



**PENGARUH PENGGUNAAN EKSTRAK DAUN JERUJU (*Acanthus ilicifolius*) DENGAN DOSIS BERBEDA TERHADAP GAMBARAN DARAH, GEJALA KLINIS DAN KELULUSHIDUPAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) YANG DIINFEKSI *Aeromonas hydrophila***

**THE EFFECT OF THE USE OF LEAVE EXTRACT (*Acanthus ilicifolius*) WITH THE DIFFERENT DOSE TOWARD BLOOD PICTURE, CLINICAL SYMPTOM AND SURVIVAL RATE OF CATFISH DUMBO (*Clarias gariepinus*) INFECTED BY *Aeromonas hydrophila***

Siti Ziyadaturrohmah<sup>1</sup>, Slamet Budi Prayitno<sup>1\*</sup>, Sarjito<sup>1</sup>, Nurul Hidayati<sup>2</sup>, Gina Saptiani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. Soedarto, SH Tembalang-Semarang

<sup>2</sup>Laboratorium Bakteri, Laboratorium Pengujian Hama dan Penyakit Ikan  
Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II, Semarang  
Jl. Ampenan no.4, Pelabuhan Tanjung Mas, Semarang

<sup>3</sup>Lab Mikrobiologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Mulawarman  
Jl. Gn Tabur Kampus Gunung Kelua Samarinda

**ABSTRAK**

*Aeromonas hydrophila* merupakan salah satu penyebab penyakit bercak merah atau *Haemorrhagic Septicemia* pada lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap kelulushidupan lele dumbo yang diinfeksi *A. hydrophila*. Hewan uji yang digunakan adalah lele dumbo berukuran 10-12 cm dan bobot  $\pm 25$  gr. Metode penelitian ini digunakan perlakuan A (tanpa perendaman ekstrak daun jeruju), B (300 ppm), C (500 ppm), dan D (700 ppm) dengan perendaman selama 30 menit. Uji tantang dilakukan dengan menyuntikkan suspensi *A. hydrophila* dengan dosis  $10^8$  sel/mm<sup>3</sup> sebanyak 0,1 mL secara intramuskular. Pengamatan dilakukan selama 5 hari pascainfeksi yang meliputi gambaran darah, gejala klinis, dan kelulushidupan lele dumbo. Hasil pengamatan gambaran darah pascainfeksi menunjukkan nilai rata-rata hematokrit perlakuan A, B, C dan D berturut-turut 17,33%, 14,67%, 15,00%, dan 19,67%. Jumlah eritrosit tertinggi yaitu perlakuan D  $1,79 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, disusul B  $1,72 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, A  $1,64 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, C  $1,52 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>. Jumlah total leukosit tertinggi adalah perlakuan C  $5,43 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, disusul D  $3,11 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, B  $2,63 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, dan A  $2,32 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>. Hasil penelitian menunjukkan gejala klinis ikan terserang *A. hydrophila* diantaranya respon pakan menurun, berenang tidak normal, timbul luka disertai pendarahan dibagian penyuntikan, dan daging rusak. Perendaman ekstrak daun jeruju pada lele dumbo menunjukkan tidak berpengaruh nyata terhadap kelulushidupan lele dumbo dan ekstrak daun jeruju dengan dosis diatas kurang efektif melindungi lele dumbo dari infeksi *A. hydrophila*.

**Kata kunci:** Jeruju, Lele dumbo, *Aeromonas hydrophila*, Gambaran Darah, Kelulushidupan

**ABSTRACT**

*Aeromonas hydrophila* is a causative agent of *Haemorrhagic Septicemia* on *Clarias gariepinus*. The aim of this research was to investigate the effect of *Acanthus ilicifolius* leaf extract toward survival rate of *C. gariepinus* infected by *A. hydrophila*. Tested fish *C. gariepinus* 10-12 cm and weight  $\pm 25$  gr. This research was conducted by 4(four) treatments namely, A (treatment with no leaf extract *A. ilicifolius*), B (300 ppm), C (500 ppm), and D (700) 30 minutes immersion. The challenge test was done by injecting 0,1 mL *A. hydrophila* suspensions with dosage  $10^8$  cell/mm<sup>3</sup> intra-muscular by experiment fishes. Observation was performed for 5 days after infection such as blood profile, clinical symptoms, and survival rate of *C. gariepinus*. The results of blood profile after the infection showed that hematocrit of



A, B, C, and D treatments was 17,33%, 14,67%, 15,00%, 19,67% respectively. Percentage of the highest erythrocyte was at D treatment  $1,79 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, B  $1,72 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, A  $1,64 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, C  $1,52 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>. Percentage of the highest leucocyte was at C treatment  $5,43 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, D  $3,11 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, B  $2,63 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, and A  $2,32 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>. The result showed that clinical symptoms of *A. hydrophila* infected fish swam abnormally, injured and haemorrhagic on the skin along with damaged on the body. Immersion with *A. ilicifolius* extract leaf past infection indicated that they were not significantly different on *C. gariepinus* survival rate. Therefore the dosage of *A. ilicifolius* leaf extract did not sufficient to protect *C. gariepinus* from *A. hydrophila* infection.

**Keywords:** *Acanthus ilicifolius*, *Clarias gariepinus*, *Aeromonas hydrophila*, Blood Picture, Survival Rate

\*Corresponding author (Email: sbudiprayitno@gmail.com)

## PENDAHULUAN

Lele dumbo (*Clarias gariepinus*) merupakan salah satu komoditas perikanan air tawar Indonesia yang memiliki nilai ekonomis penting. Lele dumbo adalah salah satu jenis hibrida lele yang diintroduksi ke Indonesia dari Taiwan. Ikan ini mempunyai kelebihan yaitu pertumbuhannya cepat dan mencapai ukuran yang besar dalam waktu pemeliharaan yang relatif singkat dibandingkan jenis lele lokal (*C. batrachus*) (Suyanto, 1992). Pertumbuhan lele dumbo yang cepat dan mudah dibudidayakan, sehingga masyarakat sangat tertarik untuk membudidayakan lele dumbo. Hal ini terlihat produksi lele secara umum dalam tingkat nasional pada tahun 2012 mencapai 495.000 ton atau mengalami peningkatan sebesar 35% dari tahun sebelumnya, dan pada tahun 2013 ditargetkan mencapai 670.000 ton (KKP, 2013).

