



**KETAHANAN NONSPESIFIK IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) YANG  
DIRENDAM EKSTRAK DAUN JERUJU (*Acanthus ilicifolius*) TERHADAP  
INFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

*Nonspecific Immune Cyprinus carpio Soaked in Jeruju (Acanthus ilicifolius) Leaf  
Extract Infected by Aeromonas hydrophila*

Lusi Dianti, Slamet Budi Prayitno\*, Restiana Wisnu Ariyati

Program Studi Budidaya Perairan  
Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. Soedarto, SH Tembalang-Semarang, Email: lusedianti@gmail.com

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gejala klinis ikan yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila* dan mengkaji pengaruh penggunaan ekstrak daun jeruju (*A. ilicifolius*) melalui metode perendaman dalam upaya pencegahan penyakit *Motile Aeromonas Septicemia*. Ikan mas (*C. carpio*) sebanyak 96 ekor direndam dengan ekstrak daun jeruju selama 30 menit. Uji tantang dilakukan dengan menyuntikan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan  $10^8$  CFU/ml secara intramuskular. Hasil penelitian menunjukkan gejala klinis ikan pasca infeksi yaitu bergerak lamban, berenang dipermukaan, cenderung berenang miring, pembengkakan bola mata (*exophthalmia*), tukak, dan akumulasi cairan pada rongga perut. Perendaman dengan ekstrak daun jeruju menunjukkan hasil tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap kelulushidupan. Hasil pengamatan gambaran darah pasca infeksi menunjukkan nilai rata-rata total eritrosit tertinggi hingga terendah berturut-turut yaitu perlakuan C (500 ppm) sebesar  $2,69 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, perlakuan B (300 ppm)  $2,31 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, perlakuan A (0 ppm)  $2,29 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup> dan perlakuan D (700 ppm)  $2,18 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>. Nilai rata-rata total leukosit tertinggi hingga terendah berturut-turut yaitu perlakuan D (700 ppm) sebesar  $3,63 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, perlakuan C (500 ppm)  $3,60 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, perlakuan B (300 ppm)  $3,53 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup> dan perlakuan A (0 ppm)  $3,47 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>. Nilai rata-rata kadar hematokrit tertinggi hingga terendah berturut-turut yaitu perlakuan C (500 ppm) sebesar 22,67%, perlakuan D (700 ppm) 21,33%, perlakuan B (300 ppm) 20,67% dan perlakuan A (0 ppm) 20,33%. Perendaman ekstrak daun jeruju dengan dosis tersebut belum mampu meningkatkan daya tahan tubuh ikan terhadap infeksi *A. hydrophila*

**Kata kunci:** Ikan mas, Ekstrak daun jeruju, *Aeromonas hydrophila*, Ketahanan nonspesifik

**ABSTRACT**

This research was aimed to study the clinical symptoms of fish infected by *Aeromonas hydrophila* and examine the effect of leaf extract *Acanthus ilicifolius* usage through the method of soaking to prevent *Motile Aeromonas Septicemia* disease. 96 fish was soaked with leaf of extract *A. ilicifolius* for 30 minutes. The challenge was done by injecting of bacterial suspensions *Aeromonas hydrophila* with  $10^8$  CFU/ml density intra-muscularly to the fish. The results showed clinical symptoms of moribund fish such as moving slowly, swimming on the surface, swim upsided, *exophthalmia*, ulcer and accumulation of fluid in the abdominal cavity. Further results showed that extract of *A. ilicifolius* leaf did not significantly protected ( $P>0,05$ ) the survival of tested fish. Observations of blood profile after infection showed the average from the highest to lowest total erythrocytes were C (500 ppm) of  $2.69 \times 10^6$  cells/mm<sup>3</sup>, B (300 ppm)  $2.31 \times 10^6$  cells/mm<sup>3</sup>, A (0 ppm)  $2.29 \times 10^6$  cells/mm<sup>3</sup> and D (700 ppm)  $2.18 \times 10^6$  cells/mm<sup>3</sup> respectively. The average of the total leukocytes from the highest to lowest D (700 ppm) of  $3.63 \times 10^4$  cells/mm<sup>3</sup>, C (500 ppm)  $3.60 \times 10^4$  cells/mm<sup>3</sup>, B (300 ppm)  $3.53 \times 10^4$  cells/mm<sup>3</sup> and A (0 ppm)  $3.47 \times 10^4$  cells/mm<sup>3</sup> respectively. The average value of the levels of highest to lowest hematokrit C (500 ppm) of 22.53%, D (700 ppm) 21.33% B (300 ppm) 20.67% and A (0 ppm) 20.33% respectively. Leaf extract *A. ilicifolius* with dosage up to 700 ppm had not been able to improve immune response against infections of *A. hydrophila*

