

**EFEKTIVITAS EKSTRAK KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan lingnum*)
TERHADAP SISTEM IMUN IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)
YANG DIINJEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

*Effectiveness of Sappanwood Extract (*Caesalpinia sappan lingnum*) on the Immune System of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Injected with *Aeromonas hydrophila* Bacteria*

Salsabila Putri Arifita^{1*)}, Fariq Azhar²⁾, Bagus Dwi Setyono³⁾

¹Program Studi Budidaya Perairan

²Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan

³Fakultas Pertanian, Universitas Mataram

*Korespondensi : salsabilaputriarifita@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kayu secang terhadap sistem imun ikan nila yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila*. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Juli - September 2023. Bertempat di Laboratorium Produksi dan Reproduksi Ikan dan Laboratorium Kesehatan Ikan Budidaya Perairan, Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram. Metode yang diterapkan adalah desain eksperimen acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dengan dilakukan sebanyak 3 ulangan yaitu P1 tanpa ekstrak kayu secang dan diinjeksidengan NaCl 0.9%, P2 tanpa ekstrak kayu secang dan diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila*, P3 ekstrak kayu secang 0.5% dan diinjeksi bakteri *A. hydrophila*, P4 ekstrak kayu secang dosis 1% dan diinjeksi bakteri *A. hydrophila*, P5 ekstrak kayu secang 2% dan diinjeksi bakteri *A. hydrophila*. Parameter penelitian yang diamati berupa total eritrosit, total leukosit, haemoglobin, hematokrit, differensial leukosit, aktivitas fagositosis, total bakteri dan kelangsungan hidup (SR). Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan ANOVA dengan uji lanjut Duncan. Hasil penelitian didapatkan nilai rata-rata pada total eritrosit sebesar $1.21 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$, total leukosit $2.07-2.79 \times 10^4 \text{ sel/mm}^3$, haemoglobin 3.4-6.0%, hematokrit 12.9-17.3%, differensial leukosit terdiri dari 4 jenis sel yaitu limfosit 56.7-72.3%, monosit 4.0-12.3%, neutrofil 16.7-25.0% dan trombosit 5.7-9.0%, aktivitas fagositosis 41.2-66.1%, nilai absorbansi 3.44-3.82 OD, tingkat kelangsungan hidup (SR) 37.8-82.2%. Pemberian ekstrak kayu secang dengan dosis sebanyak 2% pada pakan dapat meningkatkan daya tahan tubuh ikan nila yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila*.

Kata Kunci: *Aeromonas hydrophila*, ekstrak kayu secang, ikan nila

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of secang wood extract on the immune system of tilapia injected with *A. hydrophila* bacteria. This research will be conducted from July - September 2023. Located in the Fish Production and Reproduction Laboratory and Aquaculture Fish Health Laboratory, Aquaculture Study Program, Department of Fisheries and Marine Sciences, Faculty of Agriculture, University of Mataram. The method applied was a complete randomized experimental design (RAL) consisting of 5 treatments with 3 repeats, namely P1 without secang wood extract and injected with 0.9% NaCl, P2 without secang wood extract and injected with *A. hydrophila* bacteria, P3 0.5% secang wood extract and injected with *A. hydrophila* bacteria, P4 secang wood extract dose 1% and injected with *A. hydrophila* bacteria, P5 secang wood extract 2% and injected with *A. hydrophila*

*bacteria. The observed study parameters were total erythrocytes, total leukocytes, haemoglobin, hematocrit, leukocyte differential, phagocytosis activity, total bacteria and survival (SR). The data obtained were analyzed descriptively and ANOVA with Duncan's follow-up test. The results of the study found average values in total erythrocytes of 1.21×10^6 cells / mm³, total leukocytes $2.07-2.79 \times 10^4$ cells / mm³, haemoglobin 3.4-6.0%, hematocrit 12.9-17.3%, leukocyte differential consists of 4 types of cells, namely lymphocytes 56.7-72.3%, monocytes 4.0-12.3%, neutrophils 16.7-25.0% and platelets 5.7-9.0%, phagocytosis activity 41.2-66.1%, value absorption 3.44-3.82 OD, survival rate (SR) 37.8-82.2%. Giving secang wood extract at a dose of 2% in feed can increase the immune system of tilapia injected with *A. hydrophila* bacteria.*

Keywords: Aeromonas hydrophila, sappanwood extract, tillapia

PENDAHULUAN

Ikan nila ialah satu diantara sekian komoditas unggulan yang diproduksi secara intensif di seluruh dunia, termasuk di Indonesia. Hal ini menyebabkan persentase kebutuhan konsumen ikan nila cukup banyak, terlebih lagi harga ikan nila yang ekonomis dan cukup murah membuat peminat ikan nila sangat tinggi sehingga permintaan pasar semakin meningkat. Permintaan pasar yang tinggi telah menyebabkan budidaya ikan intensif, di mana ikan terpapar penyakit, yang dianggap sebagai salah satu gangguan terbesar bagi industri akuakultur karena dapat mengalami kerugian ekonomi yang parah (Sherif *et al.*, 2022). Menurut (Pattipeiluhu *et al.*, (2022) bahwa salah satu penyakit yang biasa terjadi pada ikan ialah penyakit bakterial *A. hydrophila*. Bakteri tersebut mampu menghambat pertumbuhan dan bahkan terjadinya kematian pada ikan hingga 80%-100% dalam waktu 1-2 minggu (Amanu *et al.*, 2014).

Adapun pengobatan selama ini yang dilangsungkan untuk penyembuhan penyakit tersebut adalah dengan memberikan antibiotik. Namun, pemberian antibiotik dalam jumlah besar pada ikan kurang efektif dan tidak ekonomis. Selain itu, hal ini dapat memberikan dampak negatif bagi ikan itu sendiri, seperti peningkatan jenis bakteri yang resisten terhadap antibiotik sehingga lingkungan ikut tercemar (Maisyaroh *et al.*, 2018). Untuk itu, upaya dalam mengatasi penyakit yang telah terinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* yang efektif ialah dengan

memanfaatkan bahan-bahan alami yang tersedia disekeliling kita.

