



PENGARUH EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata*) TERHADAP PROFIL DARAH DAN KELULUSHIDUPAN IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

R. Dewi Dharina Nurjannah¹⁾, Slamet Budi Prayitno^{1)*}, Sarjito¹⁾, Angela M. Lusastuti²⁾

¹⁾ Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof Soedarto Tembalang - Semarang

²⁾ Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar, Bogor
Jl. Sempur No. 1, Bogor, Jawa Barat

ABSTRAK

Ikan mas merupakan jenis ikan konsumsi air tawar yang mudah dibudidayakan. Salah satu kendala dalam budidaya ikan mas adalah serangan penyakit yang akhirnya menyebabkan kematian ikan dalam jumlah banyak. Penyakit yang umumnya menyerang ikan mas adalah *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Daun sirsak merupakan salah satu herbal yang dapat digunakan sebagai bahan alternatif untuk pengobatan penyakit ikan karena kandungan bahan kimianya yang berfungsi sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh dan dosis terbaik penggunaan ekstrak daun sirsak dalam pakan terhadap profil darah dan kelulushidupan ikan mas yang diinfeksi *A. hydrophila*. Perlakuan dalam penelitian berupa penambahan ekstrak daun sirsak pada pakan ikan dengan 4 dosis berbeda dan 3 kali ulangan yaitu perlakuan A (0 g/kg pakan), perlakuan B (5 g/kg pakan), perlakuan C (10 g/kg pakan) dan perlakuan D (15 g/kg pakan). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun sirsak dalam pakan pada perlakuan B (5g/kg pakan) berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap total leukosit ($5,62 \times 10^3$ sel/mm³), namun tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap, total eritrosit ($0,83 \times 10^6$ sel/mm³), aktivitas fagositosis (37%), diferensial leukosit meliputi persentase sel monosit (7,67%), neutrofil (8,67%), limfosit (83,67%), dan kelulushidupan (50%). Kesimpulan yang diperoleh adalah dosis 5 g/kg merupakan dosis terbaik penggunaan ekstrak daun sirsak dalam pakan yang mampu memberi pengaruh terhadap total leucosit ikan mas yang diinfeksi *A. hydrophila*.

Kata kunci: Daun sirsak, Profil darah, *Cyprinus carpio*.

ABSTRACT

Carp is a freshwater species that is easily cultivated. One of the constraints in cultivating carps (*C. carpio*) is diseases that ultimately caused mass mortality. The disease that generally affects carp is *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) caused by *Aeromonas hydrophila*. Soursop leaves is one of the herbs that can be used as an ingredient to control fish diseases because it contains chemicals that acts bacteriocide. The purpose of this research was to determine the influence and the best dose of soursop leaf extract in feed to the blood profile and survival of carp infected by *A. hydrophila*. The treatments of this research were addition of soursop leaf extract on feed with 4 different dosages and 3 replicates. The treatments were A (0 g/kg diet), B (5 g/kg diet), C (10 g/kg diet) and D (15 g/kg diet). The result showed that soursop leaf extract in feed of treatment B (5 g/kg diet) significantly different ($P < 0,005$) on total leukocytes ($5,62 \times 10^3$ sel/mm³), but had no significant effect ($P > 0,05$) on total erythrocyte ($0,83 \times 10^6$ cells/mm³), differential leukocyte include the percentage of monocytes (7.67%), neutrophils (8.67%), lymphocytes (83.67%), phagocytic activity (37%) and survival rate (50%). It can be conclude that soursop leaf extract at dosage 5g/kg was able to stimulate immune response of carp, it was characterized by an increased total leukocytes of carp infected by *A. hydrophila*.

Keywords: soursop leaf, blood profile, *Cyprinus carpio*

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



PENDAHULUAN

Ikan mas merupakan jenis ikan konsumsi air tawar yang memiliki harga jual cukup tinggi dan mudah dibudidayakan. Hal ini menyebabkan ikan mas mendapat perhatian dan diminati oleh para pengusaha untuk membudidayakannya. Akibatnya budidaya ikan mas mengalami perkembangan yang pesat. Sistem budidaya yang tidak terkendali mengakibatkan kondisi lingkungan yang tidak stabil sehingga menimbulkan penyakit. Salah satu kendala dalam budidaya ikan mas adalah serangan penyakit yang menyebabkan kematian masal. Penyakit yang menyerang ikan mas adalah *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Tambunan *et al.* (2011), mengemukakan bahwa infestasi *Aeromonas* menyebabkan 80% kematian ikan budidaya pada berbagai stadia. Ciri-ciri serangan penyakit ini adalah adanya bercak merah pada kulit, insang dan organ bagian dalam.