**Key words:** *Cyprinus carpio*, leaf extract jeruju, *Aeromonas hydrophila*, nonspecific immune

\*Corresponding Author: sbudiprayitno@gmail.com



## PENDAHULUAN

Ikan mas (*Cyprinus carpio*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang mempunyai nilai ekonomis penting. Ikan mas (*C. carpio*) juga memiliki protein yang cukup tinggi dan harga yang terjangkau, sehingga ikan ini sangat digemari oleh masyarakat. Beberapa jenis ikan mas juga banyak dibudidayakan sebagai ikan hias, seperti ikan mas koki dan mas koi yang mempunyai harga jual sangat tinggi. Target produksi perikanan budidaya nasional khususnya ikan mas tahun 2013 sebanyak 325.000 ton, sedangkan sasaran produksi perikanan budidaya Jawa Tengah khususnya ikan mas untuk tahun 2013 sebanyak 8.707 ton (Kementrian Perikanan dan Kelautan, 2013). Salah satu kendala budidaya ikan mas adalah adanya serangan penyakit yang diakibatkan oleh bakteri dan patogen. Menurut data Gufron dan Kordi (2004) yang menyebutkan bahwa serangan *A. hydrophila* menyebabkan kematian puluhan ton ikan pada tahun 1980 di Jawa Barat dan sekitarnya.

Hadiroseyani *et al.*, (2005) menyatakan, gejala klinis ikan yang terserang *A. hydrophila* yaitu radang (inflamasi) dengan ciri pembengkakan pada bekas suntikan. Gejala tersebut berlanjut dengan haemoragi (pendarahan) yang dicirikan dengan keluarnya darah pada kulit dan nekrosis merupakan gejala yang ditandai dengan terlihatnya daging rusak dan membusuk. Selain itu, Mangunwardoyo *et al.*, (2010) menambahkan bahwa pada beberapa jenis ikan tawar sering ditemukan tanda klinis seperti pembengkakan pada perut dan berisi cairan yang diikuti dengan kematian.

Berbagai upaya terus dikembangkan dengan meningkatkan sistem kekebalan tubuh ikan, baik kekebalan non spesifik melalui imunostimulan maupun kekebalan spesifik melalui vaksinasi. Berkaitan dengan permasalahan tersebut, perlu alternatif penggunaan bahan yang aman dalam pengendalian penyakit ikan, seperti penggunaan ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*). Ekstrak daun, batang, dan akar jeruju juga telah teridentifikasi mengandung verbaskosida dan senyawa asam fenolat yang berfungsi sebagai antikanker dan antibakteri (Soetarno *et al.*, 1996). Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa ekstrak daun jeruju dapat menghambat pertumbuhan *Vibrio harveyi* secara *in vitro* (Saptiani *et al.*, 2012<sup>b</sup>), ekstrak dan fraksi daun *A. ilicifolius* efektif menghambat pertumbuhan *V. harveyi* pada udang (Saptiani *et al.*, 2012<sup>a</sup>). Selanjutnya, Aonullah *et al.*, (2013)

menyatakan ekstrak daun *A. ilicifolius* mampu merangsang respon kebal ikan kerapu macan terhadap infeksi *Vibrio alginolyticus*.

## METODE PENELITIAN

Penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Penelitian yang dilakukan yaitu perendaman ekstrak daun jeruju dengan dosis yang berbeda. Ikan uji yang digunakan tiap ulangan sebanyak 8 ekor. Penentuan dosis perendaman ekstrak jeruju mengacu dari penelitian Saptiani *et al.*, (2012<sup>a</sup>) dengan perlakuan A (0 ppm), perlakuan B (300 ppm), perlakuan C (500 ppm) dan perlakuan D (700 ppm).

### Persiapan Wadah

Akuarium sebanyak 12 buah dengan ukuran 50x25x30 cm yang dilengkapi dengan aerator, selang dan batu aerasi. Sebelum digunakan akuarium tersebut dicuci dan dibersihkan dahulu menggunakan sabun, kemudian direndam dengan kaporit selama 24 jam lalu dibilas dengan air bersih dan dikeringkan. Akuarium yang telah dibersihkan kemudian diisi dengan air, kemudian akuarium tersebut dibiarkan dan diaerasi selama 48 jam.

### Adaptasi Ikan Uji

Ikan mas (*C. carpio*) ukuran 8-14 cm sebanyak 96 ekor yang diperoleh dari Balai Perbenihan dan Budidaya Air Tawar Muntilan, Magelang terlebih dulu diaklimatisasi selama ± 3 minggu. Selama masa aklimatisasi ikan diberi pakan dengan frekuensi pemberian 2 kali sehari (pagi dan sore hari) secara *at satiation*.

### Pembuatan Ekstrak Daun Jeruju

Ekstraksi daun jeruju (*A. ilicifolius*) mengikuti metode ekstraksi dari Saptiani *et al.*, (2012<sup>b</sup>) yaitu daun jeruju (*A. ilicifolius*) dibersihkan dan dicuci dengan air tawar lalu ditiriskan dan dikeringkan. Daun yang telah kering tersebut kemudian dicincang, kemudian daun tersebut dikeringkan di ruangan yang tidak terpapar matahari secara langsung sampai benar-benar kering. Selanjutnya daun dimasukkan ke dalam toples dan direndam di dalam etanol berulang-ulang sampai jernih. Hasil perendaman diekstraksi dengan metoda evaporasi, yaitu dengan menarik kembali pelarut yang mengikat bahan aktif dengan rotavapor sampai cairan menjadi pekat, kemudian hasil ekstraksi diuapkan di atas penangas sampai pelarutnya menguap, sehingga didapatkan pelet ekstrak (*crude*).