Salah satunya jenis tumbuhan yang digunakan untuk mencegah agar tidak terjangkitnya penyakit *A. hydrophila* pada ikan nila yaitu kayu secang (*Caesalpinia sappan lingnum*). Kayu secang mengandung senyawa aktif diantaranya flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, fenolik, dan brazilin. Senyawa fenolik seperti flavonoid, yang terdapat di kayu secang, memiliki aktivitas antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas (Sucita *et al.*, 2019). Dimana kayu secang ini mampu menurunkan jumlah koloni, sehingga menghambat pembentukan dinding sel yang disebabkan bakteri (Silviani dan Handayani, 2017). Adapun penelitian Prabawa *et al.*, (2019) terhadap bagian kayu pada tumbuhan secang (*Caesalpinia sappan* L.). Aktivitas antibakteri telah diuji dengan metode difusi cakram terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. Hasil menunjukkan ekstrak memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori kuat dan memiliki aktivitas antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian sebelumnya Karlina *et al.*, (2016) pengujian potensi ekstrak air kayu secang terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* dan *Candida albicans* dengan metode difusi perforasi. Dari hasil menunjukkan ekstrak air kayu secang memiliki potensi sebagai antijamur dan juga mampu menghambat *A. niger* dan *C. albicans*. Oleh karena itu, dilakukannya penelitian ini guna mengetahui

penggunaan ekstrak kayu secang terhadap ikan nila yang diinjeksi oleh bakteri *A. hydrophila*

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Juli - September 2023. Bertempat di Laboratorium Produksi dan Reproduksi Ikan dan Laboratorium Kesehatan Ikan Budidaya Perairan, Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram. Metode yang diterapkan adalah desain eksperimen acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dengan dilakukan sebanyak 3 ulangan. Adapun perlakuannya antara lain :

- P1 : Tanpa ekstrak kayu secang dan diinjeksi dengan NaCl 0.9%
- P2 : Tanpa ekstrak kayu secang dan diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila*
- P3 : Ekstrak kayu secang 0.5% dan diinjeksi bakteri *A. hydrophila*
- P4 : Ekstrak kayu secang dosis 1% dan diinjeksi bakteri *A. hydrophila*
- P5: Ekstrak kayu secang 2% dan diinjeksi bakteri *A. hydrophila*

PROSEDUR PENELITIAN

1. Persiapan Media dan Ikan Uji

Media yang dipakai berupa bak kontainer sejumlah 15 buah. Setiap kontainer ditampung dengan kepadatan tebar sejumlah 15 ekor. Ikan nila dengan panjang 5-6 cm digunakan sebagai ikan uji, yang terlebih dahulu dilakukan aklimatisasi pada ikan nila untuk hidup di media uji selama 3 hari dan hanya diberi pakan komersil.

2. Pembuatan Ekstrak Kayu Secang

Serutan kayu secang dibersihkan terlebih dahulu dari kotoran yang melekat lalu dijemur hingga benar-benar kering. Kemudian dihaluskan dengan menggunakan alat blender. Serbuk kayus ecang yang digunakan seberat 1 kg kemudian diekstrak dengan menggunakan larutan ethanol 96% dengan perbandingan 1:5. Pembuatan ekstrak ini dilakukan dengan metode maserasi yang

selama tiga hari berturut-turut pada suhu ruangan dan diaduks etiap 24 jam sekali. Setelah itu, campuran tersebut disaring untuk memisahkan ampas dan cairannya, kemudian diproses dengan rotary evaporator.

3. Pemberian Pakan Ekstrak Kayu Secang

Dalam pemberian pakan diaplikasikan dengan ekstrak kayu secang yang disebarkan merata ke seluruh permukaan pakan komersil setara dengan konsentrasi yang digunakan yaitu P1 dengan 0% (injeksi dengan NaCl), P2 dengan 0% (tidak diberikan ekstrak), sedangkan P3 dengan 0,5%, P4 dengan 1%, dan P5 dengan 2%. Pakan komersil yang diberikan telah tercampur ekstrak yang setara 5% dari berat bobot ikan dan diberikan 3 kali sehari yaitu pada pagi hari, siang, dan sore selama masa pemeliharaan 50 hari.

4. Persiapan Bakteri

Persiapan bakteri *A. hydrophila* sebagai penginfeksi terhadap ikan nila dan bakteri *Staphylococcus* sp. sebagai uji aktivitas fagositosis dengan menggunakan media NA sebagai media pertumbuhannya kemudian dilakukan pengkulturan dengan pengambilan 1 ose sampel bakteri pada media agar miring dan dilakukan penggoresan terhadap permukaan media NA dan diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya, untuk uji tantang bakteri *A. hydrophila* dan bakteri *Staphylococcus* sp. menggunakan media TSB sebagai media pertumbuhan. Sebelum itu dilakukan pengenceran bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^8 dan bakteri *Staphylococcus* sp. Dengan kepadatan 10^6 .

5. Uji Tantang

Uji tantang dilakukan pada hari ke 51 masa pemeliharaan yang mana proses penginjeksian ikan dilakukan dengan metode penyuntikan. bakteri yang terdapat dalam media TSB yang diperoleh menggunakan suntikan kemudian diinjeksikan dengan cara intramuskuler sebanyak 0,1 ml dibagian punggung ikan ke tiap-tiap ikan percobaan.

