

# Effectiveness of Komak Leaf Extract (*Lablab purpureus*) Against the Immune System of Freshwater Pomfret (*Colosoma macropomum*) Injection with *Aeromonas hydrophila* Bacteria

Krisna Ginaldi\*<sup>1</sup>, Fariq Azhar<sup>2</sup>, Bagus Dwi Hari Setyono<sup>2</sup>

Aquaculture Study Program, Faculty of Agriculture, University of Mataram

Jln. Pendidikan No. 37 City of Mataram West Nusa Tenggara Indonesia

Correspondence Email Address: krisnaginaldi12@gmail.com

## Abstract

Freshwater pomfret is a fish introduced to the Amazon river, South America. This fish has been widely cultivated in its area of origin and in Indonesia because it has several advantages such as having economic value, relatively fast growth, and good appetite. However, the obstacle that is often faced in cultivating pomfret is disease. One of the diseases that often attacks freshwater pomfret is Motile Aeromonas Septichaemia (MAS), which is a disease in fish caused by pathogenic bacteria of the type (*Aeromonas* sp.). This study aims to determine the effectiveness of giving komak leaf extract (*Lablab purpureus*) to the immune system of freshwater pomfret (*Colosoma macropomum*) infected with *Aeromonas hydrophila* bacteria. The method used in this research is experimental. The experimental method is carried out by directly observing the effect of the treatment given. The design used in this study was a completely randomized design (CRD) using 5 treatments and 3 replications, so that 15 experimental units were obtained. The conclusion of this study is the effectiveness of the leaf extract of the komak (*Lablab purpureus*) against the immune system of freshwater pomfret (*Colosoma macropomum*) which was injected with the bacteria *Aeromonas hydrophila* which gave significant results ( $P < 0.05$ ) to the total number of red blood cells (Erythrocytes), total white blood cells (leukocytes), hemoglobin (Hb) level, hematocrit, leukocyte differential, phagocytosis effectiveness, total bacteria and survival rate (SR).

**Keywords:** Freshwater pomfret, aeromonas bacteria, komak leaf extract, immune system

## PENDAHULUAN

Ikan bawal adalah ikan yang diintroduksi pada sungai Amazon, Amerika Selatan. Ikan ini sudah banyak dibudidayakan di daerah asalnya dan di Indonesia karena memiliki beberapa keunggulan seperti pertumbuhan yang relatif tinggi, nafsu makan baik, dan cukup kuat terhadap penyakit (Santoso & Agusmansyah, 2011). Namun, tetap saja dari keunggulan tersebut, khususnya ketahanan ikan terhadap penyakit. Apabila kualitas air dalam lingkungan budidaya kurang baik, dapat mengakibatkan ikan bawal air tawar terserang oleh patogen atau penyakit. Salah satu penyakit diketahui dapat menyerang ikan bawal air tawar yakni *Motile Aeromonas Septichaemia* (MAS). Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*.

*Aeromonas hydrophila* merupakan spesies bakteri yang biasa menginfeksi ikan di perairan tawar, salah satunya ialah ikan bawal air tawar. *Motile Aeromonas Septichaemia* (MAS) yakni penyakit pada ikan yang dikarenakan oleh bakteri patogen dengan jenis *Aeromonas*. Bakteri ini dapat ditemukan dimanapun khususnya pada perairan dengan kandungan organik tinggi (Lauluw *et al.*, 2018). Bakteri ini mampu menyebabkan kematian tinggi (80-100%) dalam tenggang waktu yang cepat sekitar (1-2 minggu) dan pengendalian bakteri ini sangat sulit dilakukan karena hampir terdapat di semua perairan tawar dan dapat menjadi resisten atau tahan terhadap antibiotik (Amanu *et al.*, 2014). Namun, beberapa upaya telah dilakukan untuk menangani penyakit dari bakteri patogen tersebut, baik dengan antibiotik maupun bahan alami yang mampu meningkatkan status kesehatan dan ketahanan ikan terhadap patogen.

Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai zat antimikroba adalah bagian-bagian pada tanaman komak (*Lablab purpureus*). Bagian tumbuhan seperti bunga, batang, dan daun tanaman diketahui memiliki berbagai sifat farmakologis seperti antimikroba, antioksidan, modulator imun, sitotoksik, antidiabetes, dan hipolipidemik (Priya & Jenifer, 2014). Penelitian sebelumnya dari Nasrin & Bulbul (2012) terhadap bagian daun pada tanaman komak (*L. purpureus*). Ekstrak daun komak telah diuji pada sebelas bakteri patogen manusia untuk diperiksa sifat antibakterinya dengan menggunakan metode difusi cakram. Hasilnya menunjukkan semua perlakuan ekstrak daun komak signifikan aktif

dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang menunjukkan ekstrak ini bersifat antimikroba. Adapun penelitian lain dari Al-Snafi (2019) yang menggunakan ekstrak daun komak (*L. purpureus*) untuk menguji aktivitas antibakterinya di salah satu bakteri yang sering menyerang ikan di perairan laut yakni bakteri *Vibrio mimicus* dan *V. parahemolyticus* dengan metode difusi disk. Dari hasil menunjukkan ekstrak memiliki aktivitas antimikroba dengan zona hambat sebesar 17mm.

Oleh karena itu, penelitian ini dilaksanakan guna mengetahui lebih lanjut potensi dari ekstrak daun komak sebagai antibakteri, khususnya pada pengendalian bakteri *Aeromonas hydrophila* yang diinjeksikan pada ikan bawal air tawar. Sehingga akan diperoleh efektivitas penggunaan yang optimal pada ekstrak daun komak (*L. purpureus*) dalam mengatasi penyakit dari bakteri *Aeromonas Hydrophila*. Sehingga mampu meminimalisir kematian massal pada ikan budidaya khususnya ikan bawal air tawar dan diharapkan dapat meningkatkan produksi budidaya dari ikan air tawar tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas pemberian ekstrak daun komak (*Lablab purpureus*) terhadap sistem imun dari ikan bawal air tawar (*Colossoma macropomum*) yang diinfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh pengetahuan terkait dengan efektivitas pemberian ekstrak daun komak yang optimal bagi ikan bawal yang telah diinfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* sehingga dapat bermanfaat dalam pengendalian bakteri atau patogen dalam kegiatan budidaya ataupun penelitian selanjutnya terkait dengan peningkatan sistem imun pada ikan bawal air tawar.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 60 hari pada bulan Juni - Agustus 2022. Bertempat di Laboratorium Produksi dan Reproduksi Ikan. Pengamatan Sistem Imun Ikan dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ikan, Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram. Untuk uji Fitokimia dan Pembuatan Ekstrak dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium Kimia Dasar, FMIPA Universitas Mataram.

### Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian adalah autoclave, blender, bunsen, cawan petri, cover glass, DO meter, erlenmeyer, haemositometer, haemometer, hematocrit, hot plate, jarum ose, kaca preparat, container, kertas saring, mikroskop, mikropipet, microtube, penggaris, pH meter, rotary evaporator, sentrifugator, spektrofotometer, siringe, timbangan analitik, vortex, tabung falcon, akuades, alqohol, bakteri aeromonas hydrophila, bakteri streptococcus sp., anti koagulan, ekstrak komak, darah ikan, ikan bawal, larutan giemsa, larutan hayem, larutan turk, media nutrient agar, media triptic soy broth, larutan NaCl 0.9%, larutan HCl 0.1 N, metanol 95%, HI Pro Vite FF-999, tabung hematokrit.

### Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini berupa eksperimental. Metode eksperimental yakni dilakukan dengan mengamati secara langsung pengaruh dari perlakuan yang diberikan. Rancangan yang digunakan pada penelitian ini yakni Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan 5 perlakuan dan 3 ulangan, maka totalnya 15 unit percobaan.

Tabel 3. perlakuan yang diberikan pada kegiatan penelitian :

Bahan	Kegunaan
P1 (Kontrol +)	: Tidak diberikan ekstrak daun komak dan diinjeksi dengan bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>
P2 (Kontrol -)	: Tidak diberikan ekstrak daun komak dan diinjeksi dengan Nacl 0.9%
P3	: Diberikan ekstrak daun komak dengan dosis 0.5% dan

- P4 : diinjeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*  
: Diberikan ekstrak daun komak dengan dosis 1% dan diinjeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*
- P5 : Diberikan ekstrak daun komak dengan dosis 2% dan diinjeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*
- 

## **Prosedur Penelitian**

### **Persiapan Media dan Ikan Uji**

Media yang digunakan yakni berupa kontainer dengan volume 20 liter sebanyak 15 buah. Sebelum digunakan, kontainer dibersihkan terlebih dahulu. Selanjutnya kontainer dikeringkan selama 24 jam. Kontainer yang telah kering disusun seperti denah rancangan perlakuan. Kemudian diisi air dan diberikan aerasi sebagai suplai oksigen. Untuk ikan bawal yang dipergunakan sebagai ikan uji memiliki berat awal 4-5 gram antara ukuran 5-7 cm. Ikan bawal yang akan dipergunakan sebagai ikan uji diaklimatisasi terlebih dahulu, agar terbiasa selama tiga hari pada media dan hanya diberikan pakan berupa pakan komersial. Jumlah pakan yang diberikan 5% bobot biomasa dari ikan, dan frekuensi pemberian pakan 3x dalam sehari yakni pagi, siang, dan sore hari (Utami *et al.*, 2012). Untuk sampling dan pengukuran kualitas air dilakukan sepuluh hari sekali. Terkait dengan padat penebaran, disetiap akuarium ditaruh ikan bawal air tawar sebanyak 20 ekor/kontainer (Nurhariati *et al.*, 2021).

