

**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK DAUN KAWISTA (*Limonia acidissima*) TERHADAP SISTEM IMUN IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG DIINJEKSI DENGAN BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

**EFFECT OF ADDING KAWISTA (*Limonia acidissima*) LEAF EXTRACT ON THE IMMUNE SYSTEM OF KOI FISH (*Cyprinus carpio*) INJECTED WITH *Aeromonas hydrophila* BACTERIES**

**Dandung Stiawan<sup>1\*</sup>, Fariq Azhar<sup>1</sup>, Zaenal Abidin<sup>1</sup> dan Dewi Nur' aeni Setyowati**

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

Jl. Majapahit No.62, Selaparang, Mataram, Nusa Tenggara Barat 83115 Indonesia

\*E-mail: [danuini54@gmail.com](mailto:danuini54@gmail.com)

**ABSTRAK**

Budidaya ikan koi pada kegiatannya memiliki banyak hambatan yang ditemukan untuk memenuhi kebutuhan pasar yang tinggi seperti hama serta penyakit pada ikan koi. *A. hydrophila* ialah bakteri yang menyebabkan beberapa penyakit menular pada ikan air tawar. Salah satu upaya pencegahan serta pengobatannya yaitu dengan memanfaatkan tanaman yang mempunyai kandungan antimikroba, salah satunya adalah tanaman kawista. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kawista (*L. acidissima*) terhadap sistem imun ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila*. Metode yang digunakan adalah metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 Perlakuan dan 3 ulangan yaitu P1 (K+) (Tidak diberikan ekstrak daun kawista dan diinjeksi bakteri *A. hydrophila*), P2 (K-) (Tidak diberikan ekstrak daun kawista dan diinjeksi NaCl 0.9%), P3 (Penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis 0.5% dan diinjeksi bakteri *A. hydrophila*), P4 (Penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis 1% dan diinjeksi bakteri *A. hydrophila*), P5 (Penambahan ekstrak daun kawista pada pakan dengan dosis 2% dan diinjeksi bakteri *A. hydrophila*). Pada penelitian ini diperoleh perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan P4 dengan nilai total eritrosit sebesar  $1.90 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, total leukosit  $2.63 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, diferensial leukosit terbagi menjadi 4 bagian yaitu limfosit 73.7%, monosit 8.7%, neutrofil 23,7%, dan trombosit 15,7%, hemoglobin 74.9%, hematokrit 17.39%, aktivitas fagositosis 74.9%, dan Total Bakteri Count (TBC) sebesar OD<sub>620</sub> 2.89 dan survival rate sebesar 78%. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa penggunaan ekstrak daun kawista dengan dosis 1% pada pakan sangat efektif karena mampu meningkatkan sistem imun ikan koi yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila* dengan perlakuan terbaik terdapat pada P4.

**Kata kunci:** Ikan koi, *A. hydrophila*, Daun kawista

**ABSTRACT**

Koi fish farming activities have many obstacles that are found to meet the high market demand such as pests and diseases in koi fish. *A. hydrophila* is a bacterium that causes several

infectious diseases in freshwater fish. One of the efforts to prevent and treat it is by utilizing plants that have antimicrobial content, one of which is the kawista plant. The purpose of the study was to determine the effect of kawista (*L. acidissima*) leaf extract on the immune system of koi fish (*Cyprinus carpio*) injected with *A. hydrophila* bacteria. The method used is an experimental method with a completely randomized design (CRD) consisting of 5 treatments and 3 replicates, namely P1 (K+) (Not given kawista leaf extract and injected with *A. hydrophila* bacteria), P2 (K-) (Not given kawista leaf extract and injected with NaCl 0.9%), P3 (Addition of kawista leaf extract to feed at a dose of 0.5% and injected with *A. hydrophila* bacteria), P4 (Addition of kawista leaf extract to feed at a dose of 1% and injected with *A. hydrophila* bacteria), P5 (Addition of kawista leaf extract to feed at a dose of 2% and injected with *A. hydrophila* bacteria). In this study, the best treatment was obtained in the P4 treatment with a total erythrocyte value of  $1.90 \times 10^6$  cells/mm<sup>3</sup>, total leukocytes  $2.63 \times 10^4$  cells/mm<sup>3</sup>, leukocyte differential divided into 4 parts, namely lymphocytes 73.7%, monocytes 8.7%, neutrophils 23.7%, and platelets 15.7%, hemoglobin 74.9%, hematocrit 17.39%, phagocytosis activity 74.9%, and Total Bacteria Count (TB) of OD620 2.89 and survival rate of 78%. The conclusion of this study is that the use of kawista leaf extract at a dose of 1% in feed is very effective because it can improve the immune system of koi fish injected with *A. hydrophila* bacteria with the best treatment found in P4.

