

Efektivitas Ekstrak Daun Komak (*Lablab purpureus*) Terhadap Sistem Imun Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diinjeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Rabi'atussamiah¹, Fariq Azhar¹, Zaenal Abidin¹, Dewi Nur'aeni setyowati¹

¹Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram

INFO NASKAH	ABSTRAK
<p><i>Kata Kunci:</i></p> <p><i>Lablab purpureus</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> Ikan Nila</p>	<p>Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun komak terhadap sistem imun ikan nila yang diinjeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>. Penelitian ini dilaksanakan selama 60 hari di Laboratorium Produksi dan Reproduksi Ikan dan Laboratorium Kesehatan Ikan Budidaya Perairan, Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram. Metode yang digunakan eksperimen Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan tiga ulangan yaitu Dimana K- tidak diberi ekstrak daun komak dan diinjeksi NaCl 0.9%, K+ tidak diberi ekstrak daun komak dan diinjeksi bakteri <i>A. Hydrophila</i>, P1 (0.5%) ekstrak daun komak dan diinjeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>, P2 (1%) ekstrak daun komak dan diinjeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>, P3 (2%) ekstrak daun komak dan diinjeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>. Parameter penelitian yang diamati berupa total eritrosit, total leukosit, haemoglobin, hematokrit, differensial leukosit, aktivitas fagositosis, total bakteri dan kelangsungan hidup (SR). Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan ANOVA dengan uji lanjut Duncan. Hasil penelitian didapatkan nilai rata-rata pada total eritrosit sebesar 1.22-1.82 x10⁶ sel/mm³, total leukosit 2.08-2.8 x10⁴ sel/mm³, hemoglobin 3.4-5.5 %, hematokrit 14.1-17.3 %, differensial leukosit terdiri dari 4 jenis sel yaitu limfosit, monosit, neutrofil dan trombosit. Limfosit 60.7-72.3%, monosit 4.3-7.3%, neutrofil 17-24.3%, dan trombosit 6.3-7.7%, aktifitas fagositosis 44.8-66.3%, total bakteri (TBC) OD₆₂₀ 3.39-3.84, kelangsungan hidup (SR) 46.7-66.7%. Penambahan ekstrak daun komak sebanyak 2% pada pakan mampu meningkatkan system imun ikan nila yang diinjeksi dengan bakteri <i>A. hydrophila</i>.</p> <p>Jl. Pendidikan No. 37, Kota Mataram, Nusa Tenggara Barat, Email: fariqazhar@unram.ac.id</p>

The Effectiveness Of Komak (*Lablab purpureus*) Leaf Extract On The Immune System Of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Injected *Aeromonas hydrophila* Bacteria

Rabi'atussamiah¹, Fariq Azhar¹, Zaenal Abidin¹, Dewi Nur'aeni setyowati¹

¹Aquaculture Study Program, Department of Fisheries and Marine Sciences, Faculty of Agriculture, University of Mataram

ARTICLE INFO	ABSTRACT
--------------	----------

Kata Kunci:

Lablab purpureus
Aeromonas hydrophila
Tilapia

This study aims to determine the effect of comma leaf extract on the immune system of tilapia injected with *A. hydrophila* bacteria. This research was conducted for 60 days at the Fish Production and Reproduction Laboratory and Aquaculture Fish Health Laboratory, Aquaculture Study Program, Department of Fisheries and Marine Sciences, Faculty of Agriculture, University of Mataram. The method used was a completely randomized design (CRD) experiment with five treatments and three replications, namely where K- was not given comma leaf extract and was injected with 0.9% NaCl, K+ was not given comma leaf extract and was injected with *A. Hydrophila* bacteria, P1 (0.5%) extract comma leaf and injected with *A. hydrophila* bacteria, P2 (1%) of komak leaf extract and injected with *A. hydrophila* bacteria, P3 (2%) of komak leaf extract and injected with *A. hydrophila* bacteria. The observed parameters were total erythrocytes, total leukocytes, hemoglobin, hematocrit, differential leukocytes, phagocytosis activity, total bacteria and survival (SR). The results showed that the average value of total erythrocytes was 1.22-1.82 x10⁶ cells/mm³, total leukocytes were 2.08-2.8 x10⁴ cells/mm³, hemoglobin was 3.4-5.5%, hematocrit was 14.1-17.3%, differential leukocytes consisted of 4 types of cells, namely lymphocytes, monocytes, neutrophils and platelets. Lymphocytes 60.7-72.3%, monocytes 4.3-7.3%, neutrophils 17-24.3%, and platelets 6.3-7.7%, phagocytosis activity 44.8-66.3%, total bacteria (TB) OD₆₂₀ 3.39-3.84, survival (SR) 46.7-66.7 %. The addition of 2% of comma leaf extract to the feed can improve the immune system of tilapia injected with *A. hydrophila* bacteria.

Jl. Pendidikan No. 37, Kota Mataram, Nusa Tenggara Barat, Email:
farigazhar@unram.ac.id

PENDAHULUAN

Ikan nila termasuk ikan yang paling banyak digemari oleh masyarakat luas. Oleh karena itu, budidaya ikan nila bisa dijadikan sebagai usaha yang sangat menjanjikan. Untuk meningkatkan produksi ikan nila sendiri perlu diperhatikan beberapa hal baik itu dari segi lingkungan, pakan, reproduksi dan bahkan penyakit yang bisa menyerang ikan terutama bakteri. Menurut Ashari *et al.*, (2014) bahwa bakteri yang biasa menyerang ikan nila yaitu bakteri *A. Hydrophila* dan menyebabkan penyakit berupa *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang dapat menurunkan tingkat pertumbuhan pada ikan bahkan menyebabkan kematian 80%-100% dalam kurun waktu 1-2 minggu.

Salah satu pengobatan yang dilakukan menggunakan antibiotik. Akan tetapi kurang efisien apabila digunakan dalam skala besar karena tidak ekonomis, bisa menimbulkan bakteri baru yang resisten terhadap antibiotik dan bisa mencemari lingkungan (Maisyaroh *et al.*, 2018). Sehingga penggunaan bahan dari alam menjadi alternatif yang tepat karna lebih efektif dan juga efisien.