6. Parameter Penelitian

Eritrosit

Darah ikan diambil dengan pipet yang berskala 0,5. Setelah itu, larutan Hayem diambil menggunakan pipet eritrosit hingga titik 101 dengan faktor pengenceran 200 kali dan dihomogenisasi menggunakan tangan yang digoyangkan hingga berbentuk angka 8 selama 3 menit sampai tercampur sempurna. Kemudian, dihitung menggunakan haemositometer dalam 5 kotak kecil (Putranto *et al.*, 2019). Adapun rumus total eritrosit menurut Fitriana *et al.*, (2019) sebagai berikut :

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

Keterangan :

SDM = Sel darah merah (sel/mm³)

Ne = Jumlah eritrosit pada 5 kotak hitung

P = Faktor pengenceran (200 kali)

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

Leukosit

Darah ikan nila diambil dengan pipet 0,5 dan dimasukkan larutan Turk hingga mencapai titik 11 pada pipet leukosit dengan faktor pengenceran 20 kali. Kemudian dihomogen larutan yang telah tercampur dengan digoyangkan tangan hingga berbentuk angka 8 agar tercampur merata. Setelah itu, diteteskannya darah kedalam hemocytometer dan ditutup dengan penutup kaca sebelum diperiksa di bawah mikroskop pada pembesaran 40 kali (Putranto *et al.*, 2019). Adapun rumus total leukosit menurut Fitriana *et al.*, (2019) sebagai berikut :

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

Keterangan :

SDP = Sel darah putih (sel/mm³)

Nl = Jumlah leukosit pada 4 kotak hitung

P = Faktor pengenceran (20 kali)

0.4 = Volume total darah dalam 4 kotak hitung (mm³)

0.5

Hemoglobin (Hb)

Dituangkan ke dalam tabung pengenceran 0,1 larutan HCL hingga

sejumlah 2 mm³. Kemudian, dengan menggunakan pipet Hb, darah diambil hingga volume 20 mm³ dan dicampur menggunakan batang pengaduk, setelah itu diinjeksikan kedalam komporator blok untuk dibandingkan dengan larutan standar. Jika masih terdapat perbedaan maka ditambahkan aquades hingga berwarna sama dengan larutan untuk mendapatkan kadar Hb (%) (Alipin, 2020).

Hematokrit

Sampel darah ikan nila ditampung ke dalam tabung kapiler. Tabung kapiler ditempatkan dalam centrifuge dan diputar selama 5 menit dengan tempo 5000 rpm. Hasil dari hematokrit tersebut kemudian dihitung dengan penggaris. (Pratiwi, 2019). Adapun rumus hematokrit sebagai berikut:

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

Diferensial leukosit

Dilakukan perendaman pada larutan giemsa dalam jangka waktu 15 menit dan dibasuh bersama aquades dan tunggu sampai kering. Kemudian, dilihat dibawah mikroskop dengan peningkatan 40 kali lipat berdasarkan jenisnya yaitu limfosit, monosit, neutrofil dan trombosit, setelah itu sel dihitung hingga mencapai 100 sel (Hartika, 2014). Adapun rumusnya sebagai berikut:

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

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

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

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

Aktivitas Fagositosis

Aktivitas fagositosis dilakukan dengan memakai bakteri *Sthaphylococcus* sp. dan diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40X dan dihitung jumlah sel yang melakukan fagositosis yaitu leukosit (Payung, 2019). Adapun rumusnya menurut Mardiana & Budi (2017), sebagai berikut:

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

Total Bakteri pada Usus Ikan

Usus ikan sebanyak 0.1 g dan dimasukkan kedalam tabung pada masing-masing perlakuan. Ditambahkan larutan NaCl 0.9 mL kemudian digerus menggunakan pinset sampai tercampur rata. Selanjutnya, diambil sebanyak 1 ose usus ikan kedalam tabung falcon yang telah diisi dengan media TSB sebanyak 10 mL. Kemudian, inkubasikan selama 24 jam. Setelah dihasilkan endapan maka dibuang media TSB, kemudian dimasukkan 3 mL larutan NaCl kedalam tabung falcon yang berisi endapan tersebut lalu dihomogenkan menggunakan alat berupa vortex. Langkah selanjutnya yaitu dilakukan perhitungan total bakteri menggunakan alat spektrofotometer.

Kelangsungan hidup pasca injeksi (SR)

Perhitungan kelangsungan hidup pada ikan ini dilakukan pada hari ke 10 setelah dilakukan uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Adapun rumusnya sebagai berikut:

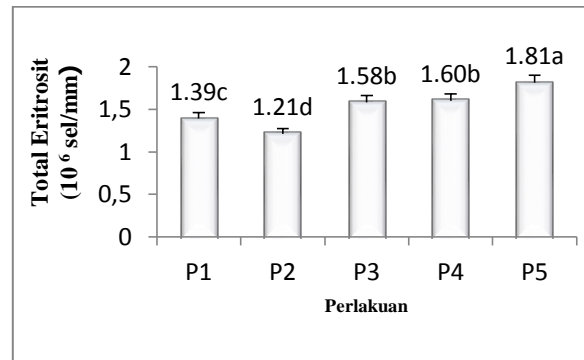
$$SR (\%) = \frac{\text{jumlah ikan pada waktu } t}{\text{jumlah ikan pada waktu awal}} \times 100$$

Analisis Data

Data yang dianalisis dalam penelitian ini adalah informasi mengenai kualitas air yang dianalisis secara deskriptif. Sedangkan untuk uji darah, tingkat kelangsungan hidup, dan total bakteri dianalisis dengan analisis anova. Apabila terjadi perbedaan yang signifikan dalam hasil, maka dilakukan pengujian tambahan dengan metode duncan (Purnamasari, 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Eritrosit

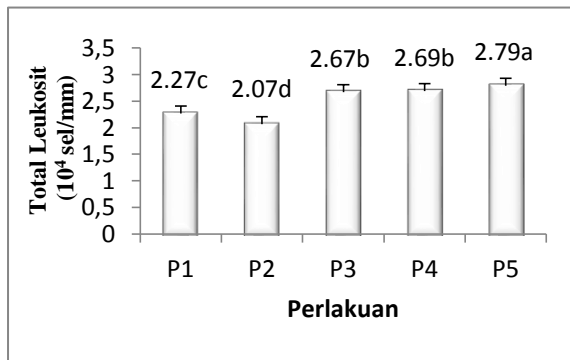


Pada Gambar 1. Hasil total eritrosit terhadap ikan nila yang diinjeksi oleh bakteri *A. hydrophila* menunjukkan nilai total eritrosit tertinggi terdapat pada P5 sebesar 1.81×10^6 sel/mm³ dan menunjukkan perbedaan nyata ($p > 0,05$) terhadap semua perlakuan, sedangkan pada P3 nilai total eritrosit yang diperoleh sebesar 1.58×10^6 dan P4 sebesar 1.60×10^6 sel/mm³ tidak memberikan pengaruh ($p > 0,05$). Kemudian pada P2 dan P1 nilai total eritrosit cukup rendah yaitu sebesar 1.21×10^6 dan 1.39×10^6 sel/mm³ berbeda nyata ($p > 0,05$).

