



Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L) Terhadap Profil Darah dan Kelulushidupan Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus* Var. *Sangkuriang*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila*

Kurniawan¹ S. Budi Prayitno^{1*} Sarjito¹ Angela Mariana L²

¹ Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

Jl. Prof Soedarto Tembalang - Semarang, Email : kurniawanprastyo@gmail.com

² Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar Bogor

ABSTRAK

Masalah utama dalam budidaya ikan lele adalah serangan penyakit dan salah satunya *Aeromonas hydrophila* yang merupakan penyebab penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS). Bahan alami yang saat ini mulai sedang berkembang adalah daun sirsak. Hal ini dikarenakan daun sirsak memiliki kandungan senyawa acetogenin dominan dibandingkan dengan bagian tumbuhan yang lain. Senyawa acetogenin memiliki manfaat sebagai antibakteri. Tujuan penelitian pengaruh ekstrak daun sirsak terhadap profil darah dan kelulushidupan ikan lele yang diinfeksi *A. hydrophila* adalah untuk mengetahui konsentrasi larutan ekstrak daun sirsak yang paling efektif untuk mengatasi *A. hydrophila*, dan mengetahui fagositosis, profil darah, dan tingkat kelulushidupan ikan lele yang terserang *A. hydrophila* setelah diberikan larutan ekstrak daun sirsak. Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan yang berbeda dengan 3 kali ulangan yaitu perlakuan A 0 g/kg pakan, B 5 g/kg pakan, C 10 g/kg pakan dan D 15 g/kg pakan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan B memberikan hasil terbaik terhadap profil darah dan kelulushidupan yaitu total eritrosit ($1,51 \times 10^6$ sel/mm³), total leukosit ($8,00 \times 10^3$ sel/mm³), limfosit (92%), monosit (8%) dan neutrofil (0%) indeks fagositosis (75%) dan kelulushidupan (93%). Berdasarkan hasil dapat disimpulkan dosis ekstrak daun sirsak 5 g/kg pakan merupakan dosis terbaik yang dapat memberi pengaruh terhadap total eritrosit, total leukosit, dan diferensial leukosit (limfosit dan monosit) ikan lele yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*.

Kata kunci : Ekstrak daun sirsak, profil darah, ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus* var. *sangkuriang*)

ABSTRACT

The main problem in catfish farms is mass mortality caused by *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) by *Aeromonas hydrophila*. Natural ingredients that are currently being developed is soursop leaf. It was because soursop leaf contains acetogenin compounds that wishes compared to other plant parts. An acetogenin compound has the benefit of as an antibacterial. The purpose of this research was to determine the influence and best dose of soursop leaf extract in feed to the blood profile and survival rate of catfish infected by *A. hydrophila*. The treatment in this study were the addition of soursop leaf extract on feed with different dosage and 3 replicates. The treatments were A (0 g/kg diet), B (5 g/kg diet), C (10 g/kg diet), D (15 g/kg diet). The result showed that soursop leaf extract in feed of treatment B on the best dose (5 g/kg diet) was total erythrocytes ($1,51 \times 10^6$ sel/mm³), total leukocytes ($8,00 \times 10^3$ sel/mm³), lymphocytes (92%), monocyte (8%), neutrophils, phagocytic index (75%), and survival rate (93%). It can be concluded that dose of 5 g/kg diet was the best dosage of soursop leaf extract in the feed that was able to stimulate the immune response of catfish, it was characterized by an increased erythrocytes, total leukocytes, differential leukocyte (lymphocytes and monocyte) of catfish infected by *A. hydrophila*.

Key words : soursop leaf extract, blood profile, *Clarias gariepinus* var. *Sangkuriang*

*corresponding author (Email: sbudiprayitno@gmail.com)



PENDAHULUAN

Lele merupakan ikan yang populer di kalangan masyarakat luas dan menjadi kegemaran banyak orang di Indonesia. Ikan lele memiliki kelebihan diantaranya adalah pertumbuhannya cepat, kemampuan beradaptasi terhadap lingkungan yang tinggi, rasanya enak, dan kandungan gizinya cukup tinggi. Teknologi budidaya ikan lele yang digunakan di Indonesia adalah sistem budidaya intensif dengan padat tebar yang tinggi dengan pemberian pakan tambahan yang optimal. Sama seperti usaha budidaya perikanan lainnya, masalah utama dalam budidaya ikan lele adalah serangan penyakit. Kematian ikan lele dan kegagalan panen akan dialami jika serangan penyakit tidak ditanggulangi secara dini, sehingga perlu dilakukan upaya pencegahan dan penanggulangan penyakit secara tepat.

Bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah penyebab penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang menyerang beberapa spesies ikan air tawar. Penyakit ini merupakan masalah serius pada usaha budidaya baik budidaya intensif maupun tradisional. Penyakit ini di Asia Tenggara, pertama kali terjadi di Jawa Barat pada tahun 1980 yang menyebabkan kematian 82,2 ton ikan air tawar dalam sebulan, sementara di Jawa Tengah tahun 1984, sebanyak 1,6 ton ikan lele mati (Angka, 2001). Kasus kematian masal ini hingga ke wilayah Banyumas pada tahun 2003, tercatat 52.000 ekor gurami dan 20.000 ekor lele sangkuriang yang terserang. Tahun 2004 sebanyak 28.000 ekor gurami dan 15.000 ekor lele sangkuriang juga terserang (Dinas peternakan dan perikanan wilayah Banyumas, 2005).

Penggunaan bahan alami dapat menjadi alternatif yang baik untuk menggantikan peran antibiotik. Bahan alami yang biasa digunakan sebagai obat manusia atau hewan sering disebut fitofarmaka. Bahan alami yang saat ini sedang berkembang adalah tumbuhan sirsak khususnya daun sirsak. Hal ini dikarenakan daun sirsak memiliki kandungan senyawa acetogenin yang lebih dominan dibandingkan dengan bagian tumbuhan yang lain. Senyawa acetogenin memiliki banyak manfaat antara lain sebagai antikanker, antitumor, anti-inflamasi, antidepresi, antivirus, dan antibakteri (Zuhud, 2011).

Hingga saat ini belum ada penelitian mengenai manfaat ekstraksi daun sirsak sebagai antibakteri yang diterapkan kepada hewan air khususnya ikan. Penerapan antibakteri baru digunakan terhadap manusia, seperti antibakteri terhadap *Staphylococcus aerus* yang menyerang saluran pencernaan dan *Bacillus subtilis* yang menyebabkan infeksi mata berat. Sehingga perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh acetogenin pada daun sirsak terhadap *A. hydrophila*.