Salah satu bahan dari alam yang bisa dimanfaatkan untuk mencegah penyakit pada ikan nila ini terutama yang terserang bakteri *A. hydrophila* yaitu daun Komak (*Lablab purpureus*). Karena seperti yang kita ketahui bahwa daun komak ini mengandung metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai penghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Parvin *et al.* (2013) bahwa berdasarkan hasil skrining fitokimia awal ekstrak metanol dari daun komak menyatakan adanya alkaloid, saponin, tanin.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan selama 60 hari dimulai dari bulan Mei sampai dengan bulan Juli 2022 yang bertempat di Laboratorium Produksi dan Reproduksi Ikan dan Laboratorium Kesehatan Ikan Budidaya Perairan, Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram. Metode yang digunakan yaitu metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 3 ulangan. Adapun perlakuannya antara lain yaitu:

- K- : Tidak diberi ekstrak dan diinjeksi NaCl 0.9%
K+ : Tidak diberi ekstrak dan diinjeksi *A. hydrophila*
P1 : Ekstrak 0.5% dan diinjeksi *A. hydrophila*
P2 : Ekstrak 1% dan diinjeksi *A. hydrophila*
P3 : Ekstrak 2% dan diinjeksi *A. hydrophila*

PROSEDUR PENELITIAN

1. Persiapan Media Dan Ikan Uji

Media yang digunakan sebanyak 15 buah bak kontainer. Dalam setiap bak kontainer diisi dengan padat tebar sebanyak 20 ekor. Ikan yang digunakan sebagai ikan uji yaitu berupa ikan nila berukuran panjang 6-7 cm. Ikan nila diaklimatisasikan terlebih dahulu supaya terbiasa hidup dalam bak kontainer uji selama 3 hari dan hanya diberikan pakan komersial.

2. Pembuatan Ekstrak Daun Komak

Daun komak dicuci bersih dan dikeringanginkan. Kemudian dihaluskan menggunakan blender dan ditimbang bubuknya sebanyak 1 kg dan diekstraksi dengan larutan etanol 96% dengan perbandingan 1:3. Pembuatan ekstrak ini dilakukan dengan cara maserasi selama 3x24 jam dan dilakukan pengadukan 6 atau 8 jam (2 kali sehari). Selanjutnya, disaring dengan kertas saring jenis Whatman Nomor 1 dan diuapkan dalam Rotary evaporator.

3. Pemberian Pakan Ekstrak Daun Komak

Dalam pemberian pakan berupa ekstrak daun komak ini dilakukan dengan cara disemprotkan kedalam pakan komersil sesuai dengan konsentrasinya yaitu 0% K+, 0% (injeksi dengan NaCl), 0,5%, 1%, 2%. Pemberian pakan komersil yang telah dicampur ekstrak sebesar 5% dari berat tubuh ikan dan diberikan selama 50 hari masa pemeliharaan dengan waktu pemberian 3x sehari yaitu pagi, siang dan sore hari.

4. Persiapan Bakteri

Persiapan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^8 untuk menginfeksi ikan menggunakan media NA sebagai media pertumbuhannya kemudian dilakukan pengkulturan dengan mengambil 1 ose sampel bakteri *A. hydrophila* pada media agar miring kemudian digores pada media NA dan dinkubasi selama 1x24 jam. Selanjutnya untuk ujiantang menggunakan media TSB sebagai media pertumbuhan bakterinya. Sedangkan persiapan bakteri *Streptococcus* sp. dengan kepadatan 10^6 untuk aktivitas fagositosis dan menggunakan media TSB sebagai media pertumbuhannya

5. Uji Tantang

Penginjeksian ikan dilakukan dengan metode penyuntikan. Dimana bakteri yang ada pada media TSB diambil menggunakan jarum suntik lalu disuntikkan sebesar 0,1 mL pada masing-masing ikan uji secara intramuscular.

6. Parameter Penelitian

Total Eritrosit

Total eritrosit dihitung menggunakan alat haemositometer dengan menghitung 5 kotak kecil didalamnya. Adapun rumus total eritrosit menurut Fitria *et al.*, (2019) sebagai berikut :

$$SDM = \frac{Ne \times 200}{0.02}$$

Keterangan :

SDM = Sel darah merah (sel/mm³)

Ne = Jumlah eritrosit pada 5 kotak hitung

P = Faktor pengenceran (200 kali)

0.02 = Volume total darah dalam 5 kotak hitung (mm³)

Total Leukosit

Diambil darah menggunakan pipet dengan skala 0,5 dan ditambahkan larutan Turks sampai dengan skala 11 pada pipet leukosit dengan faktor pengenceran sebanyak 20 kali. Selanjutnya dihomogenkan dengan cara menggoyangkan tangan membentuk angka 8 supaya tercampur rata. Setelah itu darah diteteskan dalam haemositometer dan ditutup menggunakan cover glass lalu diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40X (Putranto *et al.*, 2019). Adapun rumus total leukosit menurut Fitria *et al.*, (2019) sebagai berikut :

$$SDP = \frac{Nl \times 20}{0.4}$$

Keterangan :

SDP = Sel darah putih (sel/mm³)

Nl = Jumlah leukosit pada 5 kotak hitung

P = Faktor pengenceran (20 kali)

0.4 = Volume total darah dalam 5 kotak hitung (mm³)

Hemoglobin

Pertama-tama yaitu dimasukkan larutan HCl sebesar 0,1 ke dalam tabung pengenceran sebanyak 2 mm³. Selanjutnya, diambil darah menggunakan pipet Hb sampai dengan volume 20 mm³ dan dicampur dengan batang pengaduk kemudian dimasukkan ke komparator blok untuk melihat perbandingannya dengan larutan standar. Apabila masih berbeda bisa ditambahkan aquades sampai sama warnanya dengan larutan sehingga didapatkan kadar Hb (%) (Alipin, 2020).