Menurut Tambunan *et al.* (2011), penyakit yang disebabkan *Aeromonas* umumnya bila tidak diobati, dapat menyebabkan penyebaran yang sangat luas dan menyebabkan kematian ikan secara masal. Usaha penanggulangan penyakit yang biasanya dilakukan oleh petani maupun pengusaha ikan adalah penggunaan berbagai bahan kimia dan antibiotik. Penggunaan antibiotik secara terus menerus dengan dosis atau konsentrasi yang kurang tepat, akan menimbulkan masalah baru, seperti meningkatnya resistensi mikroorganisme patogen, pencemaran lingkungan, bahkan berdampak pada manusia yang mengonsumsinya. Berkaitan dengan permasalahan tersebut, penggunaan bahan alami menjadi alternatif untuk pengendalian penyakit ikan. Penggunaan tumbuhan obat relatif lebih aman untuk lingkungan dan efektif dalam mengobati penyakit ikan atau meningkatkan kekebalan tubuh ikan. Suhirman dan Winarti (2005), menjelaskan bahwa tanaman obat mempunyai fungsi imunomodulator adalah dengan cara stimulan (imunostimulan) dan supresan (imunosupresi).

Berbagai jenis tumbuhan obat mulai banyak digunakan dalam pengobatan ikan, antara lain tumbuhan sirsak terutama bagian daunnya. Daun sirsak mengandung senyawa acetogenin. Menurut Zuhud (2011), senyawa acetogenin memiliki kemampuan sebagai antikanker, antitumor, anti-inflamasi, antidepresi, antivirus, dan antibakteri. Hasil penapisan fitokimia ekstrak daun sirsak menggunakan pelarut etanol 70% menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, kuinon, steroid, minyak atsiri dan kumarin, dengan kadar flavonoid 4,86% dan senyawa kuersetin 0,0905% (Nurrahmani, 2012). Menurut Doss *et al.* (1995), senyawa tannin memiliki aktifitas sebagai antibakteri yang tinggi terhadap sejumlah bakteri seperti *Staphylococcus aureus*,

karena mampu mengganggu dinding sel bakteri sehingga koloni bakteri terdisintegrasikan dan pertumbuhannya terhambat. Takahashi *et al.* (2006), menambahkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak mengandung senyawa flavonoid yang bekerja sebagai antibakteri dan mampu mengatasi infeksi bakteri.

Penelitian mengenai penggunaan tumbuhan obat dalam budidaya ikan sudah banyak dilakukan, namun informasi untuk penggunaan daun sirsak sebagai imunostimulan pada ikan masih sedikit. Hal tersebut menjadi latar belakang dilakukan penelitian ini. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui dosis terbaik penggunaan ekstrak daun sirsak terhadap kelulushidupan dan mengetahui profil darah meliputi total eritrosit, total leukosit, diferensial leukosit dan aktivitas fagositosis ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2012 – Februari 2013. Tempat pelaksanaan di Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPPBAT), Bogor, Jawa Barat.

METODOLOGI PENELITIAN

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan mas dengan ukuran 8 – 10 cm. Jumlah ikan yang digunakan sebanyak 120 ekor, dan dibagi menjadi empat perlakuan dengan masing-masing tiga kali ulangan. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri dari empat perlakuan dan tiga kali ulangan. Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian yaitu penambahan ekstrak daun sirsak kedalam pakan dengan dosis yang digunakan: A (0g/kg pakan), B (5g/kg pakan), C (10g/kg pakan), D (15g/kg pakan). Penentuan dosis mengacu pada Purnomo dan Afri (2011).

Pengambilan sampel darah dilakukan setiap tujuh hari mulai dari hari ke-nol sampai hari keempat pasca uji tantang *A. hydrophila*, kemudian dilakukan pengamatan meliputi total eritrosit, total leukosit, diferensial leukosit dan indeks fagositosis.

Penghitungan total eritrosit dan total leukosit mengacu pada Blaxhall dan Daisley, (1973). Penghitungan diferensial leukosit dan aktivitas fagositosis mengacu pada Anderson dan Siwicki, (1993), sedangkan untuk menghitung kelulushidupan ikan mas pasca uji tantang *A. hydrophila* dihitung dengan menggunakan rumus (Zonneveld *et al.*, 1991).