Tujuan penelitian dari pengaruh ekstrak daun sirsak terhadap profil darah dan kelulushidupan yang diinfeksi *A. hydrophila* pada ikan lele adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun sirsak terhadap profil darah dan kelulushidupan ikan lele yang diinfeksi *A. hydrophila* dan mengetahui konsentrasi larutan ekstrak daun sirsak yang paling efektif untuk mengatasi *A. hydrophila*. Kegiatan penelitian ini dilakukan pada bulan November 2012 – Februari 2013. Tempat pelaksanaan di Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar Bogor.

METODOLOGI PENELITIAN

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lele, dengan berat rata-rata $20,3 \pm 3,37$ g/ekor. Jumlah ikan yang digunakan sebanyak 180 ekor, yang dibagi menjadi empat perlakuan dengan masing-masing tiga kali ulangan. Penelitian yang dilakukan termasuk jenis penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Dosis perlakuan A (0 g/kg pakan), B (5 g/kg pakan), C (10 g/kg pakan), dan D (15 g/kg pakan) (Purnomo dan Utami, 2012).

Pengambilan sampel darah dilakukan setiap 7 hari sekali. Sampel darah ikan diambil dari setiap akuarium sebanyak satu ekor ikan. Pemeriksaan hematologi meliputi perhitungan eritrosit, total leukosit, diferensial leukosit dan aktivitas fagositosis.

Perhitungan total eritrosit mengacu pada Blaxhall dan Daisley (1973) yaitu sampel darah dihisap dengan pipet pencampur hingga skala 0,5 kemudian dengan pipet yang sama dihisap larutan Hayem hingga skala 101, diusahakan tidak ada gelembung udara di dalam pipet. Pipet kemudian digoyang membentuk angka delapan selama 3-5 menit agar darah



tercampur secara merata. Darah yang telah homogen kemudian diteteskan ke dalam *haemocytometer* tipe *Nieubauer Improved*. Perhitungan dilakukan pada 5 kotak kecil yaitu pada sudut kiri atas, sudut kanan atas, sudut kiri bawah dan pada bagian tengah kemudian hasil dikonversikan ke dalam rumus :

$$\text{Eritrosit} = \Sigma \text{eritrosit terhitung} \times 10^4 \text{sel/mm}^3$$

Perhitungan total leukosit mengacu pada Blaxhall dan Daisley (1973) yaitu sampel darah dihisap dengan pipet pencampur hingga skala 0,5 lalu dengan pipet yang sama dihisap larutan Turk hingga skala 101, diusahakan tidak ada gelembung udara di dalam pipet. Pipet kemudian digoyang membentuk angka delapan selama 3-5 menit agar darah tercampur secara merata. Darah yang telah homogen kemudian diteteskan ke dalam *haemocytometer* tipe *Nieubauer Improved*. Perhitungan dilakukan pada 5 kotak kecil yaitu pada sudut kiri atas, sudut kanan atas, sudut kiri bawah dan pada bagian tengah.

esaran 400 kali. Diferensial leukosit (limfosit, monosit dan neutrofil) dihitung sampai 100 sel leukosit, kemudian dihitung jumlah sel limfosit, neutrofil dan monosit.

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

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

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

Penghitungan aktivitas fagositosis mengacu pada prosedur yang dikembangkan di Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar Bogor yaitu dengan memasukkan sampel darah dari ikan sampel ke dalam mikrotiter plate sebanyak 50 μl dan ditambahkan bakteri *Staphylococcus aerus* kepadatan 10^6 CFU/ml sebanyak 50 μl dan diinkubasi selama 20 menit. Kemudian diambil sebanyak 10 μl dibuat sediaan ulas darah dan dikering udarakan. Preparat difiksasi dengan metanol 95% selama 5 menit, lalu diangkat dan dibiarkan kering udara. Pewarnaan preparat dilakukan selama 15 menit dalam wadah pewarnaan dengan larutan Giemsa. Lalu diangkat, dibilas dengan air mengalir, dan dibiarkan kering udara. Preparat yang telah jadi kemudian ditempatkan di bawah mikroskop dan

$$\text{Leukosit} = \Sigma \text{leukosit terhitung} \times 50 \text{ sel/mm}^3$$

Pengukuran diferensial leukosit (sel darah putih) mengacu pada Svobodova dan Vyukusova (1991). Perhitungan dilakukan dengan mengamati preparat ulas darah. Pembuatan preparat ulas, 5 μl darah ditempatkan di atas gelas objek pertama yang bersih. Gelas objek kedua diletakan di depan gelas objek pertama yang berfungsi sebagai penahan, lalu ujung gelas objek ketiga ditempatkan di atas gelas objek pertama hingga membentuk sudut 45° . Gelas objek ketiga digeser ke arah gelas objek kedua hingga terbentuk lapisan tipis darah, kemudian dibiarkan hingga kering. Preparat difiksasi dengan metanol 95% selama 5 menit, lalu diangkat dan dibiarkan kering udara. Pewarnaan preparat dilakukan selama 15 menit dalam wadah pewarnaan dengan larutan Giemsa. Lalu diangkat, dibilas dengan air mengalir, dan dibiarkan kering udara. Preparat yang telah jadi kemudian ditempatkan di bawah mikroskop dan diamati dengan perb diamati dengan perbesaran 400 kali. Persentase perhitungan fagositosis (mendekati, menempel dan memakan) dihitung sampai 100 sel leukosit yang aktif memakan, kemudian dihitung jumlah sel:

$$\text{Fagositosis} = \frac{\text{Sel yang aktif memakan}}{100} \times 100\%$$

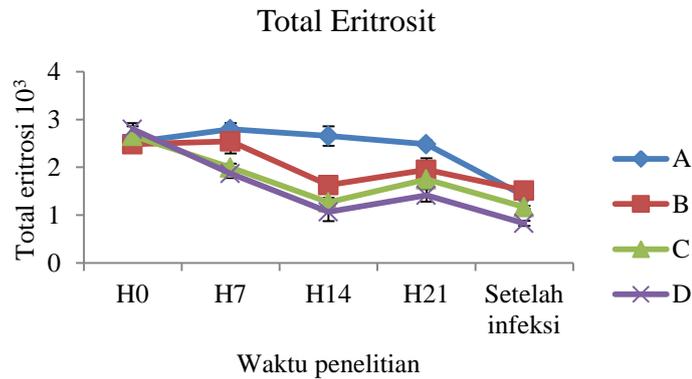
Kelangsungan hidup yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat berdasarkan jumlah kehidupan yang terjadi dan kondisi tubuh secara eksternal. Kelangsungan hidup ikan lele ditentukan dengan menggunakan rumus (Zonneveld *et al.*, 1991).