**Keywords:** Koi fish, *A. hydrophila*, Kawista leaves

## **PENDAHULUAN**

Seiring membaiknya perkembangan akuakultur, berbagai macam organisme akuatik dibudidayakan sebagai kebutuhan masyarakat dan keperluan industri. Tetapi pada aktivitas budidaya, yang mempengaruhi menurunnya produksi yaitu penyakit yang akan mengakibatkan kerugian yang relatif besar. Macam-macam penyakit yang ditimbulkan yaitu bakteri, fungi, virus juga protozoa yang memiliki kemampuan menginfeksi ikan. Penyakit tersebut bisa menyerang ikan pada jumlah besar serta mengakibatkan kematian dan mengalami kerugian yang sangat besar. Munculnya penyakit disebabkan oleh interaksi yang tidak serasi antara inang, pathogen, dan lingkungan (Muslikha, 2016).

Masalah utama dalam budidaya ikan hias di Indonesia hingga saat ini salah satunya adalah tentang penyakit. Penyakit ini menyebabkan kerugian ekonomis karena dapat menyebabkan pertumbuhan terhambat, periode pemeliharaan lebih lama, tingginya konversi pakan, padat tebar yang tinggi dan kematian ikan, sehingga dapat mengakibatkan menurunnya atau hilangnya produksi. Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan hias di kolam adalah penyakit parasiter, yaitu penyakit yang

disebabkan organisme parasit Protozoa, Helminth dan Arthropoda. Parasit merupakan hewan renik yang hidup pada organisme lain yang berbeda spesiesnya, selain mendapatkan perlindungan juga memperoleh makanan untuk kelangsungan hidupnya. Penularan parasit lebih mudah dan lebih cepat terjadi dalam usaha budidaya ikan koi (Prasetya et al., 2013).

Permasalahannya ialah penyakit yang ditimbulkan dari infeksi. Serangan agen infeksi seperti bakteri, virus, parasit ialah penyebab penyakit. Bakteri *Aeromonas hydrophila* ialah salah satu mikroorganisme termasuk pada golongan bakteri oportunistik dikarenakan dapat menimbulkan penyakit di keadaan tertentu yaitu stress, perubahan keadaan lingkungan, dan keadaan inang yang sudah terserang parasit. Bakteri *Aeromonas hydrophila* bisa menyerang lewat permukaan tubuh yang mengalami luka atau melalui insang yang dimana akan masuk ke pembuluh darah serta pada organ dalam lainnya (Anggraini, 2016).

Memanfaatkan tanaman yang mempunyai kandungan serta berguna menjadi antibakteri adalah salah satu upaya pada proses mencegah serta mengobati penyakit infeksi yang disebabkan bakteri *A. hydrophila*. Salah satu tanaman yaitu tanaman kawista adalah tanaman yang dapat dimanfaatkan. Kawista merupakan jenis tanaman yang masuk dalam anggota Rutaceae. Kandungan senyawa dari Spesies ini yaitu fitokimia yang memiliki khasiat pengobatan. Buah dari kawista mempunyai senyawa saponin, fenol, alkaloid, serta flavonoid. Dimana hampir keseluruhan bagian tanaman ini dimanfaatkan secara tradisional untuk pengobatan berbagai macam penyakit yaitu pada bagian akar, kulit batang, daun, getah serta buahnya (Audia, 2017).

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa pengaruh penambahan ekstrak daun kawista terhadap sistem imun ikan koi yang diinjeksi dengan bakteri *Aeromonas hyophila*.

## MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan selama 60 hari, dari 17 Juni sampai tanggal 15 Agustus 2022 di Laboratorium Reproduksi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram dan dilanjutkan pengamatan di Laboratorium Kesehatan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram. Uji fitokimia dan pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium Kimia Dasar, Fakultas MIPA, Universitas Mataram.

Alat yang digunakan adalah autoclave, bak container 45 L, blender, Bunsen, cawan petri, cover glass, DO meter, erlenmeyer, haemocytometer, haemometer, hematokrit, hot plate, jarum ose, kaca preparat, kertas saring, mikroskop, mikropipet, mikrotube, penggaris, pH meter, rotary evaporator, sentrifugator, spektrofotometer, suntikan 1 mL, timbangan analitik 0,0001 g, dan vortex. Bahan yang digunakan adalah alkohol 95%, antikogulan, aquades, bakteri *A. hydrophila*, bakteri *streptococcus* sp., ekstrak daun komak, etanol 96%, Ikan koi, larutan giemsa, larutan turk's, larutan HCL 0,1 N, media NA (Nutrient Agar), media TSB (Tryptic Soy Broth).

Metode penelitian dengan RAL atau rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan diterapkan pada penelitian ini. Sebesar 3 kali pengulangan setiap perlakuannya. Perlakuan pada penelitian ini yaitu (Fadillah dkk., 2019):

Tabel 1. Perlakuan penelitian

Perlakuan	Keterangan
K-	Pemberian pakan tanpa ekstrak, ikan diinfeksi NaCl
K+	Pemberian pakan tanpa ekstrak, ikan diinfeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>
P1	Pemberian pakan dengan ekstrak 0,5%, ikan diinfeksi <i>A. hydrophila</i>
P2	Pemberian pakan dengan ekstrak 1%, ikan diinfeksi <i>A. hydrophila</i>
P3	Pemberian pakan dengan ekstrak 2%, ikan diinfeksi <i>A. hydrophila</i>

Prosedur penelitian terdiri dari tahap persiapan media dan ikan uji, pembuatan ekstrak daun komak, pemberian pakan ekstrak daun komak, persiapam bakteri *A. hydrophila*, ujiantang, pengambilan darah dan pengamatan darah dan usus. Pengamatan darah meliputi, eritrosit, leukosit, hemoglobin, hematokrit, diferensial leukosit, aktivitas fagositosis dan total bakteri.