Sel eritrosit umumnya digunakan sebagai indikator terhadap respon bakteri patogen yang masuk ke dalam tubuh ikan (Herlina, 2022). Berdasarkan hasil pada penelitian ini didapatkan total eritrosit pada ikan nila menunjukkan nilai terendah pada perlakuan P2 sebesar 1.21×10^6 sel/mm³. Rendahnya total eritrosit diduga adanya perbedaan pertahanan daya tahan tubuh antara ikan kontrol dengan ikan yang diberikan ekstrak kayu secang, dimana kondisi ikan akan melemah sehingga lebih mudah terinfeksi bakteri. Sebaliknya total eritrosit pada perlakuan P5 menunjukkan nilai tertinggi sebesar 1.81×10^6 sel/mm³. Tingginya total eritrosit mengindikasikan bahwa dosis yang digunakan dianggap tepat untuk penggunaan ekstrak kayu secang, dikarenakan salah satu efektivitas kerja dari bahan alami yang digunakan diketahui mengandung flavonoid yang memiliki sifat antioksidan, yang merangsang sistem kekebalan tubuh pada ikan nila sehingga dapat meningkatkan kesehatan ikan nila.

Sesuai dengan pernyataan Agung *et al.*, (2013) menyatakan bahwa mekanisme antioksidan dalam mencegah serangan penyakit ialah dengan meningkatkan jumlah eritrosit untuk mencegah terjadinya penurunan eritrosit ketika ikan terserang penyakit. Menurut Widhasari, (2019) menyatakan bahwa kayu secang mengandung senyawa fitokimia flavonoid, tanin dan fenolik memiliki kemampuan sebagai antioksidan, selain itu juga memiliki fungsi imunostimulan pada ikan.

Total Leukosit

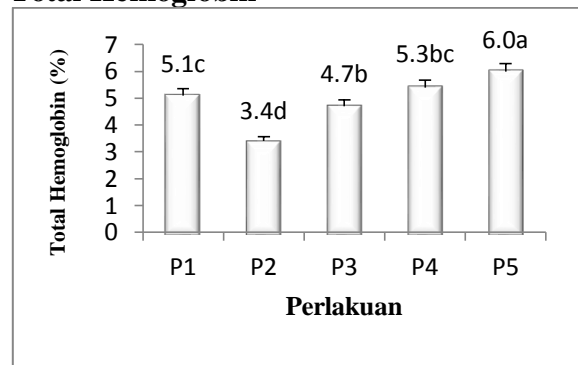


Pada Gambar 2. Hasil total leukosit terhadap ikan nila yang diinjeksi oleh bakteri *A. hydrophila* memperoleh nilai yang tertinggi hingga terendah seperti P5 memiliki nilai sebesar 2.79×10^4 sel/mm³, P4 2.69×10^4 sel/mm³, P3 2.67×10^4 sel/mm³, P1 2.27×10^4 sel/mm³ dan P2 2.07×10^4 sel/mm³. Berdasarkan grafik diatas menunjukkan bahwa P5 berbeda nyata ($p > 0,05$) pada semua perlakuan, namun P4 tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P3 sedangkan P1 dan P2 berbeda nyata ($p > 0,05$).

Dari hasil penelitian didapatkan nilai total leukosit yang diberikan tambahan ekstrak kayu secang memperoleh peningkatan apabila dibandingkan dengan perlakuan pada P2 menunjukkan nilai terendah sebesar 2.07×10^4 sel/mm³ tanpa ekstrak. Tingginya total leukosit pada P5 dengan nilai sebesar 2.79×10^4 sel/mm³ diduga disebabkan oleh pemberian ekstrak kayu secang sebagai antibiotik. Ekstrak ini mengandung zat aktif seperti flavonoid dan saponin yang mendorong kerja leukosit dalam tubuh ikan untuk diproduksi dalam jumlah yang banyak. Proses produksi ini

merupakan respons pertahanan tubuh ikan terhadap serangan penyakit. Menurut pernyataan Pasaribu *et al.*, (2015) bahwa flavonoid dapat mengaktifkan sistem limfe, sehingga dapat meningkatkan produksi sel darah putih. Menurut Kurnia (2021) bahwa aktivitas immunostimulator senyawa flavonoid terjadi melalui stimulasi sitokin inter leukin-2 sehingga pembentukan imunoglobulin meningkat. Kandungan lainnya yang dapat meningkatkan sistem imun adalah saponin. Menurut Eviani *et al.*, (2019) bahwa saponin mempunyai kemampuan merangsang sel imun yaitu meningkatkan pembentukan antibodi yang dapat berperan sebagai immunostimulator.

Total Hemoglobin

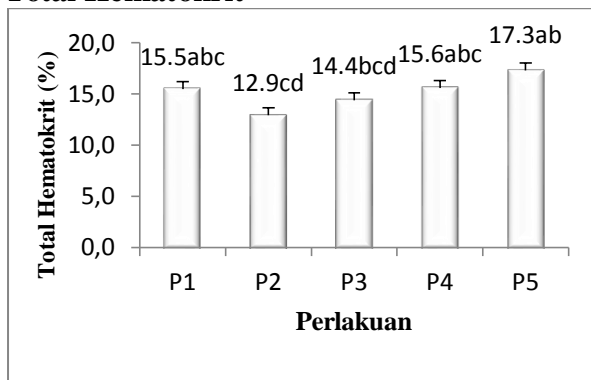


Pada Gambar 3. Hal ini menunjukkan P1 berbeda nyata ($p > 0,05$) pada P2 dan P5 namun tidak berbeda ($p > 0,05$) pada P3 dan P4. P2 berbeda nyata ($p > 0,05$) pada semua perlakuan. P3 tidak berbeda ($p > 0,05$) terhadap P1 tetapi berbeda nyata ($p > 0,05$) pada P2, P4, dan P5. P4 berbeda nyata ($p > 0,05$) pada P2, P3, dan P5 dan tidak berbeda ($p > 0,05$) pada P1. P5 berbeda nyata ($p > 0,05$) terhadap semua perlakuan.