### Penyediaan Isolat *A. hydrophila*

Isolat bakteri *A. hydrophila* yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari Laboratorium Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan dan Lingkungan Serang, Banten. Kultur bakteri *A. hydrophila* dilakukan di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II, Semarang menggunakan media TSA (*Tryptic Soy Agar*), media GSP (*Glutamat Starch Phenol*), dan media cair TSB (*Tryptic Soy Agar*). Sebelum digunakan untuk ujiantang, bakteri ditingkatkan keganasannya dengan menyuntikkan *A. hydrophila* pada ikan di bagian intramuskular sebanyak 0,1 mL. Proses pasase dilakukan sebanyak dua kali untuk meningkatkan keganasan bakteri. Bakteri diinjeksikan pada ikan dan diamati sampai menunjukkan gejala klinis atau sakit. Ikan yang sakit tersebut kemudian diisolasi bakterinya dari bagian luka, organ ginjal dan organ hati. Koloni bakteri yang tumbuh diamati morfologi dan diuji biokimia untuk memastikan bakteri tersebut adalah *A. hydrophila*.

### Perendaman Ekstrak Daun Jeruju, Uji Tantang dan Pengambilan Darah

Ikan uji direndam dengan menggunakan ekstrak daun jeruju kedalam 10 liter air dengan konsentrasi A (0 ppm), B (300 ppm), C (500 ppm) dan D (700 ppm) selama 30 menit, perendaman dilakukan 2 kali selama penelitian, yaitu pada hari ke 0 dan hari ke 8. Sebelum dilakukan perendaman, media pemeliharaan ikan dipekatkan dengan larutan garam dosis 3 ppt selama 20 menit. Hal ini bertujuan agar tekanan osmotik ikan lebih besar dari lingkungan. Pada hari ke 14 perendaman, darah ikan diambil untuk dilakukan pemeriksaan hematologi (eritrosit, leukosit dan hematokrit). Pada hari ke 15 ikan diinfeksi dengan *A. hydrophila*. Selanjutnya ujiantang dilakukan dengan menyuntikan bakteri *A. hydrophila* kepadatan  $10^8$  CFU/mL sebanyak 0,1 mL/ekor secara intramuskular. Dosis kepadatan bakteri tersebut mengacu pada Sartika (2011) dan Mangunwardoyo *et al.* (2010).

Pengambilan darah ikan di bagian *arteri caudalis* dengan jarum suntik 1 ml yang telah dibasahi EDTA. Masing-masing darah yang diambil dari setiap perlakuan dimasukkan kedalam mikrotube untuk diuji dan dilihat gambaran darah. Pengamatan darah dilakukan dengan pemeriksaan hematologis yang meliputi jumlah total eritrosit, total leukosit dan kadar hematokrit. Gejala klinis ikan diamati selama 5 hari. Pada hari ke 3 pasca infeksi, darah ikan di

ambil kembali untuk dilakukan pemeriksaan hematologi.

### Perhitungan Eritrosit

Perhitungan total eritrosit mengacu pada metode Blaxhall dan Daisley (1973), yaitu hisap sampel darah yang sudah dibasahi EDTA dengan pipet berskala sampai 0,5 ml dilanjutkan dengan menghisap larutan Hayem sampai skala 101 ml. Masukkan sampel darah dan larutan hayem ke dalam tabung reaksi kemudian dihomogenkan. Hisap larutan yang sudah homogen dengan pipet, buang tetesan pertama, masukkan satu tetes sampel darah ke dalam *hemacytometer* dan tutup dengan kaca penutup. Amati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x40. Perhitungan dilakukan pada 5 kotak kecil *hemacytometer*. Perhitungan jumlah eritrosit dihitung sesuai dengan rumus:

$$\text{Jumlah eritrosit} = \Sigma N \times 10^4 \text{ sel/mm}^3$$

Keterangan: N = Jumlah eritrosit yang terhitung

### Perhitungan Leukosit

Perhitungan total leukosit mengacu pada metode Blaxhall dan Daisley (1973), yaitu hisap sampel darah yang sudah dibasahi EDTA dengan pipet sampai skala 0,5 ml dilanjutkan dengan menghisap larutan Turk sampai skala 11 ml, goyangkan pipet agar bercampur homogen. Buang tetesan pertama, masukkan tetesan berikutnya ke dalam *hemacytometer* dan tutup dengan kaca penutup. Selanjutnya amati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x40. Perhitungan dilakukan pada 4 kotak besar *hemacytometer*. Perhitungan jumlah eritrosit dihitung sesuai dengan rumus:

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

Keterangan: N = Jumlah leukosit yang terhitung

### Perhitungan Kadar Hematokrit

Pengukuran kadar hematokrit mengacu pada metode Anderson dan Siwicki (1993), yaitu memasukkan sampel darah dalam kapiler mikrohematokrit sampai kira-kira 4/5 bagian tabung, kemudian menyumbat bagian ujungnya (bertanda merah) dengan kretoseal (lilin penutup). Sentrifuge kapiler mikrohematokrit di *centrifuge* hematokrit selama 15 menit dengan kecepatan 3500 rpm, ukur panjang endapan eritrosit pada kapiler hematokrit dengan skala hematokrit dan hitung persentase volumenya. Perhitungan kadar hematokrit dinyatakan sebagai % volume padatan sel darah.