Pembuatan ekstrak daun komak yaitu menyiapkan 1 kg bubuk daun komak, dimaserasi menggunakan cairan penyari (etanol 96%) sebanyak 3 L. Simplisia selama 72 jam dimaserasi pada ruangan sejuk dan terhindar dari sinar matahari (suhu kamar). Simplisia diaduk sesekali menggunakan batang pengaduk setiap 5 jam. kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman nomor 1. Simplisia yang telah disaring kemudian dimasukkan pada Rotary vacum evaporator untuk mendapatkan ekstrak.

Pakan yang diberikan pada ikan uji berupa pakan komersial Takari. Pakan ditimbang sebanyak 5% dari berat biomassa ikan setiap 10 hari terakhir. Pakan tersebut dimasukkan pada plastik zipper dan dicampur dengan ekstrak daun komak yang berbeda-beda sesuai dengan konsentrasi pada setiap perlakuan. Ikan dipelihara selama 50 hari dengan pemberian pakan tersebut. Pemeliharaan ikan dilakukan dengan diberikan pakan sebesar 3 kali dalam sehari di saat pagi, siang, serta sore.

Pengujian ini dilaksanakan di hari ke 51 pemeliharaan. Ujiantang dilakukan untuk menginfeksi ikan dengan bakteri *A. hydrophila* menggunakan jarum suntik 1 cc dengan konsentrasi 0,1 ml yang dilakukan pada badan ikan secara intramuskuler pada bagian punggung. Ikan yang sudah dilakukan ujiantang selama 10 hari, selanjutnya dilakukan pengambilan darah dan usus. Pengambilan darah dilakukan dengan menyuntikkan jarum suntik 1 cc yang berisi antikoagulan sebanyak 0,2 ml pada badan ikan diantara sirip ekor dan anus. Darah yang sudah diambil digunakan sebagai bahan untuk pengamatan parameter penelitian.

Jumlah eritrosit dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut (Amelia dkk., 2021).

$$SDM = \left( \frac{Ne \times 200}{0,02} \right)$$

Keterangan:

200 = Faktor Pengenceran

Ne =  $\Sigma$  Jumlah eritrosit pada 5 kotak hitung

0,02 = Volume total darah dalam 5 kotak hitung (mm<sup>3</sup>)

Lalu jumlah sel darah putih dihitung menggunakan rumus (Amelia dkk., 2021):

$$SDP = \left( \frac{Nl \times 20}{0,4} \right)$$

Keterangan:

20 = Faktor Pengenceran

Nl =  $\Sigma$  Jumlah leukosit pada kotak hitung

0,4 = Volume total darah dalam kotak hitung (mm<sup>3</sup>)

Hemoglobin dihitung menggunakan Tabung sahli. Tingginya skala larutan darah dihitung menjadi ukuran Hb (%) (Sarkiah dkk., 2016).

Kadar hematokrit dihitung menggunakan rumus (Sarkiah dkk., 2016):

$$Kadar Hct = \frac{Panjang\ volume\ sel\ darah\ merah\ yang\ mengendap\ (cm)}{Panjang\ total\ volume\ darah\ dalam\ tabung\ (cm)} \times 100\%$$

Perhitungan leukosit dilakukan sampai diperoleh 100 sel leukosit lalu persentase jenis-jenis leukosit bisa dihitung menggunakan rumus (Widyaningrum dkk., 2017) sebagai berikut:

$$Persentase\ Limfosit\ (L) = \frac{L}{100} \times 100$$

$$Persentase\ Monosit\ (M) = \frac{M}{100} \times 100$$

$$Persentase\ Neutrofil\ (N) = \frac{N}{100} \times 100$$

$$Persentase\ Trombosit\ (T) = \frac{T}{100} \times 100$$

Aktivitas fagositosis dihitung melalui rumus (Indriasari dkk., 2014) sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas Fagositosis} = \frac{\text{Jumlah sel fagosit yang melakukan fagositosis}}{\text{Jumlah sel fagosit}} \times 100$$

TBC selanjutnya diukur menggunakan Spektrofotometer. Jumlah total bakteri dinyatakan dengan satuan OD (Optical Density) (Rosmania dan Yanti, 2020).

