

EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN KAWISTA (*Limonia acidissima*) TERHADAP SISTEM IMUN IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) YANG DIINJEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Effectiveness of kawista leaf extract (Limonia acidissima) against the immune system catfish (Pangasius hypophthalmus) injection Aeromonas hydrophila bacteria

Nurul Apriyani¹, Fariq Azhar^{1*}, Zaenal Abidin¹, Dewi Nut'aeni Setyowati¹

¹Prodi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram
Jln. Pendidikan No. 32 Mataram 83115 Nusa Tenggara Barat

*Corresponding author, e-mail: fariqazhar@unram.ac.id

ABSTRAK

Ikan patin merupakan salah satu komoditas perikanan yang mempunyai nilai ekonomis tinggi, baik pada tahap pembenihan maupun pembesaran. Bakteri *A. hydrophylla* merupakan patogen yang sering ditemukan di air tawar dan sebagai penyebab 80-100% tingkat kematian ikan dalam waktu yang cepat. Kawista (*L.acidissima*) merupakan tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Radikal bebas dapat dicegah dengan pemberian zat antioksidan, dimana dapat terjadi kerusakan fungsi organ apabila radikal bebas ini masuk ke dalam tubuh. Aktivitas antioksidan pada daun kawista diduga karena adanya fenolik, flavonoid, triterpenoid, alkaloid dan tannin yang merupakan senyawa metabolit sekunder. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental serta Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan 3 kali ulangan. K+ diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophylla* dan diberikan pakan tanpa ekstrak dan kawista, K- diinjeksi dengan NaCl 0,9% dan diberikan pakan ekstrak daun kawista, P1 diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophylla*, pakan ditambah ekstrak daun kawista 0,5%, P2 diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophylla*, pakan ditambah ekstrak daun kawista 1% dan P3 diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophylla*, pakan ditambah ekstrak daun kawista 2%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kawista dengan dosis yang berbeda mempengaruhi sistem imun pada ikan patin dan kelangsungan hidup ikan. Pada penelitian ini diperoleh perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan 2 dengan nilai total eritrosit sebesar $2,77 \times 10^6$ sel/mm³, nilai total leukosit sebesar $2,41 \times 10^4$ sel/mm³, hemoglobin sebesar 10,80%, hematokrit sebesar 19,28%, diferensial leukosit seperti limfosit sebesar 77,3%, monosit sebesar 5,3%. neutrofil sebesar 8,0%, trombosit sebesar 14,3%, aktivitas fagositosis sebesar 83,4%, total bakteri sebesar OD₆₂₀ 3,96 dan survival rate sebesar 88,3%. Adapun kesimpulan yang diperoleh bahwa penggunaan ekstrak daun kawista dengan dosis 1% pada pakan mampu meningkatkan sistem imun ikan patin yang diinjeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Kata kunci: Ikan patin, *Aeromonas hydrophila*, ekstrak daun kawista.

ABSTRACT

Catfish is a fishery commodity that has high economic value, both at the hatchery and rearing stages. Bacteria A. hydrophylla is a pathogen that is often found in fresh water and causes 80-100% of fish mortality in a short time. Kawista (L.acidissima) is a plant that has the potential as a natural antioxidant. Free radicals can be prevented by administering antioxidants, where damage to organ function can occur if these free radicals enter the body. The antioxidant activity of kawista leaves is

thought to be due to the presence of phenolics, flavonoids, triterpenoids, alkaloids and tannins which are secondary metabolites. This study used an experimental method and a completely randomized design (CRD) with 5 treatments and 3 replications. K+ was injected with *A. hydrophylla* bacteria and given feed without extract and kawista, K- was injected with 0.9% NaCl and given kawista leaf extract feed, P1 was injected with *A. hydrophylla* bacteria, feed was added with 0.5% kawista leaf extract, P2 injected with *A. hydrophylla* bacteria, feed plus 1% kawista leaf extract and P3 injected with *A. hydrophylla* bacteria, feed plus 2% kawista leaf extract. The results showed that administration of kawista leaf extract at different doses affected the immune system in catfish and fish survival. In this study, the best treatment was obtained in treatment 2 with a total erythrocyte value of 2.77×10^6 cells/mm³, a total leukocyte value of 2.41×10^4 cells/mm³, hemoglobin of 10.80%, hematocrit of 19.28%, differential leukocytes such as lymphocytes by 77.3%, monocytes by 5.3%, neutrophils 8.0%, platelets 14.3%, phagocytosis activity 83.4%, total bacteria OD620 3.96 and survival rate 88.3%. The conclusion was obtained that the use of kawista leaf extract at a dose of 1% in feed could improve the immune system of catfish injected with *Aeromonas hydrophila* bacteria.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*, Catfish, kawista leaf extract.

1. Pendahuluan

Patin merupakan ikan air tawar yang unggul dan banyak dibudidayakan, karena mempunyai kandungan yang baik untuk tubuh. Ikan ini memiliki nilai jual yang tinggi pada fase pembenihan maupun pada fase pembesaran. Ikan patin dapat banyak dijumpai di wilayah Asia seperti di Vietnam, Thailand dan Cina. Menurut Kementerian Kelautan Perikanan (2013) bahwa produksi budidaya ikan patin dari tahun ke tahun mengalami peningkatan. Jadi produksi ikan patin tahun 2006 mencapai 31.490 ton/tahun dan meningkat hingga 651.000 ton/tahun pada tahun 2012. Potensi patin sebagai ikan budidaya memiliki beberapa keunggulan yaitu mudah berkembangbiak, mempunyai kemampuan adaptasi terhadap lingkungan dan pertumbuhan relative.

Selama kegiatan budidaya berlangsung kendala yang dihadapi ialah penyakit yang mempengaruhi produktifitas budidaya. Salah satunya adalah bakteri *A. hydrophylla*. Bakteri ini menyerang salah satu ikan air tawar yaitu ikan patin. *A. hydrophylla* merupakan bakteri patogen yang sering ditemukan di air tawar dan sebagai penyebab 80-100% tingkat kematian ikan dalam waktu yang cepat. Cairan racun tidak dikeluarkan oleh beberapa bakteri golongan gram negatif, namun apabila sel pecah atau mati akan mengakibatkan endotoksin dilepaskan. Enzim ekstraseluler dihasilkan oleh bakteri untuk menyerang ikan sehat.