### **Pembuatan Ekstrak Daun Komak**

Proses pembuatan ekstrak daun komak yakni diawali dengan dibersihkannya daun komak. Kemudian daun komak yang telah bersih, dikeringkan sampai mudah untuk dihancurkan. Daun komak yang telah kering, kemudian diblender serta diayak menggunakan ayakan untuk memperoleh bubuk yang lebih halus (*simplisia*). Menurut Octarina *et al.*, (2018) Tahapan yang dilakukan selanjutnya yakni menyediakan alat dan bahan seperti daun komak sebanyak 1 kg. Pembuatan ekstrak daun komak dilakukan secara maserasi dengan perbandingan 1 : 2 dan direndam di larutan Etanol 96% selama 3 x 24 jam. Kemudian dilakukan penyaringan *simplisia* setelah 3 hari. Setelah itu hasil ekstraksi diupkan ke rotary evaporator pada suhu 40-60°C.

### **Persiapan Bakteri *Aeromonas hydrophila***

Penelitian ini menggunakan bakteri *Aeromonas hydrophila* untuk diinfeksi ke ikan bawal air tawar melalui proses injeksi. Adapun langkah-langkah pada persiapan bakteri yang pertama yaitu sterilisasi alat untuk pemuntukan media pertumbuhan bakteri berupa cawan petri. Larutkan bahan untuk pemuntukan media NA (*Nutrient agar*). Larutkan bahan media ke dalam gelas ukur dengan aquades dan sterilisasi dengan menggunakan autoclave. Kemudian diamkan selama 5-10 menit supaya media mengeras. Setelah itu, cawan petri ditutup dan disimpan pada suhu ruang (Handayani & Siswanto, 2019). Sesudah media pertumbuhan jadi, maka dilakukan pengkulturan bakteri menggunakan sampel bakteri sebanyak 100 µl dimasukkan ke media NA. Semua tahap ini dikerjakan secara aseptik. Bakteri yang ada di media diinkubasi selama 24 hingga 48 jam di temperatur 37°C (Napitupulu *et al.*, 2019).

Apabila sudah dilakukan pengkulturan maka langkah selanjutnya yaitu pengenceran bakteri. Pengenceran ini dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 ose biakan bakteri *Aeromonas hydrophila* yg sudah diremajakan di media NA. Kemudian dimasukkan ke tabung reaksi yg sudah berisi 9 ml NaCl 0,9%. Setelah itu, dikocok hingga rata sampai diperoleh suspensi bakteri (Wulaisfan & Hasnawati, 2017).

### **Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Bawal Air Tawar**

Setelah ikan uji dipelihara selama 50 hari, dilakukan proses infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* terhadap ikan bawal air tawar sebanyak 0,1 mL dengan kepadatan 10<sup>8</sup> cfu/ml. Proses infeksi bakteri dengan metode penyuntikan secara intramuscular

mendekati bagian sirip punggung ikan dengan kemiringan 45° ke arah kepala ikan (Suryadi *et al.*, 2020).

### Uji Pengobatan

Proses ini diawali dengan penambahan ekstrak daun komak ke dalam pakan komersial menggunakan dosis perlakuan, yakni (0.5, 1, dan 2%), sedangkan pada kontrol (+) dan (-) tidak dikasihkan ekstrak. Terkait dengan metode penambahannya menggunakan alat berupa mikropipet (20-200 $\mu$ ). Setelah itu, pakan diaduk sampai merata. Kemudian pakan dikering anginkan dan disimpan pada suhu ruang yang tidak lembab agar terhindar dari tumbuhnya jamur pada pakan (Fadillah *et al.*, 2019).

### Parameter Penelitian

Pengamatan sistem imun darah ikan nila dilakukan pada hari ke 60 setelah ujiantang selama 10 hari. Proses Pengambilan darah ikan dilakukan pada pagi hari dengan menyiapkan syringe 1 mL dan antikoagulan. Langkah pertama yang dilakukan diambil jarum suntik, kemudian diisi 0.2 mL antikoagulan. Setelah itu, diambil darah ikan menggunakan jarum suntik yang telah berisi antikoagulan pada bagian caudal peduncle yang terletak antara bagian sirip anal dan sirip ekor ikan sebanyak 0.1 mL. Lalu darah ikan tersebut dihomogenkan menggunakan tangan dengan membentuk angka 8 selama 3 menit. Darah ikan disimpan pada cool box yang berisi es batu agar tidak terjadinya lisis pada darah ikan. Setelah itu, dilakukan pengamatan terhadap darah ikan yang telah diperoleh. Adapun parameter-parameter penelitian yang diamati sebagai berikut :

#### Total Sel Darah Merah (Eritrosit)

Cara menghitung jumlah total eritrosit dihimbau dari Blaxhall & Daisley (1973) dalam Royan *et al* (2014) yakni darah sampel diambil menggunakan pipet sahli dengan skala hingga 0,5 skala pipet, kemudian ambil larutan hayem hingga menggunakan pipet yang sama pada skala 101 skala pipet, setelah itu dihomogenkan dengan cera digoyangkan pipet membentuk putaran angka delapan selama satu menit. Tetesan pertama dibuang, kemudian teteskan pada haemositometer lalu tutup menggunakan kaca objek. Hitung di lima lapang pandang (persegi kecil yang nampak pada haemositometer di bawah mikroskop). Adapun rumus total eritrosit menurut Fitria *et al.*, (2019) sebagai berikut :

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

Keterangan:

SDM : Sel darah merah (Sel/mm<sup>3</sup>)

Ne : Jumlah eritrosit pada 5 kotak hitung

200 : Faktor pengenceran (kali)

0.02 : Volume total darah dalam 5 kotak hitung (mm<sup>3</sup>)

#### Total Sel Darah Putih (Leukosit)

Cara hitung total leukosit dihimbau dari Blaxhall & Daisley (1973) dalam Royan *et al* (2014) yakni darah sampel diambil menggunakan pipet yang terdapat bulir aduk putih sampai angka 0.5, larutan Turk's diisikan sebatas angka 11. Dicampur dengan diayunkan tangan yang pegang pipet mirip angka delapan hingga 3-5 menit atau menjadi homogen. Tetesan pertama dibuang, kemudian teteskan di kaca haemositometer, tutup menggunakan cover glass. Dihitung total leukosit pada 4 kotak kecil. Adapun rumus total leukosit menurut Fitria *et al.*, (2019) sebagai berikut :

$$SDM = \frac{NI \times 20}{0.4}$$

Keterangan:

SDM : Sel darah merah (Sel/mm<sup>3</sup>)

NI : Jumlah eritrosit pada 64 kotak hitung

- 20 : Faktor pengenceran (kali)  
 0.4 : Volume total darah dalam 4 kotak hitung (mm<sup>3</sup>)

### Hemoglobin (Hb)

Menghitung kadar hemoglobin dengan metode sahli dihimbau dari Wedemeyer & Yasutake (1977) dalam Royan *et al* (2014) yakni isi tabung sahlinometer menggunakan larutan HCl 0.1N hingga nomor 10 (garis skala terbawah di tabung sahlinometer). Tempatkan tabung tadi pada dua tabung menggunakan warna baku. Darah ikan diambil dengan cara dihisap menggunakan pipet sahli sampai skala 20 mm<sup>3</sup> atau pada volume 0.02 mL. Kemudian darah dipindahkan ke tabung sahli yang telah berisi HCl dan didiamkan selama 3 menit. Kemudian dimasukkan aquades menggunakan pipet tetes secara bertahap, sembari diaduk menggunakan gelas aduk hingga warnanya sesuai dengan warna standar. Jika sama, maka kadar hemoglobin dapat dibaca pada tabung sahli. Kadar hemoglobin dinyatakan dengan satuan %.

### Hematokrit

Menghitung kadar hematokrit dilakukan dengan cara dimasukkan sampel darah kedalam tabung mikrohematokrit sampai  $\frac{3}{4}$  tabung. Tutup ujung tabung yang berwarna merah menggunakan plastisin berkisar 1 centimeter, agar tidak bocor. Tabung mikrohematokrit yang telah berisi darah diletakkan dengan posisi yang berhadapan agar putaran sentrifuse seimbang dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit. Perhitungan ini ditentukan dengan rumus dari Anderson (1993) dalam Royan *et al* (2014) yakni:

$$H(\%) = \frac{\text{Panjang volume sel darah merah yang mengendap}}{\text{panjang total volume darah dalam tabung}} \times 100\%$$

### Diferensial Leukosit

Prosedur menghitung differensial leukosit diawali dengan menyiapkan kaca preparat sebagai ulasan. Sebelum digunakan kaca preparat dibersihkan terlebih dahulu menggunakan aquades dan tisu. Tetesan pertama pada suntikan dibuang, kemudian tetesan kedua diteteskan pada kaca preparat. Tarik preparat ke arah kanan sampai menyentuh darah dan menyebar rata sepanjang tepi kaca preparat. Setelah itu ulasan dikeringkan. Kemudian kaca preparat difiksasi dengan metanol selama 5 menit, selanjutnya preparat direndam selama 15 menit pada larutan giemsa. Lalu dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Kemudian diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 40x. Jenis diferensial leukosit yang diamati yakni sel limfosit, monosit, neutrofil, dan trombosit. Kemudian dihitung sampai berjumlah 100 sel. Satuan diferensial leukosit dinyatakan dalam %(persen). Adapun rumus yang digunakan untuk perhitungan masing-masing diferensial leukosit menurut Amlacher (1970) dalam Hartika *et al* (2014) adalah sebagai berikut :

$$\% \text{ Limfosit} = \frac{L}{100} \times 100\%$$

$$\% \text{ Monosit} = \frac{M}{100} \times 100\%$$

$$\% \text{ Neutrofil} = \frac{N}{100} \times 100\%$$

$$\% \text{ Trombosit} = \frac{T}{100} \times 100\%$$

### Aktivitas Fagositosis

Menghitung aktifitas fagositosis diawali dengan, darah ikan diambil sebesar 50 µl dimasukkan pada mikrotube, kemudian ditambah 25 µl suspensi bakteri *Streptococcus* sp. yang telah diencerkan, diaduk secara merata dan diinkubasi selama 20 menit. Kemudian, diambil sebanyak 5 µl campuran sampel tersebut untuk dibuatkan preparat ulasan. Kaca preparat direndam dengan metanol selama 5 menit dan dikeringkan, kemudian direndam dalam larutan giemsa selama 15 menit. Lalu preparat tersebut dengan air mengalir dan

dikeringkan. Selanjutnya diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x. Aktivitas fagositosis dihitung berdasarkan persentase sel yang memfagosit yakni sel leukosit yang menunjukkan adanya aktivitas fagositosis (Mardiana & Budi, 2017). Adapun rumus perhitungan aktivitas fagositik *dalam* Rawung & Manoppo (2014) yakni :

$$\text{Aktifitas Fagositosis (\%)} = \frac{\text{Jumlah fagosit yang memangsa/Jumlah fagosit yang diamati}}{\text{x 100}}$$