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



HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis ikan mas pasca infeksi *A. hydrophila* yang dilakukan selama 4 hari,

menunjukkan bahwa gejala klinis adanya serangan bakteri *A. hydrophila* berupa perubahan tingkah laku dan morfologi. Hasil pengamatan gejala klinis ikan mas pasca uji tantang *A. hydrophila* tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan Gejala Klinis Ikan Mas Pasca Infeksi *A. hydrophila*

Hari ke-	Gejala klinis	
	Morfologi	Tingkah laku
1	Terlihat adanya luka berwarna merah dan bengkak pada area bekas penyuntikan <i>A. hydrophila</i> yaitu bagian punggung, hal ini terjadi pada semua ikan disetiap perlakuan. beberapa ikan menunjukkan kondisi seperti geripis pada sirip ekor.	Sebagian besar ikan masih berenang dengan normal di dasar dan bergerombol, respon terhadap rangsangan cukup baik dan respon terhadap pakan baik, namun ada beberapa ikan berenang tidak teratur di permukaan dan menyendiri, diantaranya terdapat pada perlakuan C (10g/kg) dan A (kontrol). Beberapa ikan tersebut mengalami penurunan nafsu makan dan respon terhadap rangsangan lambat.
2	Luka pada tubuh ikan semakin melebar seperti borok (ulcer), geripis pada bagian sirip ekor, tubuh ikan dipenuhi lendir, terdapat tukak (bolong) pada otot punggung, bagian perut mengembung dan tubuh berwarna pucat.	Hampir semua ikan uji mengalami penurunan nafsu makan dan respon terhadap rangsangan lambat, terlihat beberapa ikan berenang tidak teratur
3	Luka pada tubuh ikan semakin dalam sehingga otot punggung bolong, ikan uji yang mati menunjukkan kondisi luka yang parah.	Ikan yang masih bertahan berenang normal dan bergerombol didasar. Respon ikan terhadap pakan menurun.
4	Sirip dorsal dan caudal geripis, luka pada tubuh ikan semakin dalam (otot punggung bolong).	Ikan yang masih bertahan berenang normal dan bergerombol didasar. Respon ikan terhadap pakan menurun, beberapa ikan berenang menyendiri.

Pengamatan gejala klinis ikan mas pasca infeksi *A. hydrophila* pada Tabel 1 menunjukkan adanya perubahan tingkah laku dan morfologi. Perubahan tingkah laku diantaranya penurunan nafsu makan terutama pada hari ke-2, penurunan respon terhadap pakan, ikan berenang didasar dan beberapa ekor berenang di permukaan. Hari ke-1, sebagian banyak ikan masih berenang dengan normal, sedangkan pada hari ke-2 dan seterusnya terdapat beberapa ikan berenang tidak teratur. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kabata, (1985) bahwa ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* akan menunjukkan kondisi yang tidak normal yaitu ikan berenang di permukaan air, berenang lambat nafsu makan rendah. Hal serupa juga terjadi pada penelitian yang dilakukan Citarasu *et al.* (2011)

Perubahan secara morfologi diantaranya luka pada tubuh ikan (area bekas infeksi) berwarna kemerahan, adanya pembengkakan pada tubuh yang luka, geripis pada bagian sirip punggung dan sirip ekor, bagian abdomen mengembung beberapa ikan mengalami perubahan warna tubuh menjadi gelap.

Perubahan tersebut diduga berkaitan dengan serangan bakteri *A. hydrophila* yang diinjeksikan pada tubuh ikan, sehingga ikan uji mengalami gangguan fisiologis akibat efek toksin yang berasal dari bakteri *A. hydrophila*. Menurut Kabata, (1985) ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* akan menunjukkan perubahan morfologi seperti luka, dropsy, dan perubahan warna tubuh ikan. Adanya infeksi tersebut mengakibatkan terjadinya perubahan kondisi ikan, dimana perubahan tersebut merupakan bentuk pertahanan dari ikan itu sendiri, seperti diungkapkan oleh Syawal (2008), bahwa adanya perubahan kondisi ikan seperti terjadinya inflamasi karena infeksi merupakan karakteristik tanggap kebal nonspesifik.