**HASIL DAN PEMBAHASAN****Gejala Klinis**

Gejala klinis ikan mas (*C. carpio*) pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* antara lain terjadi perubahan tingkah laku serta morfologi. Perubahan tingkah laku yang teramati pada semua perlakuan pengujian, yaitu berupa penurunan terhadap rangsang, berenang dipermukaan dan tidak teratur, serta cenderung berenang miring. Sedangkan gejala klinis secara morfologi yang teramati pada semua perlakuan pengujian, yaitu *inflamasi* yang dicirikan dengan pembengkakan dan luka pada bekas suntikan, pembengkakan bola mata (*exophthalmia*), anus berwarna merah, serta kondisi becek dibagian rongga perut menunjukkan adanya akumulasi cairan dan daging hancur setelah dilakukan nekropsis pada ikan yang mati.

Kerusakan morfologi pada ikan yang berupa radang atau borok pada bekas suntikan serta pembengkakan bola mata tersebut diduga berkaitan dengan serangan *A. hydrophila* yang disuntikan sehingga terjadi gangguan pada jaringan otot dan saluran pembuluh darah ikan uji akibat efek toksin bakteri tersebut. Menurut Kamaludin (2011), menyatakan bahwa enzim-enzim eksotoksin dari *A. hydrophila* seperti protease dan elastase diduga menyebabkan kerusakan pada permukaan tubuh yang terinfeksi, karena pada jaringan otot dan saluran pembuluh darah terdapat banyak kandungan

protein. Ketika terjadi kerusakan pada pembuluh darah akibat eksotoksin, maka darah akan keluar dari pembuluh darah dan terjadilah hemoragi pada permukaan tubuh. Efek eksotoksin yang berkelanjutan akan menyebabkan semakin banyak sel-sel pada jaringan otot mati, sehingga akan nampak gejala klinis berupa nekrosis pada permukaan tubuh. Menurut Yuhana *et al.*, (2008), ikan yang terserang bakteri *A. hydrophila* akan mengalami pendarahan pada bagian tubuh terutama di bagian dada, perut, dan pangkal sirip. Lebih lanjut Kabata (1985), menyatakan bahwa ikan yang terserang bakteri *A. hydrophila* memperlihatkan tanda-tanda, *abdominal dropsy* yaitu pembengkakan pada daerah abdominal karena adanya akumulasi cairan dalam rongga perut, adanya ulkus yaitu luka pada kulit dan terjadinya *septicaemia haemorrhagica*, yaitu adanya sepsis pada seluruh bagian tubuh. Pengamatan lain pada bagian tubuh terjadi perubahan warna pada organ dalam berupa hati dan ginjal menjadi agak pucat dan pudar.

**Identifikasi Bakteri**

Hasil pengamatan bakteri dari luka bekas suntikan, organ hati dan organ ginjal menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah *A. hydrophila*. Hal tersebut ditunjukkan dengan hasil pewarnaan gram yang menunjukkan gram negatif dan uji biokimia yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Identifikasi *A. Hydrophila* Sesudah Uji Tantang

Isolat pada perlakuan	Morfologi koloni				Uji biokimia			
	Warna	Elevasi	Gram	Motilitas	O/F	Oksidase	Katalase	Gelatin
Isolat awal	Krem	Cembung	-	+	F	+	+	+
A	Krem	Cembung	-	+	F	+	+	+
B	Krem	Cembung	-	+	F	+	+	+
C	Krem	Cembung	-	+	F	+	+	+
D	Krem	Cembung	-	+	F	+	+	+

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri yang virulen, dan semakin meningkat virulensinya setelah dilakukan isolasi ulang bakteri dari ikan mas yang diinfeksi *A. hydrophila*. Hal tersebut ditandai dengan munculnya tukak pada tubuh ikan mas pasca uji tantang pada saat uji virulensi. Hasil identifikasi tersebut sesuai dengan BSNI (2009), yang menyatakan bahwa bakteri dinyatakan *A. hydrophila* apabila hasil uji pewarnaan gram merupakan gram negatif dan berbentuk batang pendek, hasil uji motilitas

bersifat motil (+), hasil uji oksidasi bersifat positif oksidatif serta hasil uji oksidatif-fermentatif bersifat Positif O/F. *A. hydrophila* yang di suntikan adalah bakteri yang patogen dan diduga memproduksi faktor-faktor eksotoksin dan endotoksin. Menurut Angka (2001) toksin yang dihasilkan oleh *A. hydrophila* adalah eksotoksin serta struktur dinding sel berupa fosfolipid dan karbohidrat (*lipopolysacharida*) yang dikenal sebagai endotoksin. Endotoksin dapat menyebabkan radang dan rejatan (*shock*) pada hewan inang.



Sartika (2011), menyatakan enzim-enzim ini menyebabkan kerusakan pada permukaan tubuh yang terinfeksi, karena pada jaringan otot dan saluran darah terdapat banyak kandungan protein. Efek eksotoksin yang berkelanjutan akan menyebabkan semakin banyak sel-sel pada jaringan otot mati, sehingga akan nampak gejala klinis berupa nekrosis yaitu daging rusak dan membusuk.