### **Kelangsungan Hidup (SR)**

Survival rate atau tingkat kelangsungan hidup merupakan persentase jumlah ikan yang masih hidup selama pemeliharaan. Kelangsungan hidup ikan diamati hingga hari terakhir pemeliharaan dan perhitungan kelangsungan hidup ikan dilakukan ketika 10 hari terakhir pasca uji tantang dengan bakteri *A. Hydrophila*. Adapun rumus yang dipergunakan untuk menghitung jumlah ikan yang hidup dihibau dari Setyowati & Puji Astuti (2020) adalah sebagai berikut :

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan:

SR : Kelangsungan hidup (%)

N<sub>t</sub> : Jumlah ikan awal pemeliharaan

N<sub>0</sub> : Jumlah ikan akhir pemeliharaan

### **Total Bakteri Count (TBC)**

Pengamatan jumlah total bakteri dilaksanakan pada hari ke 60. Pertama diawali dengan membuat media TSB. Prosedur yang digunakan untuk menghitung bakteri *Aeromonas hydrophila* yakni dengan *Total Plate Count* (TPC). Media TSB berfungsi untuk menumbuhkan bakteri. Media TSB ditimbang sebanyak 2,8 g dan dilarutkan dalam 100 mL (Juariah et al., 2018). Untuk mengetahui jumlah total bakteri pada ikan bawal air tawar, dilakukan pengamatan menggunakan usus ikan tersebut. Sampel usus ikan yang telah diambil dari masing-masing perlakuan, ditimbang sebanyak 0,1 g. Kemudian dimasukkan pada mikrotube yang telah berisi NaCl 0,9 mL, lalu digerus dan dihomogenkan menggunakan tangan. Mikrotube ditutup rapat dan dimasukkan ke dalam cool box. Selanjutnya diambil 1 ose usus ikan yang halus dari mikrotube, kemudian masukkan pada tabung falcon yang telah berisi media TSB 10 mL. Diamkan selama 1x24 jam pada suhu ruang tertutup agar bakteri dapat tumbuh. Selanjutnya, setelah bakteri tumbuh dilakukan sentrifugator dengan kecepatan 50 rpm dalam waktu 10 menit. Kemudian media TSB dibuang dan disimpan hasil endapannya, lalu dimasukkan larutan NaCl sebanyak 3 mL pada setiap tabung, dan dihomogenkan menggunakan vortex. Kemudian dilakukan pengamatan dengan alat Spektrofotometer. Menurut Seniati et al., (2019) menyatakan bahwa Spektrofotometer digunakan untuk menghitung *Total Bakteri Count*. Jumlah total bakteri dinyatakan dalam satuan OD (Optical Density).

### **Analisis data**

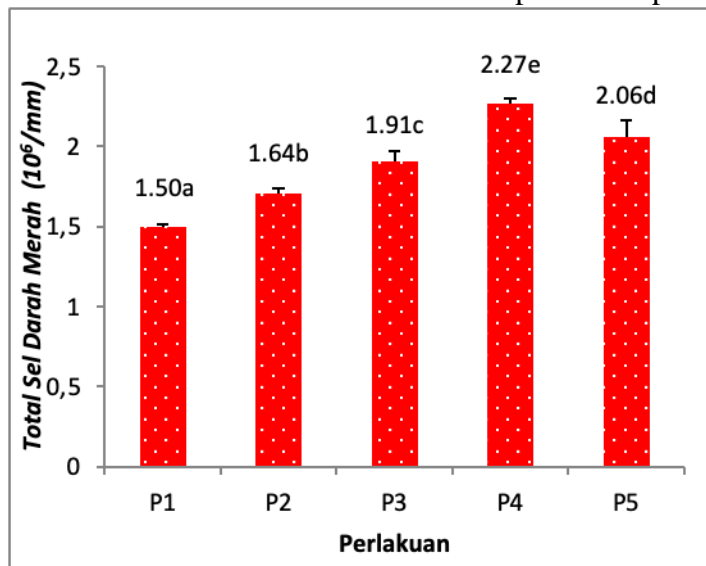
Penelitian berupa rangkaian rancangan acak lengkap (5 perlakuan dan 3 ulangan). Data yang diperoleh dianalisa secara deskriptif dan statistik menggunakan SPSS. Kemudian data yang diperoleh dianalisa menggunakan ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%. Apabila diperoleh hasil yang berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjutan menggunakan uji Duncan dengan tingkat kepercayaan 95%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

#### Total Sel Darah Merah

Nilai Total sel darah merah tertinggi terdapat pada P4 sebesar  $2,27 \cdot 10^6$  sel/mm<sup>3</sup> diikuti P5  $2,06 \cdot 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, P3  $1,91 \cdot 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, P2  $1,64 \cdot 10^6$  sel/mm<sup>3</sup> dan terendah terdapat pada P1 sebesar  $1,5 \cdot 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>. Nilai total sel darah merah dapat dilihat pada gambar 3.

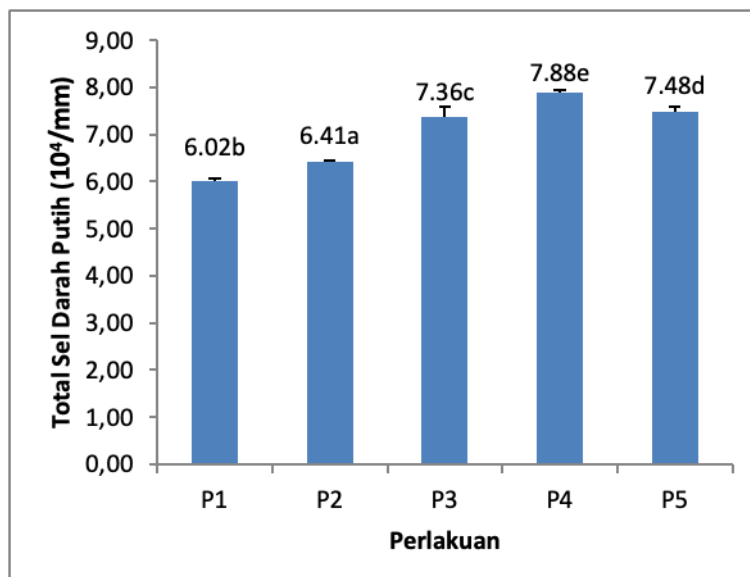


Gambar 3. Total Sel Darah Merah

Hasil uji secara statistik dengan uji One-Way Anova menunjukkan bahwa dengan adanya penambahan ekstrak daun komak (*Lablab purpureus*) pada pakan dengan dosis yang berbeda, memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai total sel darah merah ikan bawal air tawar (*Colossoma macropomum*) yang diinjeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hasil uji ANOVA menunjukkan perlakuan memberikan hasil yang berpengaruh terhadap total sel darah merah. Setelah di uji lanjut menggunakan uji Duncan didapatkan bahwa perlakuan P1, P2, P3, P4 dan P5 semua perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata.

#### Total Sel Darah Putih

Nilai Total sel darah putih tertinggi terdapat pada perlakuan P4 sebesar  $7,88 \cdot 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, diikuti P5  $7,48 \cdot 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, P3  $7,36 \cdot 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, P2  $6,41 \cdot 10^4$  sel/mm<sup>3</sup> dan terendah terdapat pada P1 sebesar  $6,02 \cdot 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>. Nilai total sel darah putih dapat dilihat pada gambar 4.

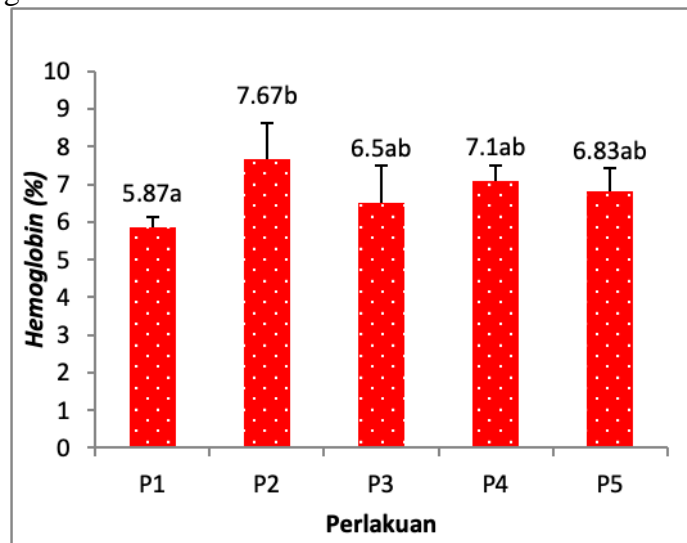


Gambar 4. Total Sel Darah Putih

. Hasil uji secara statistik dengan uji One-Way Anova menunjukkan bahwa dengan adanya penambahan ekstrak daun komak (*Lablab purpureus*) pada pakan dengan dosis yang berbeda, memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai total sel darah putih ikan bawal air tawar (*Colossoma macropomum*) yang diinjeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hasil uji ANOVA perlakuan memberikan hasil yang berpengaruh terhadap total sel darah putih. Setelah di uji lanjut menggunakan uji Duncan didapatkan bahwa semua perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata.

