningrum dkk., 2008). Nuryati dkk. (2010), juga menyampaikan peningkatan persentase indeks fagosititas menunjukkan adanya peningkatan fungsi sel-sel leukosit.

e. Pola kematian dan kelulushidupan ikan mas pasca uji tantang

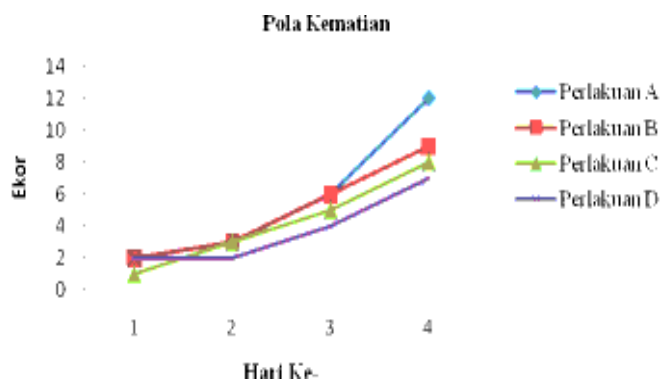
Pola kematian ikan mas diamati selama 21 hari pemberian pakan uji, sedangkan kelulushidupan ikan mas dalam penelitian ini diamati selama 4 hari pasca uji tantang

bakteri *A. hydrophila*. Hasil pengamatan pola kematian dan kelulushidupan pasca uji tantang selama penelitian tersaji pada Tabel 7 dan Gambar 7.

Tabel 7. Nilai Rata-Rata Persentase Kelulushidupan Ikan Mas Pasca Uji Tantang

Ulangan	Perlakuan (%)			
	A	B	C	D
1	40	0	40	20
2	0	80	60	80
3	20	40	40	40
Rerata±SD	20±20	40±40	47±11,5	47±30,6

Keterangan : A (dosis 0 g/kg pakan), B (dosis 5 g/kg pakan), C (dosis 10 g/kg pakan), D (dosis 15 g/kg pakan)



Gambar 7. Grafik Pola Kematian Ikan Mas Pasca Uji Tantang

Tabel 7, menunjukkan kisaran kelulushidupan ikan mas selama penelitian adalah perlakuan A 20%, perlakuan B 40%, perlakuan C dan perlakuan D 47% yang merupakan rata-rata tertinggi. Hal ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan Angka (2005) pada perlakuan penggunaan fitofarmaka daun sirih hijau sebagai pencegahan mencapai tingkat kelulushidupan 100%. Sehingga dalam penelitian ini apabila dilihat dari kelulushidupan ekstrak daun sirih merah (*P. crocatum*) belum mampu bekerja sebagai imunostimulan. Hal tersebut di tunjang dengan hasil analisa ragam yang menunjukkan penambahan ekstrak daun sirih merah (*P. crocatum*) tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P>0,05$) terhadap kelulushidupan ikan mas pasca uji tantang.

Terjadinya kematian ikan diduga karena adanya toksin yang di miliki bakteri *A.*

hydrophila. Hal ini di tunjang oleh pendapat Angka (2005) bahwa toksin dari bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan kelainan gejala klinis morfologi dan dapat menyebabkan kematian ikan.

Ikan yang masih bertahan hidup diduga karena ikan memiliki pertahanan tubuh yang alami, selain itu diduga adanya bahan aktif pada daun sirih merah (*P. crocatum*) yang dapat menghambat infeksi *A. hydrophila* dan meningkatkan kekebalan tubuh dari ikan. Subarnas dkk. (2007), mengatakan bahwa sirih merah (*P. crocatum*) mengandung flavonoid, alkaloid senyawa polifenolat, tanin dan minyak atsiri. Senyawa-senyawa tersebut memiliki sifat antibakteri yang dapat menghambat *A. hydrophila*.