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Eritrosit

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa jumlah total eritrosit ikan lele sangkuriang selama penelitian selengkapnya dapat dilihat pada grafik perbandingan untuk memperjelas nilai total eritrosit pada hari ke-0, hari ke-7, hari ke-14, hari ke- 21 dan hari ke-4 setelah infeksi dapat dilihat pada gambar 1 sebagai berikut.



Gambar 1. Grafik total eritrosit selama 21 hari dan 4 hari setelah infeksi

Keterangan : A dosis 0 g/kg pakan, B dosis 5 g/kg pakan, C dosis 10 g/kg pakan dan D dosis 15 g/kg pakan. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata $P \leq 0,05$.

Grafik total eritrosit memperlihatkan adanya kecenderungan penurunan jumlah total eritrosit di setiap perlakuan. Perlakuan A selama 21 hari memiliki jumlah total eritrosit yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan B, C dan D. Fluktuatif total eritrosit di perlihatkan pada perlakuan B, C dan D, dimana pada hari ke-0 hingga hari ke-7 mengalami penurunan sedangkan pada hari ke-14 hingga hari ke-21 mengalami peningkatan. Berdasarkan analisa ragam data pada hari ke-7 hingga hari ke-21 menunjukkan pengaruh sangat nyata ($p < 0,05$), sehingga dilakukan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

Hari ke-0 hingga hari ke-21 adalah perlakuan pemberian ekstrak daun sirsak dengan dosis yang berbeda. Penurunan yang terjadi pada hari ke-7 hingga hari ke-14 dikarenakan ikan lele mengalami stres. Stres yang dialami ikan lele diduga karena pada minggu pertama dan kedua ikan lele sedang beradaptasi terhadap perlakuan pakan yang diberikan. Wedemeyer dan Yasutake (1977) dalam Doppingtonung (2008) menyatakan, rendahnya eritrosit merupakan indikator terjadinya anemia pada ikan sehingga anemia yang terjadi pada ikan akan mempengaruhi konsumsi pakan yang dimakan. Perlakuan C dan D selama pemberian ekstrak daun sirsak memiliki nafsu makan yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan A dan B. Hal tersebut yang mengakibatkan jumlah eritrosit pada ikan perlakuan C dan D lebih rendah dari ikan perlakuan A dan B.

Hari ke-21 jumlah sel eritrosit mengalami peningkatan dari tiga perlakuan B $1,95 \times 10^6$ sel/mm³, C $1,75 \times 10^6$ sel/mm³

dan D $1,41 \times 10^6$ sel/mm³ sedangkan perlakuan A $2,48 \times 10^6$ sel/mm³ cenderung stabil. Berdasarkan uji Duncan terdapat perbedaan antar perlakuan dan selisih nilai tengah perlakuan A adalah yang terbaik. Peningkatan jumlah sel eritrosit diduga, ikan mulai dalam kondisi stabil dan tingkat stresnya sudah berkurang. Kecenderungan penurunan kemudian diperlihatkan dari empat perlakuan A, B, C dan D pada hari ke-4 setelah infeksi *A. hydrophila* melalui intra muscular. Hal ini dikarenakan setelah infeksi terjadi perkembangan luka, sehingga terjadi pendarahan lewat luka karena pembuluh darah yang pecah. Bastiawan *et al.* (2001) menyatakan, Pendarahan pada ikan akibat luka menyebabkan produksi darah tidak cukup untuk menggantikan darah yang hilang karena limpa tidak dapat mengimbangi hilangnya eritrosit karena hemoragi.

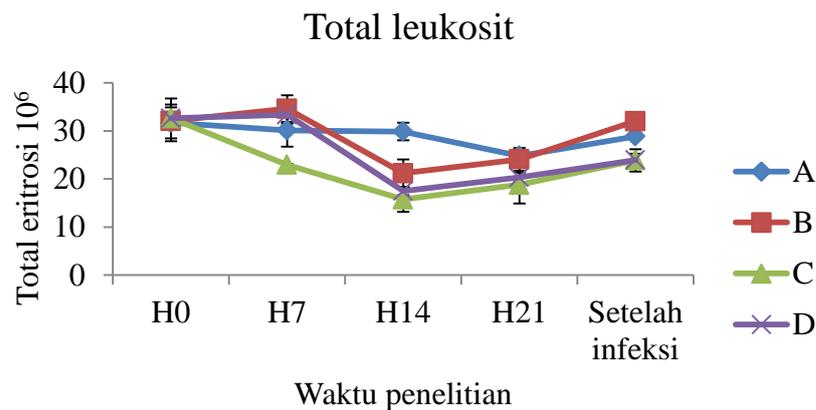
Hari ke-4 setelah infeksi dapat dilihat berdasarkan tabel analisa ragam memiliki pengaruh sangat nyata ($p < 0,05$) terhadap jumlah total eritrosit antar perlakuan. Perlakuan B merupakan perlakuan yang memiliki total eritrosit tertinggi yaitu $1,51 \times 10^6$ sel/mm³ kemudian diikuti secara berurutan perlakuan A $1,40 \times 10^6$ sel/mm³, perlakuan C $1,17 \times 10^6$ sel/mm³ dan perlakuan D $0,85 \times 10^6$ sel/mm³. Berdasarkan tabel Duncan nilai selisih total eritrosit tertinggi terdapat pada perlakuan B dengan penambahan ekstrak daun sirsak sebesar 5 g/kg pakan. Hal tersebut dapat diduga bahwa pemberian ekstrak daun sirsak sudah pada dosis yang tepat dikarenakan dapat meningkatkan nafsu makan ikan selama pemeliharaan sehingga daya tahan

tubuh ikan lebih baik dibandingkan ikan perlakuan yang lain. Hasil ini juga diperkuat oleh pernyataan Subandiyono *et al.* (2008), ikan yang mengalami penurunan nafsu makan akan mengalami penurunan jumlah sel eritrosit. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sirsak pada ikan lele 5 g/kg pakan sebagai imunostimulan dapat mempertahankan jumlah sel eritrosit tertinggi. Jumlah eritrosit yang tinggi pasca infeksi dapat menghambat bakteri dalam memproduksi toksin dan

mempercepat penyembuhan luka pada ikan (Sukenda *et al.*, 2008).