Hematokrit

Pengukuran hematokrit dilakukan dengan mengambil sampel darah pada jarum suntik dan dimasukkan ke dalam pipa kapiler dan ujung pipa kapiler yang memiliki tanda merah ditutup dengan plastisin. Setelah itu, pipa kapiler disusun di sentrifuge dan diputar dalam waktu 5 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Hasil hematokrit dihitung menggunakan penggarisan (Pratiwi, 2019). Adapun rumus hematokrit sebagai berikut:

$$\text{Hematokrit (\%)} = \frac{\text{panjang endapan kapiler pipa eritrosit (mm)}}{\text{panjang total}} \times 100\%$$

Differensial Leukosit

Pengamatan differensial leukosit menggunakan larutan giemsa dan diamati selnya pada mikroskop dengan perbesaran 40X sesuai jenisnya yaitu limfosit, monosit, neutrofil dan trombosit, kemudian dihitung sampai berjumlah 100 sel (Hartika, 2014). Adapun rumusnya sebagai berikut:

$$\% \text{limfosit (L)} = \frac{L}{100} \times 100$$

$$\% \text{monosit (M)} = \frac{M}{100} \times 100$$

$$\% \text{neutrofil (N)} = \frac{N}{100} \times 100$$

$$\% \text{trombosit (T)} = \frac{T}{100} \times 100$$

Aktivitas Fagositosis

Pengamatan aktivitas fagositosis menggunakan bakteri *Streptococcus* sp. dan adapun rumusnya menurut Mardiana & Budi, (2017) sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas fagositosis} = \frac{\text{jumlah sel fagosit yang melakukan fagositosis}}{\text{jumlah sel fagosit yang teramati}} \times 100\%$$

Total Bakteri Pada Usus Ikan

Perhitungan total bakteri pada usus ikan dilakukan pada hari ke 60 masa pemeliharaan. Perhitungan total bakteri pada usus ikan menggunakan metode Total Bakteri Count (TBC) dan dihitung menggunakan alat spektrofotometer dengan satuan OD (*Optical Density*) (Rosmania & Yanti, 2020).

Kelangsungan Hidup Pasca Injeksi (SR)

Persentase banyaknya ikan Nila yang hidup setelah diberi pellet dan dihitung pada saat akhir penelitian (Mardiana, 2017). Perhitungan kelangsungan hidup pada ikan ini dilakukan pada hari ke 10 setelah dilakukan ujiantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Adapun rumusnya sebagai berikut:

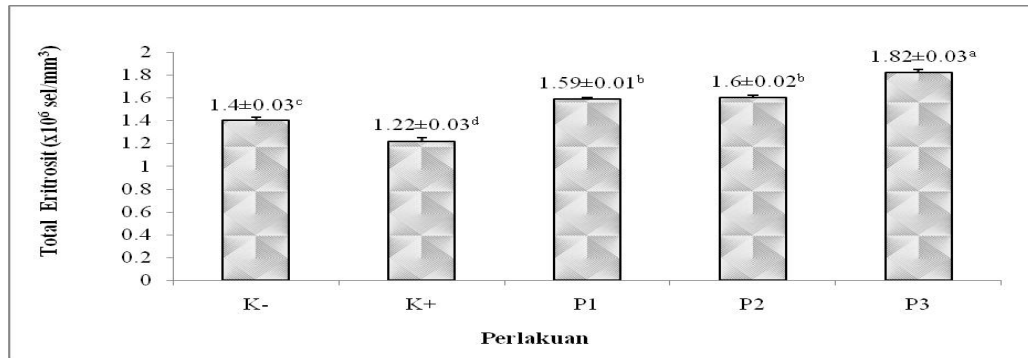
$$SR (\%) = \frac{\text{jumlah ikan pada waktu t}}{\text{jumlah ikan pada waktu awal}} \times 100$$

7. Analisis Data

Data yang dianalisis dalam penelitian ini berupa data kualitas air dianalisis secara deskriptif. Sedangkan untuk uji darah, tingkat kelangsungan hidup, dan total bakteri dianalisis dengan analisis keragaman. Apabila hasilnya berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut duncan (Purnamasari, 2015).

HASIL

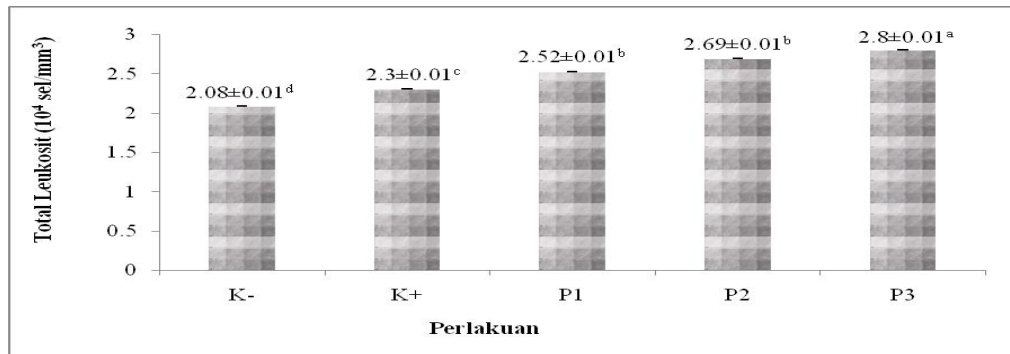
Total Eritrosit



Gambar 1. Rata-rata Total Eritrosit Ikan Nila (*O. Niloticus*)

Hasil yang diperoleh dengan penambahan ekstrak daun komak dalam pakan dengan dosis yang berbeda berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai total eritrosit pada ikan nila yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila*. Pada Gambar 1. menunjukkan bahwa P3 memiliki nilai total eritrosit tertinggi dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan yaitu 1.82×10^6 sel/mm³, namun P1 dan P2 memiliki nilai total eritrosit tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan nilai yaitu 1.59×10^6 dan 1.6×10^6 , kemudian K+ memiliki nilai total eritrosit lebih rendah dengan K- dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan yaitu nilai berturut-turut 1.22×10^6 dan 1.4×10^6 sel/mm³.