Survival rate dapat dihitung dengan rumus yang berasal dari penelitian (Jannah dkk., 2018) yaitu :

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

Keterangan :

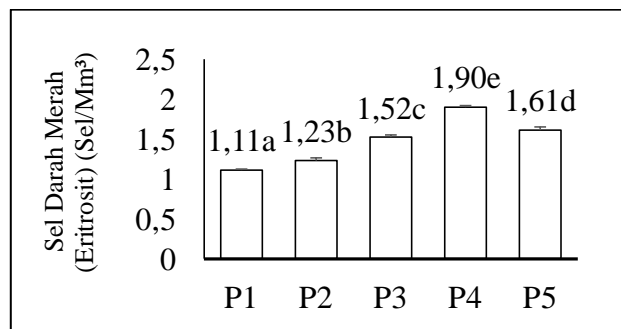
$SR$  = Tingkat kelangsungan hidup ikan (%)

$N_t$  = Banyak ikan mati setelah uji tantang

$N_0$  = Banyak ikan di penelitian

Parameter penelitian seperti eritrosit, leukosit, hemoglobin, hematokrit, diferensial leukosit, aktivitas fagositosis, total bakteri dan survival rate dianalisa menggunakan cara deskriptif dan statistik menggunakan SPSS dengan Versi (16.0). Dilakukan uji anova pada indeks terpercaya 95% ( $P < 0,05$ ). Jika hasil yang diperoleh berbeda nyata, maka uji lanjutan dilakukan menggunakan Duncan pada tingkat kepercayaan 95%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

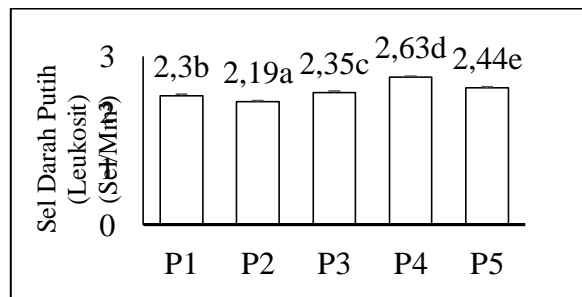


Gambar 1. Nilai Eritrosit Ikan Koi Pasca Uji Tantang

Sel darah merah merupakan salah satu sel darah yang ada dalam tubuh organisme salah satunya ikan koi yang berfungsi sebagai sel penunjang kehidupan ikan

yang utama. Hasil sel darah merah tertinggi didapatkan pada perlakuan P4 sebesar  $1,9 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, terendah terdapat pada perlakuan P1 (kontrol+) sebesar  $1,11 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>. Tingginya nilai total sel darah merah pada perlakuan P4 dikarenakan ikan meyerap pakan yang mengandung ekstrak daun kawista yang memiliki zat kimia aktif sebagai pembentukan antibodi ikan. Zat kimia aktif dalam ekstrak kawista dapat menebalkan dinding sel darah merah sehingga pada saat gangguan dari luar tubuh yang masuk kedalam tubuh yang mempengaruhi sel darah merah ikan, maka sel darah merah ikan akan tetap kuat. Berdasarkan Supriatno (2017) yang menyatakan bahwa pada tanaman Kawista ditemukan adanya kandungan senyawa alkaloid, saponin, polifenol, flavonoid, tanin, dan triterpenoid. Kemampuan ekstrak daun Kawista sebagai antibakteri didukung oleh zat-zat aktif yang dikandung oleh buah kawista.

Rendahnya sel darah merah ikan koi pada perlakuan P1 yang di infeksi bakteri aeromonas tetapi tidak diberikan ekstraksi daun kawista selama pemeliharaan disebabkan karena tidak adanya zat aktif yang merangsang antibodi sebagai pembentuk pertahanan tubuh ikan koi yang dipelihara, sehingga ikan mudah sakit dan mudah stres akibat gangguan dari luar seperti lingkungan maupun penyakit.



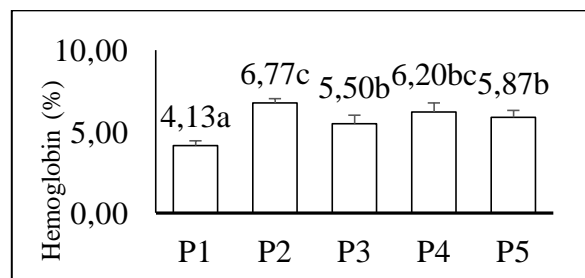
Gambar 2. Nilai Leukosit Ikan Koi Pasca Uji Tantang

Sel darah putih merupakan salah satu sel darah yang terdapat dalam tubuh ikan yang berfungsi sebagai pertahanan dari serangan penyakit atau gangguan benda asing lain yang masuk kedalam tubuh. Sel darah putih tertinggi didapatkan pada perlakuan P4 sebesar  $2,63 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, terendah terdapat pada perlakuan P2 (kontrol-) sebesar  $2,19 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>. Tingginya jumlah total sel darah putih pada perlakuan P4 dikarenakan fungsi dari zat aktif yang terkandung dalam ekstrak daun kawista seperti



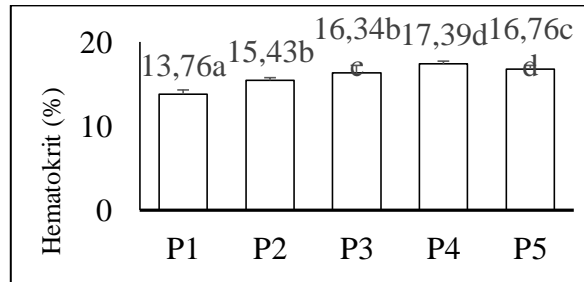
tanin, saponin, flavonoid memberikan pengaruh terhadap jumlah produksi sel darah putih ikan koi yang terinfeksi penyakit, Pernyataan tersebut sesuai dengan Supriatno (2016) yang menyatakan bahwa Penggunaan ekstrak Kawista sebagai pengganti antibiotika kimia yang berasal dari bahan alam diperkirakan cukup efektif untuk mengatasi masalah resistensi bakteri, khususnya bakteri patogen.