Permasalahan serius dalam budidaya ikan diantaranya adalah timbulnya suatu penyakit. Salah satu agen penyakit yang menyerang ikan lele adalah *Aeromonas hydrophila*. Bakteri ini menyebabkan penyakit bercak merah atau biasa disebut *Haemorrhagic Septicemia* (Swann and White, 1989; Rey *et al.*, 2009). Ikan yang terserang *A. hydrophila* akan mengalami pendarahan pada bagian tubuh terutama di bagian dada, perut, dan pangkal sirip (Hadiroseyani *et al.*, 2005).

Jongjareanjai *et al.* (2009) menyatakan upaya untuk mencegah dan mengendalikan penyakit pada lele dumbo terutama yang disebabkan oleh bakteri saat ini masih memanfaatkan antibiotik atau bahan-bahan kimia lainnya. Penggunaan antibiotik ini ternyata tidak ramah lingkungan karena menyebabkan *A. hydrophila* resisten terhadap beberapa bahan kimia. Bahan-bahan tersebut dikhawatirkan akan menyebabkan penurunan mutu lingkungan terutama kualitas air.

Berdasarkan hal tersebut maka perlu digunakan bahan-bahan alami yang mampu meningkatkan kekebalan tubuh ikan lele dumbo. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan untuk pencegahan penyakit yang disebabkan oleh *A. hydrophila* adalah ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*). Ekstrak daun jeruju telah teridentifikasi mengandung verbaskosida dan senyawa asam fenolat yang berfungsi sebagai antikanker dan antibakteri (Soetarno *et al.*, 1996). Kandungan bioaktif pada ekstrak dan fraksi *A. ilicifolius* bersifat teridentifikasi bakterisidal terhadap *V. harveyi* pada udang windu (Saptiani *et al.*, 2012). Lebih lanjut Aonullah *et al.* (2013) menyatakan ekstrak daun *A. ilicifolius* mampu merangsang respon tanggap kebal ikan Kerapu terhadap patogen *Vibrio alginolyticus*. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai penggunaan ekstrak daun jeruju (*A. ilicifolius*) dalam upaya mengendalikan serangan *A. hydrophila* pada ikan air tawar, diantaranya lele dumbo.

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai dengan bulan Februari 2013 di Laboratorium Basah Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II, Semarang.

## MATERI DAN METODE

### Materi

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah lele dumbo (*C. gariepinus*) berukuran 10 - 12 cm sebanyak 120 ekor yang dipelihara dalam 12 akuarium dengan jumlah setiap satu akuarium 10 ekor. Lele dumbo dipelihara dalam akuarium berukuran 50x30x40cm dengan volume air 30 liter. Isolat murni *A. hydrophila* berasal dari Laboratorium Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan dan Lingkungan Serang, Banten, dan ditingkatkan patogenitasnya (pasase) di



Balai Karantina Ikan dan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II, Semarang. Daun jeruju (*A. ilicifolius*) diperoleh dari ekosistem mangrove di daerah Kalimantan Timur. Proses ekstraksi dilakukan di Universitas Mulawarman. Selama pemeliharaan, lele dumbo diberi pakan komersil berbentuk pelet secara *ad satiation* dengan frekuensi dua kali sehari pada pagi dan sore hari.

#### Metode

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Mengacu pada Saptiani *et al.* (2012), perlakuan yang digunakan adalah perendaman dengan konsentrasi ekstrak daun jeruju (*A. ilicifolius*) dengan dosis yang berbeda yaitu perlakuan A (0 ppm atau tanpa perendaman), perlakuan B (300 ppm), perlakuan C (500 ppm), dan D (700 ppm).

Proses ekstraksi daun jeruju (*A. ilicifolius*) pada mulanya dibersihkan dengan air, kemudian dikeringkan, dan dicincang, selanjutnya dimasukkan ke dalam toples dan direndam (maserasi) di dalam etanol berulang-ulang sampai jernih. Hasil maserasi kemudian diekstraksi dengan metoda evaporasi. Hasilnya dipisahkan dengan kandungan garam dalam tumbuhan tersebut dengan menggunakan metode cair-cair, sampai garamnya habis, sehingga diperoleh satu bahan ekstraksi fraksi n-etanol.

Lele diadaptasikan selama 14 hari untuk siap digunakan sebagai ujiantang. Bakteri terlebih dahulu ditingkatkan keganasannya (pasase) dengan menyuntikkan suspensi *A. hydrophila* pada bagian intramuskular sebanyak 0,1 ml. Proses pasase dilakukan sebanyak dua kali dimana mengacu metode Priminarti (1991) dalam Rahman (2008), setelah disuntikan pada lele, dan beberapa jam menunjukkan gejala klinis dan mati terserang *A. hydrophila*, kemudian dilakukan isolasi bakteri yang diambil pada daerah kulit yang mengalami luka didaerah penyuntikan dan dibagian hati. Bakteri dikultur kembali pada media TSA dan BHIA dan diinkubasi selama 18 - 24 jam dengan suhu 35°C, kemudian dimurnikan dan diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 35°C. Untuk memastikan lele dumbo mati karena infeksi *A. hydrophila* maka dilakukan uji biokimia.

*A. hydrophila* yang telah diganaskan siap digunakan untuk ujiantang. Dosis kepadatan bakteri yang digunakan untuk penyuntikan ikan lele saat ujiantang adalah 10<sup>8</sup>

CFU/ml sebanyak 0,1ml dimana mengacu pada Sartika (2011) dan Mangunwardoyo *et al.* (2010). Penghitungan kepadatan bakteri menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT) yang mengacu pada SNI (2006).