Total Eritrosit

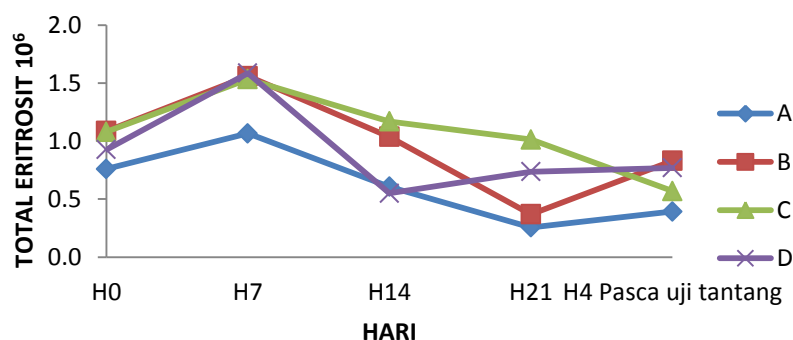
Hasil pengamatan total eritrosit ikan mas tersaji pada Tabel 2 dan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 1.



Tabel 2. Nilai Rata-rata Eritrosit ($\times 10^6$ sel/mm³) pada Ikan Mas

Perlakuan	Hari ke-				
	0	7	14	21	4 pasca ujitantang
A	0,76 \pm 0.11	1,07 \pm 0.03 ^{ab}	0,61 \pm 0.08 ^{ab}	0,26 \pm 0.02 ^a	0,39 \pm 0,04
B	1,09 \pm 0.06	1,56 \pm 0.04 ^{ab}	1,04 \pm 0.04 ^{ab}	0,37 \pm 0.02 ^{ab}	0,83 \pm 0,39
C	1,08 \pm 0.09	1,53 \pm 0.15 ^{ab}	1,17 \pm 0.33 ^{ab}	1,01 \pm 0.02 ^b	0,57 \pm 0,03
D	0,93 \pm 0.11	1,59 \pm 0.04 ^{ab}	0,55 \pm 0.07 ^{ab}	0,74 \pm 0.15 ^b	0,77 \pm 0,14

Keterangan: A: 0g/kg, B: 5g/kg, C: 10g/kg, D: 15g/kg. Nilai dengan superscript yang sama pada kolom menunjukkan tidak adanya pengaruh yang nyata ($P>0.05$).



Gambar 1. Grafik Total Eritrosit Ikan Mas Perlakuan A dosis 0 g/kg pakan, B dosis 5 g/kg pakan, C dosis 10g/kg pakan dan D dosis 15 g/kg pakan.

Tabel 2 dan Gambar 1 menunjukkan bahwa setelah 7 hari, rata-rata total eritrosit pada perlakuan A, B, C dan D cenderung meningkat, kisaran nilainya antara $1,07 \times 10^6 - 1,59 \times 10^6$ sel/mm³, kisaran tersebut masih dalam kisaran normal. Menurut Roberts (2001), total eritrosit normal pada ikan teleost adalah $1,05 \times 10^6 - 3,0 \times 10^6$ sel/mm³. Peningkatan eritrosit sesuai dengan kisaran normal diduga karena hal tersebut dipengaruhi pemberian ekstrak daun sirsak, dimana dalam ekstrak tersebut terkandung senyawa aktif berupa acetogenin yang berfungsi meningkatkan ketahanan tubuh ikan, sehingga total eritrosit ikan mas kembali normal.

Total eritrosit setelah 14 hari cenderung menurun pada semua perlakuan berkisar antara $0,55 \times 10^6 - 1,17 \times 10^6$ sel/mm³ dengan nilai tertinggi pada perlakuan C ($1,17 \times 10^6$ sel/mm³). Diduga bahwa penurunan total eritrosit disebabkan karena ikan uji mengalami anemia sehingga terjadi penurunan nafsu makan, hal ini terbukti pada semua perlakuan terutama pada perlakuan D (15g/kg) dimana total eritrosit setelah 14 hari menurun sebesar $1,04 \times 10^6$ sel/mm³. Erika (2008) mengemukakan bahwa total eritrosit yang rendah mengindikasikan bahwa ikan mengalami anemia.