Kadar hemoglobin merupakan indikator anemia pada ikan karena kemampuan darah untuk mengangkut oksigen tergantung pada kadar Hb dalam darah (Eviani *et al.*, 2019). Berdasarkan hasil penelitian hemoglobin ikan nila yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* didapatkan nilai pasca ujiantang bahwa pada P2 sebesar 3.4% yang dimiliki cukup rendah bila dibandingkan dengan perlakuan yang diberikan ekstrak kayu secang yakni P5 sebesar 6.0%. Maulinia & Herlina, (2022)

menyatakan bahwa kadar normal hemoglobin dalam darah ikan nila antara 5.05-11,01%. Rendahnya nilai hemoglobin dalam darah diduga karena adanya bakteri di dalam tubuh sehingga menyebabkan laju metabolisme menurun. Berbeda dengan perlakuan P5 memberikan dampak positif terhadap tingginya kadar hemoglobin pada darah ikan karena adanya flavonoid dan tanin dalam ekstrak kayu secang yang berkontribusi meningkatkan kemampuan darah untuk membawa oksigen. Hal ini sejalan dengan pernyataan Cerlina *et al.*, (2022) menyatakan bahwa peningkatan kadar hemoglobin disebabkan karena adanya aktivitas kandungan flavonoid dan tanin yang berfungsi sebagai antioksidan sehingga melindungi hemoglobin dari oksidasi.

Total Hematokrit

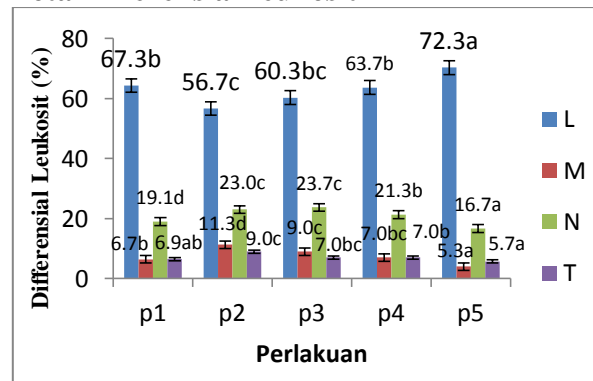


Pada Gambar 4. Bahwa nilai hematokrit yang tertera pada grafik memiliki nilai tertinggi pada P5 sebesar 17.3%, yang diikuti P4 15.6%, P1 15.5%, P3 14.4%, dan terendah P2 sebesar 12.9%. Dimana P1 berbeda ($p>0,05$) dengan P2, namun tidak berbeda ($p>0,05$) P3, P4, dan P5. P2 berbeda ($p>0,05$) dengan P1, P4, dan P5 tetapi tidak berbeda ($p>0,05$) dengan P3. P3 berbeda ($p>0,05$) dengan P5 akan tetapi tidak berbeda ($p>0,05$) dengan P2, P1, dan P4. P4 berbeda ($p>0,05$) dengan P2, tetapi tidak berbeda ($p>0,05$) dengan P1, P3, dan P5. P5 berbeda ($p>0,05$) dengan P2, namun tidak berbeda ($p>0,05$) P1, P3, dan P4.

Hasil yang diperoleh setelah dilakukan uji tantang pada perlakuan P2 memperoleh nilai relative rendah yakni 12.9% dibandingkan dengan perlakuan yang

diberikan ekstrak kayu secang. Menurut Maulinia & Herlina, (2022) menyatakan bahwa penurunan hematokrit terjadi pada ikan yang mengalami stres yang telah terinfeksi bakteri dan belum diberikan immunostimulan. Sebaliknya pada perlakuan P5 sebesar 17.3% menunjukkan bahwa peningkatan kadar hematokrit pada ikan yang diberi ekstrak kayu secang cenderung meningkat serta mampu menstimulasi respon dalam bentuk peningkatan kadar hematokrit sampai kisaran tertentu. Menurut Yuliana *et al.*, (2021) bahwa meningkatnya persentase hematokrit, diduga karena pengaruh dari pemakaian imonustimulan. Imonustimulan yang dimaksud merupakan ekstrak kayu secang yang mengandung senyawa aktif berupa flavonoid, tannin dan alkaloid.

Total Diferensial Leukosit



Pada Gambar 5. diferensial leukosit pada ikan nila terdapat 4 bagian selimfosit memiliki nilai tertinggi di perlakuan P5 sebesar 70.3%, dan P1 sebesar 64.3% yang memiliki nilai differensial leukosit berbeda ($p>0,05$), diikuti P4 sebesar 63.7% tidak berbeda ($p>0,05$) terhadap P3 sebesar 61.3%. sedangkan nilai terendah P2 sebesar 58.7% memiliki nilai yang berbeda ($p>0,05$) dengan semua perlakuan. Sel monosit pada P2 memiliki nilai tertinggi sebesar 12.3% dan berbeda ($p>0,05$) dengan semua perlakuan, kemudian P3 9.0% dan P4 7.0% tidak berbeda ($p>0,05$) dan diikuti P1 5.3% dan P4 7.0% tidak berbeda ($p>0,05$), nilai terendah dimiliki P5 sebesar 4.0% dan P1 5.3% tidak berbeda ($p>0,05$). Sel neutrofil yang memiliki nilai tertinggi terdapat pada perlakuan P2 sebesar 25.0%, diikuti P3

23.67%, dan P4 23.0% yang mana ketiga perlakuan ini tidak berbeda ($p>0,05$). Sebaliknya P1 dan P5 memiliki nilai terendah sebesar 16.7% dan 19.0% yang berbeda ($p>0,05$). Sel trombosit pada perlakuan P2 memiliki nilai tertinggi sebesar 9.0% dan P3 7.7% tidak berbeda ($p>0,05$), dan diikuti P4 7.0% dan P1 6.3% tidak berbeda ($p>0,05$) sedangkan nilai terendah dimiliki P5 sebesar 5.7% berbeda ($p>0,05$) dengan semua perlakuan.