Gambar 7, menunjukkan kematian ikan mulai terjadi pada hari ke-1 pasca uji tantang, yaitu pada perlakuan A sebanyak 2 ekor, perlakuan B sebanyak 2 ekor,



perlakuan C sebanyak 1 ekor dan perlakuan D sebanyak 2 ekor. hingga hari ke-4 pasca uji tantang. Kematian tertinggi terjadi pada hari ke-3 pasca uji tantang yaitu sebanyak 3 ekor pada perlakuan A dan perlakuan B. Terjadinya kematian tertinggi ikan lebih

lama di bandingkan dengan hasil penelitian Widiani (2011) bahwa kematian ikan akibat serangan *A. hydrophila* mulai terjadi pada hari ke-1 pasca uji tantang dan kematian tertinggi terjadi pada hari ke-2 pasca uji tantang.

f. Pengamatan gejala klinis

Pengamatan gejala klinis ikan mas pasca uji tantang bakteri *A. hydrophila* dilakukan hingga hari ke-4 pasca uji tantang. Hasil

pengamatan gejala klinis tingkah laku dan perubahan morfologi ikan mas pasca uji tantang tersaji pada Tabel 8 dan Tabel 9.

Tabel 8. Pengamatan Gejala Klinis Tingkah Laku Ikan Mas Pasca Uji Tantang

Perlakuan	Ulangan	Hari ke-			
		1	2	3	4
0 gr/kg pakan (A)	1	+	++	++	+++
	2	-	-	++	+++
	3	-	+	++	+++
5 gr/kg/pakan (B)	1	-	+	++	++
	2	-	-	+	+
	3	-	-	+	+
10 gr/kg pakan (C)	1	-	+	+	-
	2	-	+	+	-
	3	-	+	-	++
15 gr/kg pakan (D)	1	-	-	+	+
	2	-	-	-	-
	3	-	+	+	+

Keterangan: - = Respon makan normal, ikan berenang aktif
 + = Penurunan respon pakan, ikan berenang aktif
 ++ = Penurunan respon pakan, ikan berenang lamban
 +++ = Berenang tidak normal (berenang vertikal dan lamban)

Tabel 9. Pengamatan Gejala Klinis Morfologi Ikan Mas Pasca Uji Tantang

Perlakuan	Ulangan	Hari ke-			
		1	2	3	4
0 gr/kg pakan (A)	1	+	+	++	++
	2	+	+	+++	+++
	3	+	+	+++	+++
5 gr/kg/pakan (B)	1	+	+	+++	+++
	2	+	+	+++	+++
	3	+	+	+++	+++
10 gr/kg pakan (C)	1	+	+	+++	+++
	2	+	+	+++	+++
	3	+	+	+++	+++
15 gr/kg pakan (D)	1	+	+	+	+++
	2	++	+	+++	+++
	3	+	+	+	+++

Keterangan: - = Tidak terdapat luka di bagian tubuhnya
 + = Terjadi peradangan berwarna merah
 ++ = Tukak (Ulcer)
 +++ = Daging rusak dan membusuk (Nekrosis)

Tabel 8 menunjukkan bahwa perubahan tingkah laku ikan mas yang terjadi selama 4 hari pasca uji tantang *A. hydrophila*. Hari ke-1 dan ke-2 pasca uji tantang, ikan

cenderung memiliki perubahan tingkah laku berupa penurunan respon makan tetapi masih berenang aktif. Hari ke-3 dan ke-4 pasca uji tantang, terjadi perubahan tingkah



laku berupa penurunan respon pakan dan berenang tidak normal. Perubahan tingkah laku yang sama juga dilaporkan pada penelitian Sartika (2011) bahwa terjadi penurunan respon makan pada ikan setelah hari ke-2 pasca uji tantang bakteri *A. hydrophila*.