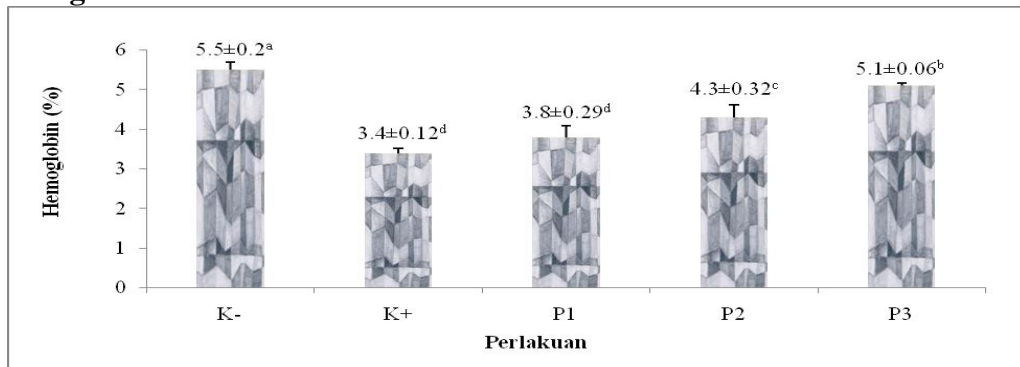
Total Leukosit



Gambar 2. Rata-rata Total Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Gambar 2. menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun komak pada pakan dengan dosis yang berbeda memiliki pengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai total leukosit pada ikan nila yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila*. Berdasarkan data diagram diatas menunjukkan pada P3 memiliki nilai total leukosit tertinggi dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan yaitu 2.8×10^4 sel/mm³, namun P1 dan P2 memiliki nilai total leukosit tidak berbeda ($p > 0,05$) yaitu 2.52×10^4 dan 2.69×10^4 . Sedangkan K+ memiliki nilai total leukosit terendah dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan yaitu 2.3×10^4 sel/mm³.

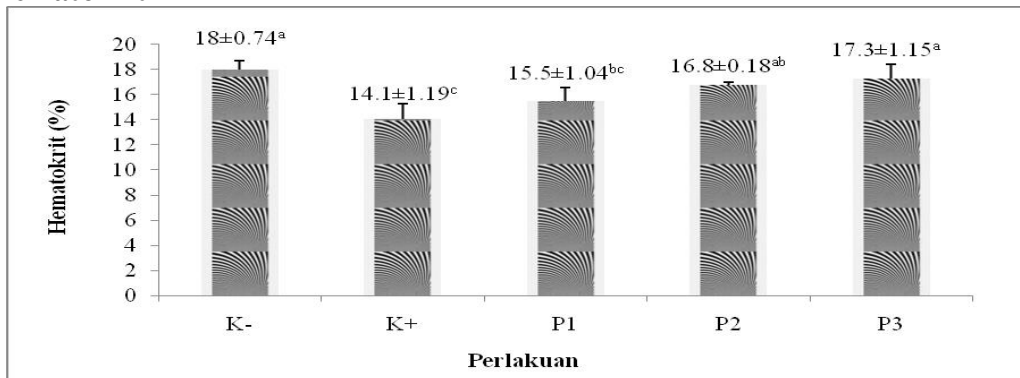
Hemoglobin



Gambar 4.3. Rata-rata Hemoglobin Ikan Nila (*O. niloticus*)

Hasil yang diperoleh dari pencampuran pakan dengan ekstrak daun komak menggunakan dosis berbeda memiliki pengaruh ($p < 0,05$) pada nilai hemoglobin ikan nila yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila*. Dapat dilihat pada Gambar 3. bahwa P3 memiliki nilai hemoglobin tertinggi dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan yaitu 5.1%. P2 dan K- memiliki nilai haemoglobin berbeda ($p < 0,05$) yaitu 4.3% dan 5.5%, namun K+ memiliki nilai haemoglobin terendah dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P1 yaitu 3.4% dan 3.8%.

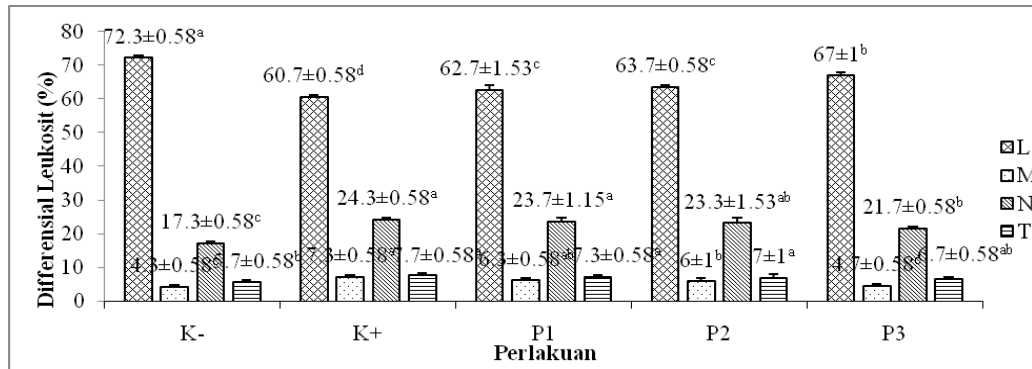
Hematokrit



Gambar 4. Rata-rata Hematokrit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Penambahan ekstrak daun komak pada pakan dengan dosis yang berbeda diduga memiliki pengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai hematokrit pada ikan nila yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila*. Dimana P3 memiliki nilai hematokrit tertinggi dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan K- yaitu 17.3% dan 18%. Kemudian P1 dan P2 memiliki nilai hematokrit tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan nilai 15.5% dan 16.8%, selanjutnya K+ memiliki nilai hematokrit terendah dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P1 yaitu 14.1% dan 15.5%.