Kawista (*L. acidissima*) merupakan tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Radikal bebas dapat dicegah dengan pemberian zat antioksidan, dimana dapat terjadi kerusakan fungsi organ apabila radikal bebas ini masuk ke dalam tubuh. Aktivitas antioksidan pada daun kawista diduga karena adanya fenolik, flavonoid, triterpenoid, alkaloid dan tannin yang merupakan senyawa metabolit sekunder.

Berdasarkan penelitian sebelumnya alkaloid pada daun kawista merupakan golongan zat yang paling besar yang mempunyai aktivitas bakteri, alkaloid berfungsi untuk merusak peptidoglikan pada sel bakteri yang menyebabkan kematian pada sel. Saponin termasuk zat antibakteri yang dapat menyebabkan kerusakan membrane sel pada bakteri dan menyebabkan keluarnya protein, asam nukleat dan nukleotida yang merupakan komponen penting untuk sel bakteri. Flavonoid mampu merusak permeabilitas membrane sel bakteri dan dapat menghambat mortalitas bakteri. Toksisitas tannin dapat merusak membrane sel bakteri, senyawa astringent tannin dapat menginduksi pembentukan kompleks ikatan tannin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tannin sendiri.

2. Bahan dan Metode

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 60 hari dari tanggal 25 Mei - 24 Juli 2022, yang bertempat di Laboratorium Produksi dan Reproduksi Ikan dan Laboratorium Kesehatan Ikan, Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram. Untuk uji fitokimia dan pembuatan ekstrak daun kawista dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium Kimia Dasar, Fakultas MIPA, Universitas Mataram.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain; haemocytometer, haemometer, hematokrit, mikroskop, mikropipet, spektrofotometer, syringe 1 ml, dan timbangan analitik. Bahan yang digunakan antara lain; benih ikan patin, ekstrak daun kawista, *Bakteri Aeomonas hydrophila*, Bakteri *Streptococcus* sp., alkohol 95%, antikoagulan, etanol 96%, NaCl 0.9%, Media NA (*Nutrient Agar*), Media TSB (*Tryptic Soy Borth*), pakan HI Pro Vite FF-999.

2.3 Metode penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode Rancangan Acak Lengkap menggunakan 5 perlakuan dengan masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan, sehingga diperoleh 15 unit Percobaan antara lain:

K- :Tidak diberikan ekstrak daun kawista dan diinjeksi NaCl 0.9%

K+ :Tidak diberikan ekstrak daun kawista dan diinjeksi bakteri *A. hydrophila*

P1 :Penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis 0.5% dan diinjeksi bakteri *A. hydrophila*

P2 :Penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis 1% dan diinjeksi bakteri *A. hydrophila*

P3 :Penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis 2% dan diinjeksi bakteri *A. hydrophila*

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Persiapan Wadah dan Hewan Uji

Pada kegiatan ini wadah yang digunakan berupa container sebagai tempat untuk pemeliharaan ikan patin. Bak container yang digunakan berkapasitas 20 L dengan ukuran container 40x30x30 cm sebanyak 15 unit. Kontainer dibersihkan menggunakan air yang bersih, lalu dikeringkan di bawah sinar matahari. Kemudian bak container ditata dengan rapi lalu diisi dengan air dan dipasang selang aerasi yang bertujuan untuk menambah suplai oksigen pada ikan. Dalam penelitian ini digunakan hewan uji ikan patin sebanyak 300 ekor, disetiap kontainer ditebar dengan kepadatan sebanyak 20 ekor/20L air dengan ukuran 5-7 cm. Sebelum ikan ditebar ke dalam container, kantong ikan diapungkan dalam container yang telah diisi air selama 15-20 menit untuk diaklimatisasi. Proses aklimatisasi ini bertujuan untuk menyesuaikan kondisi lingkungan yang berbeda (dari lingkungan lama ke lingkungan yang terbaru) sehingga kondisi tersebut tidak menimbulkan stress bagi ikan. Kemudian ikan patin ditimbang berat dan diukur panjangnya setelah itu ditebar ke dalam container lalu dipuaskan selama 1 hari sebelum diberi pakan.

2.4.2 Pembuatan Ekstrak Daun Kawista

Pembuatan ekstrak daun kawista menggunakan cara meserasi dengan perbandingan 1 : 4 (1 kg daun kawista : 4 liter Etanol) selama 3 x 24 jam. Selama perendaman dilakukan pengadukan 2 kali sehari agar tercampur rata. Setelah itu, bahan disaring menggunakan kertas saring jenis Whatman Nomor 1 agar diperoleh larutan tanpa ampas. Kemudian hasil saringan dimasukkan pada labu evaporator, lalu diuapkan pada alat rotary evaporator dengan

suhu 50°C atau sampai didapatkan ekstrak yang pekat dengan metode evaporasi. Ekstrak yang dihasilkan dimasukkan ke dalam botol sampel

2.4.3 Persiapan Pakan dengan Ekstrak Daun Kawista

Selama pemeliharaan ikan diberikan pakan Hi Pro Vite yang dicampurkan dengan ekstrak daun kawista dengan masing-masing dosis pemberian pakan yaitu 5% dari biomassa. Pakan ditimbang terlebih dahulu kemudian dimasukkan ke dalam plastic zipper dan dicampurkan dengan ekstrak menggunakan mikropipet (20-200 μ) sesuai dengan dosis perlakuan yaitu 0,5%, 1% dan 2% dari total pakan yang diberikan. Pakan yang diberikan dengan berat 5% berasal dari bobot ikan setiap 10 hari terakhir. Pemberian pakan dilakukan sebanyak 3 kali dalam sehari yaitu 08.00, 13.00 dan 17.00.