### Kadar Hemoglobin

Nilai Hemoglobin tertinggi terdapat pada P2 sebesar 7,67% diikuti P4 7,1%, P5 6,83%, P3 6,5% dan terendah terdapat pada P1 sebesar 5,87%. Nilai kadar hemoglobin dapat dilihat pada gambar 5.



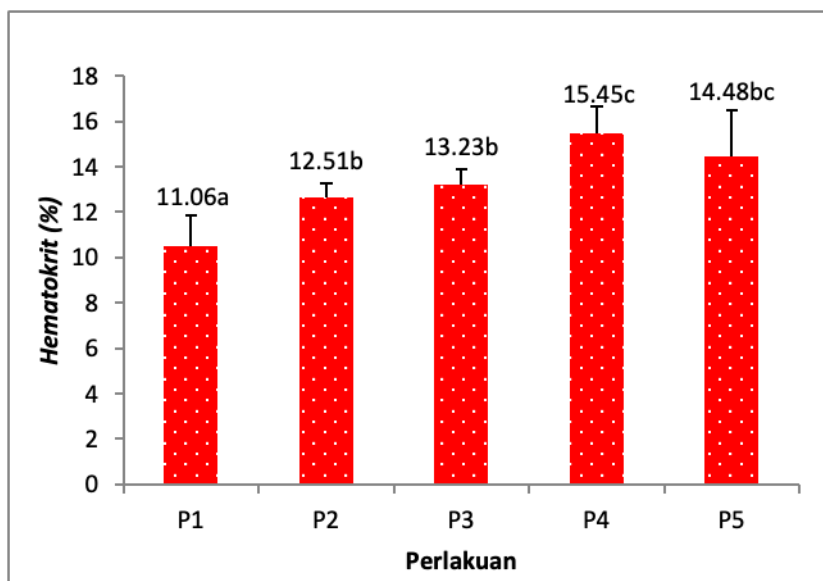
Gambar 5. Kadar Hemoglobin

Hasil uji secara statistik dengan uji One-Way Anova menunjukkan bahwa dengan adanya penambahan ekstrak daun komak (*Lablab purpureus*) pada pakan dengan dosis yang berbeda, memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai Hemoglobin ikan bawal air tawar (*Colossoma macropomum*) yang diinjeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hasil uji ANOVA perlakuan memberikan hasil yang berpengaruh terhadap kadar hemoglobin (Hb). Setelah di uji lanjut menggunakan uji Duncan didapatkan bahwa, Perlakuan P1 berbeda nyata dengan perlakuan P2, tapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan P3, P4 dan P5. Perlakuan P2 tidak berbeda nyata dengan perlakuan P4 tetapi berbeda nyata dengan perlakuan P3 dan P5. Perlakuan P3 tidak berebeda nyata dengan P4 dan P5.

### Kadar Hematokrit

Nilai Hematokrit tertinggi terdapat pada P4 sebesar 15,45% diikuti P5 14,48%, P3 13,23%, P2 12,51% dan terendah terdapat pada P1 sebesar 11,9%. Nilai kadar hematokrit dapat di lihat pada gambar 6.



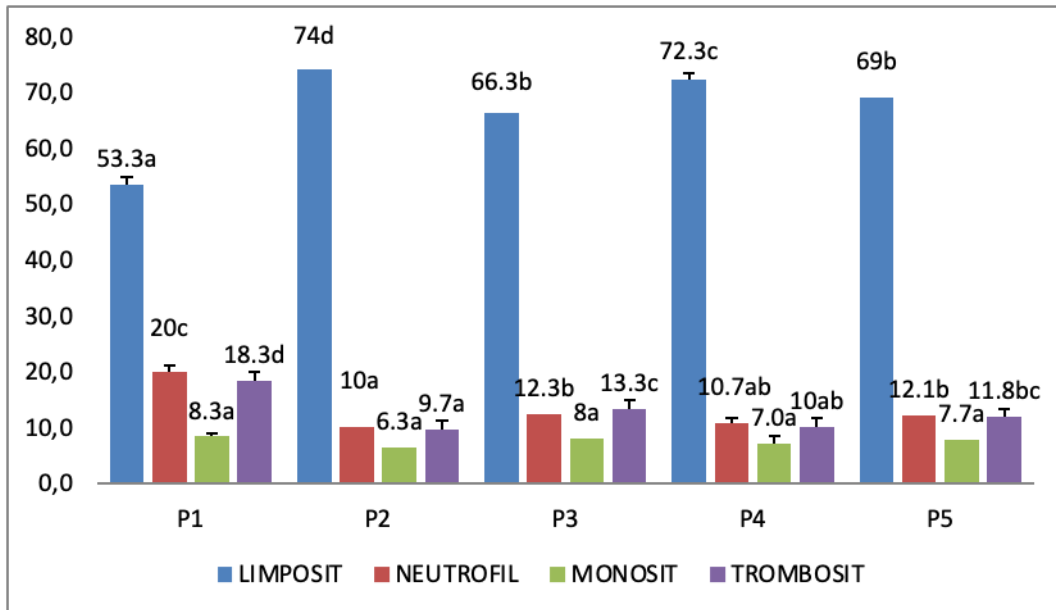


Gambar 6. Kadar Hematokrit

Hasil uji secara statistik dengan uji One-Way Anova menunjukkan bahwa dengan adanya penambahan ekstrak daun komak (*Lablab purpureus*) pada pakan dengan dosis yang berbeda, memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai kadar hematokrit ikan bawal air tawar (*Collossoma macropomum*) yang diinjeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hasil uji ANOVA menunjukkan perlakuan memberikan hasil yang berpengaruh terhadap kadar hematokrit. Setelah di uji lanjut menggunakan uji Duncan didapatkan bahwa, Perlakuan P1 berbeda nyata dengan semua perlakuan. Perlakuan P2 tidak berbeda nyata dengan perlakuan P3 dan P5 tetapi berbeda nyata dengan perlakuan P4. Perlakuan P3 tidak berbeda nyata perlakuan P5, tetapi berbeda nyata dengan P3.

### Diferensial Leukosit

Nilai sel limposit terendah diperoleh pada perlakuan P1 sebesar 53,3 ,diikuti P3 66,3%, P5 69%, P4 72,3% dan tertinggi pada perlakuan P2 sebesar 74%. Berikutnya untuk nilai sel Neutrofil terendah diperoleh pada perlakuan P2 sebesar 10%, diikuti P4 10,7%, P5 12,1%, P3 12,3% dan tertinggi diperoleh pada perlakuan P1 sebesar 20%. Berikutnya untuk nilai sel monosit terendah diperoleh pada perlakuan P2 sebesar 6,3%, diikuti P4 7%, P5 7,7%, P3 8% dan tertinggi dipeoleh pada perlakuan P1 sebesar 8,3%. Terakhir untuk sel trombosit, terendah diperoleh pada perlakuan P2 sebesar 9,7%, diikuti P4 10%, P5 11,8%, P3 13,3% dan tertinggi pada perlakuan P1 sebesar 18,3%. Nilai diferensial leukosit dapat dilihat pada gambar 7.

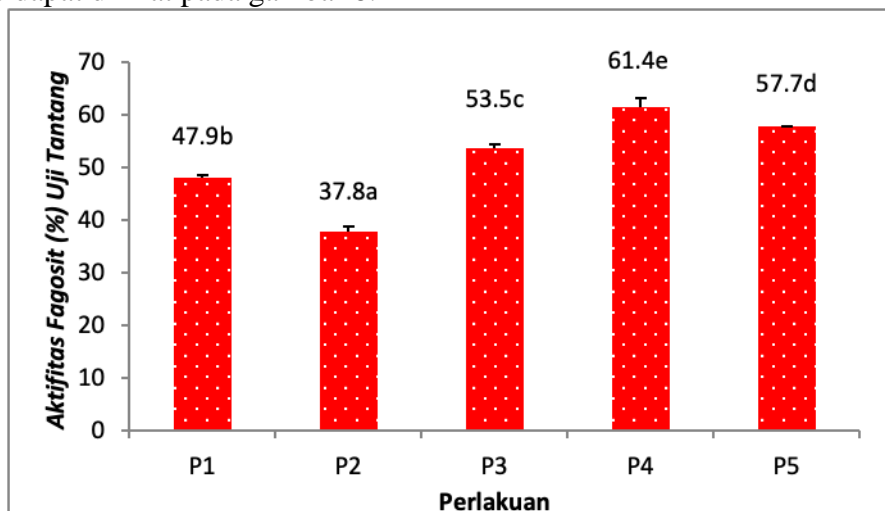


Gambar 7. Diferensial Leukosit

Hasil uji secara statistik dengan uji One-Way Anova menunjukkan bahwa dengan adanya penambahan ekstrak daun komak (*Lablab purpureus*) pada pakan dengan dosis yang berbeda, memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai Diferensial leukosit ikan bawal air tawar (*Colossoma macropomum*) yang diinjeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hasil uji lanjut duncan pada limfosit menunjukkan bahwa P1 berbeda nyata dengan semua perlakuan. Perlakuan P3 tidak berbeda nyata dengan perlakuan P5, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan P4. Perlakuan P5 berbeda nyata dengan perlakuan P4 dan P2. Nilai sel neutrofil pada perlakuan P2 tidak berbeda nyata dengan perlakuan P4, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan P1, P3 dan P5. Perlakuan P5 tidak berbeda nyata dengan perlakuan P3, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan P1. Nilai monosit tidak berbeda nyata di semua perlakuan. Nilai Trombosit pada Perlakuan P2 tidak berbeda nyata dengan P4, tetapi berbeda nyata dengan Perlakuan P5. Perlakuan P5 tidak berbeda nyata dengan P3, tetapi berbeda nyata dengan P1.