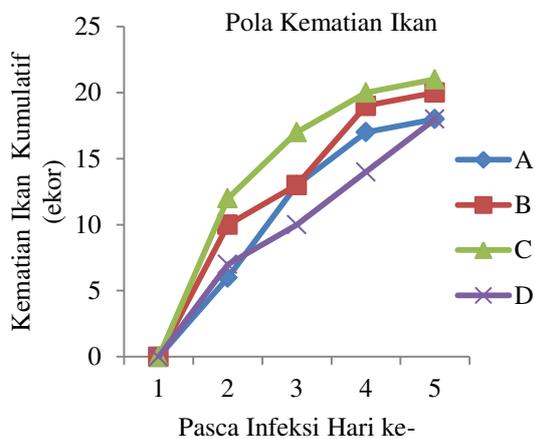
### Kelulushidupan Ikan Mas

Pengamatan kelulushidupan ikan mas dalam penelitian ini dilakukan selama 5 hari pasca infeksi *A. hydrophila*. Hasil pengamatan kelulushidupan secara lengkap tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*) Selama Perendaman Ekstrak Daun Jeruju (*A. ilicifolius*) dan Pasca Infeksi *A. hydrophila*

Ulangan	Perlakuan (%)			
	A	B	C	D
1	25	25	25	12,5
2	37,5	25	25	25
3	12,5	12,5	12,5	12,5
Jumlah	75	72,5	72,5	50
Rata-rata	25±12,5	20,83±7,22	20,83±7,22	16,67±7,22

Dari Tabel 2, terlihat rata-rata presentase nilai kelulushidupan selama perlakuan tertinggi hingga terendah secara berturut-turut adalah perlakuan A (0 ppm) sebesar 25±12,5; perlakuan B (300 ppm) dan perlakuan C (500 ppm) sebesar 20,83±7,22 dan perlakuan D (700 ppm) sebesar 16,67±7,22. Hasil pengamatan terhadap pola kematian ikan mas selama masa ujiantang dilakukan setiap hari dan disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Grafik Pola Kematian Ikan Pasca Infeksi *A. hydrophila*

Kematian pada ikan uji teramati sejak hari ke-2 pada hampir semua perlakuan, pada awal pengamatan belum terjadi kematian. Hari ke-2 merupakan puncak kematian tertinggi selama pengamatan. Angka kematian mulai menurun setelah hari ke-2, pada hari ke-3 masih terjadi kematian tetapi mengalami penurunan pada hari selanjutnya.

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun *A. ilicifolius* tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap kelulushidupan ikan mas pasca infeksi. Hal ini diduga berkaitan dengan tingginya tingkat patogenisitas bakteri dan ketahanan nonspesifik ikan tersebut belum mampu melawan infeksi *A. hydrophila*. Menurut Angka (2001), *A. hydrophila* menghasilkan eksotoksin yang terdiri dari hemolisin, sitotoksin, protease dan lisin yang berfungsi untuk masuk ke sel tubuh ikan melewati pertahanan tubuh ikan mencerna komponen sel dan berkembang biak dalam sel inang sehingga menyebabkan kematian pada ikan uji tersebut. Faktor lain yang mempengaruhi tingginya mortalitas adalah kaitannya dengan dosis yang digunakan masih rendah sehingga belum secara optimal meningkatkan ketahanan nonspesifik pada ikan uji yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Rosidah dan Afizia (2012) menyatakan, konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi maka kemampuan antibakterinya juga semakin besar. Oleh karena itu, dibutuhkan kepekatan larutan yang lebih tinggi sebagai larutan yang digunakan untuk perendaman. Proses perendaman secara tidak langsung diduga menyebabkan ikan stres, yaitu saat ikan direndam beberapa saat dalam larutan garam sebelum dilakukan perendaman dengan ekstrak daun jeruju.

Bahan aktif yang terkandung dalam daun jeruju diduga tidak memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Hal ini mungkin terjadi dikarenakan bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri yang banyak terdapat di lingkungan air tawar.



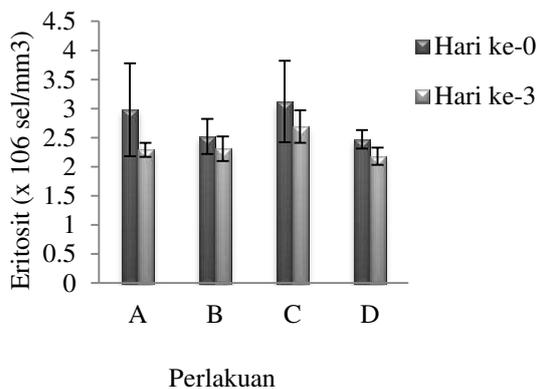
Sedangkan daun jeruju merupakan tumbuhan dengan habitat air payau. Penelitian serupa yang dilakukan Suciati (2012), menunjukkan bahan aktif daun *Rhizopora macronata* memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* yang merupakan bakteri laut, sedangkan pada bakteri *A. salmonicida* yang merupakan bakteri tawar bahan aktif daun *Rhizopora macronata* tersebut tidak memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri jenis ini.