Rendahnya nilai sel darah putih pada perlakuan P1 disebabkan karena tidak diberikan ekstrak daun kawista pada pakan selama pemeliharaan yang mengakibatkan ikan rentan sakit karena produksi sel darah putih oleh tubuh rendah mengakibatkan ikan dalam memperbaiki sel atau membunuh bakteri penyerang penyakit lama dibandingkan dengan ikan yang diberikan daun kawista.



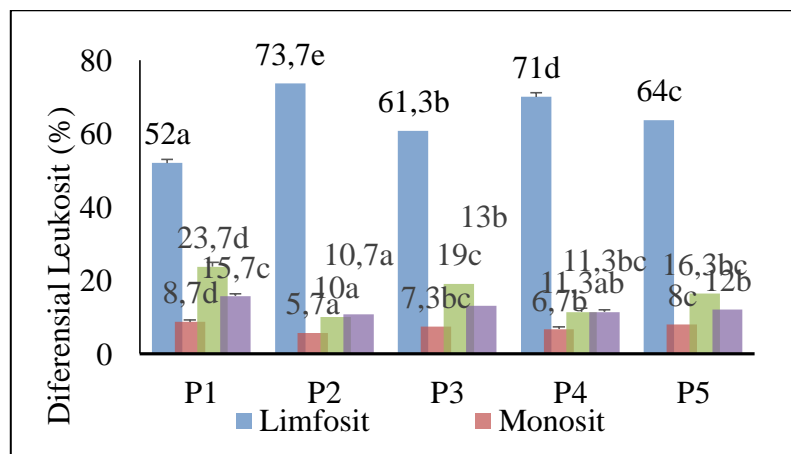
Gambar 3. Nilai Hemoglobin Ikan Koi Pasca Uji Tantang

Hemoglobin memiliki fungsi 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 sesuai dengan Maulinia (2022) yang menyatakan bahwa rendahnya hemoglobin menyebabkan laju metabolisme menurun dan energi yang dihasilkan rendah sehingga membuat ikan menjadi lemah dan tidak memiliki nafsu makan serta terlihat diam di dasar atau berada di permukaan perairan.



Gambar 4. Nilai Hematokrit Ikan Koi Pasca Uji Tantang

Nilai hematokrit berkorelasi positif dengan jumlah kadar sel darah merah. Dengan kata lain kadar hematokrit akan tinggi bila nilai sel darah merah meningkat. Menurut Salasia (2001), nilai hematokrit berhubungan langsung dengan jumlah eritrosit ikan, artinya nilai hematokrit akan meningkat jika jumlah eritrosit mengalami peningkatan. Kadar hematokrit ikan koi tertinggi didapatkan pada perlakuan P4 17.39 %, terendah terdapat pada perlakuan P1 (kontrol+) sebesar 13.76 %. Tingginya kadar hematokrit pada perlakuan P4 dikarenakan pemberian ekstrak daun kawista yang tepat dari segi jumlah dosis yang digunakan. Dosis yang tepat akan mempengaruhi kandungan zat kimia yang diserap oleh ikan koi dari ekstrak kawista sehingga menyebabkan tingginya nilai kadar hematokrit pada perlakuan P4.



Gambar 5. Nilai Diferensial Leukosit Ikan Koi Pasca Uji Tantang

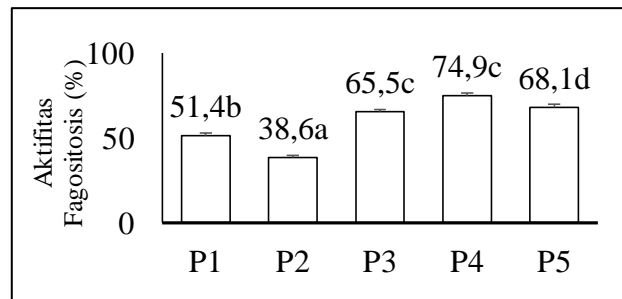
Diferensial leukosit adalah kumpulan sel darah putih yang terdiri dari dua kelompok granulosit dan agranulosit, granulosit terdiri dari heterosinofil, eosinofil, dan basofil, sedangkan agranulosit terdiri dari limfosit dan monosit.