2.4.4 Pemeliharaan Ikan

Ikan patin dipelihara selama 50 hari. Pemberian pakan pada ikan patin dilakukan sebanyak 3 kali sehari yaitu pagi, siang dan sore. Metode pemberian pakan yang digunakan adalah metode *Restricted feed*, yaitu diberikan sesuai dengan bobot tubuh ikan sebanyak 5% dari biomassa ikan yang diberikan selama pemeliharaan. Jumlah air yang diambil dalam kegiatan penyiponan sebanyak 30% dari total air. Untuk pergantian air dilakukan setiap 10 hari sekali dengan melakukan pergantian total. Setiap 10 hari sekali dengan dilakukan sampling panjang dan berat ikan serta pengukuran kualitas air.

2.4.5 Persiapan Bakteri Uji

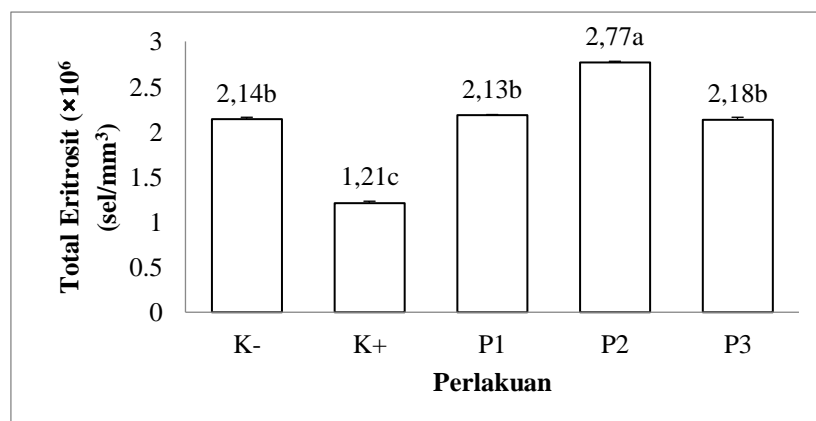
Adapun tahapan persiapan bakteri yang dilakukan yaitu pembuatan media, peremajaan bakteri, dan pengenceran bakteri. Untuk peremajaan bakteri *A. hydrophila* dan *Streptococcus* sp. digunakan media NA (*Nutrient Agar*), dan untuk pengenceran bakteri digunakan media TSB (*Tryptic Soy Borth*).

2.4.6 Uji Tantang

Setelah ikan patin di pelihara selama 50 hari, dilakukan uji tantang pada hari ke 51 dengan menggunakan suntikan dengan ketelitian 1 mL. Ikan yang di uji tantang dengan bakteri *A. hydrophylla* disuntikkan secara *intramuscular* mendekati bagian sirip punggung ikan dengan dosis 0,1 mL/ekor.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Total Eritrosit



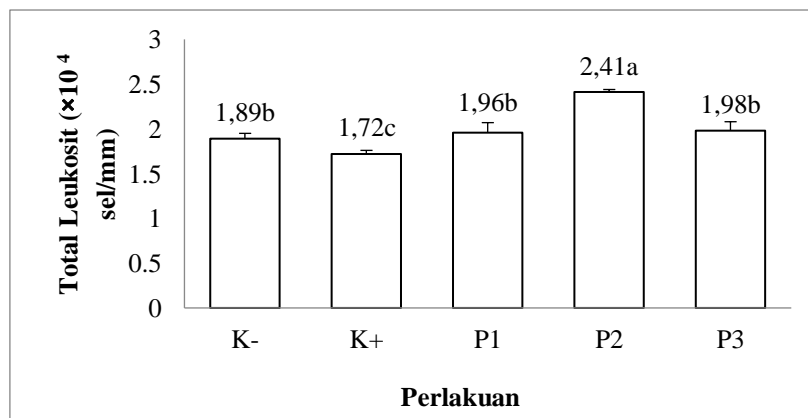
Gambar 1. Rata-rata Nilai Total Eritrosit Ikan Patin

Hasil yang diperoleh pada Gambar 1 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai

eritrosit yang diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophylla*. Nilai tertinggi eritrosit terdapat pada P2 yaitu sebesar $2,77 \times 10^6$ sel/ mm³, namun P3, P1 dan K- memiliki nilai total eritrosit tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan masing-masing nilai $2,13 \times 10^6$ sel/mm³, $2,18 \times 10^6$ sel/mm³ dan $2,14 \times 10^6$ sel/mm³. Kemudian K+ memiliki nilai eritrosit terendah dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan yaitu sebesar $1,21 \times 10^6$ sel/mm³.

Hasil pengamatan total eritrosit ikan patin menunjukkan bahwa pada perlakuan K+ menunjukkan nilai terendah yaitu $1,21 \times 10^6$ sel/mm³, rendahnya total eritrosit diduga karena ikan mengalami stress yang disebabkan adanya patogen yang masuk dalam tubuh ikan berupa bakteri *A. hydrophila* sehingga menyebabkan terjadinya anemia. Sesuai pernyataan Susandi *et al.*, (2017) rendahnya nilai eritrosit disebabkan karena terjadinya anemia. Selanjutnya didukung oleh pernyataan Sukandar (2019) bahwa menurunnya jumlah eritrosit dipengaruhi oleh infeksi *A. hydrophila* sehingga menyebabkan organ hati, limpa dan sumsum tulang belakang yang berfungsi sebagai pembentuk sel eritrosit. Sedangkan nilai eritrosit tertinggi pada P2 yakni sebesar $2,77 \times 10^6$ sel/mm³, diduga karena adanya kandungan ekstrak daun kawista yang berperan penting sebagai imunostimulan yang masuk kedalam tubuh ikan, sehingga dapat meningkatkan jumlah eritrosit. Hal ini sesuai dengan pendapat Ridwanuloh (2018) bahwa daun kawista mengandung senyawa fitokimia berupa alkaloid, flavonoid, tannin, fenol, polifenol dan steroid. Menurut Putranto *et al.*, (2019) bahwa kandungan flavonoid dapat meningkatkan produksi profil darah ikan sehingga dapat memacu sebagai sistem imun ikan.