Lele dumbo direndam dalam larutan ekstrak daun jeruju sesuai perlakuan selama 30 menit. Proses pemeliharaan lele dumbo setelah perendaman ekstrak daun jeruju selama 14 hari, dan hari ke-14 setelah perendaman dilakukan ujiantang dengan menginjektikan *A. hydrophila* sebanyak 0,1 ml dengan dosis 10<sup>8</sup> CFU/ml dibagian intramuskular. Masa pemeliharaan lele dumbo pascainfeksi *A. hydrophila* selama 5 hari. Parameter yang diamati pasca ujiantang adalah gambaran darah, gejala klinis dan kelulushidupan lele dumbo. Pada hari ke-14 setelah perendaman dan hari ke-4 pascainfeksi dilakukan pengambilan dan penghitungan darah lele.

Metode penghitungan jumlah hematokrit pada lele dumbo mengacu pada Anderson dan Swicki (1993). Sampel darah tersebut dihisap dengan kapiler hematokrit sebanyak 4/5 bagian tabung ditutup dengan penutup lilin (cristoseal) kemudian di sentrifuse dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Pembacaan kadar hematokrit darah dilakukan dengan membandingkan bagian darah merah dengan seluruh bagian darah yang ada di dalam tabung mikrohematokrit dengan menggunakan mikrohematokrit skala dan hasilnya dinyatakan dalam persen (%).

Prosedur pengamatan dan penghitungan eritrosit mengacu pada metode Blaxhall dan Daisley (1973). Larutan Hayem dipipet sebanyak 4 ml dengan pipet berskala lalu dimasukkan dalam tabung reaksi. Darah dalam mikrotube dihisap dengan pipet sebanyak 20 µl, lalu dimasukkan kedalam tabung. Tabung reaksi tersebut dikocok sampai homogen selama ±2 menit. Larutan darah tersebut diambil dengan pipet Pasteur kemudian dimasukkan ke dalam hemasitometer, kemudian diamati dengan mikroskop dengan perbesaran 400x. Penghitungan dilakukan pada 5 kotak besar hemositometer di daerah kamar hitung untuk sel darah merah (eritrosit). Sel darah merah dihitung dengan rumus:

$$\text{Jumlah Eritrosit} = \sum E \times 10^4 \text{ sel/mm}^3$$

Keterangan:  $\sum E$  = Jumlah total eritrosit

Prosedur penghitungan jumlah total leukosit mengacu pada metode Blaxhall dan Daisley (1973). Larutan Turk dipipet sebanyak 0,38 ml kedalam tabung reaksi, lalu darah dalam



mikrotube dipipet sebanyak 20  $\mu$ l dan dicampurkan dengan larutan Turk (pengenceran 40x). Darah diamati pada hemasitometer dengan mikroskop dengan perbesaran 400x. Penghitungan leukosit dilakukan pada 4 kotak besar hemasitometer di daerah luar kamar hitung untuk sel darah merah. Jumlah total leukosit dihitung dengan rumus:

$$\text{Jumlah Total Leukosit} = \sum L \times 50 \text{ sel/mm}^3$$

Keterangan:  $\sum L$  = Jumlah total leukosit

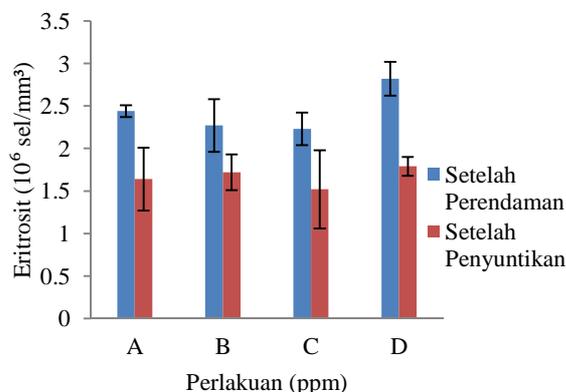
### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan gambaran darah pada lele dumbo dilakukan sebelum dan setelah infeksi *A. hydrophila*. Gambaran darah yang diamati meliputi eritrosit, leukosit, dan hematokrit. Pengamatan jumlah eritrosit lele dumbo dilakukan sebanyak dua kali yaitu setelah perendaman dengan ekstrak daun jeruju dan setelah penyuntikan *A. hydrophila*. Hasil perhitungan rerata jumlah eritrosit lele dumbo tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Jumlah Eritrosit Lele Dumbo

Perlakuan	Setelah Perendaman ( $\times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ )	Setelah Infeksi Bakteri ( $\times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ )
A (0 ppm)	2,44 $\pm$ 0,07	1,64 $\pm$ 0,37
B (300 ppm)	2,27 $\pm$ 0,31	1,72 $\pm$ 0,21
C (500 ppm)	2,23 $\pm$ 0,19	1,52 $\pm$ 0,46
D (700 ppm)	2,82 $\pm$ 0,20	1,79 $\pm$ 0,11

Berdasarkan Tabel 1 terlihat jumlah eritrosit setelah perendaman lebih tinggi dari pada jumlah eritrosit setelah infeksi. Jumlah eritrosit dari sampel darah masing-masing perlakuan selengkapnya tersaji pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Rerata Jumlah Eritrosit Lele Dumbo

Jumlah eritrosit lele dumbo setelah perendaman dengan ekstrak jeruju menunjukkan perlakuan D memiliki rata-rata jumlah eritrosit tertinggi yaitu  $2,82 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ . Jumlah eritrosit pada perlakuan A sebanyak  $2,44 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ , kemudian disusul perlakuan B  $2,27 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ , dan perlakuan C  $2,23 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ . Jumlah eritrosit pada hari ke-4 setelah penyuntikan *A. hydrophila* lebih kecil dari jumlah eritrosit sebelum penyuntikan (setelah perendaman). Jumlah rata-rata eritrosit pada perlakuan D (700 ppm) pascainfeksi adalah  $1,79 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ . Perlakuan A jumlah rata-rata eritrosit  $1,64 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ , hal ini tidak jauh berbeda dengan perlakuan C dengan jumlah eritrosit  $1,52 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ , sedangkan jumlah eritrosit pada perlakuan B pascainfeksi adalah  $1,72 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ .

Berdasarkan grafik diatas menunjukkan terjadinya penurunan kadar eritrosit pada hari ke-4 setelah penyuntikan *A. hydrophila* dibandingkan setelah perendaman. Hasil ini menunjukkan sel darah merah masih dalam kisaran normal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Robert (2001), yang menyebutkan pada ikan normal, jumlah eritrosit  $1,05-3,00 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ . Angka *et al.* (1985) membenarkan bahwa jumlah eritrosit lele (*Clarias spp.*) adalah  $3,18 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ . Lebih lanjut Agung *et al.* (2013) menyatakan ekstrak daun jeruju mampu meningkatkan jumlah eritrosit kerapu macan dalam kondisi normal, sehingga ekstrak daun jeruju aman digunakan untuk ikan. Semua perlakuan pascainfeksi menunjukkan lele dumbo mengalami penurunan jumlah sel darah merah (anemia). Hal ini diduga diakibatkan oleh serangan infeksi *A. hydrophila*. Bakteri ini diduga memproduksi toksin yang mampu merusak sel darah merah sehingga jumlahnya berkurang. Angka (2001) dan Kamaludin (2011) menyatakan ketika *A. hydrophila* masuk kedalam tubuh, maka target infeksi adalah pembuluh darah. Saat masuk kedalam saluran darah, *A. hydrophila* menghasilkan enzim hemolisin yang merupakan salah satu eksotoksin. Hemolisin ini memiliki kemampuan untuk melisis sel darah merah, sehingga jumlah sel darah merah pada pembuluh darah cenderung berkurang.

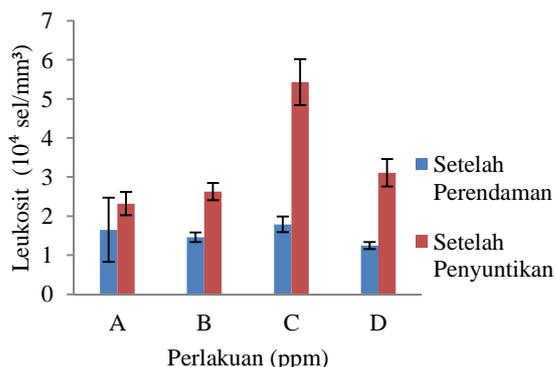
Hasil penghitungan jumlah total leukosit lele dumbo setelah perendaman dan setelah penyuntikan *A. hydrophila* selengkapnya disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah Total Leukosit Lele Dumbo



Perlakuan	Setelah Perendaman (x 10 <sup>4</sup> sel/mm <sup>3</sup> )	Setelah Infeksi Bakteri (x 10 <sup>4</sup> sel/mm <sup>3</sup> )
A (0 ppm)	1,65±0,82	2,32±0,30
B (300 ppm)	1,46±0,12	2,63±0,22
C (500 ppm)	1,79±0,20	5,43±0,59
D (700 ppm)	1,25±0,09	3,11±0,35

Jumlah rata-rata total leukosit tertinggi setelah perendaman (sebelum penyuntikan) adalah perlakuan C yaitu 1,79x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>, kemudian disusul oleh perlakuan A dengan rata-rata 1,65x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>. Perlakuan B dihitung jumlah total leukosit sebanyak 1,46x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>, dan perlakuan D sebanyak 1,25x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>. Berdasarkan tabel diatas terlihat jumlah total leukosit setelah infeksi *A. hydrophila* menunjukkan lebih tinggi dari pada jumlah total leukosit setelah perendaman. Jumlah total leukosit dari sampel darah masing-masing perlakuan selengkapnya tersaji pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Rerata Jumlah Total Leukosit Lele Dumbo

Rata-rata jumlah total leukosit setelah infeksi *A. hydrophila* lebih tinggi dari rata-rata jumlah total leukosit setelah perendaman (sebelum infeksi) atau dikatakan mengalami kenaikan pada semua perlakuan. Rata-rata jumlah total leukosit tertinggi berturut-turut setelah infeksi ditunjukkan oleh perlakuan C, perlakuan D, perlakuan B, dan perlakuan A. Kenaikan rata-rata jumlah total leukosit pada perlakuan C 3,64x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup> menjadi 5,43x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>. Rata-rata jumlah total leukosit pada perlakuan D juga mengalami kenaikan dari 1,25x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup> menjadi 3,11x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>, sedangkan pada perlakuan B mengalami kenaikan dari 1,46x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup> menjadi 2,63x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>, dan perlakuan A

memiliki rata-rata jumlah total leukosit dari 1,65x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup> menjadi 2,32x10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>.

Jumlah total leukosit ini secara umum masih dalam kisaran normal, hal ini didukung oleh pernyataan Marthen (2005), jumlah sel darah putih pada ikan normal berkisar antara 20.000-150.000 sel/mm<sup>3</sup>. Kenaikan jumlah leukosit inilah yang diduga tubuh lele dumbo sedang melakukan respon dalam mempertahankan kekebalan tubuhnya dari serangan *A. hydrophila*. Anderson (1992) menyatakan bahwa jumlah leukosit pada ikan dapat menjadi penentu status kesehatan ikan, karena leukosit merupakan salah satu komponen darah yang berfungsi sebagai pertahanan non-spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminir pathogen melalui fagositosis. Aktifitas fagositosis pada sel darah putih ini diduga berkaitan dengan adanya penambahan imunostimulan ekstrak daun jeruju yang memiliki senyawa aktif yaitu dapat berfungsi sebagai antibakteri. Lebih lanjut Agung *et al.* (2013) menyatakan bahwa, ekstrak daun jeruju mampu meningkatkan jumlah leukosit, hal ini karena adanya senyawa glukosida yang terdapat pada dalam ekstrak daun jeruju.