#### Aktivitas Fagositosis

Nilai Aktifitas Fagositosis tertinggi terdapat pada P4 sebesar 61,4% diikuti P5 57,7%, P3 53,3%, P1 47,9% dan terendah terdapat pada P2 sebesar 37,8%. Nilai aktivitas fagositosis dapat dilihat pada gambar 8.



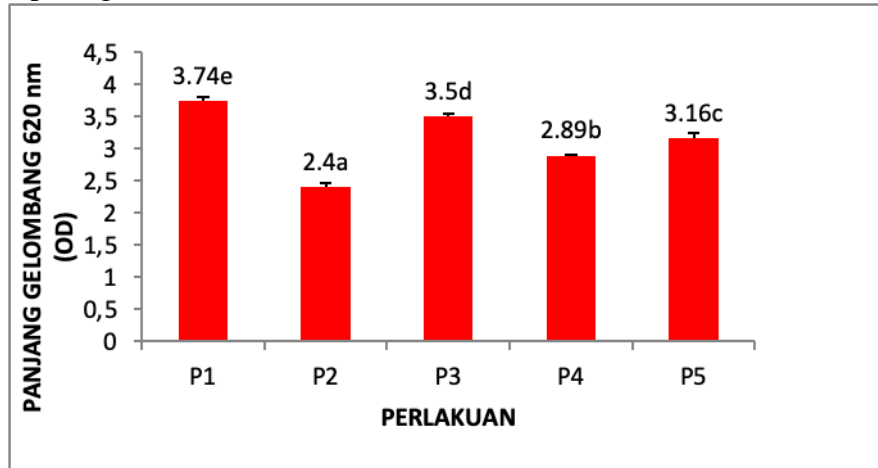
Gambar 8. Aktifitas Fagositosis

Hasil uji secara statistik dengan uji One-Way Anova menunjukkan bahwa dengan adanya penambahan ekstrak daun komak (*Lablab purpureus*) pada pakan dengan dosis

yang berbeda, memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai aktivitas fagositosis ikan bawal air tawar (*Colossoma macropomum*) yang diinjeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hasil uji ANOVA perlakuan memberikan pengaruh terhadap aktivitas fagositosis. Setelah di uji lanjut menggunakan uji Duncan didapatkan bahwa semua perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata.

**Total Bakteri**

Nilai total bakteri tertinggi terdapat pada P1 sebesar 3,74 OD, diikuti P3 3,5 OD, P5 3,16 OD, P4 2,89 OD terendah terdapat pada P2 sebesar 2,4 OD. Nilai total bakteri dapat dilihat pada gambar 9.

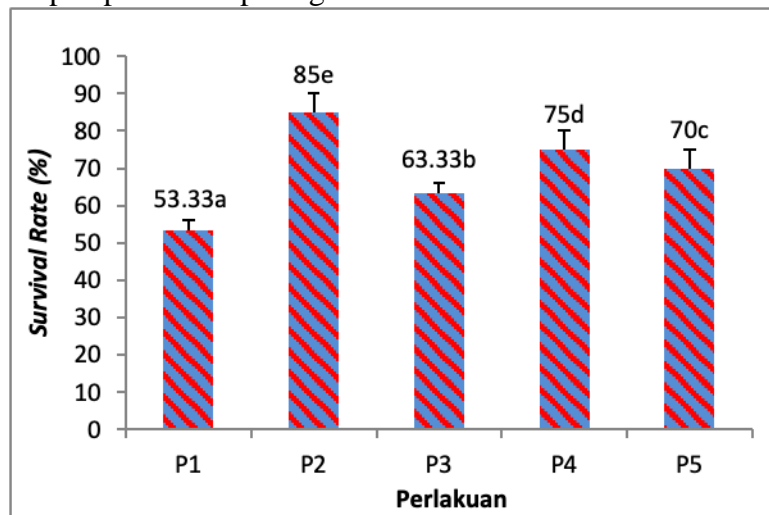


Gambar 9. Total Bakteri

Hasil uji secara statistik dengan uji One-Way Anova menunjukkan bahwa dengan adanya penambahan ekstrak daun komak (*Lablab purpureus*) pada pakan dengan dosis yang berbeda, memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai total bakteri ikan bawal air tawar (*Colossoma macropomum*) yang diinjeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hasil uji ANOVA menunjukkan perlakuan memberikan pengaruh terhadap nilai total bakteri. Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan pada perlakuan P2 berbeda nyata dengan P4

**Tingkat Kelangsungan Hidup**

Nilai Tingkat kelangsungan hidup tertinggi terdapat pada P2 sebesar 85% diikuti P4 75%, P5 70%, P3 63,33% dan terendah terdapat pada P1 sebesar 53,33%. Nilai tingkat kelangsungan hidup dapat dilihat pada gambar 10.



Gambar 10. Tingkat Kelangsungan Hidup

Hasil uji secara statistik dengan uji One-Way Anova menunjukkan bahwa dengan adanya penambahan ekstrak daun komak (*Lablab purpureus*) pada pakan dengan dosis yang berbeda, memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai tingkat

kelangsungan hidup ikan bawal air tawar (*Colossoma macropomum*) yang diinjeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Setelah di uji lanjut menggunakan uji Duncan didapatkan bahwa semua perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata.

### Kualitas Air

Kualitas air merupakan gambaran atau kondisi perairan tempat hidup ikan yang dibudidayakan. Kualitas air memiliki peranan yang sangat penting dalam menunjang keberhasilan kegiatan budidaya. Air sebagai media hidup harus tetap stabil dan dikontrol sehingga sesuai dengan kadar yang diinginkan oleh biota yang dibudidayakan. Nilai kualitas air pada penelitian ini disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Kualitas Air Ikan Bawal Air Tawar

No	Parameter	Hasil pengukuran (Kisaran)	Referensi (Yustiati <i>et al.</i> , 2020)
1	Oksigen terlarut (DO)	5-7 mg/l	5-8 mg/l
2	Derajat keasaman (pH)	7-8,5	6-9
3	Temperatur (Suhu)	27-30 <sup>0</sup> C	25-30 <sup>0</sup> C

### Pembahasan

Sel darah merah merupakan salah satu sel darah penyusun kehidupan ikan yang dibudidayakan. Sel darah merah biasanya diamati dengan tujuan mengetahui kesehatan dari ikan dibudidayakan. Jumlah total sel darah merah ikan bawal ikan bawal tertinggi didapatkan pada perlakuan P4 sebesar  $2,11 \cdot 10^6$  sel/mm<sup>3</sup> sedangkan nilai total sel darah merah terendah terdapat pada P1 sebesar  $1,5 \cdot 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>. Perbedaan jumlah sel darah merah yang dihasilkan menunjukkan bahwa ikan yang diberikan perlakuan pemberian ekstrak daun komak dengan perlakuan tanpa penambahan ekstrak daun komak menghasilkan jumlah sel darah merah yang berbeda jumlahnya. Perbedaan tersebut mengindikasikan bahwa penggunaan ekstrak daun komak memberikan efek yang baik terhadap kehidupan ikan bawal air tawar dari segi peningkatan antibodi ikan. Peningkatan jumlah sel darah merah pada ikan yang diberikan ekstrak mampu memberikan pertahanan tubuh ikan dari gangguan pathogen seperti bakteri *aeromonas hydrophila* dan bakteri air tawar lain yang dapat menyerang ikan bawal air tawar. Tingginya nilai sel darah merah pada perlakuan P4 juga mengindikasikan bahwa dosis yang digunakan merupakan dosis yang tepat untuk penggunaan ekstrak daun komak, dikarenakan salah satu efektifitas kerja dari bahan alami yang digunakan diketahui bahwa daun komak mengandung senyawa flavonoid yang aktif dalam meningkatkan kesehatan ikan bawal. Pernyataan ini diperkuat oleh Zissalwa *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid berguna untuk melindungi sel, anti inflamasi, antibiotik, dan memiliki hubungan yang sinergis dengan vitamin C.

Rendahnya jumlah total sel darah merah pada perlakuan P1 tanpa pemberian ekstrak daun komak dikarenakan pengaruh dari bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menyerang tubuh ikan bawal air tawar. Penurunan jumlah total sel darah merah mengindikasikan sel darah merah diserang oleh pathogen yang masuk ke dalam tubuh sehingga tubuh ikan melemah dan sakit. Berdasarkan hasil pengamatan, penurunan total sel darah merah tersebut benar-benar mengindikasikan bahwa perlakuan yang tidak diberikan ekstrak daun komak sangat tidak baik pada pemeliharaan ikan bawal, karena jika terserang penyakit maka akan ikan akan mudah terjadinya kematian pada ikan. Pernyataan ini diperkuat oleh Fanggidae *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa rendahnya nilai sel darah merah pada ikan dapat menandakan bahwa ikan tersebut terinfeksi oleh bakteri dan menderita anemia.