Pada penelitian ini, nilai sel limfosit yang diperoleh berkisar antara 56.7-72.3%. Utami *et al.*, (2013) menyatakan bahwa presentase limfosit ikan nila normal berkisar antara 60-86%. Berdasarkan jumlah sel limfosit memiliki nilai tinggi pada P5 dengan pemberian ekstrak kayu secang melalui pakan diindikasikan bahwa sistem kekebalan tubuh ikan merespon positif terhadap ekstrak yang diberikan. Hal ini dikarenakan ekstrak tersebut dapat berperan sebagai imunostimulan pada ikan yang mampu memperkuat respon kekebalan tubuh. Sesuai dengan pernyataan Rosmawaty *et al.*, (2016) menyatakan bahwa senyawa fitokimia yang terdapat pada beberapa jenis tanaman seperti flavonoid, fenol, dan tanin bekerja untuk mengaktifkan sel pertahanan seluler dengan cara meningkatkan sel yang berperan sebagai imunitas limfosit.

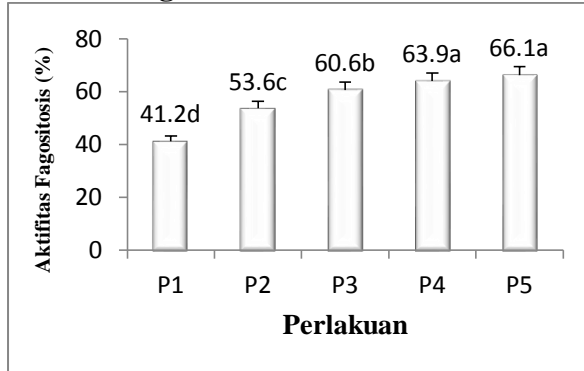
Berdasarkan jumlah yang diperoleh bahwa pada P2 nilai sel monosit cukup tinggi. Menurut Utami *et al.*, (2013) menyatakan bahwa meningkatnya monosit disebabkan ikan terinfeksi bakteri yang merangsang monosit untuk memproduksi lebih banyak. Namun berbeda dengan perlakuan yang diberikan tambahan ekstrak kayu secang dengan dosis 2% jumlah monositnya relative rendah diduga dipengaruhi oleh kandungan senyawa fitokimia dalam ekstrak kayu secang ikut berperan dalam menekan terjadinya infeksi bakteri, senyawa tersebut adalah flavonoid, tannin, dan alkaloid sehingga membantu kerja monosit. Menurut Nugraha *et al.*, (2017) menyatakan bahwa senyawa aktif dalam ekstrak berperan sebagai zat antibakteri dengan cara merusak dinding sel

secara permanen terhadap sel bakteri yang pada akhirnya menghambat pertumbuhan dan menyebabkan kematian.

Berdasarkan hasil yang diperoleh bahwa jumlah neutrofil pada P2 menghasilkan jumlah yang tinggi. Tingginya jumlah sel neutrofil terbentuk dikarenakan terdapat bakteri yang berada dalam tubuh menyebabkan ikan terinfeksi sehingga merangsang produksi neutrofil untuk memfagositosis. Sebaliknya pada P5 yang diberikan ekstrak kayu secang sudah cukup efektif untuk menghambat infeksi patogen, ditandai dengan penurunan jumlah neutrofil. Hal ini didukung adanya senyawa fitokimia. Menurut Priyanto (2012) menyatakan senyawa tannin akan berkaitan dengan membrane sel pada bakteri, sehingga penurunan neutrofil terjadi karena dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh ikan. Serta alkaloid yang bersifat toksik terhadap mikroba, sehingga efektif membunuh bakteri (Mufti *et al.*, 2022). Penurunan jumlah neutrofil ke arah neutrofil normal menunjukkan kondisi ikan baik.

Peningkatan jumlah trombosit pasca infeksi bakteri pada P2 yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila* dapat mencerminkan respon trombosit terhadap luka atau cedera pada tubuh ikan yang disebabkan oleh infeksi tersebut. Menurut Adrial *et al.*, (2018) menyatakan bahwa peningkatan yang terjadi secara kualitatif disebabkan masih adanya luka atau infeksi yang terjadi pada pembuluh darah sehingga trombosit akan memproduksi lebih banyak sel. Sebaliknya perlakuan yang diberikan ekstrak kayu secang dengan dosis 2% jumlah trombosit yang dimiliki rendah karena pengaruh antibakteri dari senyawa metabolit tersebut tampaknya berdampak pada sistem kerja trombosit sehingga mengakibatkan penurunan nilai trombosit. Menurut pernyataan Adrial *et al.*, (2018) menyatakan bahwa menurunnya jumlah trombosit karena adanya kandungan zat aktif dalam ekstrak diyakini berdampak pada aktivitas penyembuhan luka dan dapat dijadikan sebagai antimikroba.

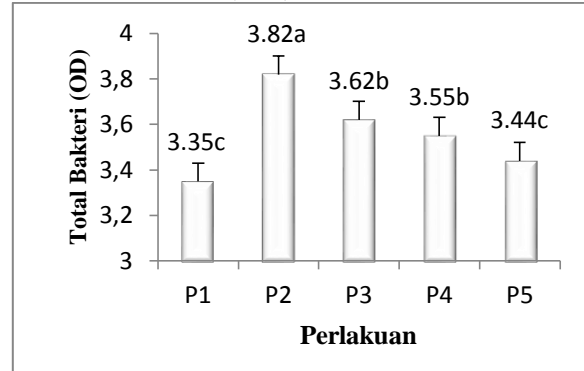
Aktifitas Fagositosis



Pada Gambar 6. menunjukkan bahwa nilai yang telah diinjeksi oleh bakteri *A. hydrophila* yang mana nilai tertinggi terdapat pada perlakuan P5 sebesar 66.1%, diikuti P4 63.9%, P3 60.6%, P2 53.6% dan nilai terendah P1 sebesar 41.2%. Hal ini diperoleh bahwa P1, P2, P3, pada semua perlakuan yang dihasilkan berpengaruh berbeda nyata ($p > 0,05$) namun, P4 dan P5 tidak berbeda ($p > 0,05$).