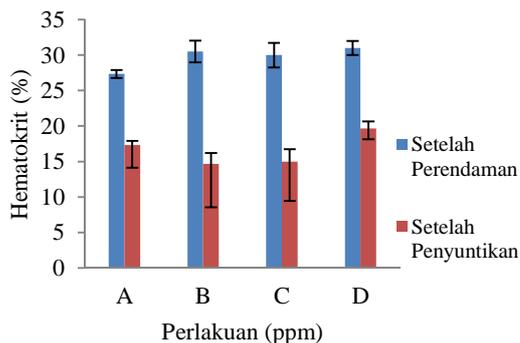
Irianto (2004) menyatakan, ketika sel-sel fagositik mengalami aktivasi, makrofag memiliki fagositik lebih kuat. Sel-sel fagosit akan mengenali dan menelan partikel-partikel antigenik, termasuk bakteri dan sel-sel inang yang rusak melalui proses pelekatan, fagositosis dan pencernaan. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa kandungan senyawa metabolit yang dihasilkan oleh *A. ilicifolius* mampu menghambat bakteri *V. Harveyi* pada udang windu (Saptianiet *al.*, 2011). Hal ini didukung oleh pernyataan Ganesh dan Venilla (2010) yang menyebutkan *A. ilicifolius* adalah golongan mangrove yang memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai bahan antikanker dan antibakteri. Hasil perhitungan kadar hematokrit lele dumbo setelah perendaman dan setelah infeksi bakteri *A. hydrophila* tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Kadar Hematokrit Lele Dumbo

Perlakuan	Setelah Perendaman (%)	Setelah Infeksi Bakteri (%)
A (0 ppm)	27,33±0,58	17,33±3,21
B (300 ppm)	30,50±1,53	14,67±6,11
C (500 ppm)	30,00±1,73	15,00±5,57
D (700 ppm)	31,00±1,00	19,67±1,53

Berdasarkan tabel diatas terlihat kadar rata-rata hematokrit lele dumbo setelah infeksi

*A. hydrophila* lebih rendah dari kadar rata-rata hematokrit setelah perendaman ekstrak jeruju (sebelum infeksi) atau berarti mengalami penurunan. Perbedaan kadar rata-rata hematokrit tersebut tersaji pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik Rata-rata Kadar Hematokrit Lele Dumbo

Kadar rata-rata hematokrit lele dumbo tertinggi setelah perendaman (sebelum

penyuntikan) adalah perlakuan D dengan rata-rata 31%, dan diikuti perlakuan B yaitu 30,5%, perlakuan C dengan rata-rata 30%, dan perlakuan A dengan kadar rata-rata hematokrit 26,33%. Kadar hematokrit lele dumbo menunjukkan penurunan di semua perlakuan setelah penyuntikan dengan *A. hydrophila*. Kadar rata-rata hematokrit tertinggi sampai terendah berturut-turut terjadi pada perlakuan D, perlakuan A, perlakuan B serta perlakuan C. Perlakuan D memiliki kadar hematokrit yaitu 19,6%, diikuti perlakuan A yaitu 17,3%. Perlakuan B dan C memiliki kadar hematokrit yang sama yaitu 14,6%.

Nilai rata-rata hematokrit pada lele dumbo pascainfeksi menunjukkan lebih rendah dari kisaran hematokrit normal ikan yaitu 30%. Hal tersebut mengindikasikan lele dalam keadaan anemia yang diduga akibat paparan bakteri. Nabib dan Pasaribu (1989) menyatakan bahwa nilai hematokrit dibawah 30% menunjukkan defisiensi eritrosit, sementara

Gejala klinis lele dumbo pascainfeksi *A. hydrophila* meliputi perubahan tingkah laku dan morfologi. Perubahan tingkah laku pada semua perlakuan secara umum menunjukkan menurunnya respon terhadap pakan serta berenang tidak normal. Perubahan tingkah laku lele dumbo pascainfeksi disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Perubahan Gejala Klinis Lele Dumbo Pascainfeksi *A. hydrophila*

Hari ke-	Perlakuan A			Perlakuan B			Perlakuan C			Perlakuan D		
	Ulangan			Ulangan			Ulangan			Ulangan		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	++	++	+	++	++	+	+	++	++	+	++	++
2	+++	++	++	++	+++	++	++	+++	+++	++	++	+++
3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Keterangan: - = Respon makan normal, ikan berenang aktif  
 + = Penurunan respon pakan  
 ++ = Penurunan respon pakan dan berenang tidak normal  
 +++ = Berenang tidak normal (berenang vertikal dan lamban)

Infeksi *A. hydrophila* ini diduga menyebabkan adanya gangguan pada kegiatan metabolisme di dalam tubuh ikan yang menyebabkan penurunan respon terhadap pakan. Cipriano *et al.* (1984) dalam Utami (2009) menyatakan salah satu organ target *A. hydrophila* adalah hati, dimana merupakan pusat metabolisme tubuh, saat proses hati terganggu maka berpengaruh terhadap proses metabolisme tubuh. Perubahan tingkah laku ikan yang berenang tidak normal yaitu berenang secara vertikal dan lamban ini juga diduga

disebabkan karena ikan stres yang diduga akibat infeksi *A. hydrophila*. Affandi dan Tang (2002) menyatakan, ciri-ciri ikan yang stres adalah selalu berada di permukaan air dengan posisi vertikal. Stres adalah kondisi pertahanan tubuh menurun dan merupakan salah satu penyebab terjadinya infeksi dan perannya sangat dominan.

Gejala klinis yang teramati pascainfeksi lainnya adalah lele dumbo mengalami perubahan morfologi tubuh. Perubahan morfologi lele dumbo tersebut selengkapnya tersaji pada Tabel 5.