Berdasarkan hasil pengamatan pada jumlah total sel darah putih ikan bawal air tawar setelah di injeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* terendah pada perlakuan P1 dengan jumlah total sel darah putih sebesar sebesar sebesar  $6,02 \cdot 10^4$  sel/mm<sup>3</sup> dan tertinggi pada perlakuan P4 dengan jumlah total leukosit sebesar sebesar sebesar  $7,88 \cdot 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>. Tingginya

jumlah sel darah putih pada perlakuan P4 dikarenakan ikan diindikasikan memproduksi sel darah putih dalam jumlah banyak sebagai proses penyembuhan luka dan proses pertahanan tubuh dari serangan penyakit supaya membaik dengan cepat dan menjadi sehat kembali. Produksi sel darah putih yang tinggi akibat dari fungsi pemberian ekstraksi daun komak sebagai antibiotik yang mengandung zat aktif (flavanoid, alkaloid) yang merangsang kerja sel darah putih dalam tubuh untuk tetap terus diproduksi dalam jumlah yang banyak ketika terjadi gangguan dari luar. Proses produksi tersebut sebagai proses pertahanan diri atau proses fisiologis dari ikan akibat adanya serangan penyakit. Sehingga penggunaan ekstraksi daun komak sangat baik untuk pencegahan penyakit pada budidaya ikan bawal air tawar. Hal ini diperkuat oleh Nafiqoh *et al.*(2019) yang menyatakan bahwa flavonoid merupakan metabolit sekunder yang diproduksi oleh tanaman, dibagi dalam beberapa grup termasuk flavonol, flavone, isoflavone, flavonones, flavonols, dan anthocyanidins. Flavonoid dapat bertindak sebagai anti-inflamasi dan antioksidan, serta mempunyai peranan dalam sistem imun.

Sedangkan jumlah total sel darah putih ikan bawal air tawar terendah didapatkan pada perlakuan P1 dengan jumlah total sel darah putih sebesar  $2,55 \cdot 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>. Hasil penelitian menunjukkan setelah diinjeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* jumlah sel darah putih sebagai agen untuk perbaikan sel-sel yang rusak akibat dari gangguan bakteri *Aeromonas hydrophila* tidak sebanyak jumlah total sel darah putih yang diberikan ekstraksi daun komak. Pada umumnya ikan akan memproduksi sel darah putih dengan sendirinya dari dalam tubuh akibat dari adanya gangguan dari luar baik gangguan dari stress, bakteri, virus ataupun jamur, akan tetapi sistem pertahanan tubuh akan cepat melemah karena tidak adanya suatu bahan yang aktif yang membantu merangsang antibodi untuk tetap diproduksi dengan jumlah banyak ketika diserang pathogen seperti bakteri *Aeromonas hydrophila*. Pernyataan tersebut sesuai dengan Lestari *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa sel darah putih adalah sel darah yang berperan sebagai tameng pertahanan tubuh ikan dalam melawan patogen yang masuk pada tubuh ikan. Jumlah leukosit juga dapat dipengaruhi oleh spesies ikan, umur, nutrisi dan stress.

Hemoglobin memiliki fungsi yaitu untuk mengikat oksigen dalam darah yang kemudian digunakan untuk proses katabolisme sehingga menghasilkan energi. Kadar total hemoglobin ikan bawal air tawar pada penelitian ini terendah diperoleh pada perlakuan P1 sebesar 5,87 gr/dl dan tertinggi pada perlakuan P2 sebesar 7,67 gr/dl. Kadar hemoglobin ikan yang tinggi berkorelasi positif dengan kadar eritrosit, maksudnya semakin tinggi nilai hemoglobin semakin tinggi pula jumlah sel darah merah ikan. Rendahnya kadar hemoglobin menyebabkan laju metabolisme menurun dan energi yang dihasilkan menjadi rendah. Hal ini membuat ikan menjadi lemah dan tidak memiliki nafsu makan serta terlihat diam di dasar atau berada di permukaan perairan. Menurut Rimalia dan Kisworo (2021) yang menyatakan bahwa kadar hemoglobin yang normal untuk ikan teleostei berkisar antara 5,05 - 8,33 gr/dl. Jadi dapat disimpulkan bahwa kadar hemoglobin ikan bawal air tawar pada penelitian ini masih dalam kisaran normal (kecuali pada perlakuan P1) dan mengindikasikan ikan yang dipelihara dalam kondisi sehat dan dapat bertahan walaupun diinjeksi penyakit. Ketahanan ikan akan penyakit disebabkan karena adanya pemberian ekstrak daun komak yang diberikan selama pemeliharaan. Pemberian ekstrak daun komak yang diberikan kepada pakan berfungsi sebagai antioksidan karena mengandung zat aktif berupa flavonoid yang berfungsi sebagai zat penambah antibodi dalam tubuh ikan sehingga ikan yang telah diinjeksi penyakit aeromonas dapat mempertahankan tubuhnya sehingga dalam keadaan sehat yang diindikasikan dengan jumlah hemoglobin dalam darah ikan yang masih dalam keadaan normal, jika ikan sakit maka nilai hemoglobin akan rendah atau berada pada kisaran tidak normal. Pernyataan tersebut sesuai dengan Rimalia dan Kisworo (2021) yang menyatakan bahwa konsentrasi hemoglobin dalam darah berkorelasi kuat dengan jumlah eritrosit. Semakin rendah jumlah eritrosit, maka semakin rendah pula konsentrasi hemoglobin didalam darah. Hemoglobin memiliki fungsi yaitu untuk mengikat oksigen dalam darah yang kemudian digunakan untuk proses katabolisme sehingga

menghasilkan energi. Kemampuan hemoglobin untuk mengikat oksigen dalam darah tergantung pada jumlah hemoglobin yang terdapat dalam sel darah merah, rendahnya kadar hemoglobin menyebabkan laju metabolisme menurun dan energi yang dihasilkan menjadi rendah. Hal ini membuat ikan menjadi lemah dan tidak memiliki nafsu makan serta terlihat diam di dasar atau berada di permukaan perairan.

Kadar hematokrit adalah persentase gambaran sel darah merah dalam darah. Pada penelitian ini nilai kadar hematokrit ikan bawal air tawar terendah diperoleh pada perlakuan P1 sebesar 11.90% dan tertinggi pada perlakuan P4 sebesar 15.45%. Nilai hematokrit berhubungan langsung dengan jumlah eritrosit ikan, artinya nilai hematokrit akan meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah eritrosit dalam darah ikan. Menurut Lestari *et al.* (2017) bahwa kadar hematokrit ini bervariasi dan dipengaruhi oleh faktor nutrisi, umur ikan, jenis kelamin, ukuran tubuh dan masa pemijahan. Adapun dalam Lestari *et al.* (2017) juga mengungkapkan bahwa kadar hematokrit juga bervariasi tergantung dari nutrisi, umur, jenis kelamin, ukuran tubuh, dan masa pemijahan. Pengukuran hematokrit dapat dijadikan sebagai salah satu parameter untuk mengetahui kesehatan ikan, misalnya sebagai indikasi stress. Stress pada ikan dapat terjadi karena faktor seperti faktor lingkungan, penanganan ketika pengambilan darah (injeksi) maupun karena infeksi patogen. Apabila ikan terkena infeksi, nafsu makan ikan akan menurun dan nilai hematokrit darah akan menurun. Pada kasus seperti anemia mikrositik, jumlah dan ukuran sel darah merah berkurang, sehingga kadar hematokrit juga rendah. Adapun dalam Lestari *et al.* (2017) juga menyatakan bahwa Nilai hematokrit sebesar 20% dapat diartikan bahwa dalam darah mengandung 20% sel darah merah. Menurut Riauaty dan Syawal (2016) menyatakan bahwa nilai hematokrit normal pada ikan Teleostei khususnya ikan air tawar berkisar antara 22%-60%.

Diferensial leukosit merupakan kondisi dimana sel darah terbagi menjadi empat bagian yaitu limfosit, monosit, trombosit dan netrofil. Empat bagian tersebut memiliki fungsi dan peran masing-masing dalam system pertahanan tubuh ikan bawal air tawar dalam mempertahankan tubuh dari serangan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Diferensial leukosit akan ditandai dengan keadaan dimana jumlah limfosit, monosit, neutrophil dan trombosit ikan mengalami kenaikan dan penurunan sebagai bentuk fisiologis tubuh dalam mempertahankan diri terhadap serangan penyakit.

Pada penelitian ini, rata-rata nilai limfosit setelah di injeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* terendah diperoleh pada perlakuan P1 sebesar 53,3 % dan tertinggi pada perlakuan P4 sebesar 72,3%. Jumlah limfosit ikan yang tidak diberikan ekstraksi daun komak lebih rendah dibandingkan dengan jumlah limfosit ikan yang diberikan perlakuan ekstraksi daun komak. Hal ini diduga karena ekstrak daun komak berperan sebagai immunostimulan memberikan rangsangan di dalam sel darah putih untuk membentuk sistem kekebalan tubuh non-spesifik ikan. Pernyataan ini diperkuat oleh Rustikawati (2012) yang menyatakan bahwa limfosit sebagai salah satu indikator pertahanan alami tubuh dan termasuk sistem kekebalan non spesifik yang dapat melindungi tubuh dari serangan mikroba. Adapun dalam Utami *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa Limfosit berfungsi menyediakan zat kekebalan atau sistem pertahanan dari serangan benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh, jumlah limfosit akan mengalami penurunan jika sudah terjadi infeksi dari mikroba karena sebagian besar limfosit berpindah dari sirkulasi darah dan berkompetisi ke dalam jaringan tubuh dimana terdapat peradangan pada ikan.