3.2 Total Leukosit



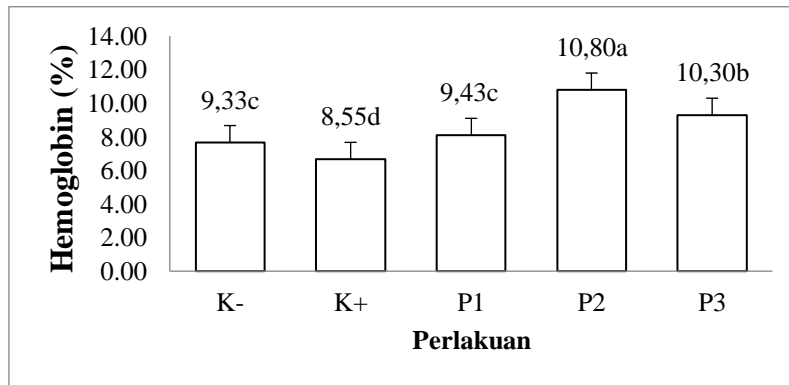
Gambar 2. Rata-rata Nilai Leukosit Ikan Patin

Hasil yang diperoleh pada Gambar 2 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai leukosit yang diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophylla*. Nilai tertinggi leukosit terdapat pada P2 yaitu sebesar $2,41 \times 10^4$ sel/ mm³, namun P3, P1 dan K- memiliki nilai total leukosit tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan masing-masing nilai $1,98 \times 10^4$ sel/mm³, $1,96 \times 10^4$ sel/mm³ dan $1,89 \times 10^4$ sel/mm³. Kemudian K+ memiliki nilai leukosit terendah dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan yaitu sebesar $1,72 \times 10^4$ sel/mm³.

Hasil pengamatan total leukosit ikan patin menunjukkan bahwa pada perlakuan P2 menunjukkan nilai tertinggi yaitu $2,41 \times 10^4$ sel/mm³, tingginya total leukosit diduga karena adanya pemberian ekstrak daun kawista yang dapat meningkatkan jumlah leukosit, karena disebabkan adanya senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid mampu menstimulasi jumlah leukosit dalam pertahanan tubuh ikan. Menurut Maryani *et al.*, (2021) peningkatan nilai produksi leukosit disebabkan adanya senyawa flavonoid, senyawa ini berfungsi dalam meningkatkan system imun karena leukosit berperan sebagai pemakan benda asing yang cepat. Nilai leukosit akan tinggi jika terjadinya infeksi pada tubuh ikan sehingga memberikan

upaya untuk melawannya. Meningkatnya leukosit berhubungan dengan system imun mereduksi serangan patogen. Apabila semakin tinggi serangan patogen maka semakin tinggi pula nilai produksi leukosit ikan (Azhar, 2014). Sedangkan K⁺ menunjukkan nilai terendah yaitu $1,72 \times 10^4$ sel/mm³, rendahnya total leukosit diduga karena terjadinya infeksi bakteri. Hal ini sejalan dengan pendapat Utami *et al.* (2013) menyatakan bahwa jumlah leukosit yang menurun pada sel darah disebabkan karena berpindah ke tempat yang terinfeksi.

3.3 Hemoglobin

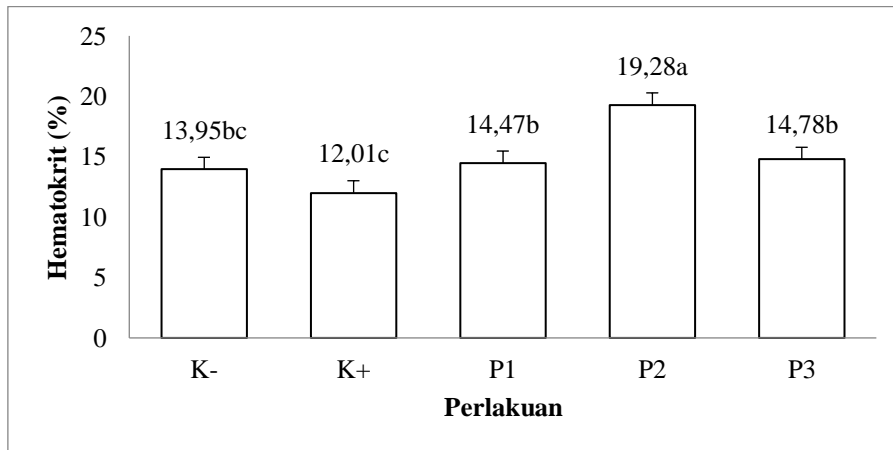


Gambar 3. Rata-rata Nilai Hemoglobin Ikan Patin

Hasil yang diperoleh pada Gambar 3 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis yang berbeda berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai hemoglobin pada ikan patin yang diinjeksi bakteri *A. hydrophilla*. P2 memiliki nilai hemoglobin tertinggi dan berbeda ($p < 0,05$) dari semua perlakuan yaitu sebesar 10,80%, kemudian P3 memiliki nilai hemoglobin yaitu sebesar 10,30% dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan, kemudian P1 dan K- memiliki nilai hemoglobin yang tidak berbeda ($p > 0,05$) yaitu dengan masing-masing nilai sebesar 9,43% dan 9,33%. Kemudian K+ memiliki nilai hemoglobin terendah dan berbeda ($p < 0,05$) dari semua perlakuan yaitu sebesar 8,55%.

Hasil pengamatan hemoglobin ikan patin menunjukkan bahwa pada perlakuan P2 menunjukkan nilai tertinggi yaitu 10,80%, tingginya nilai hemoglobin diduga karena adanya kandungan flavonoid yang berperan dalam darah ikan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wahjuningrum *et al.*, (2008) dalam Safitri *et al.*, (2013) peningkatan nilai hemoglobin dikarenakan adanya zat yang terkandung dalam ekstrak daun kawista seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid dan steroid yang terkandung sebagai antibakteria dan immunostimulan yang mampu meningkatkan nilai hemoglobin. Sedangkan K+ menunjukkan nilai terendah yaitu 8,55%, hal ini diduga karena tidak diberikan ekstrak daun kawista dan diinjeksi bakteri *A. hydrophilla*, sehingga menyebabkan ikan stress dan kekurangan nafsu makan. Menurut Prasetyo *et al.*, (2017) bahwa menurunnya nilai hemoglobin mengakibatkan metabolisme rendah dan energi yang didapatkan sedikit sehingga hal ini yang menyebabkan ikan menjadi lemah, kurangnya nafsu makan serta ikan terlihat berada dipermukaan air.