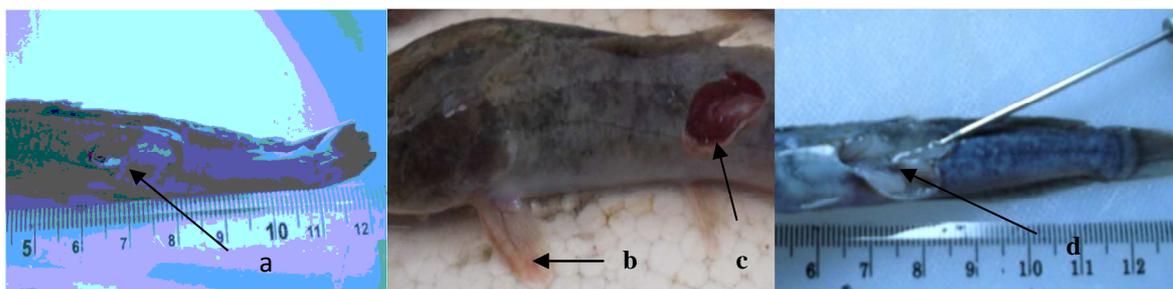
Tabel 5. Perubahan Morfologi Lele Dumbo Pascainfeksi *A. hydrophila*

Hari ke-	Perlakuan A			Perlakuan B			Perlakuan C			Perlakuan D		
	Ulangan			Ulangan			Ulangan			Ulangan		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	+	++	+	+	++	++	++	+	+	+	++	+
2	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	++
3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Keterangan: - = Tidak terdapat luka di bagian tubuhnya  
 + = Produksi lendir berlebihan dan ulcer  
 ++ = Ulcer dan pendarahan di daerah luka (hemoragi)  
 +++ = Daging rusak dan membusuk

Perubahan morfologi yang muncul setelah lele diinfeksi *A. hydrophila* secara umum pada awalnya mengalami warna kemerahan di bekas suntikan yang disusul peradangan (ulcer) (Gambar 4a), kemudian

meluas menjadi pendarahan (Gambar 4b), dan semakin lama daging rusak sampai membusuk (Gambar 4d.). Perubahan morfologi lele dumbo pasca infeksi selengkapnya dapat terlihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Gejala Klinis Lele Dumbo setelah Penyuntikan, Keterangan: (a) Peradangan dan *Ulcer*, (b) Pendarahan pada bagian sirip, (c) Pendarahan (haemoragi) di daerah penyuntikan, (d) Daging rusak dan membusuk.

Gejala klinis awal yang muncul pada lele dumbo pascainfeksi *A. hydrophila* ditandai oleh warna kemerahan pada bekas suntikan disertai luka yang terbuka (*ulcer*) (Gambar 4a), kemudian berlanjut keluarnya darah (hemoragi) pada daerah luka tersebut (Gambar 4b) dan berlanjut daging rusak dan membusuk (Gambar 4d) dan pada akhirnya menyebabkan kematian. Hal ini disebabkan oleh enzim-enzim eksotoksin yang dihasilkan *A. hydrophila* bersifat virulen seperti hemolisin, protease dan elastase. Sartika (2011) menyatakan enzim-enzim ini menyebabkan kerusakan pada permukaan tubuh yang terinfeksi, karena pada jaringan otot dan saluran darah terdapat banyak kandungan protein. Angka (2001) menambahkan bahwa protease merupakan enzim yang mampu melawan pertahanan tubuh inang untuk

berkembangnya penyakit dan mengambil persediaan nutrien. Hemolisin yang larut dalam darah lebih lanjut mampu melisis sel darah merah dan membebaskan hemoglobinya sehingga darah banyak yang keluar melewati luka pada permukaan tubuh yang terinfeksi (Sarjito *et al.*, 2007), hal ini menyebabkan terjadinya haemoragi. Efek eksotoksin yang berkelanjutan akan menyebabkan semakin banyak sel-sel pada jaringan otot mati, sehingga akan nampak gejala klinis berupa nekrosis yaitu daging rusak dan membusuk (Sartika, 2011).

Jumlah kematian lele dumbo pascainfeksi *A. hydrophila* tersaji pada Tabel 6.

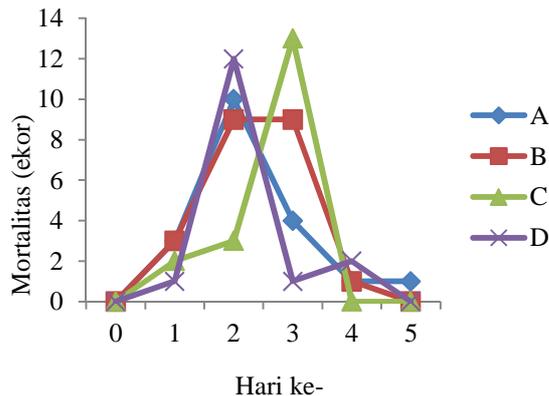
Tabel 6. Jumlah Kematian Lele Dumbo Pascainfeksi *A. hydrophila*

Perlakuan	Hari ke-
-----------	----------



	1	2	3	4	5
A (0 ppm)	3	10	4	1	1
B (300 ppm)	3	9	9	1	-
C (500 ppm)	2	3	13	-	-
D (700 ppm)	1	12	1	2	-

Berdasarkan perhitungan mortalitas lele dumbo setiap hari, maka pola kematian lele dumbo pascainfeksi tersaji pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Pola Kematian Lele Dumbo