Tabel 9 memperlihatkan bahwa perubahan morfologi ikan mas yang terjadi selama 4 hari pasca uji tantang *A. hydrophila*. Hari ke-1 dan ke-2 pasca uji tantang, ikan mengalami perubahan morfologi berupa terjadinya peradangan berwarna merah, Hari ke-3 dan ke-4 muncul *ulcer*, hemoragi dan nekrosis. Terjadinya perubahan morfologi ini sama seperti pada hasil penelitian Widiani (2011), secara umum awal gejala klinis pada ikan berupa radang mulai muncul pada pasca infeksi. Radang pada ikan berubah menjadi haemoragi pada jam ke-24. Beberapa ikan tidak mengalami haemoragi, peradangan langsung berubah menjadi tukak. Gejala

serupa juga pernah dilaporkan oleh Lukistyowati dan Kurniasih (2011) bahwa adanya kemerahan pada kulit merupakan gejala klinis awal yang timbul akibat infeksi bakteri *A. hydrophila*, kemudian diikuti terjadinya peradangan, nekrosis dan tukak.

Terjadinya perubahan morfologi pasca uji tantang bakteri *A. hydrophila* diduga karena adanya toksin yang dimiliki oleh bakteri *A. hydrophila*, sedangkan ikan yang masih bertahan hidup umumnya mengalami pembengkakan berwarna merah (peradangan). Lukistyowati dan Kurniasih (2011) mengatakan, gejala klinis awal yang muncul pasca uji tantang *A. hydrophila* adalah kemerahan kulit atau hiperemi. Bakteri tersebut dapat mengenali dan berikatan dengan sel reseptor pada sel-sel tertentu dan mengurai sel inang dengan memproduksi enzim-enzim ekstraseluler seperti hemolisin, protease dan elastase sehingga menyebabkan inflamasi, peradangan dan berkembang menjadi borok.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Penambahan ekstrak daun sirih merah (*P. crocatum*) dengan berbagai dosis dalam pakan berpengaruh nyata terhadap total eritrosit, total leukosit, persentase limfosit, persentase monosit dan indeks fagositosis, namun tidak berpengaruh nyata terhadap persentase netrofil dan kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) pasca uji tantang *A. hydrophila*.

2. Dosis terbaik penambahan ekstrak daun sirih merah (*P. crocatum*) terbaik adalah 5 g/kg pakan (perlakuan B).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ahmad Wahyudi, S.p.i dan Edy Farid Wadjdy serta seluruh staf Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPPBAT), Bogor yang telah membantu kelancaran penelitian.



DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, R dan Tang U.M. 2002. Fisiologi Hewan Air. Universitas Riau Press. Riau. 217 hlm.
- Agustina. 2007, Penapisan Bakteri Probiotik Untuk Pengendalian Infeksi *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. *Aquacultura Indonesiana*, 8 (3) : 135-14
- Andayani, S. 2009. Respon Non-Spesifik Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) Terhadap Immunostimulan Senyawa aktif Alkaloid Ubur-Ubur (*Bougainvillea* sp) Melalui Pakan. Universitas Brawijaya, Malang, Berk Penelitian Hayati Edisi Khusus : 3B : 67-73
- Anderson, D.P. dan Siwicki A. 1993. Basic Hematology and Serology for Fish Health Programs, Second Symposium on Disease in Asia Aquaculture Aquatic Animal Health and The Environment Phuket, Thailand. Asia Fisheries Society. pp 22-23
- Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Sirih Merah Sebagai Tanaman Obat Multi Fungsi. Diakses pada 2 Februari 2013.
- Blaxhall, P.C, Daisley KW. 1973. Routine Haematological Methodes For Use With Fish Health. *J of Fish Biology* 5:577-581
- Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan. Dasar Pengembangan Teknik Perikanan. Rineka Cipta. Jakarta, hal 88-101
- Haditomo, A.H.C. 2011. Pemberian Probiotik Pada Media Budidaya Untuk Pengendalian *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). [Tesis]. IPB, Bogor. 72 hlm.
- Moyle, P.B and Chech, J.J. 1988. An Introduction to Ichthyology. Prentice Hall Inc. A Division of Simon and Schuster Engelwood Cliffs, New Jersey, p 597
- Nuryati, S, Maswan N.A, Alimudin, Sukenda dan Sutamantadinata K. 2010. Gambaran Darah Ikan Mas Setelah Divaksinasi Dengan Vaksin DNA dan Diuji Tantang Dengan Koi Herpesvirur. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 9 (1) : 9-1
- Alamanda, I. E., Handajani, N.S., dan Budiharjo, A. 2007. Penggunaan Metode Hematologi dan Pengamatan Endoparasit Darah untuk Penetapan Kesehatan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) di Kolam Budidaya Desa Mangkubumen Boyolali. *Jurnal Biodiversitas* 8 (1): 34-38
- Irianto, A. 2003. Patologi Ikan Teleostei. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. Hal 99
- Juliantina, F.R *et al.*, 2009. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, hal 1-3
- Khairuman, SP; Dodi, S; Gunadi B. 2008. Budidaya Ikan Mas Secara Intensif. PT Agromedia Pustaka. Jakarta, hal 1-2
- Kurniawan, D. 2010. Efektivitas Campuran Tepung Meniran (*Phyllanthus niruri*) dan Bawang Putih (*Allium sativum*) dalam Pakan untuk Pencegahan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. [Skripsi]. FPIK. IPB. Bogor. 51 hlm
- Lukistyowati, I dan Kurniasih. 2011. Kelangsungan Hidup Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) dan Di Infeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 16,1 (2011) : 144-160
- Mones, A R. 2008. Gambaran Darah pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* linn) Strain Majalaya yang Berasal dari daerah Ciampea Bogor. [Skripsi]. FKH. IPB. Bogor. 35
- Roberts, R.J. 2001. Fish Patology 3rd ed. Toronto : WB Saunders. Pp 25-30



- Setyati, W.A., Subagiyo dan Slamet S. 2007. Pengaruh Suplementasi Ekstrak Herbal (Jahe, Temulawak dan Kencur) Terhadap Jumlah Total Hemosit dan Aktivitas Fagositosis Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*). *Aquacultura Indonesiana* 8 (3) : 155-161
- Subarnas, A, Y. Susilawati, E. Mulyasari. 2007. Aktifitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper betle* Var. *Rubrum*) Pada Tikus Putih Jantan. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran-Jatinangor. *Farmaka* 5 (1) : 1-5
- Suhermanto, A, Andayani S, Maftuch. 2011. Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) Untuk Meningkatkan Leukosit dan Diferensial Leukosit pada Ikan Mas yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophilla*. *J. Kelautan* 4(2) : 49-56
- Sukenda, Jamal L, D Wahjuningrum dan Hasan A. 2008. Penggunaan Kitosan Untuk Pencegahan Infeksi *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 7(2): 159-169
- Vonti, O. 2008. Gambaran Darah Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn) Strain Sinyonya Yang Berasal Dari Daerah Ciampea Bogor. [Skripsi]. Ipb, Bogor. 60 hlm
- Wardani, R.K. 2012. Uji Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro. UNAIR. Surabaya (abstract)
- Wahjuningrum, D.N. Ashry, dan Nuryati S. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Daun Ketapang Terminalia Cattapa Untuk Pencegahan Dan Pengobatan Ikan Patin (*Pangasionodon Hypophthalmus*) Yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Departemen Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan & Ilmu Kelautan. IPB, Kampus Darmaga Bogor 16680 – Jawa Barat. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 7(1) : 79–94
- Widiani, I. 2011. Lama Pemberian Pakan Mengandung Tepung Meniran (*Phyllanthus niruri*) dan Bawang Putih (*Allium sativum*) untuk Pencegahan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) [Skripsi]. FPIK. IPB. Bogor. 2 hlm
- Yuliawati, F. 2010. Efektivitas Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri*) sebagai Antibakteri pada Ikan Patin (*Pangasianodon hypophthalmus*) yang Diinfeksi dengan *Aeromonas hydrophila*. [Skripsi]. Universitas Lampung. 43 hlm