Pada penelitian ini, rata-rata jumlah neutrofil pada tertinggi diperoleh pada perlakuan P1 sebesar 20.0%, perlakuan P4 sebesar 10.7%. Tinggi rendahnya nilai neutrophil dikarenakan kondisi ikan dalam mempertahankan kesehatannya akibat dari serangan penyakit *Aeromonas hydrophila*. Penurunan jumlah sel neutrofil menunjukkan ikan dalam kondisi sehat. Hal ini menunjukkan bahwa tidak adanya serangan mikroorganisme atau kemungkinan ada tetapi jumlahnya sangat rendah. Sesuai dengan pendapat Hartika *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa persentase neutrofil yang rendah menunjukkan tidak adanya serangan mikroorganisme sehingga neutrofil belum banyak

diproduksi oleh tubuh ikan. Hal ini berkaitan dengan fungsi utama dari neutrofil yaitu penghancuran bahan asing melalui proses fagositosis yaitu kemotaksis dimana sel akan bermigrasi menuju partikel, peletakan partikel pada sel, penelanan partikel oleh sel, dan penghancuran partikel oleh enzim lisosim di dalam fagolisosom. Sehingga tanpa adanya rangsangan dari benda asing baik berupa bakteri, virus, maupun patogen neutrofil tidak akan menunjukkan reaksi peningkatan.

Pada penelitian ini, rata-rata jumlah monosit tertinggi diperoleh pada perlakuan P1 sebesar 8,3% dan terendah pada perlakuan P4 sebesar 7%. Jumlah monosit ikan bawal air tawar yang diberi perlakuan ekstraksi daun komak rendah dari jumlah monosit ikan yang tidak diberikan ekstraksi daun komak. Tinggi rendahnya nilai monosit ikan bawal pada penelitian ini dipengaruhi oleh kandungan zat aktif berupa flavonoid dan alkaloid yang berfungsi sebagai zat anti bakteri. Monosit berkemampuan masuk ke jaringan dan berdiferensiasi menjadi sel makrofag. Penurunan jumlah monosit menunjukkan ikan dalam keadaan sehat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hartika *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa penurunan nilai monosit disebabkan karena ikan dalam kondisi sehat untuk itu tidak diperlukan sel monosit untuk memfagosit dikarenakan belum adanya infeksi yang masuk ke dalam tubuh atau belum adanya rangsangan dari benda-benda asing untuk memproduksi monosit. Selain itu, Utami *et al.* (2013) juga menyatakan bahwa proporsi jumlah sel monosit mengalami penurunan karena adanya respon keseimbangan darah terhadap peningkatan proporsi jenis sel leukosit lainnya yaitu limfosit.

Pada penelitian ini, rata-rata jumlah trombosit pasca injeksi tertinggi pada perlakuan P1 sebesar 18,3% dan terendah pada perlakuan P4 sebesar 10%. Pada penelitian ini naik dan turunnya jumlah trombosit juga dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit pada ekstrak daun komak yang merangsang tubuh ikan sehingga memproduksi trombosit sebagai penyembuhan luka. Pernyataan ini diperkuat oleh Kurniawan *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa fungsi utama dari trombosit adalah penutupan luka, apabila pada ikan persentase trombosit dalam jumlah yang tinggi, maka dapat diduga ikan tersebut tengah mengalami luka atau pendarahan.

Aktifitas fagositosis merupakan keadaan dimana kemampuan darah dalam memfagosit atau memakan bakteri pengganggu yang masuk ke dalam tubuh melalui respsi darah. Pada penelitian ini nilai aktifitas fagositosis terendah diperoleh pada perlakuan P2 sebesar 37,8% dan tertinggi diperoleh pada perlakuan P4 sebesar 61,4%. Menurut Sarjito dan Haditomo (2014) menyatakan bahwa aktivitas fagositosis merupakan pertahanan pertama dari respon seluler yang dilakukan oleh monosit (makrofag) dan granulosit (neutrofil). Antigen yang masuk ke dalam tubuh akan difagosit oleh makrofag, selanjutnya makrofag akan mengirim pesan kepada limfosit yang aktif. Adapun dalam Sarjito dan Haditomo (2014) yang menyatakan bahwa limfosit akan membelah diri (proliferasi) dan akan membentuk antibodi. Tingginya jumlah limfosit ini menunjukkan bahwa penambahan bahan-bahan imunostimulan salah satunya seperti ekstrak daun komak dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh terhadap infeksi bakteri *A. hydrophila*. Hal ini menunjukkan bahwa dengan penambahan ekstrak daun komak akan memaksimalkan ikan dalam penyerapan ekstrak dalam pakan dan dapat meningkatkan indeks fagositosis ikan bawal air tawar pasca injeksi *A. hydrophila* dengan meningkatkan komponen respon imunitas non spesifik. Proses fagositosis ini membantu tubuh untuk menghancurkan bakteri penyebab infeksi.

Rendahnya nilai aktivitas fagositosis di P1 hal ini diduga karena tidak adanya rangsangan immunostimulan atau pemberian ekstrak yang dapat memberikan rangsangan untuk meningkatkan jumlah sel darah untuk melawan infeksi bakteri tersebut. Pernyataan ini diperkuat oleh Mardiana dan Budi (2017) yang menyatakan bahwa semakin rendah nilai aktifitas fagositosis maka semakin patogen bakteri tersebut. Proses fagositosis diawali oleh pergerakan (kemotaktik), pelekatan (adhesi/attachment), penelanan (ingestion), degranulasi dan pembunuhan (killing). Inisiasi pergerakan karena dilepaskannya zat mediator tertentu yaitu factor leukotaktik/kemotaktik dari antigen/neutrophil/makrofag

sebelumnya telah berada di lokasi antigen. Proses penempelan hingga penghancuran terlihat dilakukan oleh sel-sel fagosit seperti monosit dan neutrophil. Proses penelanan bakteri terjadi karena sel fagosit membentuk tonjolan pseudopodia, membentuk kantong yang mengelilingi bakteri sehingga terperangkap dalam vakuola fagosom, dalam sel fagosit ini, bakteri akan didegradasi oleh fagolisosom.

Total bakteri yang di uji merupakan total bakteri yang ada di usus ikan bawal air tawar pasca injeksi. Hasil uji total bakteri tertinggi diperoleh pada perlakuan P1 sebesar 3.74 OD, dan terendah pada perlakuan P4 sebesar 2.89 OD. Dari hasil pengamatan pada saat penelitian, dapat dilihat bahwa adanya bakteri dalam usus ikan yang menandakan didalam usus ikan terdapat bakteri yang mengganggu proses pencernaan ikan bawal air tawar. Pernyataan ini diperkuat oleh Ali *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa bakteri *Aeromonas hydrophila* berkembang biak didalam usus yang menyebabkan pendarahan selaput pada usus, sehingga nafsu makan ikan menurun. Adapun dalam Suryadi (2020) yang menyatakan bahwa menurunnya respon pakan pada ikan disebabkan karena adanya gangguan metabolisme didalam tubuh, sehingga menyebabkan terjadinya kelainan organ dalam berupa pembengkakan atau peradangan hati, ginjal dan empedu pasca penyuntikan bakteri *A. hydrophila*.

Tingkat kelangsungan hidup atau *Survival Rate* merupakan salah satu tolak ukur yang menjadi dasar suatu kegiatan budidaya yang dilakukan dikatakan berhasil atau baik. Hasil SR yang diperoleh Pada penelitian ini terendah pada perlakuan P1 sebesar 53.3% dan tertinggi perlakuan P4 sebesar 75.0%. Kisaran persentase tingkat kelangsungan hidup antar perlakuan berkisar antara 53-85%. Tingkat kelangsungan hidup yang tinggi diperoleh dari treatment yang diaplikasikan dalam kegiatan budidaya sangat baik. Tingkat kelangsungan hidup yang baik ditunjang oleh lingkungan yang baik, pakan yang berkualitas dan kuantitas baik, serta penanganan terhadap penyakit yang tepat dan ditunjang dari kesehatan ikan itu sendiri. Tinggi rendahnya tingkat kelangsungan hidup pada penelitian ini dikarenakan penanganan ikan pada saat pemeliharaan dan karena adanya aktivitas bakteri pathogen yang diberikan (injeksi) sehingga menimbulkan ikan sakit dan berujung kematian. Berdasarkan hasil pengamatan pada saat penelitian, kematian ikan uji disebabkan oleh kegiatan aklimatisasi awal ditandai dengan ikan tidak nafsu makan, proses penyemplingan sebanyak 6 kali selama pemeliharaan (pemindahan ikan, penimbangan bobot, pengukuran panjang) menyebabkan ikan stres dan mati, serta disebabkan karena injeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada saat injeksi (uji tantang) menyebabkan ikan luka borok, stres dan mati. Pernyataan tersebut sesuai dengan Anugrah *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa faktor yang mempengaruhi tinggi rendahnya tingkat kelangsungan hidup adalah faktor eksternal dan factor internal. Faktor eksternal yang meliputi kondisi lingkungan seperti adanya bakteri, serta faktor internal meliputi kondisi ikan itu sendiri seperti stress karena penanganan yang tidak hati-hati pada saat pemeliharaan berlangsung.

Kualitas air media budidaya sebagai media hidup ikan yang dibudidayakan memiliki peranan utama dan sekaligus memiliki peranan yang sangat penting untuk menunjang kehidupan ikan yang dibudidayakan. Kualitas perairan menjadi salah satu faktor pembatas utama yang harus diperhatikan. Kualitas air dasar yang menunjang kehidupan ikan yang dipelihara yang harus diperhatikan adalah DO (oksigen terlarut), suhu (temperatur) dan pH atau derajat keasaman.