Secara umum terlihat kematian tertinggi dialami seluruh perlakuan pada hari ke-2 dan hari-3. Hari ke-2 pasca infeksi menunjukkan kematian tertinggi adalah perlakuan D sebanyak 12 ekor, disusul perlakuan A sebanyak 10 ekor, perlakuan B sebanyak 9 ekor dan perlakuan C sebanyak 3 ekor. Angka kematian tertinggi pada hari ke-3 pascainfeksi terjadi pada perlakuan C sebanyak 13 ekor, kemudian disusul oleh perlakuan B, perlakuan A, dan perlakuan D masing-masing terjadi kematian sebanyak 9 ekor, 4 ekor, dan 1 ekor. Angka kematian ini semakin berkurang pada hari ke-4 dan pada hari

ke-5 hanya perlakuan A yang mengalami kematian yaitu sebanyak 1 ekor. Hal ini mengindikasikan bahwa tingkat patogenitas tertinggi *A. hydrophila* adalah pada 24 – 48 jam pascainfeksi. Hal ini didukung oleh Rey *et al.*, (2009) yang menyatakan bahwa, infeksi *A. hydrophila* menyebabkan gejala klinis setelah beberapa jam pascainfeksi dan akan mulai mengalami kematian setelah 7 jam pascainfeksi, lebih lanjut akan menyebabkan banyak kematian setelah 12-24 jam pascainfeksi.

Kematian lele dumbo ini diduga karena secara morfologi lele dumbo tidak memiliki sisik, sehingga tingkat infeksi bakteri ini lebih cepat dibandingkan ikan yang bersisik. Irianto (2004) menyatakan bahwa sisik merupakan salah satu bentuk proteksi internal. Lebih lanjut Mangunwardoyo *et al.* (2010) menyatakan bahwa ikan lele tidak memiliki sisik, sehingga lebih rentan terhadap infeksi bakteri.

Pertahanan tubuh dari ikan lele dumbo dari serangan bakteri diduga lemah sehingga memicu banyaknya kematian. Mangunwardoyo *et al.* (2010) menyatakan bahwa upaya untuk melindungi tubuh lele mengeluarkan banyak lendir sehingga meningkatkan metabolisme meningkat dan banyak menggunakan energi dalam tubuh, akibatnya ikan lemah dan stress. Kondisi ini mempermudah bakteri untuk menginfeksi dengan mengeluarkan toksin melalui luka yang terbuka. Lebih lanjut luka ini semakin parah sehingga lele dumbo tidak mampu mempertahankan tubuh, dan akibatnya lele dumbo mati.

Hasil pengamatan kelulushidupan lele dumbo pascainfeksi *A. hydrophila* dilakukan selama 5 hari. Hasil pengamatan kelulushidupan lele dumbo selengkapnya tersaji pada Tabel 7.

Tabel 7. Kelulushidupan Lele Dumbo Pascainfeksi *A. hydrophila*

Ulangan	Perlakuan (%)			
	A	B	C	D
1	40,00	30,00	50,00	40,00
2	40,00	40,00	10,00	80,00
3	20,00	10,00	40,00	20,00
$\sum x$	100,00	80,00	100,00	140,00
Rerata	33,33±11,55	26,67±15,28	33,33±20,82	46,67±30,55

Kelulushidupan tertinggi adalah perlakuan D (700 ppm) sebesar 46,67%, disusul perlakuan C (500 ppm) sebesar 33,33%, perlakuan A (0 ppm) sebesar 33,33%, dan terendah perlakuan B (300 ppm) yaitu sebesar 26,67%. Hasil ini menunjukkan kelulushidupan lele dumbo rendah. Hasil analisis ragam untuk mengetahui tingkat perbedaan pada masing-masing perlakuan. Hasil

perhitungan analisis ragam kelulushidupan pada akhir penelitian menunjukkan penggunaan ekstrak daun jeruju melalui metode perendaman tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap kelulushidupan lele dumbo pascainfeksi. Hal ini diduga karena tingginya tingkat patogenitas *A. hydrophila* dan sistem imun lele dumbo tidak mampu mengeliminir serangan infeksi bakteri tersebut. Tingkat keganasan *A. hydrophila*



bertambah setelah dilakukan isolasi ulang bakteri tersebut dari lele yang diinfeksi *A. hydrophila*. Sarjito *et al.*, (2007) menyatakan bahwa tingkat patogenitas bakteri yang tinggi dapat menyebabkan kematian 100%.

Faktor lain yang berpengaruh pada tingginya mortalitas dapat dikatakan dosis yang digunakan masih rendah sehingga belum berpengaruh secara optimal dalam merangsang tanggap kebal lele dumbo terhadap infeksi bakteri. Hal ini ditandai kelulushidupan lele dumbo semakin meningkat sejalan dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak jeruju yang ditambahkan. Rosidah dan Afizia (2012) menyatakan, konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi maka kemampuan anti bakterinya juga semakin besar. Oleh karena itu dapat dikatakan konsentrasi ekstrak daun jeruju belum efektif dalam menghambat infeksi *A. hydrophila*.