Total Leukosit

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa jumlah total leukosit ikan lele sangkuriang selama penelitian selengkapnya dapat dilihat pada grafik perbandingan untuk memperjelas nilai total leukosit pada hari ke-0, hari ke-7, hari ke-14, hari ke-21 dan hari ke-4 setelah infeksi dapat dilihat pada gambar 2 sebagai berikut.



Gambar 2. Grafik total leukosit selama 21 hari dan 4 hari setelah infeksi

Keterangan : A dosis 0 g/kg pakan, B dosis 5 g/kg pakan, C dosis 10 g/kg pakan dan D dosis 15 g/kg pakan. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata $P \leq 0,05$.

Leukosit merupakan salah satu komponen darah yang berfungsi sebagai pertahanan non-spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminir patogen melalui proses fagositosis (Sukenda *et al.*, 2008). Grafik hasil total leukosit pada hasil memperlihatkan adanya kecenderungan penurunan jumlah total eritrosit di setiap perlakuan. Berdasarkan analisa ragam terdapat pengaruh sangat nyata ($p < 0,05$) pada hari ke-7 hingga hari ke-14 dan pada hari ke-21 terdapat pengaruh nyata, sehingga dilakukan uji duuncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.. Selama 21 hari berdasarkan uji Duncan perlakuan A memiliki selisih jumlah total leukosit yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan B, C dan D yang diberi ekstrak daun sirsak dengan dosis berbeda, tetapi semua perlakuan mengalami penurunan jumlah sel leukosit. Fluktuatif total leukosit di perlihatkan pada perlakuan B, C dan D, dimana pada hari ke-0 hingga hari ke-14 mengalami penurunan sedangkan pada hari ke-14 hingga hari ke-21 mengalami peningkatan. Penurunan jumlah sel leukosit

diduga, ikan mulai beradaptasi dengan media pemeliharaan.

Kecenderungan peningkatan kemudian diperlihatkan dari empat perlakuan A, B, C dan D pada hari ke-4 setelah infeksi aeromonas melalui intra muscular. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hastuti (2004) Ikan yang mengalami stres disebabkan oleh perubahan kondisi lingkungan maupun karena benda asing (infeksi bakteri) menyebabkan respon kenaikan jumlah sel leukosit. Hari ke-4 setelah infeksi dapat dilihat berdasarkan analisa ragam memiliki pengaruh sangat nyata pada perlakuan ($p < 0,05$). Perlakuan B merupakan perlakuan yang memiliki total leukosit tertinggi yaitu $32,00 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$ kemudian diikuti secara berurutan perlakuan A $2,88 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$, perlakuan D $23,92 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$ dan perlakuan C $23,72 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$. Berdasarkan tabel Duncan nilai selisih total eritrosit yang tinggi terdapat pada perlakuan B dengan penambahan ekstrak daun sirsak sebesar 5 g/kg pakan. Meningkatnya jumlah sel leukosit pasca infeksi dapat diduga dikarenakan leukosit berfungsi sebagai

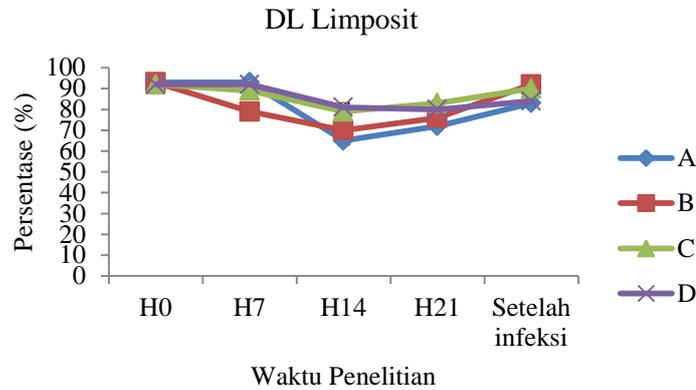


pertahanan dalam tubuh, yang bereaksi dengan cepat terhadap masuknya antigen ke dalam tubuh ikan.

Presentase Limfosit

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa persentase limfosit ikan

lele sangkuriang selama penelitian selengkapnya dapat dilihat pada grafik perbandingan untuk memperjelas nilai presentase pada hari ke-0, hari ke-7, hari ke-14, hari ke- 21 dan hari ke-4 setelah infeksi dapat dilihat pada gambar 3 sebagai berikut.



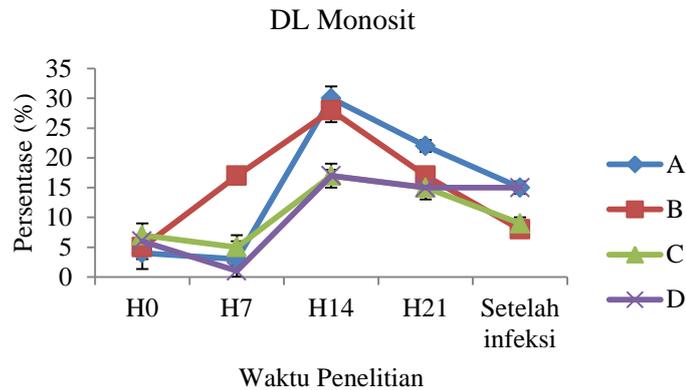
Gambar 3. Grafik persentase limfosit selama 21 hari dan 4 hari setelah infeksi
Keterangan : A dosis 0 g/kg pakan, B dosis 5 g/kg pakan, C dosis 10 g/kg pakan dan D dosis 15 g/kg pakan Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata $P \leq 0,05$.

Berdasarkan analisa ragam data pada hari ke-7 hingga hari ke-21 menunjukkan pengaruh sangat nyata ($p < 0,05$), sehingga dilakukan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Kecenderungan peningkatan persentase limfosit diperlihatkan dari empat perlakuan A, B, C dan D pada hari ke-4 setelah infeksi aeromonas melalui intra muscular. Meningkatnya persentase limfosit disebabkan oleh meningkatnya produksi antibodi untuk meningkatkan kekebalan tubuh dari serangan bakteri aeromonas. Moyle dan Cech (1988) dalam Sukenda *et al.* (2008) membenarkan, limfosit berfungsi sebagai penghasil antibodi untuk kekebalan tubuh dari gangguan penyakit. Hari ke-4 setelah infeksi dapat dilihat berdasarkan analisa ragam memiliki pengaruh sangat nyata terhadap persentase limfosit antar perlakuan ($p < 0,05$). Perlakuan B

berdasarkan uji Duncan merupakan perlakuan yang memiliki selisih persentase limfosit tertinggi yaitu 92 % kemudian diikuti secara berurutan perlakuan C 90 %, perlakuan D 84 % dan perlakuan A 83 %. Hal ini dapat diduga pada perlakuan B memiliki pertahanan tubuh non spesifik yang lebih baik dibandingkan perlakuan A, C, dan D.