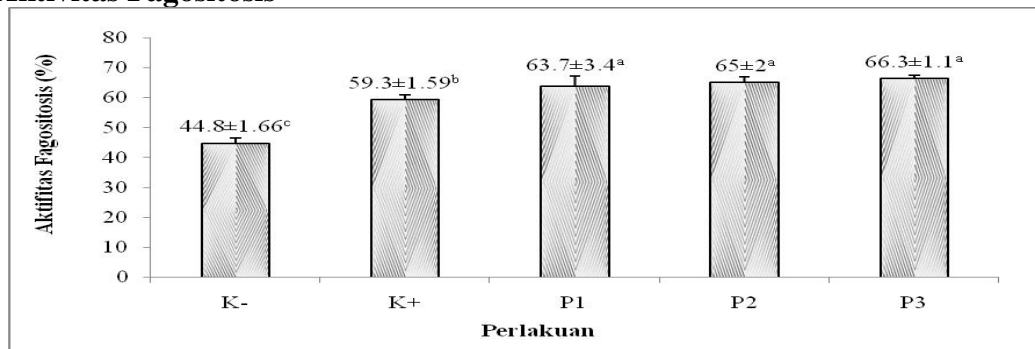
Diferensial Leukosit



Gambar 5. Rata-rata Diferensial Leukosit pada Ikan Nila (*O. niloticus*)
Keterangan: Nilai dengan superscript berbeda pada jenis sel yang sama menunjukkan hasil yang berbeda ($p < 0,05$)

Pengamatan diferensial leukosit pada ikan nila terdiri dari 4 jenis sel yaitu limfosit, monosit, neutrofil dan trombosit. Dalam Gambar 5. dapat dilihat bahwa pemberian pakan berupa penambahan ekstrak daun komak menggunakan dosis yang berbeda memberikan pengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai diferensial leukosit pada ikan nila yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila* baik itu pada sel limfosit, monosit, neutrofil dan trombosit. Pada sel limfosit P3 memiliki nilai limfosit tertinggi dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan yaitu 67%, namun P1 dan P2 memiliki nilai limfosit tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan nilai 62.7% dan 63.7%, kemudian K+ memiliki nilai limfosit terendah dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan yaitu 60.7%. Pada sel monosit K+ memiliki nilai monosit tertinggi dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P1 yaitu 7.3% dan 6.3%, selanjutnya P1 dan P2 memiliki nilai monosit tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan nilai 4.3% dan 6.3%. Kemudian P3 dan K- memiliki nilai monosit terendah dan tidak berbeda ($p > 0,05$) yaitu 4.7% dan 4.3%. Sel neutrofil pada K+ memiliki nilai neutrofil tertinggi dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P1 dan P2 yaitu nilai berturut-turut 24.3, 23.7, dan 23.3%. Kemudian P3 memiliki nilai terendah dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P2 yaitu 21.7% dan 23.3%. Sel trombosit pada K+ memiliki nilai trombosit tertinggi dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan perlakuan P1, P2 dan P3 yaitu nilai berturut-turut yaitu 7.7, 7.3, 7 dan 6.7%, namun P3 memiliki nilai trombosit terendah dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan K- yaitu 6.7% dan 6.3%.

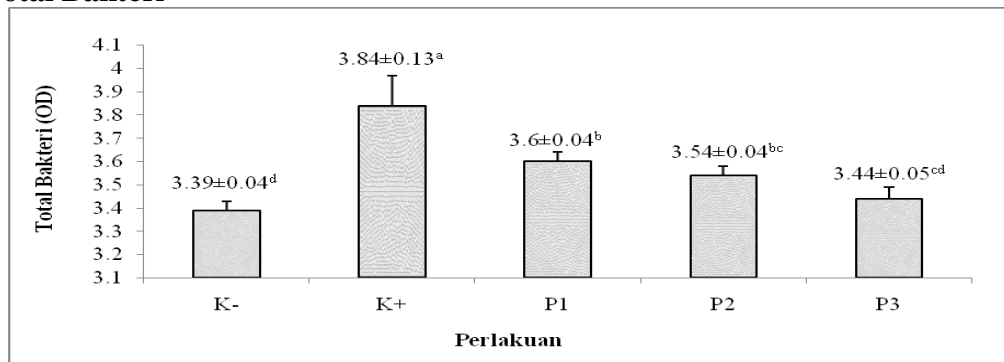
Aktivitas Fagositosis



Gambar 6. Rata-rata Aktivitas Fagositosis Ikan Nila (*O. niloticus*)

Hasil yang didapatkan pada Gambar 6. menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun komak pada pakan dengan dosis yang berbeda dapat berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai aktivitas fagositosis pada ikan nila yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila*. Pada P3 memiliki nilai aktivitas fagositosis tertinggi dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P2 dan P1 yaitu nilai berturut-turut 66.3%, 65% dan 63.7%. Kemudian K+ memiliki nilai aktivitas fagositosis terendah dan berbeda ($p < 0,05$) dengan K- yaitu 59.3% dan 44.8%.

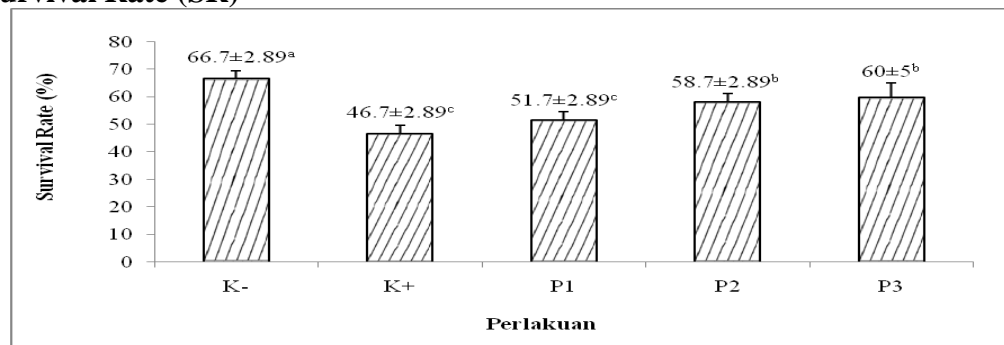
Total Bakteri



Gambar 7. Rata-rata Total Bakteri (TBC) Ikan Nila (*O. niloticus*)

Gambar 7. menjelaskan bahwa pemberian pakan yang ditambahkan ekstrak daun komak memberikan pengaruh ($p < 0,05$) pada nilai total bakteri ikan nila yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila*. Dimana K+ memiliki nilai TBC tertinggi dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan yaitu OD_{620} 3.84. P1 dan P2 memiliki nilai TBC tidak berbeda ($p > 0,05$) yaitu OD_{620} 3.6 dan OD_{620} 3.54. Selanjutnya P2 memiliki nilai TBC tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P3 yaitu OD_{620} 3.54 dan OD_{620} 3.44. Kemudian P3 memiliki nilai TBC terendah dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan K- yaitu OD_{620} 3.44 dan OD_{620} 3.39.