3.4 Hematokrit

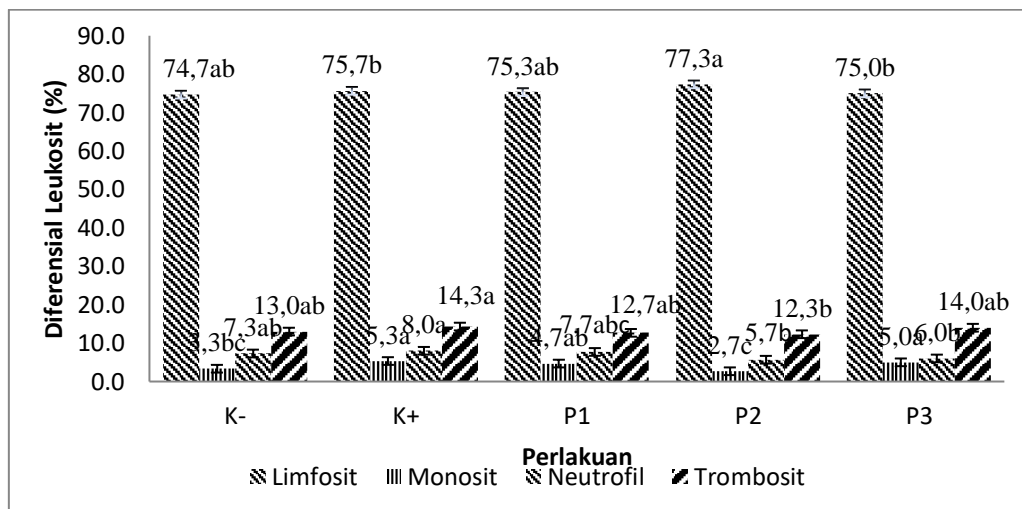


Gambar 4. Rata-rata Nilai Hematokrit Ikan Patin

Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis yang berbeda berpengaruh ($p < 0.05$) terhadap nilai hematokrit yang diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Pada Gambar 4.4 menunjukkan bahwa P2 memiliki nilai hematokrit tertinggi dari semua perlakuan yakni sebesar 19,28%, namun P3 dan P1 memiliki nilai hematokrit tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan masing-masing nilai 14,78% dan 14,47%, P3 dan P1 memiliki nilai hematokrit 14,78% dan 14,47%, namun tidak berbeda dengan K- yang memiliki nilai sebesar 13,95%, kemudian K+ memiliki nilai hematokrit terendah sebesar 12,01%. tetapi tidak berbeda ($p > 0.05$) dengan K- sebesar 13,95%.

Hasil pengamatan hematokrit ikan patin menunjukkan bahwa pada perlakuan K+ menunjukkan nilai terendah yaitu 12,01%, rendahnya nilai hematokrit diduga karena ikan mengalami stres. Hal ini sesuai dengan pendapat Azhar (2014) rendahnya nilai hematokrit membuktikan bahwa ikan tersebut mengalami stres, terjadinya anemia dan terjadi infeksi, sehingga menyebabkan penurunan hematokrit darah. Sedangkan P2 menunjukkan nilai tertinggi yaitu 19,28%. Menurut Royan *et al.*, (2014) meningkatnya kadar hematokrit disebabkan karena adanya pemberian ekstrak yang mengandung flavonoid, ikan sudah beradaptasi dengan lingkungan baru dan memiliki nutrisi dalam tubuhnya.

3.5 Diferensial Leukosit



Gambar 4.5. Rata-rata Nilai Diferensial Leukosit Ikan Patin
Keterangan : Nilai dengan *superscript* yang berbeda pada jenis sel

yang sama menunjukkan adanya pengaruh ($p < 0,05$)

Hasil pengamatan difrensial leukosit terbagi menjadi 4 bagian sel yakni limfosit, monosit, neutrofil dan trombosit. Dapat dilihat pada Gambar 4.5 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun komak pada pakan dengan dosis yang berbeda berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai difrensial leukosit ikan patin yang diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila* baik itu pada sel limfosit, monosit, neutrofil dan trombosit. Nilai tertinggi limfosit terdapat pada P2 dan tidak berbeda dengan P1 dan K- ($p > 0,05$) dengan masing-masing nilai 77,3%, 75,3% dan 74,7%. Selanjutnya P1 dan K- tidak berbeda dengan P3 dan K+ ($p > 0,05$) yaitu 75,0% dan 75,7%. Pada sel monosit tertinggi terdapat pada K+ dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan yaitu 5,3% dan tidak berbeda ($p > 0,05$) P3, P1 dan K- dengan masing-masing nilai 5,0%, 4,7% dan 3,3%, akan tetapi pada P2 memiliki nilai monosit terendah dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan K- dengan nilai 2,7% dan 3,3%. Sel neutrofil pada K+ memiliki nilai tertinggi dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan K+ dan P1 dengan masing-masing nilai 8,0%, 7,7%, dan 7,3%. Kemudian P2 memiliki nilai neutrofil terendah dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P3 dan P1 dengan masing-masing nilai 5,7%, 6,0% dan 7,3%. Sel trombosit pada K+ memiliki nilai trombosit tertinggi dan tidak berbeda dengan K-, P1 dan P3 yaitu dengan masing-masing nilai 14,3%, 13,0%, 12,7% dan 14,0%. Kemudian K- dan P2 memiliki nilai trombosit tidak berbeda dengan nilai 13,0% dan 12,3%.