Nilai limfosit terbesar setelah diinjeksi bakteri didapatkan pada perlakuan P2 dengan nilai 73,7 %, terendah terdapat pada perlakuan P1 (kontrol+) sebesar 52 %. Menurut Rustikawati (2012) yang menyatakan bahwa limfosit berperan dalam sistem kekebalan spesifik yang dapat melindungi tubuh dari infeksi patogen. Tingginya nilai limfosit pada perlakuan P4 karena Zat aktif seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid berfungsi sebagai zat anti bakteri, Keberadaan ekstrak kawista meberikan keuntungan untuk ikan karena berfungsi juga sebagai pembentuk anti bodi sebagai pertahanan tubuh ikan. Rendahnya nilai limfosit pada P1 dikarenakan tidak diberi ekstrak daun kawista dan diinjeksi bakteri sehingga tidak adanya senyawa yang melindungi sistem imun ikan. Berdasarkan Rahmi (2020) yang menyatakan bahwa daun kawista memiliki aktivitas antioksidan diduga karena mengandung senyawa fenolik, steroid, saponin, tannin, dan alkaloid.

Nilai monosit terbesar setelah diinjeksi bakteri didapatkan pada perlakuan P1 sebesar 8,7%, terendah terdapat pada perlakuan P2 (kontrol-) sebesar 5,7 %. Monosit berperan penting untuk memfagosit antigen yang masuk ke dalam tubuh dan memberikan informasi tentang infeksi penyakit kepada leukosit. Berdasarkan Budianto (2020) yang menyatakan bahwa Tingginya jumlah monosit berkaitan dengan respons daya tahan tubuh untuk melawan infeksi penyakit.

Nilai neutrofil terbesar setelah diinjeksi bakteri didapatkan pada perlakuan P1 sebesar 23,7 %, terendah terdapat pada perlakuan P2 (kontrol-) sebesar 10 %. neutrofil adalah penghancuran bahan asing melalui proses fagisitosis, yaitu kemotaksis di mana sel bermigrasi menuju partikel, perlekatan partikel pada sel, penelanan partikel oleh sel dan penghancuran partikel oleh enzim lisosom di dalam fagolisosom. Berdasarkan Widyawati (2020) yang menyatakan bahwa Keluarnya neutrofil dari pembuluh darah pada saat terjadinya infeksi disebabkan karena adanya pengaruh rangsangan kimiawi eksternal atau kemotaksis.

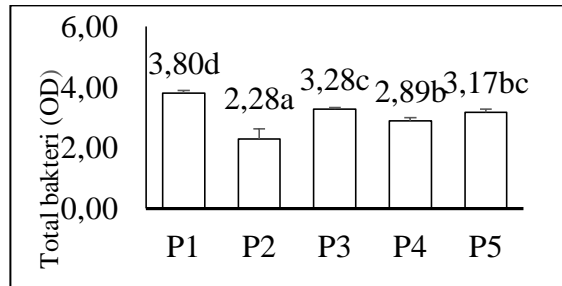
Nilai trombosit terbesar setelah diinjeksi bakteri didapatkan pada perlakuan P1 sebesar 15,7%, terendah terdapat pada perlakuan P2 (kontrol-) sebesar 10,7 %. Hal ini sesuai dengan pernyataan Salim (2016) bahwa trombosit berperan penting dalam proses pembekuan darah dan berfungsi untuk mencegah kehilangan cairan tubuh karena infeksi di permukaan tubuh. Trombosit meningkat ketika terjadi hemoragi dan luka. Trombosit diproduksi untuk membantu proses pembekuan darah agar tidak terjadi pendarahan lebih banyak. peningkatan kadar trombosit dalam darah ikan merupakan salah satu indikator yang dapat digunakan untuk menduga bahwa ikan dalam proses penyembuhan luka.



Gambar 6. Nilai Aktifitas Fagositosis Ikan Koi Pasca Uji Tantang

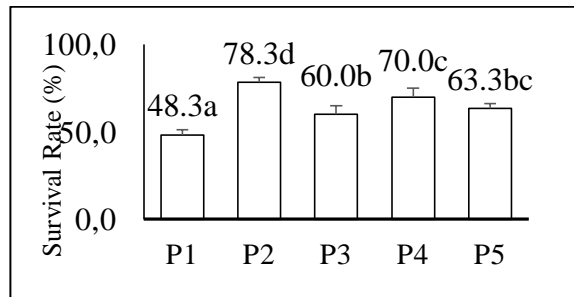
Aktivitas fagositosis merupakan aktivitas sel darah dimana sel darah memakan atau memfagositosis benda asing atau benda pengganggu yang masuk kedalam tubuh ikan penyebab penyakit. Hasil aktivitas fagositosis tertinggi didapatkan pada perlakuan P4 sebesar 74,9 %, terendah terdapat pada perlakuan P2 (kontrol-) sebesar 38,6 %. Tingginya aktivitas fagositosis pada perlakuan P4 dikarenakan sel darah yang melakukan fagositosis telah membentuk antibodi yang kuat akibat dari pemberian ekstrak daun kawista selama pemeliharaan.

Rendahnya nilai aktivitas fagositosis pada perlakuan P2 dikarenakan kondisi ikan yang tidak sehat akibat tidak diberikan ekstrak daun kawista. Kelebihan dari ekstrak daun kawista yaitu dapat memberikan energi pemicu kesehatan pada ikan akibat dari zat kimia aktif seperti tanin, saponin, flavonoid. Sehingga kemungkinan ikan tanpa perlakuan tidak sekuat ikan yang diberikan ekstrak daun kawista.