### Perhitungan Total Eritrosit

Pemeriksaan total eritrosit bertujuan untuk melihat kondisi kesehatan ikan. Hasil rata-rata total eritrosit pada ikan uji dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Total Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*) Setelah Perendaman Ekstrak Daun Jeruju dan Pasca Infeksi *A. hydrophila*

Perlakuan	Total eritrosit ( $\times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ )	
	Setelah Perendaman	Pasca infeksi
A	2,98 $\pm$ 0,80	2,29 $\pm$ 0,12
B	2,52 $\pm$ 0,30	2,31 $\pm$ 0,21
C	3,12 $\pm$ 0,70	2,69 $\pm$ 0,28
D	2,47 $\pm$ 0,16	2,18 $\pm$ 0,15



Gambar 2. Nilai Rata-rata Total Eritrosit

Selama penelitian, jumlah sel darah merah pada ikan mas cenderung mengalami penurunan dari hari ke-0 hingga ke-3 pasca infeksi seperti terlihat pada Gambar 2. Total eritrosit ikan mas setelah perendaman ekstrak daun jeruju menunjukkan peningkatan pada perlakuan C sebesar  $3,12 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$  bila dibandingkan dengan perlakuan A (kontrol)

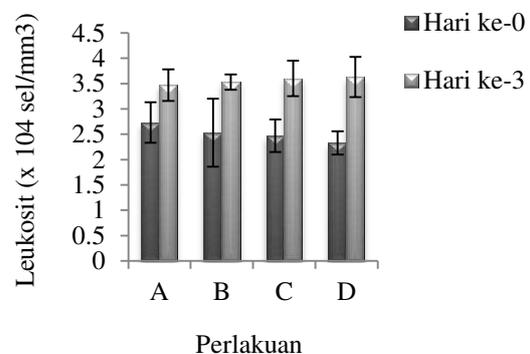
yang tidak direndam dengan ekstrak daun jeruju dan masih dalam batas normal yang mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak daun jeruju mempengaruhi perubahan jumlah eritrosit pada ikan mas. Menurut Irianto (2004), jumlah eritrosit pada ikan umumnya berkisar antara  $1,05 - 3,0 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ . Setelah diinfeksi dengan *A. hydrophila*, jumlah eritrosit cenderung mengalami penurunan bila dibandingkan setelah perendaman, hal tersebut mengindikasikan bahwa adanya anemia pada ikan yang ditandai adanya pendarahan pada organ penghasil darah. *A. hydrophila* memproduksi eksotoksin berupa hemolisin, hemolisin merupakan enzim yang mampu melisiskan sel-sel darah merah dan membebaskan hemogloblinnya (Angka, 2001).

### Perhitungan Leukosit

Leukosit merupakan salah satu komponen sel darah yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminasi patogen. Leukosit dapat digunakan sebagai indikator adanya infeksi dalam tubuh. Tubuh akan memproduksi lebih banyak leukosit ketika ada benda asing yang masuk kedalam tubuh. Nilai rata-rata total leukosit pada ikan uji tersaji pada Tabel 4.

Tabel 4. Total Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*) Setelah Perendaman Ekstrak Daun Jeruju dan Pasca Infeksi *A. hydrophila*

Perlakuan	Total leukosit ( $\times 10^4 \text{ sel/mm}^3$ )	
	Setelah perendaman	Pasca infeksi
A	2,73 $\pm$ 0,40	3,47 $\pm$ 0,31
B	2,53 $\pm$ 0,67	3,53 $\pm$ 0,15
C	2,47 $\pm$ 0,32	3,60 $\pm$ 0,35
D	2,33 $\pm$ 0,23	3,63 $\pm$ 0,40



Gambar 3. Nilai Rata-rata Total Leukosit



Jumlah total leukosit ikan mas pada semua perlakuan setelah perendaman menunjukkan nilai tertinggi pada perlakuan A yaitu sebesar  $2,73 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, kemudian disusul oleh perlakuan B sebesar  $2,53 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, perlakuan C yaitu sebanyak  $2,47 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, dan D sebanyak  $2,33 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>. Setelah ikan diinfeksi dengan *A. hydrophila* menunjukkan adanya peningkatan jumlah total leukosit, akan tetapi jumlah tersebut masih dalam batas normal seperti terlihat pada Gambar 3. Jumlah leukosit normal pada ikan teleostei berkisar 20.000 - 150.000 (Erika, 2008). Jumlah total leukosit pasca infeksi tertinggi sampai terendah secara berturut-turut yaitu perlakuan D yaitu sebesar  $3,63 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, kemudian disusul oleh perlakuan C sebesar  $3,60 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, perlakuan B yaitu sebanyak  $3,53 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, dan A sebanyak  $3,47 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>. Anderson dan siwicki (1993) menyatakan, peningkatan jumlah leukosit dapat dijadikan sebagai tanda adanya infeksi, stres, ataupun leukimia. Adanya infeksi akan menunjukkan inflamasi yang menunjukkan karakteristik tanggap kebal non spesifik. Respon tersebut juga akan muncul akibat adanya trauma seperti bahan kimia toksik, bakteri, parasit, dan virus. Jika total leukosit berada dibawah jumlah normal maka ikan menunjukkan gejala anemia, sedangkan jika total leukosit berada diatas jumlah normal maka ikan menunjukkan perlawanan terhadap antigen asing.