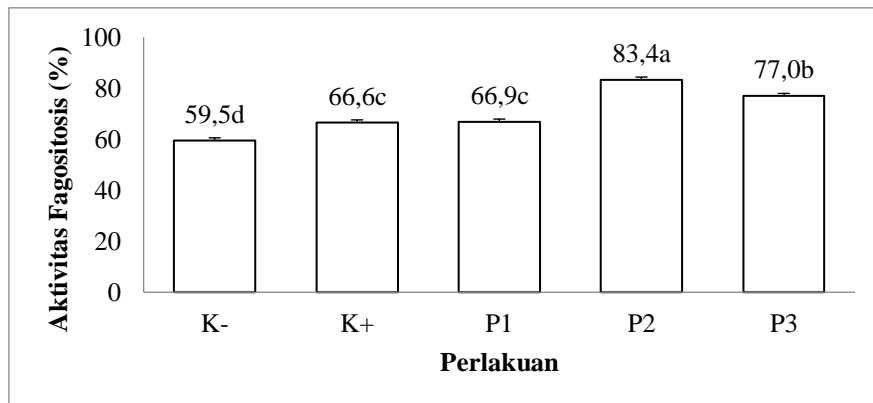
Menurut Utami *et al.*, (2013) limfosit berperan sebagai indikator dalam pertahanan tubuh yang berfungsi sebagai sistem kekebalan non spesifik yang dapat melindungi tubuh dari serangan mikroba. Hasil pengamatan limfosit ikan patin menunjukkan bahwa pada perlakuan K- menunjukkan nilai terendah yaitu 74,7% dan P2 menunjukkan nilai tertinggi yaitu 77,3%, tingginya nilai limfosit membuktikan bahwa pemberian bahan alami sebagai imunostimulan dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh ikan yang terserang bakteri *A. hydrophylla* (Darma *et al.*, 2014). Hal ini sependapat dengan pernyataan Rustikawati (2012) bahwa terjadinya peningkatan sel limfosit diduga karena adanya ekstrak kawista yang fungsinya sebagai imunostimulan, sehingga dapat merangsang dalam membentuk sistem kekebalan non spesifik. Menurut Azhar (2014) bahwa jumlah limfosit akan berkurang jika terjadinya penurunan konsentrasi antibodi.

Menurut Utami *et al.*, (2013) monosit berfungsi untuk memakan zat-zat yang masuk ke dalam tubuh ikan dan memberikan peringatan mengenai serangan penyakit pada leukosit. Hasil pengamatan monosit ikan patin menunjukkan bahwa pada perlakuan P2 menunjukkan nilai terendah yaitu 2,7% dan K+ menunjukkan nilai tertinggi yaitu 5,3%, tingginya nilai monosit diduga karena ikan mengalami infeksi bakteri *A. hydrophylla*. Sesuai pendapat Utami *et al.*, (2013) bahwa infeksi yang masuk ke dalam tubuh ikan dapat meningkatkan sel darah putih sehingga menghasilkan nilai monosit yang banyak. Menurut Hartika *et al.*, (2014) bahwa rendahnya nilai monosit disebabkan ikan dalam kondisi sehat, oleh sebab itu tidak dibutuhkan sel monosit yang memfagosit karena tidak ada infeksi bakteri yang masuk sehingga belum adanya rangsangan dari benda asing untuk memproduksi monosit.

Menurut Utami *et al.*, (2013) neutrofil berperan penting dalam mekanisme pertahanan tubuh. Peningkatan sel neutrofil terjadi karena adanya infeksi pada tubuh ikan. Hasil pengamatan neutrofil ikan patin menunjukkan bahwa pada perlakuan P2 menunjukkan nilai terendah yaitu 5,7% dan K+ menunjukkan nilai tertinggi yaitu 8,0%, meningkatnya jumlah neutrofil diduga karena adanya peningkatan makrofag yang terjadinya di tempat infeksi, sehingga memudahkan makrofag untuk dihancurkan oleh partikel asing. Terjadinya penurunan nilai neutrofil dikarenakan adanya kandungan senyawa fitokimia pada daun kawista. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Riswan *et al.*, (2021) bahwa senyawa fitokimia berupa flavonoid, fenol dan alkaloid berpengaruh terhadap sel neutrofil, sehingga sel tersebut bekerja aktif pada daerah yang terjadinya luka dan sel neutrofil yang terdapat pada sirkulasi darah akan sedikit.

Menurut Salim *et al.*, (2016) sel trombosit berfungsi untuk membantu dalam proses pembekuan darah dengan tujuan agar tidak terjadi pendarahan. Hasil pengamatan trombosit ikan patin menunjukkan bahwa pada perlakuan P2 menunjukkan nilai terendah yaitu 7,7% dan K+ menunjukkan nilai tertinggi yaitu 10,3%, tingginya nilai trombosit diduga karena ikan tengah mengalami luka. Sesuai pendapat Kurniawan *et al.*, (2020) bahwa trombosit memiliki fungsi sebagai penutupan luka, jika trombosit tinggi makan ikan tengah mengalami luka atau pendarahan. Sedangkan jika nilai trombosit mengalami penurunan disebabkan karena adanya kandungan senyawa metabolit yang dapat berperan dalam penyembuhan luka.