Oksigen terlarut (DO) merupakan salah satu parameter kualitas perairan yang menjadi faktor pembatas terpenting sehingga keberadaannya di dalam perairan harus tercukupi dan terpenuhi untuk kehidupan biota yang dibudidayakan. Oksien terlarut digunakan untuk bernapas oleh bota diperairan. Jika keberadaan oksigen terlarut (DO) rendah, maka seluruh aktivitas ikan yang dibudidayakan akan terhambat dan dapat berujung kematian dikarenakan proses kimiawi dalam tubuh terjadi secara pelan (terhambat) atau tidak bekerja. Pada penelitian ini nilai oksigen terlarut berkisar antara 5.1-6.7 mg/l. kandungan oksigen yang didapatkan merupakan kisaran oksigen yang baik untuk kehidupan ikan bawal air tawar. Pernyataan tersebut sesuai dengan Hariati *et al.* (2021)



yang menyatakan bahwa beberapa jenis ikan air tawar mampu bertahan hidup pada perairan dengan konsentrasi oksigen terlarut < 3 mg/l, konsentrasi minimum yang masih dapat diterima sebagian besar yang dibudidayakan adalah 5 mg/l. Oleh karena itu, konsentrasi oksigen yang baik dalam kegiatan budidaya adalah antara 5-7 mg/l.

Suhu merupakan salah satu parameter kualitas air yang harus tetap stabil didalam suatu perairan tempat budidaya. Suhu memegang kendali terhadap proses metabolisme pada ikan yang dibudidayakan. Jika suhu rendah, proses metabolisme yang terjadi pada ikan yang dibudidayakan rendah pula, sebaliknya jika suhu tinggi maka proses metabolisme tinggi, semua berimbas pada pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan yang dibudidayakan. Pada penelitian ini, nilai suhu yang diperoleh berkisar antara 29-30<sup>0</sup>C. Suhu yang diperoleh mengarahkan pada suhu optimal dan suhu yang baik untuk kehidupan ikan bawal air tawar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hariati *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa kisaran suhu optimum untuk ikan bawal air tawar yaitu 29-31<sup>0</sup>C.

Derajat keasaman lebih dikenal dengan sebutan pH. pH atau singkatan dari (*puissance negatif de H*) menunjukkan aktivitas ion hidrogen dalam air dan dinyatakan sebagai ion hidrogen. pH juga digambarkan dengan keadaan suatu perairan dimana bersifat asam (<7), netral (=7) dan basa (>7). Akan tetapi, setiap organisme perairan memiliki kandungan pH optimum menjadi standarisasi untuk menunjang kehidupannya. Berdasarkan penelitian ini, nilai pH selama penelitian berkisar antara 7-8. Nilai pH tersebut merupakan nilai pH yang baik serta nilai pH optimum untuk kehidupan ikan bawal air tawar yang dibudidayakan. Pernyataan tersebut sesuai dengan Hariati *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa nilai pH yang baik untuk budidaya ikan bawal berkisar 7- 8.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Kesimpulan pada penelitian ini adalah efektivitas ekstrak daun komak (*Lablab purpureus*) dengan dosis 1% pada pakan mampu memberikan pengaruh yang nyata terhadap sistem imun ikan bawal air tawar (*Colossoma macropomum*) yang diinjeksi dengan bakteri *aeromonas hydrophila* terhadap jumlah total sel darah merah sebesar 2,11 10<sup>6</sup> sel/ml<sup>3</sup>, total sel darah putih sebesar 7,88 10<sup>4</sup> sel/ml<sup>3</sup>, kadar hemoglobin sebesar 7,1%, kadar hematokrit sebesar 15,45%, diferensial leukosit yakni limposit, neutrofil, monosit dan trombosit berturut-urut sebesar 72,3%, 10,7%, 7% dan 10%. Untuk aktivitas fagositosis memiliki angka tertinggi sebesar 61,4%, total bakteri memiliki angka terendah sebesar 2,89 OD dan tingkat kelangsungan hidup tertinggi sebesar 74%.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai jumlah dosis ekstrak daun komak (*Lablab purpureus*) yang lebih tinggi dengan interval dosis antar perlakuan yang lebih lebar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al-Snafi, A. E. (2019). Iraqi Medicinal Plants with Antibacterial Effect- A Review. *Journal of Pharmacy*, 9(8), 22–103.
- Amanu, S., Kurniasih, & Indaryulianto, S. (2014). Identification of Aeromonad disease in freshwater aquaculture in Bali. *Jurnal Veteriner*, 15(4), 474–486.
- Fadillah, N., Wasposito, S., & Azhar, F. (2019). Penambahan Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora apiculata* pada Pakan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) untuk Pencegahan Vibriosis. *Journal of Aquaculture Science*, 4(2), 91–101. <https://doi.org/https://doi.org/10.31093/joas.v4i2.75>
- Fauzi, M., Nuraini, & Aryani, N. (2021). Pengaruh Teknik Adaptasi Salinitas Terhadap Kelangsungan Hidup Dan Pertumbuhan Larva Bawal Air Tawar (*Colossoma Macropomum*). *Jurnal Akuakultur Sebatin*, 2(2), 55–61.
- Handayani, L., & Siswanto. (2019). Penggunaan Ekstrak Bawang Putih untuk

- Menanggulangi Bakteri *Aeromonas hydrophyla* yang Menyerang Benih Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmu Hewani Tropika*, 8(2), 93–97.
- Hartika, R., Mustahal, & Achmad, N. P. (2014). Gambaran Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Penambahan Dosis Prebiotik yang Berbeda dalam Pakan. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 4(4), 259–267.
- Haryani, A., Grandiosa, R., Buwono, I. D., & Santika, A. (2012). Ekstrak Analgetik Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L) pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 3(3), 213–220.
- Hastuti, Y. P., Yudistira, C., Nirmala, K., & Nurussallam, W. (2016). Pemberian CaCO<sub>3</sub> Pada Media Bersalinitas 3 g / L Untuk Pertumbuhan Ikan Bawal Air Tawar. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 15(1), 32–40. <https://doi.org/10.19027/jai.15.32.40>
- Kumari, P., Misra, S. K., & Sharma, N. (2016). Herbals as Antimicrobials: A Review. *Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine*, 2(1), 31–35. <https://doi.org/10.31254/jahm.2016.2108>
- Khairuman & Amri, K. (2009). *Bisnis & Budidaya Intensif Bawal Air Tawar*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.
- Lauluw, D., Kreckhoff, R. L., Longdong, S. N. J., Mantiri, D. M., Watung, J. C., & Tumbol, R. A. (2018). Konsentrasi Hambatan Minimum ekstrak *Portulaca grandiflora* terhadap penyakit *Motile Aeromonad Septicaemia* Minimum. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(2), 77–82.
- Mahyuddin, K. 2011. *Usaha Pembenihan Ikan Bawal di Berbagai Wadah*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Napitupulu, H. G., Rumengan, I. F. M., Wullur, S., Ginting, E. L., Rimper, J. R. T. S. L., & Toloh, B. H. (2019). *Bacillus sp.* sebagai Agenia Pengurai dalam Pemeliharaan *Brachionus rotundiformis* yang Menggunakan Ikan Mentah sebagai Sumber Nutrisi. *Jurnal Ilmiah Platax*, 7(1), 158–169. <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/platax>
- Nasrin, F., & Bulbul, I. (2012). In vitro Antimicrobial and Cytotoxicity Screening of n-Hexane, Chloroform and Ethyl Acetate Extracts of *Lablab purpureus* (L.) Leaves. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 3(2), 43–48. <https://doi.org/10.5251/abjna.2012.3.2.43.48>
- Nurhariati, Junaidi, M., & Diniarti, N. (2021). Pengaruh Komposisi Filter Terhadap Kualitas Air Dan Pertumbuhan Ikan Bawal Air Tawar (*Colossoma macropomum*) Dengan Sistem Resirkulasi. *Jurnal Ruaya*, 9(2), 17–27.
- Octarina, Y., Prasetyono, E., & Febrianti, D. (2018). Efektivitas Ekstrak Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap Sistem Kekebalan Tubuh Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 13(3), 259–265.
- Priya, S., & Jenifer, S. (2014). Antibacterial Activity of Leaf and Flower Extract of *Lablab purpureus* Against Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus*. *Research & Reviews: A Journal of Drug Design*, 1(2), 5–7. <https://www.academia.edu/download/51856569/3.pdf>
- Rawung, E. M., & Manoppo, H. (2014). Penggunaan Ragi Roti (*Saccharomyces cerevisiae*) secara In Situ untuk Meningkatkan Respon Kebal Non-Spesifik Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Budidaya Perairan*, 2(2), 7–14.
- 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(2), 109–117. <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jam>
- Santoso, L., & Agusmansyah, H. (2011). Pengaruh Substitusi Tepung Kedelai dengan Tepung Biji Karet pada Pakan Buatan terhadap Pertumbuhan Ikan Bawal Air Tawar (*Colossoma macropomum*). In *Berkala Perikanan Terubuk* (Vol. 39, Issue 2).
- Suryadi, I. B. B., Aditya, K., Yustiati, A., & Iskandar, I. (2020). Efek Pemberian Kalium Diformat terhadap Performa Kesehatan Benih Ikan Bawal Air Tawar (*Colossoma macropomum*). *Akuatika Indonesia*, 5(2), 94. <https://doi.org/10.24198/jaki.v5i2.29536>

- Utami, I. K., Haetami, K., & Rosidah. (2012). Pengaruh Penggunaan Tepung aun Turi Hasil Fermentasi dalam Pakan Buatan terhadap Pertumbuhan Benih Bawal Air Tawar (*Colossoma macropomum* Cuvier). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 3(4), 191–199.
- Wulaisfan, R., & Hasnawati. (2017). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Epidermidis*. *Warta Farmasi*, 6(2), 90–99.