Pemberian ekstrak daun jeruju dengan dosis yang berbeda dapat meningkatkan jumlah total leukosit, terlihat pada hampir semua perlakuan yang mengalami peningkatan jumlah leukosit pasca infeksi *A. hydrophila*. Peningkatan jumlah leukosit dapat dijadikan sebagai tanda adanya infeksi ataupun stress. Adanya infeksi akan menunjukkan tukak yang menunjukkan karakteristik tanggap kebal non spesifik. Hal ini sesuai dengan pendapatnya Moyle dan Chech (2004) yang menyatakan bahwa kenaikan leukosit pada umumnya terjadi pada ikan yang mengalami gangguan dari luar tubuhnya, termasuk infeksi patogen karena fungsi leukosit sebagai sistem pertahanan tubuh ikan.

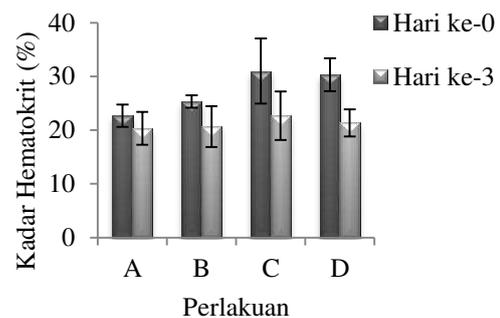
### Perhitungan Hematokrit

Nilai rata-rata hematokrit pada ikan uji tersaji pada Tabel 5.

Tabel 5. Rata-rata Kadar Hematokrit Ikan Mas (*C. carpio*) Setelah Perendaman Ekstrak Daun Jeruju dan Pasca Infeksi *A. hydrophila*

Perlakuan	Kadar hematokrit (%)	
	Setelah perendaman	Pasca infeksi
A	22,67±2,08	20,33±3,06
B	25,33±1,15	20,67±3,79
C	31,00±6,08	22,67±4,51
D	30,33±3,06	21,33±2,52

Hematokrit merupakan perbandingan antara volume sel darah dan plasma darah. Jumlah kadar hematokrit setelah perendaman berkisar antara 22,67 – 31,00% dan terjadi penurunan pada pemeriksaan pasca infeksi *A. hydrophila* yang berkisar antara 20,33 – 22,67% seperti terlihat pada Gambar 4. Hasil tersebut menunjukkan nilai yang lebih rendah bila dibandingkan dengan kadar hematokrit pada ikan normal. Hardi *et al.* (2011) melaporkan bahwa jumlah hematokrit nila normal berkisar antara 27,3 – 37,8%.



Gambar 3. Nilai Rata-rata Total Leukosit

Penurunan kadar hematokrit diduga karena menurunnya jumlah eritrosit dalam darah dan akan diikuti oleh penurunan kadar hematokrit. Fujaya (2004) melaporkan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara hematokrit dan jumlah hemoglobin darah, dimana semakin rendah jumlah sel-sel darah merah maka semakin rendah pula kandungan hemoglobin dalam darah.

Penurunan kadar hematokrit ini diduga karena ikan mangalami anemia dan stress terhadap serangan *A. hydrophila*. Sesuai pendapat Wedemeyer dan Yasutake (1977), menurunnya kadar hematokrit dapat dijadikan petunjuk mengenai rendahnya kandungan protein, defisiensi vitamin atau ikan mendapatkan infeksi. Secara kualitatif, kadar hematokrit pada ikan kontrol (perlakuan A) selalu lebih rendah dibanding dengan perlakuan uji lainnya mulai dari awal sampai dengan akhir perlakuan.



### Kualitas Air

Hasil rata-rata pengukuran oksigen terlarut (DO) berkisar antara 4,25 – 5,47 mg/l. Menurut BSNI (1999) disebutkan bahwa kandungan oksigen untuk pembesaran ikan mas yaitu lebih dari 5 mg/l. Hasil rata-rata pengukuran pH berkisar antara 7,18 - 7,42. pH air merupakan tingkat konsentrasi ion hidrogen yang ada dalam perairan. Menurut BSNI (1999) disebutkan bahwa pH untuk kelayakan pembesaran ikan mas adalah 6,5 - 8,5. Hasil pengukuran suhu selama penelitian adalah 27°C. Menurut BSNI (1999) disebutkan bahwa kisaran kelayakan suhu untuk kehidupan ikan mas adalah 25 - 30°C. Hasil pengukuran amoniak selama masa penelitian berkisar antara 0,003 - 0,02 mg/l. Menurut BSNI (1999) disebutkan bahwa kisaran konsentrasi amoniak yang baik untuk kehidupan ikan adalah kurang dari 0,02 mg/l.