Persentase Monosit

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa nilai persentase monosit ikan lele sangkuriang selama penelitian selengkapnya dapat dilihat pada grafik perbandingan untuk memperjelas nilai persentase monosit pada hari ke-0, hari ke-7, hari ke-14, hari ke- 21 dan hari ke-4 setelah infeksi dapat dilihat pada gambar 4 sebagai berikut.



Gambar 4. Grafik persentase monosit selama 21 hari dan 4 hari setelah infeksi
Keterangan : A dosis 0 g/kg pakan, B dosis 5 g/kg pakan, C dosis 10 g/kg pakan dan D dosis 15 g/kg pakan Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata $P \leq 0,05$.

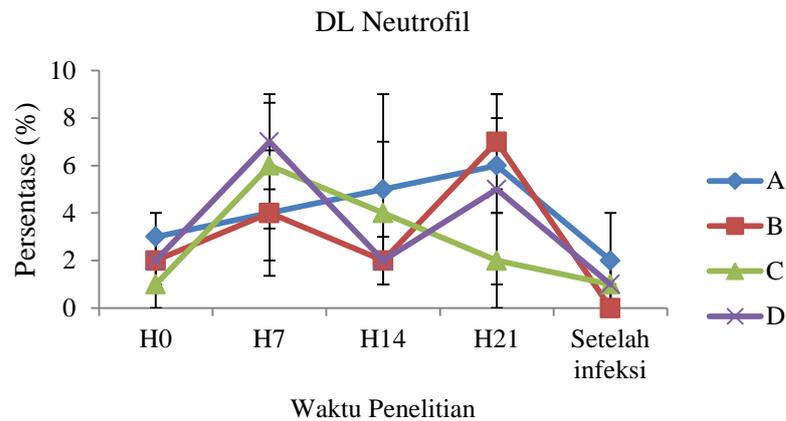
Berdasarkan analisa ragam data pada hari ke-7 hingga hari ke-21 menunjukkan pengaruh sangat nyata ($p < 0,05$), sehingga dilakukan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Kecenderungan penurunan persentase monosit diperlihatkan dari empat perlakuan A, B, C dan D pada hari ke-4 setelah infeksi aeromonas melalui intra muscular. Penurunan persentase monosit diduga dikarena meningkatnya persentase limfosit untuk memproduksi antibodi, sehingga produksi monosit terhambat. Pembentukan antibodi disaat terjadi infeksi bakteri sangat diperlukan untuk pertahanan tubuh. Puji (2009) menyatakan, bahwa antibodi memiliki 3 fungsi, yaitu menetralkan toksin agar tidak lagi bersifat toksik, mengikatkan diri kepada sel-sel musuh yaitu antigen dan fungsi terakhir adalah merusak struktur biologi antigen tersebut.

Penurunan persentase monosit hari ke-4 pasca infeksi juga dapat terjadi karena, jumlah monosit di dalam sirkulasi darah akan meningkat dalam waktu singkat (kira-kira 48 jam) setelah adanya infeksi (Dopongtonung, 2008). Sehingga diduga

pada hari ke-4 pasca infeksi jumlah monosit sudah mengalami penurunan. Hari ke-4 setelah infeksi dapat dilihat berdasarkan analisa ragam memiliki pengaruh sangat nyata terhadap persentase monosit antar perlakuan perlakuan ($p < 0,05$). Perlakuan B berdasarkan uji Duncan merupakan perlakuan yang memiliki selisih monosit tertinggi dan nilai presentase terendah yaitu 8 % kemudian diikuti secara berurutan perlakuan C 9 %, perlakuan A 15 % dan perlakuan D 15 %. Hal ini dapat diduga bahwa pada perlakuan B sel monosit bekerja aktif pada daerah terjadinya luka, sehingga sel monosit yang terdapat pada sirkulasi darah sedikit.

Persentase Neutrofil

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa nilai persentase neutrofil ikan lele sangkuriang selama penelitian selengkapnya dapat dilihat pada Grafik perbandingan untuk memperjelas nilai persentase neutrofil pada hari ke-0, hari ke-7, hari ke-14, hari ke-21 dan hari ke-4 setelah infeksi dapat dilihat pada gambar 5 sebagai berikut.



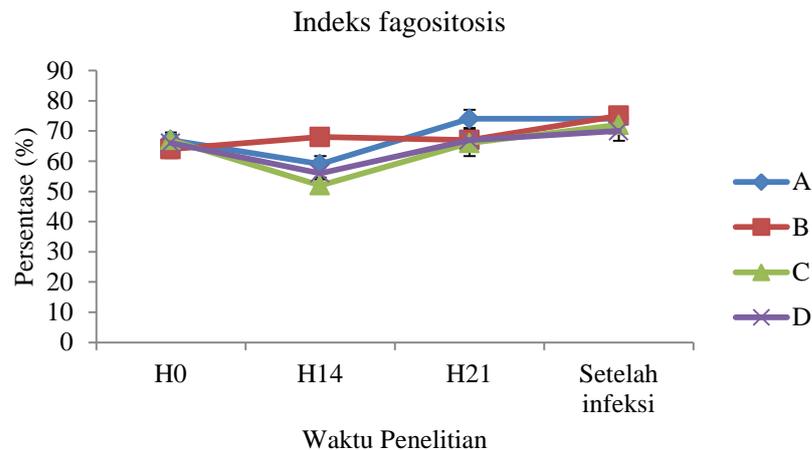
Gambar 5. Grafik persentase neutrofil selama 21 hari dan 4 hari setelah infeksi
Keterangan : A dosis 0 g/kg pakan, B dosis 5 g/kg pakan, C dosis 10 g/kg pakan dan D dosis 15 g/kg pakan Huruf yang tidak berbeda menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata $P > 0,05$.