Hari ke-21 nilai nya menurun kembali ($0,26 \times 10^6 - 1,01 \times 10^6$ sel/mm³) dan nilai terendah pada perlakuan A ($0,26 \times 10^6$ sel/mm³). Hari ke-4 pasca uji

tantang *A. hydrophila* terjadi peningkatan total eritrosit dengan kisaran nilai $0,39 \times 10^6 - 0,83 \times 10^6$ sel/mm³. hal ini diduga karena ikan mengalami stres pasca infeksi *A. hydrophila*. Menurut Erika (2008), total eritrosit yang terlalu tinggi mengindikasikan ikan dalam keadaan stres. Total eritrosit pasca uji tantang masih berada dibawah kisaran normal total eritrosit ikan sehat, hal ini juga diduga bahwa ikan mengalami anemia karena terjadi pendarahan akibat perkembangan luka pada tubuh ikan yang semakin besar pasca infeksi *A. hydrophila*, hal ini terlihat terutama pada perlakuan A (0g/kg). Hal lain diduga karena terjadinya hemolisis akibat toksin yang dikeluarkan *A. hydrophila* sehingga jumlah sel eritrosit dalam tubuh ikan sedikit. Pleczar dan Chan (2009) mengemukakan bahwa ketika *A. hydrophila* masuk kedalam tubuh inang, maka bakteri tersebut akan memproduksi Lechitinase, yaitu enzim yang menghancurkan berbagai sel jaringan dan terutama aktif melisis sel eritrosit.

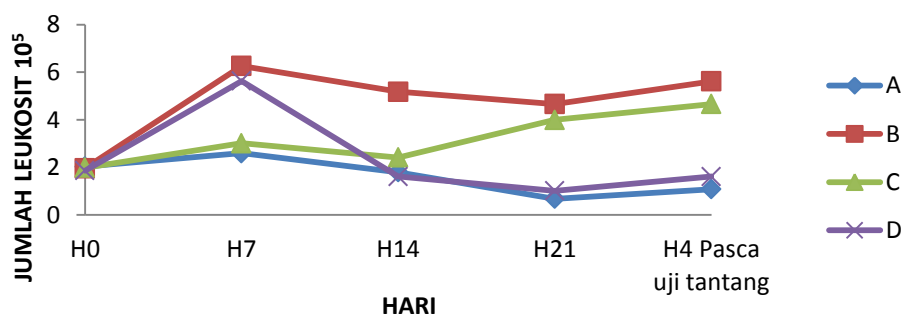
Total Leukosit

Hasil pengamatan penambahan ekstrak daun sirsak dengan dosis berbeda dalam pakan terhadap total leukosit selama penelitian tersaji pada Tabel 3 dan grafik perbandingannya dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 3. Nilai Rata-rata Leukosit ($\times 10^5$ sel/mm³) Pada Ikan Mas

Perlakuan	Hari ke-				
	0	7	14	21	4 pasca ujitan tang
A	2.03±0.32	2.60±0.20 ^{ab}	1.80±0.13 ^b	0.68±0.08 ^b	1.08±0.13 ^b
B	1.97±0.60	6.27±0.51 ^{ab}	5.18±0.25 ^b	4.67±0.29 ^b	5.62±0.08 ^b
C	1.98±0.36	3.02±0.62 ^b	2.42±0.06 ^a	4.00±0.50 ^a	4.67±0.76 ^a
D	1.87±0.81	5.63±0.45 ^{ab}	1.62±0.18 ^a	1.02±0.18 ^{ab}	1.62±0.49 ^{ab}

Keterangan: A: 0g/kg, B: 5g/kg, C: 10g/kg, D: 15g/kg. Nilai dengan superscript yang sama pada kolom menunjukkan tidak adanya pengaruh yang nyata ($P>0.05$).



Gambar 2. Grafik Total Leukosit Ikan Mas Perlakuan A (0 g/kg pakan), B (5 g/kg pakan), C (10 g/kg pakan) dan D (15 g/kg pakan).

Tabel 3 dan Gambar 2 menunjukkan peningkatan total leukosit pada semua perlakuan setelah 7 hari berkisar antara 2.60×10^5 – 6.27×10^5 sel/mm³. Peningkatan total leukosit tersebut mengindikasikan bahwa terjadi perubahan kondisi lingkungan yang mengakibatkan ikan mengalami stress, sehingga total leukosit dalam tubuh ikan meningkat. Hal ini diduga berkaitan dengan pemberian ekstrak daun sirsak yang dapat meningkatkan respon pertahanan tubuh yang ditandai dengan peningkatan total leukosit.

Perubahan total leukosit tersebut merupakan indikator pada ikan yang mengalami stress, namun setelah 14 hari pemberian pakan uji nilainya cenderung menurun pada semua perlakuan namun masih berada pada kisaran normal. Menurut Ikbal (2006), rendahnya kandungan leukosit dalam darah ikan yang diberi bahan imunostimulan dibandingkan pakan komersil menandakan bahwa ikan berada dalam kondisi baik.