Survival Rate (SR)



Gambar 8. Rata-rata *Survival Rate* (SR) ikan nila

Pemberian pakan dengan menambahkan ekstrak daun komak dengan dosis yang berbeda memiliki pengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai SR pada ikan nila yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila*. Pada Gambar 8. dapat dilihat bahwa P3 memiliki

nilai SR tertinggi dan tidak berbeda ($p>0,05$) dengan P2 yaitu 60% dan 58.3%. Kemudian K+ memiliki nilai SR terendah dan tidak berbeda ($p>0,05$) dengan P1 yaitu 46.7% dan 51.7%.

PEMBAHASAN

Sel darah merah (eritrosit) merupakan salah satu komponen sel darah yang ada pada ikan nila dengan jumlah sel lebih banyak dibandingkan sel yang lain dan dijadikan sebagai indikator kesehatan ikan (Putranto *et al.*, 2019). Jumlah eritrosit normal pada ikan teleostei antara $1.05-3.0 \times 10^6$ sel/mm³ (Matofani *et al.*, 2013). Setelah ujiantang *A. hydrophila* pada K+ total eritrositnya lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan yang diberikan ekstrak daun komak. Menurut Matofani *et al.*, (2013) bahwa apabila ada bakteri yang masuk ke dalam tubuh ikan maka akan terjadi proses fagositosis yang menyebabkan penurunan pada sel darah merah. Sedangkan pada P3 yang diberikan ekstrak sebanyak 2% memiliki nilai total eritrosit lebih tinggi dari perlakuan lainnya karena pada ekstrak daun komak terdapat senyawa fitokimia. Menurut Putranto *et al.*, (2019) bahwa daun tanaman yang memiliki kandungan senyawa tanin, flavonoid, dan saponin dapat digunakan sebagai bahan immunostimulan dan diindikasikan bisa meningkatkan profil darah ikan.

Sel darah putih (leukosit) merupakan sistem pertahanan tubuh pada ikan nila yang berfungsi sebagai antibodi apabila adanya serangan bakteri yang masuk ke dalam tubuh ikan (Putranto *et al.*, 2019). Dari hasil penelitian didapatkan nilai total leukosit pada perlakuan yang diinjeksi bakteri mengalami peningkatan dibandingkan dengan K-. Menurut Dawan *et al.*, (2021) bahwa jumlah leukosit akan meningkat apabila ikan dalam keadaan sakit untuk menghasilkan antibodi dalam menfagosit bakteri. Selain itu, pada P3 (2%) leukosit meningkat karena dalam ekstrak daun komak memiliki kandungan berupa senyawa flavonoid. Menurut Maryani *et al.*, (2021) yang menyatakan bahwa meningkatnya jumlah leukosit di dalam darah ikan dipengaruhi oleh adanya senyawa flavonoid.

Hemoglobin (Hb) merupakan salah satu bagian dari sel plasma darah yang memiliki fungsi dalam peredaran darah dan menentukan tingkat ketahanan tubuh ikan yang erat kaitannya dengan eritrosit (Alipin & Sari, 2020). Pada K+ memiliki nilai Hb paling rendah dibandingkan dengan perlakuan yang diberikan ekstrak yaitu sebesar 3.4%. Menurut Putranto *et al.*, (2019) bahwa nilai kadar haemoglobin normal pada ikan nila berkisar antara 5.05-8.33 %. Rendahnya nilai Hb ini disebabkan karena adanya infeksi bakteri pada tubuh ikan dan hal ini sesuai dengan pendapat Hardi *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa rendahnya Hb disebabkan karena hemolisin yang berasal dari bakteri bisa mengakibatkan osmolaritas plasma darah lebih rendah. Sedangkan pada P3 (2%) memiliki nilai Hb masih dalam kadar normal karena dalam ekstrak memiliki kandungan flavonoid yang memberikan pengaruh positif terhadap peningkatan Hemoglobin pada darah ikan. Menurut Saparuddin, (2018) bahwa peningkatan kadar Hemoglobin pada perlakuan yang diberikan ekstrak etanol dan dicampur pakan dengan dosis makin tinggi maka kadar haemoglobin pada ikan juga meningkat.

Kadar hematokrit pada ikan ini berguna untuk melihat kondisi kesehatan ikan yaitu dengan cara melihat perbandingan nilai volume eritrosit dengan plasma darah erat kaitannya dengan sel darah merah (Pratiwi & Eddiwan, 2019). Pada K+ memiliki nilai hematokrit terendah dibandingkan perlakuan yang diberikan

ekstrak. Menurut Maryani *et al.*, (2021) bahwa hematokrit mengalami penurunan akibat ikan yang mengalami stres dan juga ikan yang terinfeksi bakteri patogen dan belum diberikan immunostimulan. Namun pada perlakuan P3 (2%) yang diberikan ekstrak daun komak memiliki nilai hematokrit yang tidak jauh berbeda daripada K- karena ekstrak daun komak memiliki senyawa metabolit sekunder yang dapat dijadikan sebagai anti bakteri. Menurut Saparuddin, (2018) bahwa pemberian ekstrak etanol yang dicampur dengan pakan komersil dapat meningkatkan kadar hematokrit darah pada ikan yang telah terinfeksi.

Pengamatan Differensial leukosit pada ikan nila dibagi menjadi empat jenis diantaranya yaitu Limfosit, Monosit, Neutrofil dan juga Trombosit. Sel limfosit merupakan system yang berperan penting sebagai system kekebalan tubuh pada ikan nila (Devitha *et al.*, 2013). Nilai sel limfosit yang diperoleh pada penelitian berkisar antara 60.7-72.3% dan termasuk normal sesuai dengan pernyataan Utami *et al.*, (2013) bahwa nilai limfosit ikan nila antara 60-86%. Pada P3 dengan pemberian ekstrak 2% nilai limfosit meningkat karena dalam ekstrak daun komak terdapat senyawa aktif yang bisa dijadikan sebagai immunostimulan dalam mempertahankan tubuh ikan dari serangan pathogen dan juga dapat meningkatkan sel limfosit. Menurut Riswan *et al.*, (2021) bahwa beberapa senyawa bioaktif yang terdapat pada beberapa jenis tanaman seperti flavonoid yang diduga dapat meningkatkan system kekebalan tubuh dan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu system organismenya.