Dari hasil yang diperoleh bahwa nilai AF tertinggi ditunjukkan pada perlakuan P5 yakni 66.1%. Peningkatan aktivitas fagositosis pada ikan nila ini dikarenakan adanya ekstrak kayu secang yang dimasukkan kedalam pakan dengan dosis sebanyak 2% mengandung senyawa fitokimia yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis. Rosnizar *et al.*, (2017) menyatakan bahwa senyawa flavonoid dapat meningkatkan kemampuan fagositosis secara cepat dalam menghancurkan antigen dan mikroorganisme intraseluler serta meningkatkan pertahanan terhadap antigen ekstraseluler. Selain itu, rendahnya nilai aktivitas fagositosis pada perlakuan P2 diduga ikan mengalami stress yang dapat disebabkan kurangnya nutrisi yang mana tidak adanya rangsangan imunostimulan atau pemberian ekstrak yang dapat meningkatkan jumlah fagosit dalam melawan bakteri. Menurut pernyataan Mardiana & Budi, (2017) menyatakan bahwa semakin rendah nilai aktivitas fagositosis maka semakin tinggi patogen bakteri tersebut.

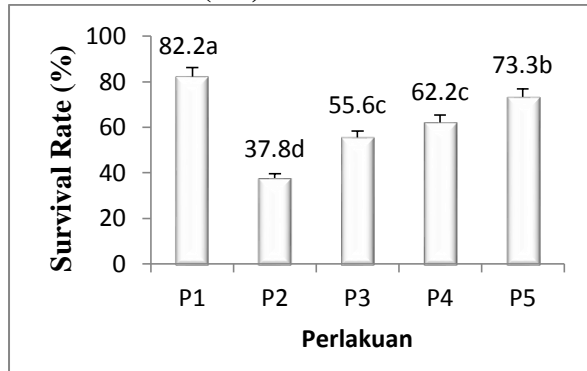
Nilai Absorban (OD)



Pada Gambar 7. mendeskripsikan bahwa P1 berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan P2 dan P3, namun tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P4 dan P5. P2 berbeda ($p > 0,05$) dengan semua perlakuan. P3 berbeda ($p > 0,05$) dengan P1, P2, dan P4, akan tetapi tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P4. P4 berbeda ($p > 0,05$) dengan P1 dan P2 tetapi tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P3 dan P5. P5 berbeda ($p > 0,05$) dengan P2 dan P3, namun tidak berbeda ($p > 0,05$) dengan P1 dan P4.

Terlihat bahwa hasil total bakteri yang diperoleh pasca uji tantang pada perlakuan P2 sebesar 3.82 OD memiliki jumlah paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa adanya bakteri dalam usus ikan yang menandakan terganggunya proses pencernaan ikan. Menurut Ali *et al.*, (2014) menyatakan bahwa bakteri *A. hydrophila* berkembangbiak didalam usus yang menyebabkan pendarahan selaput pada usus sehingga menurunnya respon terhadap pakan karena adanya gangguan metabolisme didalam tubuh ikan. Selain itu, pada perlakuan P5 sebesar 3.44 OD yang diberikan ekstrak memiliki nilai absorban yang rendah, dan tidak jauh berbeda dari P1. Rendahnya nilai absorban pada perlakuan P5 dapat disebabkan oleh kandungan senyawa metabolit sekunder yang memiliki peran penting dalam menghentikan penyebaran bakteri, khususnya akibat infeksi *A. hydrophila*. Menurut Nomer *et al.*, (2019) bahwa ekstrak etanol kayu secang mengandung flavonoid, alkaloid, dan tannin yang mampu berperan sebagai aktivitas antibakteri.

Survival Rate (SR)



Pada Gambar 8. Dapat dilihat bahwa nilai tertinggi dimiliki perlakuan P1 yaitu 82.2% yang berbeda ($p>0,05$) di semua perlakuan, diikuti perlakuan P5 yaitu 73.3% yang berbeda ($p>0,05$) pada semua perlakuan. Kemudian P4 yaitu 62.2% tidak berbeda ($p>0,05$) dengan P3 yaitu 55.6% serta P2 yang berbeda ($p>0,05$) pada semua perlakuan dengan nilai sebesar yaitu 37.8%.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada ikan nila menunjukkan perbedaan dalam kelangsungan hidup antara perlakuan P2 yakni 37.8% memiliki perentase terendah dikarenakan tidak adanya penambahan ekstrak dalam pakan sehingga pada pasca infeksi dengan bakteri *A. hydrophila*, bakteri terus berkembang sehingga ketahanan tubuhnya lemah dan mengalami kematian. Sedangkan pada perlakuan P5 dengan tambahan ekstrak kayu secang memberikan hasil yang baik dalam tingginya kelangsungan hidup. Hal ini memperlihatkan kandungan bahan antibakterial yang terdapat pada ekstrak yang diberikan sudah efektif untuk mencegah infeksi *A. hydrophila*. Sesuai dengan pernyataan Astiyani *et al.*, (2022) menyatakan penambahan ekstrak menunjukkan hasil yang berbeda dengan pemeliharaan tanpa penambahan apapun, diduga karena adanya senyawa aktif yang pada ekstrak secang bereaksi positif terhadap kekebalan tubuh ikan meningkat dan kelangsungan hidup ikan tinggi dibandingkan pemeliharaan tanpa perlakuan.