Berdasarkan analisa ragam data pada hari ke-7 hingga hari ke-4 setelah infeksi menunjukkan tidak ada pengaruh nyata ($p > 0,05$), sehingga tidak dilakukan uji Duncan pada perhitungan sel neutrofil. Hari ke-4 setelah infeksi aeromonas dapat dilihat semua perlakuan mengalami penurunan nilai persentase neutrofil. Penurunan nilai neutrofil dikarenakan, neutrofil diduga berkumpul di tempat terjadinya pendarahan atau luka. Hal ini diperkuat oleh Bastiawan *et al.* (2001) dengan menyatakan, neutrofil ditemukan pada radang akut terutama pada tempat jaringan yang mengalami kerusakan. Perlakuan B merupakan perlakuan yang memiliki persentase neutrofil terendah yaitu 0 % kemudian diikuti secara berurutan perlakuan C 1 %, perlakuan D 1 % dan perlakuan A 2 %. Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun sirsak yang memiliki persentase terendah setelah hari ke-4 infeksi adalah perlakuan B dengan penambahan ekstrak daun sirsak sebesar 5 g/kg pakan.

Grafik hasil persentase diferensial leukosit terlihat disetiap masing-masing sel sebelum infeksi menunjukan persentase yang berfluktuasi. Fluktuasi ini dikarenakan proses adaptasi yang dilakukan oleh ikan selama masa perlakuan, sehingga nilai persentase diferensial leukosit berubah-ubah disetiap minggunya. Leukosit dalam darah menunjukan kondisi kesehatan ikan. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Hastuti (2004), Ikan yang mengalami stres yang disebabkan oleh perubahan kondisi lingkungan maupun karena benda asing memperlihatkan respon terhadap jumlah sel leukosit.

Persentase Indeks Fagositosis

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa nilai persentase indeks fagositosis ikan lele sangkuriang selama penelitian selengkapnya dapat dilihat pada grafik perbandingan untuk memperjelas nilai persentase indeks fagositosis pada hari ke-0, hari ke-14, hari ke- 21 dan hari ke-4 setelah infeksi dapat dilihat pada gambar 6 sebagai berikut.



Gambar 6. Grafik indeks fagositosis selama 21 hari dan 4 hari setelah infeksi

Keterangan : A dosis 0 g/kg pakan, B dosis 5 g/kg pakan, C dosis 10 g/kg pakan dan D dosis 15 g/kg pakan Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata $P \leq 0,05$.

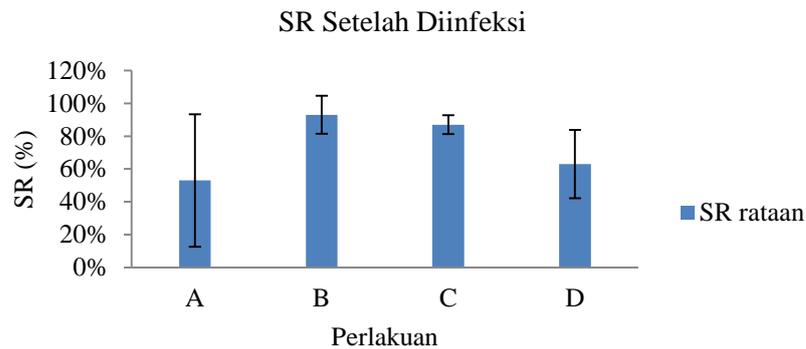
Hari ke-14 mengalami penurunan presentase indeks fagositosis dibandingkan pada hari ke-0, hal ini dapat dilihat berdasarkan analisa ragam bahwa pada hari ke-14 memiliki pengaruh sangat nyata terhadap presentase indeks fagositosis antar perlakuan ($p < 0,05$). Perlakuan B berdasarkan uji Duncan merupakan perlakuan yang memiliki selisih persentase tertinggi yaitu 68% kemudian diikuti secara berurutan perlakuan A 59%, perlakuan D 56% dan perlakuan C 52%. Hal ini dikarenakan proses adaptasi awal konsumsi pakan dengan campuran ekstrak daun sirsak.

Persentase nilai indeks fagositosis meningkat pada setiap perlakuan setelah hari ke-21 hingga hari ke-4 pasca injeksi bakteri *A. hydrophila* meskipun analisa ragam tidak menunjukkan pengaruh nyata ($p > 0,05$). Sehingga tidak dilakuakn uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Berdasarkan data tersebut peningkatan persentase indeks fagositosis menandakan adanya peningkatan kekebalan tubuh pada ikan (Brown, 2000 dalam Ciptoroso *et al.*, 2006). Meningkatnya nilai indeks fagositosis Hari ke-4 setelah infeksi dapat dilihat perlakuan B merupakan perlakuan yang memiliki persentase indeks fagositosis tertinggi yaitu 75% kemudian diikuti secara berurutan perlakuan A 74%, perlakuan C 72%

% dan perlakuan D 70%. Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun sirsak yang memiliki persentase tertinggi setelah hari ke-4 infeksi adalah perlakuan B dengan penambahan ekstrak daun sirsak sebesar 5 g/kg pakan. Sel fagositosis yang dihitung merupakan sel keseluruhan baik sel limfosit, monosit dan neutrofil yang melakukan aktivitas fagositosis dalam pengamatan. Saat pengamatan, sel limfosit cenderung lebih banyak melakukan aktivitas fagositosis. Hal ini diduga, sel fagositosis seperti neutrofil dan monosit melakukan aktivitas fagositosis ditempat terjadinya infeksi sehingga sel yang lebih banyak ditemukan melakukan aktivitas fagositosis dipembuluh darah adalah limfosit.

Persentase Kelulushidupan

Pengamatan persentase kelulushidupan ikan lele selanjutnya dilakukan pada hari ke-4 setelah infeksi aeromonas. Hasil yang didapatkan yaitu berkisar antara 10% sampai 100% dan dapat dilihat pada grafik perbandingan persentase kelulushidupan pada hari ke-0, hari ke-14, hari ke-21 dan hari ke-4 setelah infeksi dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Grafik persentase kelulushidupan 4 hari setelah infeksi

Keterangan : A dosis 5 g/kg pakan, B dosis 10 g/kg pakan, C dosis 15 g/kg pakan dan K dosis 0 g/kg pakan Huruf yang berbeda menunjukkan tidak berbeda nyata $P > 0,05$.

Pengamatan persentase kelulushidupan ikan lele dilakukan hingga hari ke-4 setelah infeksi *Aeromonas hydrophila*. Yanuher (2012) mengatakan, infeksi bakteri adalah salah satu penyebab terjadinya radikal bebas sehingga mengakibatkan mortalitas pada ikan. Grafik hasil persentase kelulushidupan berdasarkan analisa ragam data pada hari ke-4 pasca infeksi tidak menunjukkan pengaruh nyata ($p > 0,05$), sehingga tidak dilakukan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Perlakuan B 93% yang merupakan perlakuan dengan dosis 5 g/kg pakan memiliki persentase kelulushidupan yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan C 87%, D 63% dan A 53%.

Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun sirsak yang memiliki persentase tertinggi setelah hari ke-4 infeksi adalah perlakuan B dengan dosis sebesar 5 g/kg pakan. Hasil ini berbanding lurus dengan kenaikan nilai persentase limfosit dan nilai persentase indeks fagositosis yang masing-masing parameter menunjukkan perlakuan B memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan nilai perlakuan yang lain, sedangkan ikan kontrol yang masih dapat bertahan hidup setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* disebabkan karena adanya kekebalan bawaan dari ikan itu sendiri. Hal ini sesuai dengan pendapat Kamaludin (2011) yang menyatakan, bahwa ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* dan bertahan hidup memiliki titer serum yang tinggi dari antibodi seperti IgM (immunoglobulin macroglobulin). Pendapat tersebut sebanding dengan nilai limfosit 83% pada ikan kontrol setelah infeksi bakteri *A. hydrophila* dan nilai indeks fagositosis 74% yang masing –

masing parameter dalam keadaan nilai normal ikan sehat. Nilai persentase normal limfosit pada ikan teleostei berkisar antara 71,12 – 82,88% (Affandi dan Tang, 2002).

Kresno (2001) menjelaskan, bahwa limfosit yang teraktivasi akan berdiferensiasi dari sel kognitif yang mengenal antigen menjadi sel efektor yang berfungsi menyingkirkan antigen. Limfosit berdefensiasi menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi (Nuryati *et al.*, 2011). Nurhayati (2010) menambahkan kembali bahwa, sel plasma umumnya tidak terdapat dalam sirkulasi tetapi terdapat dalam organ limfoid dan pada tempat-tempat terjadinya respon imun. Sehingga perlakuan B dengan dosis ekstrak daun sirsak 5 g/kg pakan dengan persentase limfosit 92% dapat meningkatkan kekebalan seluler jaringan yang terinfeksi, hasil ini sebanding dengan data kelulushidupan ikan pada perlakuan B mencapai 93%.

Hasil nilai indeks fagositosis juga sebanding dengan hasil data kelulushidupan yang ditunjukkan pada perlakuan B dengan dosis ekstrak daun sirsak 5 g/kg pakan. Perlakuan B mampu meningkatkan indeks fagositosis hingga 75% sehingga meningkatkan sistem pertahanan tubuh dalam melawan serangan bakteri aeromonas. Peningkatan indeks fagositosis menunjukkan adanya hubungan antara ekstrak daun sirsak dan uji tantang dengan aktifitas fagositosis. Hal ini sesuai dengan pernyataan Brown (2000) dalam Ciptoroso *et al.* (2006), bahwa peningkatan persentase indeks fagositosis menandakan adanya peningkatan kekebalan tubuh pada ikan.

Berdasarkan hasil dari kelulushidupan yang diamati kemudian dibandingkan



dengan data pertumbuhan (Lampiran), terlihat adanya hubungan berbanding lurus antara ekstrak daun sirsak dengan data pertumbuhan dan kelangugan hidup. Hasil yang didapat, kelulushidupan perlakuan B 93% lebih baik dibandingkan perlakuan yang lain. Hal ini dikarenakan pada perlakuan B selama masa pemeliharaan menunjukkan nafsu makan yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Pada perlakuan B memiliki nilai pertumbuhan seperti SGR 3,30% dan FCR 1,181, hal ini lebih tinggi bila dibandingkan dengan perlakuan A dengan SGR 3,05 dan FCR 1,269, perlakuan C dengan SGR 1,25% dan FCR 2,65 dan perlakuan D dengan SGR 1,21% dan FCR 2,46. Berdasarkan data tersebut perlakuan B memiliki nafsu pakan yang lebih baik daripada perlakuan perlakuan A, C dan D. Hal ini dapat disebabkan senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak dapat berfungsi sebagai kontrol hormon pada pertumbuhan (Rahman, 2003).

Mekanisme flavonoid sebagai kontrol hormon pada pertumbuhan diduga berhubungan dengan kemampuannya merangsang kelenjar *proximal pars distalis* mensekresi hormon pertumbuhan (somatotropin). Zairin (2003) menyatakan bahwa hormon somatotropin mampu merangsang pertumbuhan dan metabolisme, meningkatkan respon makan, mencegah kerusakan hati dan terbukti memiliki sifat imunostimulatori pada sel-sel imuno kompeten serta meningkatkan aktivitas makrofag dan aktivitas hemolitik pada serum. Sedangkan pada perlakuan D dan perlakuan C merupakan dosis yang tidak bisa diterima oleh ikan untuk dicerna atau merupakan dosis lethal, sehingga ikan uji tidak dapat mengkonsumsi pakan ekstrak pada perlakuan tersebut. Zuhud (2011) menyatakan kandungan acetogenin, saponin dan flavonoid yang terdapat pada ekstrak daun sirsak bersifat toksik. Sehingga diduga jika dosis ekstrak daun sirsak pada ikan diberikan berlebihan pada ikan, ikan tidak akan mengkonsumsi pakan tersebut dikarenakan toksik yang membuat pakan menjadi pahit.

Hasil yang didapat pada perlakuan A menunjukkan nilai kelulushidupan 53% meskipun nilai indeks fagositosis tergolong tinggi hingga 74%, hal ini diduga karena tidak adanya asupan acetogenin kedalam pakan sehingga tidak terjadinya penyerapan

radikal bebas. Zuhud (2011) membenarkan, bahwa senyawa acetogenin yang terdapat pada ekstrak daun sirsak dapat menyerap radikal bebas di dalam tubuh dengan cepat sehingga mempengaruhi kelulushidupan, karena acetogenin sangat berkasiat sebagai racun yang dapat menghambat sel abnormal penyebab berbagai penyakit. Selain itu sel fagositosis (neutrofil dan monosit) yang teraktivasi memiliki kemampuan untuk menghasilkan suatu jenis oksigen dan nitrogen reaktif. Terbentuknya oksigen dan nitrogen reaktif tersebut sangat berbahaya karena berpotensi menyerang tubuh, jadi infeksi bakteri secara tidak langsung akan meningkatkan produksi radikal bebas oleh sel fagositosis sehingga proses tersebut menurunkan sistem imun dalam tubuh (Yanuhar, 2012). Sehingga perlakuan A dengan dosis ekstrak daun sirsak 0 g/kg pakan memiliki nilai mortalitas yang tinggi meskipun nilai indeks fagositosisnya tidak berbedanya dengan perlakuan B.