Sel monosit merupakan sel yang berperan dalam memberikan informasi kepada leukosit mengenai adanya zat asing yang masuk kedalam tubuh ikan (Utami *et al.*, 2013). Pada K+ memiliki nilai monosit lebih tinggi dibandingkan dengan K- karena sistem kerja sel monosit meningkat untuk mendeteksi benda asing yang masuk ketubuh ikan dan meneruskan informasi tersebut ke leukosit. Menurut Rustikawati, (2012) bahwa sel monosit meningkat karena pada infeksi oleh zat asing maka sel monosit akan bergerak meninggalkan pembuluh darah untuk melakukan fagositosis pada daerah yang terinfeksi oleh bakteri. Sedangkan P3 (2%) yang diberikan ekstrak daun komak memiliki nilai monosit rendah karena adanya senyawa fitokimia sebagai antibakteri sehingga apabila terjadi penginfeksi maka sel monosit merespon untuk melakukan fagositosis terhadap bakteri *A. hydrophila*. Menurut Riswan *et al.*, (2021) bahwa senyawa aktif yang terkandung didalam ekstrak berupa flavonoid dapat berfungsi sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks yang dapat mengganggu keutuhan membran sel bakteri.

Sel Neutrofil merupakan sel yang berperan penting dalam system pertahanan tubuh pada ikan nila (Utami *et al.*, 2013). Pada K+ neutrofilnya lebih tinggi dibandingkan K- karena adanya pathogen yang masuk kedalam tubuh ikan. Menurut Rustikawati, (2012) bahwa meningkatnya jumlah sel neutrofil terjadi akibat dari terkumpulnya makrofag pada daerah yang terinfeksi dan berfungsi untuk menghancurkan benda asing. Sedangkan pada P3 (2%) nilai neutrofil rendah karena adanya kandungan senyawa fitokimia yang bekerja secara aktif pada daerah yang terinfeksi bakteri sehingga sel neutrofil pada darah sedikit. Menurut Riswan *et al.*, (2021) bahwa kandungan senyawa fitokimia yang terdapat didalam ekstrak dapat menurunkan gejala klinis akibat infeksi bakteri sehingga organ limfoid tidak memproduksi sel neutrofil dalam jumlah yang banyak.

Sel trombosit ialah sel yang berperan penting dalam proses pembekuan

darah (Salim *et al.*, 2016). Pada K+ memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan K- karena pada perlakuan ini diinjeksi *A. hydrophila* dan menyebabkan luka pada tubuh ikan sehingga jumlah trombosit meningkat. Menurut Salim *et al.*, (2016) bahwa trombosit berperan penting dalam proses pembekuan darah dan berfungsi untuk mencegah kehilangan cairan tubuh yang lebih banyak akibat infeksi yang terjadi pada permukaan tubuh ikan. Sedangkan pada P3 yang diberikan ekstrak daun komak dengan dosis 2% memiliki nilai trombosit yang sama dengan K- karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak dan dijadikan sebagai antibakteri dalam penyembuhan luka ikan sehingga mengakibatkan system kerja trombosit berkurang. Menurut Kurniawan *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa penurunan jumlah trombosit terjadi akibat adanya kandungan metabolit sekunder pada ekstrak yang berperan dalam aktivitas penyembuhan luka dan dapat dijadikan sebagai antimikroba.

Aktifitas fagositosis (AF) merupakan suatu proses penyerapan atau emiliasi terhadap benda asing yang masuk kedalam tubuh ikan oleh sel fagosit (Payung & Manoppo, 2019). Berdasarkan hasil pengamatan setelah uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* diperoleh nilai AF pada K+ lebih tinggi daripada K- karena adanya serangan bakteri *A. hydrophila* pada tubuh ikan nila dan menyebabkan sistem kerja sel meningkat untuk mengfagosit bakteri. Menurut Saparuddin, (2021) bahwa proses fagositosis ialah kontak antara sel fagositosis dan partikel dengan membran sel mengalami invaginasi yang menelan benda asing. Selain itu, pada perlakuan yang diberikan ekstrak pada P3 (2%) memiliki nilai AF tertinggi dari semua perlakuan karena dosis yang tinggi dapat meningkatkan system kekebalan tubuh dalam mengfagosit benda asing yang masuk kedalamnya serta adanya kandungan senyawa fitokimia didalam daun komak yang bisa dijadikan sebagai immunostimulan oleh sel darah dalam menyerang bakteri. Menurut Mardiana & Budi, (2017) bahwa peningkatan aktifitas fagositosis dapat terjadi pada awal respon dari pemberian imunostimulan atau awal terjadinya infeksi.

Total bakteri (TBC) merupakan persentase jumlah bakteri yang ditemukan didalam tubuh ikan dengan menggunakan alat spektrofotometer. Hasil TBC yang diperoleh pasca uji tantang pada K+ memiliki nilai TBC paling tinggi dibandingkan perlakuan yang diberikan ekstrak. Seperti halnya pada perlakuan P3 yang diberikan ekstrak dengan dosis 2% memiliki nilai TBC yang rendah dan tidak jauh berbeda dari K-. Rendahnya nilai TBC pada P3 disebabkan karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat berperan penting dalam pencegahan penyebaran bakteri akibat infeksi *A. hydrophila*. Menurut Parvin *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa dalam ekstrak metanol dari kacang komak terdapat alkaloid, saponin, tanin yang berfungsi sebagai antibakteri.

Tingkat kelangsungan hidup (SR) merupakan persentase jumlah ikan yang hidup dalam kurun waktu yang tertentu yang tujuannya untuk melihat jumlah ikan yang hidup dari awal penelitian hingga akhir penelitian (Mardiana, 2017). Berdasarkan pengamatan setelah dilakukan injeksi bakteri pada ikan diperoleh nilai SR pada K+ lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan yang diberikan ekstrak daun komak. Perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan P3 yang diberikan ekstrak dengan dosis 2% karena pada ekstrak terdapat bahan aktif berupa flavonoid yang dijadikan sebagai antibakteri yang berguna dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada inangnya. Menurut Maryani *et al.*, (2021)

bahwa senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan steroid diduga memiliki efek imunomodulator untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen *A. hydrophila* yang ditandai dengan tingginya sintasan ikan nila.