#### KESIMPULAN

Penambahan ekstrak daun jeruju (*A. ilicifolius*) melalui metode perendaman tidak memberikan pengaruh nyata terhadap gambaran darah, gejala klinis, dan kelulushidupan lele dumbo (*C. gariepinus*) dari serangan *A. hydrophila*. Penggunaan ekstrak daun jeruju (*A. ilicifolius*) dengan dosis 300 ppm, 500 ppm, dan 700 ppm belum dapat memberikan perlindungan efektif terhadap lele dumbo (*C. gariepinus*) yang diinfeksi *A. hydrophila*.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada seluruh staff Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II, Semarang dan bapak A.H. Condro Haditomo yang telah membantu kelancaran dalam penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, R dan U.M. Tang. 2002. Fisiologi Hewan Air. Universitas Riau Press, Pekanbaru, hal 34-50.
- Agung, L.A., S.B. Prayitno, dan Sarjito. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap Profil Darah Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Journal of Aquaculture Management and Technology 2(1), 87-101.
- Anderson, D.P. 1992. Immunostimulant, Adjuvant and Vaccine Carrier in Fish: Application to Aquaculture. Animal Review of Fish Diseases 21:281-307.
- Anderson, D.P. and A.K. Swicki. 1993. Basic Hematology and Serology for Fish Health Program. In: Symposium on Disease in Asia Aquaculture Aquatic Animal Health and Environment, Thailand, 11-193.
- Angka, S.L. 2001. Studi Karakterisasi dan Patologi *Aeromonas hydrophila* pada ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). Makalah Falsafah Sains. Bogor: Progam Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Aonullah, A.A., S.B. Prayitno, Sarjito. 2013. Pengaruh Penggunaan Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap Kelulushidupan Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang Diinfeksi *Vibrio Alginolyticus*. Journal of Aquaculture Management and Technology 2 (1): 126-135.
- Blaxhall, P.C., and Daisley 1972. The Haemathological Assessment of The Health of Fresh Water Fish. A Review of Selected Literature, Journal of Fish Biology 4 : 593-604.
- Donando, D. 2002. Pengaruh Pemberian *Saccharomyces cerevisiae* Secara Perendaman, Injeksi, dan Pakan pada Ikan *Botia macracantha* terhadap Perubahan Tanggap Kebal Nonspesifik. [Skripsi] Institut Pertanian Bogor, Bogor, 68 hlm.
- Ellis, A.E. 1988. General Principles of fish vaccination. Academy Press, London, 225.
- Ganesh, S. And J.J. Venilla. 2010. Screening far Antimicrobial Activity in *Acanthus ilicifolius*. Archive of Applied Science Research, 2(5): 311-315.
- Hadiroseyani, Y., Hafifuddin, M. Alifuddin, dan H. Supriyadi. 2005. Potensi Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Untuk Pengobatan Penyakit Cacar Pada Ikan Gurame (*Osporonemus gouramy*) yang Disebabkan *Aeromonas hydrophilla* S26. Jurnal Akuakultur Indonesia, 4 (2): 139-144.



- Irianto, A. 2004. Patologi Ikan Teleostei. Gajah Mada University Press., Yogyakarta, hal 34-35.
- Jongjareanjai, M., N. Assawawongkasem, and N. Chansue. 2009. *In vitro* Antibiotic Susceptibility of *Aeromonas hydrophila* Isolated From Disease Ornamental Fish. Thai J. Vet. Med., 39(3): 225-229.
- Kabata, Z. 1985. Parasities And Disease of Fish Cultured in The Tropics. Taylor and Francis Ltd, London and Philadelphia, Pp 99-100.
- Kamaludin, I. 2011. Efektivitas Ekstrak Lidah Buaya *Aloe Vera* untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas Hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. Melalui Pakan. [Skripsi] Institut Pertanian Bogor, Bogor, 33 hlm.
- KKP. 2013. Statistik Menakar Target Ikan Air Tawar Tahun 2013. <http://www.djpb.kkp.go.id/berita.php?id=847>. (10 April 2013)
- Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari, dan E. Riani. 2010. Uji Patogenitas dan Virulensi *Aeromonas hydrophila* Stanier pada Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus* Lin.) Melalui Postulat Koch. Jurnal Ristek Akuakultur 5(2): 245-255.
- Marthen, D.P. 2005. Gambaran Darah Ikan Nila *Oreochromis* sp. yang diberi Pakan Lemak Patin sebagai Sumber Lemak dalam Pakan. [Skripsi] Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Nabib, R. dan F.H. Pasaribu. 1989. Patologi dan Penyakit Ikan. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rahman, M.F., 2008. Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Papaya pada Ikan Gurami yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. [Skripsi] Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 42 hlm.
- Rey, A., N. Verjan, H.W. Ferguson, and C. Iregui. 2009. Patogenesis of *Aeromonas hydrophila* Strain KJ99 Infection and Its Extracellular Product in Two Species of Fish. Veterinary Record 164: 493-499.
- Roberts, J.R. 2001. Fish Patology 3rd Edition. Bailere. Tyndall, Cadar, England, 300-316.
- Rosidah dan W.M. Afizia. 2012. Potensi Ekstrak Daun Jambu Biji Sebagai Antibakterial untuk Menanggulangi Serangan Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy* Lacepede). Jurnal Akuatika III(1): 19-27.
- Saptiani, G., S. B. Prayitno dan S. Anggoro. 2012. Efektifitas Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Melindungi Udang Windu (*Penaeus monodon* F.) dari Infeksi *Vibrio harveyi*. J. of Coastal Development, 15(2): 217– 224.
- Sarjito, S.B. Prayitno, O.K. Radjasa dan S. Hutabarat. 2007. Karakterisasi dan Patogenitas Agensia Penyebab Vibriosis pada Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dari Karimunjawa. Aquacultura Indonesiana 8 (2) : 89-95.
- Sartika, Y. 2011. Efektivitas Fitofarmaka dalam Pakan untuk Pencegahan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. [skripsi] Institut Pertanian Bogor, Bogor, 39 hlm.
- Soetarno, S., K. Ruslan, dan I.S. Soediro. 1996. Verbaskosida dan Asam Fenolat dari Daun Jeruju (*Acanthus Illicifolius* Linn, Acanthaceae) Suatu Tumbuhan Mangrove. Karangan Ilmiah XXI(2): 23-35.
- Standar Nasional Indonesia. 2006. Cara uji mikrobiologi-Bagian 3: Penentuan angka lempeng total (ALT) pada produk perikanan. Badan Standar Nasional, SNI 01-2332.3-2006, 16 hlm.
- Suyanto, S.R. 2007. Budidaya Ikan Lele. Penebar Swadaya, Jakarta, 98 hlm.
- Swann, L. and M.R. White. 1989. Diagnosis and Treatment of “*Aeromonas hydrophila*” Infection of Fish. Illinois-Indiana Sea Grant Program, Purdue University. India. Fact Sheet AS-461, 2.
- Utami, W.P. 2009. Efektivitas Ekstrak Paci-Paci *Leucas Lavandulaefolia* yang Diberikan Lewat Pakan untuk Pencegahan dan