3.6 Aktivitas Fagositosis

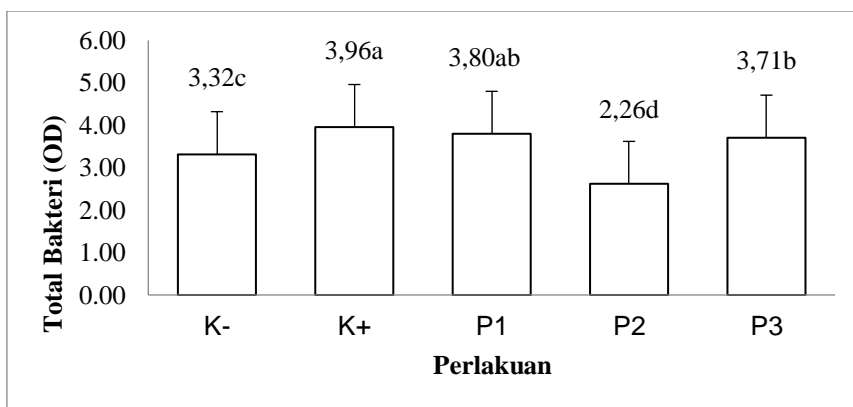


Gambar 6. Rata-rata Nilai Aktivitas Fagositosis Ikan Patin

Hasil yang didapatkan pada Gambar 6 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis yang berbeda dapat berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai aktivitas fagoitosis pada ikan patin yang diinjeksi bakteri *A. hydrohila*. Pada P2 memiliki nilai aktivitas fagoitosis tertinggi dan berbeda ($p < 0,05$) dari semua perlakuan yaitu sebesar 83,4%, kemudian P3 memiliki nilai aktivitas fagoitosis yaitu sebesar 77,0% dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan, kemudian P1 dan K+ memiliki nilai aktivitas fagoitosis tidak berbeda ($p > 0,05$) yaitu dengan masing-masing nilai 66,9% dan 66,6%, kemudian K- memiliki nilai aktivitas fagoitosis terendah dan berbeda ($p < 0,05$) dari semua perlakuan yaitu sebesar 59,5%.

Hasil pengamatan aktifitas fagositosis ikan patin menunjukkan bahwa pada perlakuan K+ menunjukkan nilai terendah 59,5% sedangkan P2 menunjukkan nilai tertinggi yaitu 83,4%, terjadinya peningkatan nilai aktivitas fagositosis diduga adanya sistem imun yang memberikan perlawanan terhadap patogen yang masuk pada tubuh ikan. Sesuai dengan pendapat Sukenda *et al.*, (2014) bahwa meningkatnya aktifitas fagositosis disebabkan sistem imun ikan masih memberikan perlawanan terhadap infeksi bakteri, sehingga nilai leukosit yang terinfeksi bakteri akan meningkat sebagai upaya pertahanan tubuh.

3.7 Total Bakteri

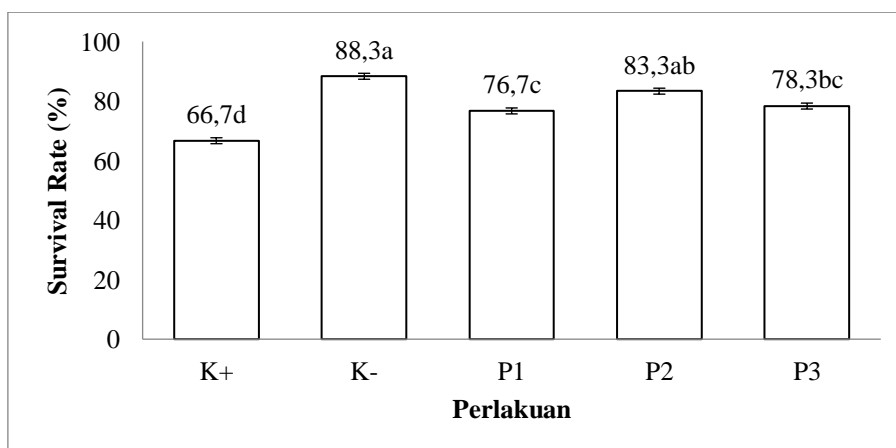


Gambar 7. Rata-rata Nilai Total Bakteri Ikan Patin

Hasil yang didapatkan pada Gambar 4.7 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis yang berbeda dapat berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap nilai total bakteri pada ikan patin yang diinjeksi bakteri *A. hydrophilla*. Pada K+ memiliki nilai total bakteri tertinggi sebesar (OD_{620} 3,96), namun tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P1 memiliki nilai sebesar (OD_{620} 3,80), P1 memiliki nilai total bakteri sebesar (OD_{620} 3,80), namun tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P3 (OD_{620} 3,71), kemudian K- memiliki yang memiliki nilai sebesar (OD_{620} 3,32) dan berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan, kemudian P2 memiliki nilai total bakteri terendah dan berbeda ($p < 0,05$) dari semua perlakuan yaitu sebesar (OD_{620} 2,26) pada P3 memiliki nilai total bakteri sebesar (OD_{620} 3,71) dan tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan K- dengan nilai sebesar (OD_{620} 3,32).

Hasil pengamatan total bakteri menunjukkan bahwa pada perlakuan P2 menunjukkan nilai terendah yaitu OD_{620} 2,62 sedangkan K+ menunjukkan nilai tertinggi yaitu OD_{620} 3,96, terjadinya peningkatan total bakteri diduga karena tidak adanya pemberian pakan yang dicampurkan ekstrak daun kawista yang mengandung senyawa antibiotik sehingga menyebabkan terjadinya infeksi bakteri, sedangkan rendahnya nilai total bakteri disebabkan oleh adanya pemberian pakan dengan campuran ekstrak daun kawista, daun kawista memiliki kandungan senyawa flavonoid, Alkaloid, terpenoid dan steroid yang berfungsi sebagai antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini sesuai dengan Mawddah *et al.* (2018) menyatakan bahwa antibiotik memiliki peranan aktif untuk mengatasi infeksi bakteri, dengan adanya senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun kawista berupa antibiotik mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi.

3.8 Survival Rate



Gambar 4.8. Rata-rata Nilai Survival Rate Ikan Patin

Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun komak pada pakan dengan dosis yang berbeda berpengaruh ($p < 0.05$) terhadap nilai survival rate yang diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Pada Gambar 4.8 menunjukkan bahwa K- memiliki nilai survival rate 88,33% tertinggi dari semua perlakuan yakni sebesar 88,33% ,namun tidak berbeda ($p > 0.05$) dengan P2 memiliki nilai sebesar 83,3%, P2 memiliki nilai survival rate sebesar 83,3%, namun tidak berbeda ($p > 0.05$) dengan P3 yang memiliki nilai sebesar 78,3%, kemudian P3 dan P1 memiliki nilai survival rate tidak berbeda ($p > 0.05$) dengan masing-masing nilai 78,3% dan 76,7%, kemudian K+ memiliki nilai survival rate terendah dan berbeda ($p < 0,05$) dari semua perlakuan yaitu sebesar 66,7%.