KESIMPULAN

Penambahan ekstrak daun komak sebanyak 2% pada pakan mampu meningkatkan system imun ikan nila yang diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Adapun hasil yang didapatkan pada total eritrosit yaitu 1.82×10^6 sel/mm³, total leukosit 2.80×10^4 sel/mm³, hemoglobin 5.1%, hematokrit 17.3%, nilai differensial leukosit pada sel limfosit 67%, sel monosit 4.7%, sel neutrofil 21.7% dan sel trombosit 6.7%, nilai aktivitas fagositosis 66.3%, nilai TBC OD₆₂₀ 3.44, nilai survival rate (SR) 60%.

DAFTAR PUSTAKA

- Alipin, K., Sari, T. 2020. Indikator Kesehatan Ikan Kerapu Cantik (*Epinephelus* sp.) Yang Terdapat Pada Budidaya Keramba Pantai Timur Pangandaran. *Journal of Biological Sciences* 7:285–292.
- Ashari, C., Tumbol, R. A., Kolopita, M. E. 2014. Diagnosa Penyakit Bakterial Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Di Budi Daya Pada Jaring Tancap Di Danau Tondano. *E-Journal BUDIDAYA PERAIRAN* 2:24–30.
- Dawan, G., Salosso, Y., Jasmanindar, Y. 2021. Pengaruh penggunaan ekstrak daun patikan kerbau (*Euphorbia hirta*) dalam pencegahan dan pengobatan bakteri *Aeromonas hydrophilla* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Akuatik* 42–52.
- Devitha Tri Utami, Slamet Budi Prayitno, Sri Hastuti1, A. S. 2013. Gambaran Parameter Hematologis Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diberi Vaksin DNA *Streptococcus iniae* Dengan Dosis Yang Berbeda Haematological Performances in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) was given by DNA Vaccine *Streptococcus iniae* with The. *Journal of Aquaculture Management and Technology* 2:7–20.
- Hardi, E.H., Sukenda., Harris, E., Lusiastuti, A. 2013. Kandidat Vaksin Potensial *Streptococcus agalactiae* untuk Pencegahan Penyakit Streptococcosis pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Veteriner* 14:408–416.
- Hartika, R., Mustahal., Putra, A. 2014. Gambaran Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Dengan Penambahan Dosis Prebiotik Yang Berbeda Dalam Pakan. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan* 4:259–267.
- Kurniawan, R., Syawal, H., Effendi, I. 2020. Pengaruh Penambahan Suplemen Herbal Pada Pakan Terhadap Diferensiasi Leukosit Ikan Dan Sintasan Ikan Patin (*Pangasionodon hypophthalmus*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia* 8:150–163.
- Maisyaroh, L. A., Susilowati, T., Haditomo, A. H. C., Yuniarti, T. 2018. Penggunaan ekstrak kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*) sebagai antibakteri untuk mengobati infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal Sains Akukultur Tropis* 2:36–43.
- Mardiana., Budi, S. 2017. Respon imun ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan pemberian xanton yang diekstraksi dari kulit buah manggis *Garcinia mangostana*. *Octopus Jurnal Ilmu Perikanan* 6:585–591.
- Maryani, M., Rozik, M., Nursiah, N., Pudjirahaju, A. 2021. Gambaran Aktivasi

- Sistem Imun Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Terhadap Pemberian Daun Sangkareho (*Callicarpa longifolia* Lam.) Melalui Pakan. *Jurnal Akuakultur Sungai Dan Danau* 6:74.
- Matofani, A. S., Hastuti, S., Basuki, F. 2013. Profil Darah Ikan Nila Kunti (*Oreochromis niloticus*) Yang Diinjeksi *Streptococcus agalactiae* Dengan Kepadatan Berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology* 2:64–72.
- Parvin, D., Muhammad, M., Uddin, N., Islam, S., & Parvin, S. 2013. Phytochemical screenings, thrombolytic activity and antimicrobial properties of the leaf extracts of *Lablab purpureus*. *American Journal of Research Communication* 1:49–55.
- Pratiwi Via Anggraini., Eddiwan, E. 2019. Studi Kondisi Darah Ikan Lele Lokal (*Clarias batrachus*) Di Sungai Tapung Kiri Dan Sungai Sail Provinsi Riau. *Fakultas Perikanan Dan Kelautan* 0–8.
- Purnamasari, L. (2015). Perendaman Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias* sp.) Dalam Sari Buah Belimbing Wuluh Untuk Mengobati Infeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 3:82–93.
- Putranto, W. D., Syaputra, D., Prasetyono, E. 2019. Blood Preview Of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Given Fortified Feed Of Salam Leaf (*Syzygium polyanthum*) Liquid Extract. *Journal of Aquatropica Asia* 4:22–28.
- Riswan, M., Lukistyowati, I., Syawal, H. 2021. Diferensiasi Leukosit Ikan Komet (*Carassius auratus*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan Pasca pengobatan dengan Larutan Propolis Leukocytes Differentiation of Goldfish (*Carassius auratus*) Infected with *Aeromonas hydrophila* Bacteria and Po. *Jurnal Natur Indonesia* 19:6–12.
- Rosmania., Yanti, F. 2020. Perhitungan jumlah bakteri di Laboratorium Mikrobiologi menggunakan pengembangan metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains* 22:76–86.
- Rustikawati, I. 2012. Efektivitas Ekstrak Sargassum Sp. Terhadap Diferensiasi Leukosit Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Yang Diinfeksi *Streptococcus* Iniae. *Jurnal Akuatika Indonesia* 3:245-375.
- Salim, M. A., Nur, I., Idris, M. 2016. Pengaruh Peningkatan Salinitas secara Bertahap terhadap Diferensial Leukosit pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) [Effects of Gradual Salinity Increases on Differential Leukocytes in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)]. *Media Akuatika* 4:152–158.
- Saparuddin. 2018. Pengaruh Ekstrak Etanol Terhadap Peningkatan Konsentrasi Hemoglobin dan Nilai Hematokrit Ikan Kerapu Tikus. *Jurnal Saintifik* 4:39–46.