Gambar 7. Nilai TBC Ikan Koi Pasca Uji Tantang

Total bakteri count atau perhitungan total bakteri yang terdapat dalam usus ikan koi yang dipelihara. Perhitungan total bakteri bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri yang ada dalam usus ikan, sehingga dapat dilakukan pencegahan pertumbuhan bakteri di usus ketika kadar atau jumlahnya telah melampaui batas jumlah bakteri yang ditoleransi oleh ikan yang dipelihara. Pada penelitian ini total bakteri tertinggi didapatkan pada perlakuan P1(kontrol+) sebesar 3.8 OD, terendah terdapat pada perlakuan P2 (kontrol-) sebesar 2,28 OD. Rendahnya nilai total bakteri di usus ikan pada perlakuan P2 dikarenakan tidak adanya pemberian pakan yang dikombinasikan dengan pemberian ekstrak.



Gambar 8. Rata-rata SR Ikan Koi Terhadap Perlakuan

Tingkat kelangsungan hidup atau *survival rate* merupakan tolak ukur tingkat ketahanan hidup ikan pada penelitian yang didapatkan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan tingkat kelangsungan hidup tertinggi didapatkan pada perlakuan P2 (Kontrol-) sebesar 78,3 %. Kontrol negatif merupakan perlakuan yang tidak diberikan ekstrak daun kawista dan tidak dilakukan infeksi bakteri *Aeromonas Hydrophyla*. Tingginya nilai SR pada P2 karena pada P2 tidak dilakukan infeksi bakteri sehingga

ikan tidak terserang bakteri patogen yang dapat menyebabkan kematian pada ikan koi. Sedangkan perlakuan dengan nilai SR terendah didapatkan pada P1 (Kontrol+) 48,3 %. Kontrol positif adalah perlakuan yang tidak diberikan ekstrak daun kawista dan dilakukan infeksi bakteri *Aeromonas Hydrophyla*. Rendahnya nilai SR pada P1 disebabkan karena pada P1 tidak memiliki sistem ketahanan tubuh yang kuat dikarenakan tidak ada pemberian senyawa peningkat sistem imun sehingga patogen yang menyerang dapat menyebabkan kematian pada ikan koi. Pada perlakuan yang diberikan ekstrak daun kawista nilai SR tertinggi terdapat pada P4 sebesar 70% , tingginya tingkat kelangsungan hidup pada P4 diduga disebabkan adanya interaksi positif antara parameter sistem imun ikan koi dengan ekstrak daun kawista. Kandungan flavonoid, alkaloid, dan tanin pada ekstrak daun kawista dapat meningkatkan sistem imun ikan yang berperan dalam membunuh bakteri patogen yang masuk ke dalam tubuh ikan.

## **KESIMPULAN**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kawista dengan dosis yang berbeda mempengaruhi sistem imun ikan koi dan kelangsungan hidup ikan. Pada penelitian ini diperoleh perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan P4 dengan nilai total eritrosit sebesar  $1.90 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, total leukosit  $2.63 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, diferensial leukosit terbagi menjadi 4 bagian yaitu limfosit 73.7%, monosit 8.7%, neutrofil 23,7%, dan trombosit 15,7%, hemoglobin 74.9%, hematokrit 17.39%, aktivitas fagositosis 74.9%, dan *Total Bakteri Count* (TBC) sebesar OD<sub>620</sub> 2.89 dan *survival rate* sebesar 78%. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa penggunaan ekstrak daun kawista dengan dosis 1% pada pakan sangat efektif karena mampu meningkatkan sistem imun ikan koi yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila* dengan perlakuan terbaik terdapat pada P4.

## **SARAN**

Penelitian ini dapat dijadikan sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut tentang pemanfaatan daun kawista sebagai imunostimulan yang dapat diterapkan pada sistem