SIMPULAN

Kesimpulan pada penelitian ini bahwa pemberian ekstrak kayu secang dengan dosis sebanyak 2% pada pakan dapat meningkatkan daya tahan tubuh ikan nila yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila* terhadap jumlah eritrosit total 1.81×10^6 sel/mm³, jumlah leukosit total 2.79×10^4 sel/mm³, haemoglobin 6.0%, hematokrit 17.3%, differensial leukosit pada sel limfosit 70.3%, sel monosit 4.0%, sel neutrofil 16.7%, dan trombosit 5.7%. Untuk nilai aktivitas fagositosis 66.1%, nilai absorban 3.44 OD dan nilai kelangsungan hidup (SR) 73.3%.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrial, A., Nur, I., & Yusnaini. (2018). Potensi Tepung Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana*) yang Ditambahkan dalam Pakan terhadap Profil Darah Ikan Komet (*Carrasius Auratus*) The Potency of Dietary Rind Powdered of Mangosteen Fruit (*Garcinia Mangostana*) on Hematological Paramet. *Media Akuatika*, 3(3), 689–701.
- Astiyani, P. W., Akbarurrasyid, M., Prama, A. E., & Iskandar, A. (2022). Pengaruh Dosis Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Pada Pakan terhadap Pertumbuhan dan Sintasan Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*). *Journal of Marine Research*, 11(1), 30–36.
- Amanu, S., Kurniasih, & Indaryulianto, S. (2014). Identifikasi Penyakit Aeromonas pada Budi Daya Ikan Air Tawar di Bali. *Jurnal Veteriner*, 15(4)(4), 474–486.
- Agung, A. L., Prayitno, B. S., & Sarjito. (2013). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap Profil Darah Ikan Kerapu Macan (*Eppinephelus fuscoguttatus*). *Journal of Aquaculture Management and Tecnology*, 2(1), 87–101.
- Cerlina, M., Riauaty, M., & Syawal, H. (2022). Gambaran Eritrosit Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Terinfeksi Aeromonas hydrophila dan Diobati dengan Larutan Daun Salam

- (*Syzygium polyantha*). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 27(1), 105-113.
- Eviani, E., Prasetyono, E., Robin, R., & Febrianti, D. (2019). Pencampuran Ekstrak Daun Gamal (*Gliricidia sepium*) ke dalam Pakan terhadap Peningkatan Sistem Imun pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Sains Dasar*, 8(2), 38–44.
- Hartika, R., Mustahal, M., & Noer Khaerin Putra, A. (2014). Gambaran Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Penambahan Dosis Prebiotik yang Berbeda dalam Pakan. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 4(4), 259–267.
- Hendriana, A., Hikmah, P. N., Iskandar, A., Ramadhani, D. E., Kusumanti, I., & Arianto, A. D. (2022). Budidaya Ikan Nila Hitam *Oreochromis niloticus* Studi Kasus Usaha Pembesaran di Tambak H. Umar Faruq Sidoarjo, Jawa Timur. *Jurnal Ilmiah Satya Minabahari*, 8(1), 1–11.
- Karlina, Y., Adirestuti, P., Agustini, M. D., Fadhillah, L. N., & Malita, D. (2016). Pengujian Potensi Antijamur Ekstrak Air Kayu Secang Terhadap *Aspergillus niger* dan *Candida albicans*. *Chimica et Natura Act*, 4(2), 84-87.
- Maisyaroh, L. A., Susilowati, T., Alfabetian, F. B., & Yuniarti, T. (2018). Penggunaan Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*) sebagai Antibakteri untuk Mengobati Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal Sains Akukultur Tropis*, 2(2), 36–43.
- Mardiana, & Budi, S. (2017). Respon Imun Ikan Nila *Oreochromis niloticus* dengan Pemberian Xanton yang Diekstraksi dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana*). *Octopus Jurnal Ilmu Perikanan*, 6(1), 585–591.
- Maulinia, & Herlina, S. (2022). Gambaran Darah Sebagai Indikator Kesehatan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diberi Pakan Tambahan Probiotik Rabbal. *Jurnal Ilmu Hewani Tropika*, 11(1), 11–16.
- Mufti Jr, D., Lukistyowati, I., & Riau waty, M. (2022). Penambahan Larutan Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) dalam Pakan untuk Mencegah Penyakit Edwardsiosis pada Ikan Jambal Siam (*Pangasianodon hypophthalmus*). *jurnal Ilmu Perairan*, 10(1), 21-30.
- Nugraha, A. C., Prasetya, A. T., & Mursiti, S. (2017). Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri dari Daun Mangga. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(2), 91–96.
- Prabawa, P. G. D. I., Khairiah, N., & Ihsan, H. (2019). Kajian Bioaktivitas dan Metabolit Sekunder dari Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) Untuk Sediaan Bahan Aktif. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 13(2), 33-40.
- Pattipeiluhu, S. (2022). Infeksi *Aeromonas hydrophila* dan Dampaknya pada Gejala Klinis dan Parameter Darah Ikan Nila *Oreochromis niloticus*. *JFMR-Journal of Fisheries and Marine Research*, 6(3).
- Pasaribu, W., Longdong, J. N., & Mudeng, D. J. (2015). Efektivitas Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina L.*) Untuk Meningkatkan Respon Imun Non Spesifik Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Budidaya Perairan*, 3(1), 83-92.
- Ta'dung, R., Tumbol, A. R., Mudeng, D. J., Sinjal, J. H., & Lumenta, C. (2023). Pemanfaatan Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus L. (Bent)*) Untuk Meningkatkan Respon Imun Benih Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *e-Journal Budidaya Perairan*, 11(2), 90-97.
- Utami, T. D., Prayitno, B. S., Hastuti, S., & A. S. (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.
- Vinasyiam, A., Hadiroseyani, Y., &

- Agustiyana, C. (2022). Aspek Teknis Budidaya Dan Profitabilitas Pendederan Ikan Nila Merah (*Oreochromis niloticus*) Studi Kasus Di Turbo Farm, Kota Bogor Jawa Barat. *Jurnal Akuakultur Sungai Dan Danau*, 7(2), 61.
- Widhasari, S. R. (2019). Kelayakan Ekstrak Kayu Secang Sebagai Pewarna Alami Kosmetika Blush on. *Beauty And Beauty Health Education Journal*, 8(1), 54.