Hasil kelulushidupan yang mencapai diatas 60% pada perlakuan B 93%, C 87% dan D 63% menandakan adanya proteksi terhadap serangan bakteri *A. hydrophila*, sehingga dapat disimpulkan pemberian ekstrak daun sirsak dengan dosis 5g/kg pakan, 10 g kg pakan dan 15g/kg pakan dapat meningkatkan sistem imun meskipun dalam analisis ragam menunjukkan tidak ada pengaruh nyata ($P > 0,05$). Hal ini juga didukung dengan nilai-nilai parameter seperti total eritrosit, total leukosit, diferensial leukosit dan indeks fagositosis yang menunjukkan adanya peningkatan sistem imun.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak daun sirsak memberikan pengaruh yang sangat berbeda terhadap meningkatkan sistem imun non-spesifik total eritrosit, total leukosit, persentase limfosit dan persentase monosit meskipun tidak berpengaruh pada persentase neutrofil, indeks fagositosis dan kelulushidupan ikan lele yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Dosis yang terbaik untuk meningkatkan immunostimulan adalah dosis 5 g/kg (perlakuan B) dengan kelulushidupan 93%.

SARAN

Perlu adanya tambahan ekstrak dari tumbuhan lain yang memiliki senyawa aktif



untuk melengkapi senyawa acetogenin dan flavonoid, penambahan senyawa tersebut untuk meningkatkan sistem imun non spesifik ikan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada kedua Orang tua, Devi Larasati, S.Si dan Ahmad Wahyudi, S.Pi serta seluruh staf Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPPBAT), Bogor yang telah membantu kelancaran penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi R, Tang UM. 2002. *Fisiologi Hewan Air*. Riau : Uni Press. 166 hlm.
- Angka, S.L. 2001. Stido karakteristik dan patologi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele sangkuriang. Makalah Falsafah Sains. IPB. 30 hlm
- Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar Bogor. 2013. Skrining dan Aplikasi Mikroba Esensial yang Berpotensi Sebagai Kandidat Probiotik untuk Pengendalian Penyakit Ikan Air Tawar. Bogor. 25 hlm.
- Bastiawan, D. Wahid, A. Alifuddin, M. Agustawan, I. 2001. Gambaran darah lele sangkuriang (*Clarias spp.*) yang diinfeksi cendawan *aphanomyces spp.* Pada pH yang berbeda. Jurnal penelitian perikanan Indonesia. 7. No. 3:4
- Blaxhall, P., Daisley, K., 1973. Some blood parameters of the rainbow trout I. The Kamloops Variety. J. Fish. Biol. 5:1-8
- Ciptoroso. E. Mudjiutami. Aji S. 2006. Pemanfaatan *Cromium yeast* untuk Pengendalian Penyakit pada Ikan Mas, 16 hlm.
- Dinas Peternakan dan Perikanan Wilayah Banyumas, 2005. Kegiatan penyidikan ikan. Lab. Kesehatan Ikan dan Lingkungan. Banyumas.
- Dopongtonung, A. 2008. Gambaran Darah Ikan Lele (*Clarias sp.*) yang Berasal Dari Daerah Laladon – Bogor [skripsi]. Fakultas Kedokteran, Institut Pertanian Bogor. 36 hlm.
- Hastuti, S. 2004. Respons Fisiologis Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy, Lac.*) yang Diberi Pakan Mengandung Kromium-Ragi Terhadap Perubahan Suhu Lingkungan. [Disertasi]. Program Pascasarjana, Institut pertanian Bogor.
- Kamaludin, I. 2011. Efektifitas Ekstrak Lidah Buaya *Aloe vera* untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias sp.* Melalui Pakan [skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. 112 hlm.
- Kresno, S.B. 2001. Immunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Edisi Ketiga Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 25 hlm.
- Nurhayati R, 2010. Profil hematologi dan ketahanan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) yang terjangkit penyakit kuning selama pengangkutan [skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Nuryati, S. N. A. Maswan. Alimuddin. Sukenda. K. Sumantadinata. F. H. Pasaribu. R. D. Soejoeno. A. Santika. 2011. Gambaran Darah Ikan Mas Setelah Divaksinasi dengan Vaksin DNA dan Diuji Tantang dengan Koi Herpesvirus. Jurnal Akuakultus. 9 (1) : 9-15.
- Puji, W.U. 2009. Efektivitas Ekstrak Pacipaci *Leucas lavaandulaefolia* yang Diberikan Lewat Pakan Untuk Pencegahan dan Pengobatan Penyakit Mas *Motile Aeromonas Septicemia* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias sp.* Bogor [skripsi]: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. 119 hlm.
- Purnomo, H. A. Utami. 2012. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Pestisida [skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan IKIP PGRI Semarang. 97 hlm.
- Rachman. 2003. Kajian Potensi Anti Fungi dari Ekstrak Seduh Daun Ketapang *Terminalia catappa L*, Daun Sirih *Piper betle L*, Daun Jambu Biji *Psidium guajava L* dan Daun Sambilotto *Andrographis peniculatala*



- Burm F Nees terhadap Pertumbuhan Cendawan Akuatik *Aphanomyces* sp. Secara *in vitro*. [skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. 110 hlm.
- Subandiyono, S. Anggoro, E. Suriyono. 2008. Paket teknologi budidaya ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) pada lahavn sub-optimal. Laporan penelitian RISTEK, Jakarta.
- Sukenda. L. Jamal, D. Wahyuningrum, A. Hasan. 2008. Penggunaan Kitosan Untuk Pencegahan Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. Jurnal Akuakultur Indonesia. 7(2) : 159-169
- Svobodova, Z., Vyukusova, B., 1991. Diagnostic, Prevention and Therapy of Fish Disease and Intoxication. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology Vodnany Czechoslovakia.
- Yanuhar, U. 2012. Pengaruh Pemberian Bahan Aktif Ekstrak *Nannochloropsis oculata* Terhadap Kadar Radikal Bebas pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang Terinfeksi Bakteri *Vibrio alginolyticus* [skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. 89 hlm.
- Zairin, M Jr. 2003. Endokrinologi dan Peranannya bagi Masa Depan Perikanan Indonesia. Orasi Ilmiah. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 70 hlm
- Zonneveld, N. E., A. Huisman, J.H. Boon. 1991. Prinsip-prinsip budidaya ikan. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 381 hlm.
- Zuhud A.M. 2011. Manfaat Daun Sirsak. Agro Media. Jakarta. 75 hlm.