budidaya skala tinggi dengan penggunaan dosis dan biota yang berbeda.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam proses penelitian dan kelancaran penelitian.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Aliza, ddk. (2014). Diferensial Leukosit Dan Ketahanan Hidup Pada Uji Tantang Aeromonas Hydrophila Ikan Nila Yang Diberi Stres Panas Dan Suplementasi Tepung Daun Jaloh Dalam Pakan. *Jurnal Kedokteran Hewan* Vol. 8 No. 2
- Andriani, Y., Wulandari, A. P., Pratama, R. I., & Zidni, I. (2019). Peningkatan Kualitas Ikan Koi (*Cyprinus Carpio*) Di Kelompok Pbc Fish Farm Di Kecamatan Cisaat , Sukabumi (The Improvement Of Koi Fish (*Cyprinus Carpio*) Quality In The Pbc Fish. 5(1).
- Anggraini, ddk. (2016). Identifikasi Bakteri Aeromonas Hydrophila Dengan Uji Mikrobiologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*). 2527-6395. 1.
- Audia, ddk. (2017). Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Kawista (*Limonia Acidissima* L.) Dari Daerah Kabupaten Aceh Besar Terhadap Bakteri Escherichia Coli. *Jurnal Ilmiah*. Vol 2, No 1
- Bakhri, S. (2018). Analisis Jumlah Leukosit Dan Jenis Leukosit Pada Individu Yang Tidur Dengan Lampu Menyala Dan Yang Dipadamkan. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*, 1(1), 83–91. <https://doi.org/10.32382/Mak.V1i1.176>
- Budianto, ddk. (2020). Analisis Kondisi Kesehatan Ikan Patin *Pangasius* Sp. Yang Terinfeksi Bakteri *Edwardsiella Tarda*. *Journal Of Aquaculture And Fish Health* Vol. 9(2) - Doi : 10.20473/Jafh.V9i2.16192.
- Devitha, D., Utami, T., Prayitno, S. B., Hastuti, S., Santika, A. (2013). Gambaran Parameter Hematologis Pada Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Yang Diberi Vaksin Dna *Streptococcus Iniae* Dengan Dosis Yang Berbeda Studi, P., Perairan, B. Nila, I. (2013). *Online Di : Http://Ejournal.S1.Undip.Ac.Id/Index.Php/Jfp*

ik. 2, 7–20.

- Fadillah, N., Waspodo, 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>
- Lestari, ddk. (2017). Profil Hematologi Ikan Gabus (*Channa Striata* Bloch, 1793). *Protobiont* Vol. 6 (3) : 283 – 289
- Maulinia., Herlina S. 2022. Gambaran Darah sebagai Indikator Kesehatan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diberi Pakan Tambahan Probiotik Rabbal. *Jurnal Ilmu Hewani Tropika* 11: 11–16.
- Muslikha, ddk. (2016). Kata Kunci : Ikan Lele (*Clarias Sp .*), *Aeromonas Hydrophila*, Gen Faktor Virulen, Motile *Aeromonas Septicemia* (Mas). 5(4), 5–11.
- Nunia, Clara. P, Manopo. H. 2015. G Peningkatan Respon Kebal Non-Spesifik Dan Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Melalui Pemberian Jahe, *Zingiber Officinale*. *Jurnal Budidaya Perairan*, Vol. 3 No. 1: 11-18
- Prasetya, N., Subekti, S & Kismiyati. (2013). Prevalensi Ektoparasit Yang Menyerang Benih Ikan Koi (*Cyprinus Carpio*) Di Bursa Ikan Hias Surabaya. 5(1), 113–116.
- Rahmi, H, Rahmadewi, R. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Dan Kulit Buah Kawista (*Limonia Acidissima* L) Asal Kabupaten Karawang. *Jurnal Midpro* Volume 12 No.1
- Rika, P., Maruya, I., Moh, J., Ii, K., Sawah, S., & Selatan, J. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kawista ( *Limonia Acidissima* ) Terhadap *Escherichia Coli*. 8(8).
- Sandi, ddk. (2018). Karoten Alami Dalam Pakan Buatan Terhadap Kualitas Warna Ikan Ikan Koi ( *Cyprinus Carpio Linnaeus* ), *Color Quality Enhancement*. 2.
- Setiawan, F., Yanuhar, U., Kurniawan, A. (2019). Status Hematologi Dan Respon Imun Ikan Koi ( *Cyprinus Carpio* ) Yang Terinfeksi *Myxobolus Sp* . 15(1), 80–



- Supriatno, ddk. (2017). Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Kawista (*Limonia Acidissima* L.) Dari Daerah Kabupaten Aceh Besar Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Jurnal Ilmiah*. Vol 2, No 1
- Ulfiana, R., Mahasri, G., & Suprpto, H. (2012). Tingkat Kejadian *Aeromonas* Pada Ikan Koi (*Cyprinus Carpi*) yang Terinfeksi *Myxobolus Koi* Pada Derajat Infeksi Yang Berbeda. 4(2), 169–174.
- Fadillah, N., Waspodo, S., & Azhar, F. (2019). Penambahan Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora apiculata* pada Pakan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) untuk Pencegahan Vibriosis The Addition of Mangrove Leaf Extract *Rhizophora apiculata* in White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for Vibriosis Prevention . 4(2), 91–101.
- Pusparani, R., Widyorini, N., & Jati, O. E. (2021). Analisis Total Bakteri *Aeromonas* sp. Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Di Wilayah Keramba Jaring Apung (KJA) Dan Non-Kja Rawa Pening. *Jurnal Pasir Laut*, 5(1), 9–16.
- 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>
- Salim M.A., Nur I., Indris M. 2016. Pengaruh Peningkatan Salinitas secara Bertahap terhadap Diferensial Leukosit pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Media Akuatika* 4: 152-158.
- Setyowati D.N., Puji Astuti N.K. 2020. Pengaruh Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia Cattapa*) Dan Ragi Terhadap Prevalensi Dan Intensitas

Ektoparasit Pada Ikan Karper (*Cyprinus Carpio*). *Jurnal Biologi Tropis* 20: 148–154.

Utami, ddk. (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* Volume 2, Nomor 4, Halaman 7-20.