Hasil perhitungan SR, selama pemeliharaan nilai SR tertinggi didapatkan pada perlakuan P2 yakni dengan nilai 88,3%, sedangkan nilai SR terendah didapatkan pada perlakuan K+ yakni dengan nilai 66,7%. P2 merupakan perlakuan dengan SR terbaik. Hal ini dikarenakan adanya pemberian ekstrak daun kawista pada pakan yang memiliki senyawa aktif salah satunya flavonoid. Menurut Maryani *et al.*,(2021) bahwa kandungan flavonoid berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri, menghambat produksi enteroksin dan memacu system imun ikan. Fungsi flavonoid sebagai immunostimulator selain menghambat pertumbuhan bakteri juga untuk memacu sistem imun. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rosmawati *et al.* (2016) menyatakan bahwa adanya immunostimulator menjadikan ikan memiliki gejala klinis seperti nafsu makannya meningkat sehingga ikan tetap dapat menggunakan energi untuk kelangsungan hidupnya tanpa terganggu dengan aktivitas pertahanan diri setelah diinjeksi bakteri. Sedangkan pada K+ nilai kelangsungan hidup SR yang didapat paling rendah karena pada perlakuan ini hanya dilakukan injeksi bakteri tanpa adanya pemberian ekstrak daun kawista. Sehingga ikan hanya mengandalkan sistem imun bawaanya tanpa ada immunostimulator.

4. KESIMPULAN

Penggunaan ekstrak daun kawista dengan dosis 1% pada pakan mampu meningkatkan sistem imun ikan patin yang diinjeksi bakteri *A. hydrophilla*. Adapun nilai yang diperoleh yaitu total eritrosit sebesar $2,77 \times 10^6$ sel/mm³, nilai total leukosit sebesar $2,41 \times 10^4$ sel/mm³, hemoglobin sebesar 10,80%, hematokrit sebesar 19,28%, diferensial leukosit seperti limfosit sebesar 77,3%, monosit sebesar 5,3%. neutrofil sebesar 8,0%, trombosit sebesar 14,3%, aktivitas fagositosis sebesar 83,4%, total bakteri sebesar OD₆₂₀ 3,96 dan survival rate sebesar 88,3%.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Azhar F. 2014. Pengaruh Pemberian Probiotik dan Prebiotik Terhadap Performan Juvenile ikan Kerapu Bebek (*Comileptes altivelis*). *Buletin Veteriner Udayana*. 6: 1–9.
- Darma R.G., Sarjito., Haditomo A.H.C. 2014. Efikasi Perendaman Ekstrak Sambilotto (*Andrographis Paniculata* Ness) Dengan Salinitas Berbeda Dan Pengaruhnya Pada Kelulushidupan Serta Indeks Fagositosis Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Journal Of Aquaculture Management And Technology*. 3: 22-229.
- Hartika R., Mustahil., 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
- 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.
- Mawaddah, N., Fakhurrazi., Rosmaidar. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tempe Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *JIMVET*, 2(3) : 230-241.
- Prasetio E., Fakhruddin M., Hasan H. 2017. Pengaruh Serbuk Lidah Buaya (*Aloe Vera*) Terhadap Hematologi Ikan Jelawat (*Leptobarbus Hoevenii*) Yang Diuji Tantang Bakteri *Aeromonas Hydrophila*. *Jurnal Ruaya*. 5: 44-54.
- Putranto W. D., Syaputra D., Prasetyono E. 2019. Blood Preview Of Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) Given Fortified Feed Of Salam Leaf (*Syzygium*
- Ridwanuloh D., Mursal I. L. P. 2018. *Isolasi Metabolit Sekunder Dari Daun Kawista (Limonia Acidissima L.)*. 3: 159–163.
- Riswan M., Lukistyowati I., Syawal H. 2021. Diferensiasi Leukosit Ikan Komet (*Carassius auratus*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan Pascapengobatan dengan Larutan Propolis. *Jurnal Natur Indonesia*. 19:, 6–12.
- Rosmawaty, R., Rosidah., Evi, L. 2016. Peanfaatan Ekstrak Kulit Jengkol dalam Pakan Ikan untuk Meningkatkan Imunitas Benih Gurame (*Osphronemus gouramy*) Terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan Kelautan*, 7(1); 14-22.
- Royan F., Rejeki S., Haditomo A.H.C. 2014. Pengaruh Salinitas Yang Berbeda Terhadap Profil Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal Of Aquaculture Management And Technology*. 3 : 109-117.
- Rustikawati I. 2012. Efektivitas Ekstrak Sargassum Sp. Terhadap Diferensiasi Leukosit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diinfeksi *Streptococcus Iniae*. *Jurnal Akuatika Indonesia*, 3: 125-134.
- Safitri D., Sugito., Suryaningsih S. 2013. Kadar Hemoglobin Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Yang Diberi Cekaman Panas Dan Pakan Yang Disuplementasikan Tepung Daun Jaloh (*Salix Tetrasperma Roxb*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 7: 39-41.
- Salim M.A., Nur I., Indris M. 2016. Pengaruh Peningkatan Salinitas secara Bertahap terhadap Diferensial Leukosit pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Media Akuatika*. 4: 152-158.
- Sukenda., Febriansyah T.R., Nuryati S. 2014. Efikasi vaksin sel utuh *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila *Oreochromis sp.* melalui perendaman. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 13: 83–93
- Sukandar A.F., Mulyana., Mumpuni F.S. 2019. Gambaran Darah Ikan Nilem (*Osteochilus Hasselti Cv*) Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila*. *Jurnal Sosial Humaniora*. 10: 76-83
- Susandi F., Mulyana., Rosmawati. 2017. Peningkatan Imunitas Benih Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy Lac.*) Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* Menggunakan Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*). *Jurnal Mina Sains*. 3: 1-13.
- Utami D.T., Prayitno S.B., Hastuti S., Santika A. 2013. Gambaran Parameter Hematologis Pada Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Yang Diberi Vaksin Dna *Streptococcus Iniae* Dengan Dosis Yang Berbeda. *Journal Of Aquaculture Management And Technology*. 2 : 7-20.