### KESIMPULAN

Perendaman ekstrak daun *A. ilicifolius* dengan berbagai dosis tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap ketahanan nonspesifik ikan mas pasca infeksi *A. hydrophila*. Dosis yang digunakan belum efektif untuk mencegah infeksi *A. hydrophila*.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada seluruh staf Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II, Semarang dan Ibu Gina Saptiani yang telah membantu kelancaran penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, D. P and A. K. Siwicki. 1993. Basic Hematology and Serology for Fish Health Program. In : Symposium on Disease in Asia Aquaculture Aquatic Animal Health and Environment, Thailand, pp. 11-193.
- Angka, S. L. 2001. Studi Karakterisasi dan Patologi *Aeromonas hydrophila* pada ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). Dalam: Makalah Falsafah Sains. Progam Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Aonullah, A. A., S. B. Prayitno dan Sarjito. 2013. Pengaruh Penggunaan Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Terhadap Kelulushidupan Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang Diinfeksi *Vibrio Alginolyticus*. J. Of Aquaculture Management and Techonolgy, 2(1): 126 – 135.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia. 1999. Produksi Induk Ikan Mas (*Cyprinus carpio Linneaus*) Strain Majalaya Kelas Induk Pokok (Parent Stock) (SNI 01-6131:1999), Jakarta, 12 hlm.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia. 2009. Metode Identifikasi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara Biokimia (SNI 7303:2009), Jakarta, 16 hlm.
- Blaxhall, P. C and Daisley. 1973. The Haemothological Assesment of The Health of Fresh Water Fish. A Review of Selected Literature. J. of Fish Biology 4, pp. 593 – 604.
- Erika, Y. 2008. Gambaran Diferensiasi Leukosit Pada Ikan Mujair (*Oreochromis mozambicus*) di Daerah Cihampea Bogor. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 5 – 10 hlm.
- Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan: Dasar Pengembangan Teknologi Perikanan. Rineka Cipta, Jakarta, 179 hlm.
- Gufron, M dan Kordi, K.. 2004. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Rineka Cipta, Jakarta, 204 hlm.
- Hadiroseyani, Y., Hafifuddin, M. Alifuddin dan H. Supriyadi. 2005. Potensi Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) untuk Pengobatan Penyakit Cacar Pada Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy*) yang Disebabkan *Aeromonas hydrophilla*. J. Akuakultur Indonesia, 4 (2): 139–144.
- Hardi, E. H., Sukenda, E. Harris dan A.M. Lusiastuti. 2011. Karakteristik dan Patogenesis Streptococcus Agalactiae Tipe  $\beta$ -hemolitik dan Non-hemolitik pada Ikan Nila. J. Veteriner, 12(2):157 – 159.
- Irianto, A. 2005. Patologi Ikan Teleostei. Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 256 hlm.



- Kabata, Z. 1985. Parasites and Disease of Fish Cultured in the Tropics. Taylor and Fancis Press, London and Philadelphia, 318 hlm.
- Kamaludin, I. 2011. Efektivitas Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera*) untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. Melalui Pakan. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 54 hlm.
- Kementrian Perikanan dan Kelautan. 2013. Statistik Menakar Target Ikan Air Tawar Tahun 2013. <http://www.djpb.kkp.go.id/berita.php?id=847> (12 April 2013).
- Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari dan E. Riani. 2010. Uji Patogenitas dan Vierulensi *Aeromonas hydrophila* Stanier pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) Melalui Postulat Koch. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. J. Ristek Akuakultur, 5(2): 245 – 255.
- Moyle, P. B and J. J. Chech. 1988. An Introduction to Ichthyology. Prentice Hall Inc. A Division of Simon and Schuster Engelwood Cliffs, New Jersey, 597 p.
- Rosidah dan W. M. Afizia. 2012. Potensi Ekstrak Daun Jambu Biji sebagai Antibakterial untuk Menanggulangi Serangan Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy* Lacepede). J Akuatika, 3(1): 19 – 27.
- Saptiani, G., S. B. Prayitno dan S. Anggoro. 2012<sup>a</sup>. Efektifitas Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Melindungi Udang Windu (*Penaeus monodon* F.) dari Infeksi *Vibrio harveyi*. J. of Coastal Development, Diponegoro University, Semarang, 15(2): 217 – 224.
- \_\_\_\_\_ 2012<sup>b</sup>. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap Pertumbuhan *Vibrio harveyi* secara *in Vitro*. J. Veteriner, 13(3): 257 – 262.
- Sartika, Y. 2011. Efektivitas Fitofarmaka dalam Pakan untuk Pencegahan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 58 hlm.
- Soetarno, S., K. Ruslan dan I. S. Soediro. 1996. Verboksida dan Asam Fenolat dari Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius* Linn, Acanthaceae) Suatu Tumbuhan Mangrove. Unit Bidang Farmakognosi-Fitokimia. [Karangan Ilmiah]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknik Bandung, Bandung, 21(2): 23 – 25.
- Suciati, A., Wardiyanto, dan Sumino. 2012. Efektifitas Ekstrak Daun *Rhizophora mucronata* dalam Menghambat Pertumbuhan *Aeromonas salmonicida* dan *Vibrio harveyi*. e-Jurnal Rekrayasa dan Teknologi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, 1(1): 2302 – 3600.
- Wedemeyer, G. A and W. T Yasutake. 1977. Clinical Methods for the Assessment of the Effect Environment Stress on the Fish Health. Technical Papers of the US Fish and Wildlife Service. US Depart of the Interior Fish and Wildlife Service, pp. 1 – 17.
- Yuhana, M., I. Normalina dan Sukenda. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) untuk Pencegahan dan Pengobatan pada Ikan Patin (*Pangasionodon hypophthalmus*) yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. J. Akuakultur Indonesia, 7(1): 95 – 107.