Setelah 21 hari total leukosit menurun kembali pada perlakuan A, B dan D, dengan nilai tertinggi pada perlakuan B (4.67×10^5 sel/mm³), sedangkan perlakuan C nilainya meningkat, hal ini diduga kondisi ikan pada perlakuan C mengalami stres akibat perubahan lingkungan atau infeksi patogen.

Menurut Sukenda *et al.* (2008), peningkatan total leukosit dalam darah, dikarenakan leukosit berfungsi sebagai pertahanan tubuh, yang bereaksi dengan cepat terhadap masuknya antigen kedalam tubuh ikan.

Meningkatnya total leukosit ikan mas pasca infeksi *A. hydrophila* menunjukkan adanya respon perlawanan tubuh terhadap zat asing penyebab penyakit, yaitu infeksi *A. hydrophila* pada tubuh ikan mengakibatkan terjadinya respon imun yang ditandai dengan meningkatnya total leukosit. Hal ini terjadi pada semua perlakuan, dimana total eritrosit tertinggi terjadi pada perlakuan B (5.62×10^5 sel/mm³) diikuti perlakuan C (4.67×10^5 sel/mm³) dan D (1.62×10^5 sel/mm³). Meningkatnya total leukosit tersebut merupakan respon pertahanan tubuh ikan terhadap antigen. Moyle dan Cech (1988), mengemukakan bahwa leukosit memiliki bermacam-macam fungsi, yang erat kaitannya untuk menghilangkan benda asing (termasuk mikroorganisme patogen).

Persentase Monosit

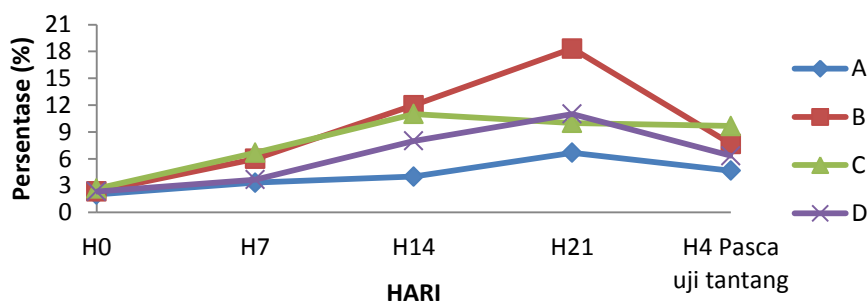
Hasil pengamatan persentase monosit tersaji pada Tabel 4 dan grafik perbandingannya dapat dilihat pada Gambar 3.



Tabel 4. Rata-rata Persentase Monosit Pada Ikan Mas

Perlakuan	Hari ke-				
	0	7	14	21	4 pasca ujiantang
A	2.00±1.00	3.33±1.53	4.00±1.00 ^{ab}	6.67±0.58 ^{ab}	4.67±0.58
B	2.33±1.53	6.00±2.65	12.00±1.00 ^{ab}	18.33±2.52 ^b	7.67±1.52
C	2.33±1.15	6.67±2.52	11.00±1.00 ^b	10.00±2.65 ^{ab}	9.67±3.51
D	2.33±0.58	3.67±1.53	8.00±1.00 ^b	11.00±1.00 ^{ab}	6.33±2.52

Keterangan: A: 0g/kg, B: 5g/kg, C: 10g/kg, D: 15g/kg. Nilai dengan superscript yang sama pada kolom menunjukkan tidak adanya pengaruh yang nyata ($P>0,05$).



Gambar 3. Grafik Persentase Monosit Ikan Mas Perlakuan A (0 g/kg pakan), B (5g/kg pakan), C (10 g/kg pakan) dan D (15 g/kg pakan).

Tabel 4 dan Gambar 3, menunjukkan peningkatan persentase monosit sampai 21 hari pada perlakuan A, B dan D, sedangkan perlakuan C menurun nilainya. Hari ke-4 pasca ujiantang nilainya menurun pada perlakuan A, B dan D, sedangkan pada perlakuan C nilainya meningkat. Secara keseluruhan, persentase monosit pada penelitian ini berkisar antara 2 – 18,33%. Menurut Svobodová dan Vykusová, (1991), kisaran normal monosit pada ikan mas berkisar antara 3-5%. Tingginya nilai monosit diatas kisaran normal, terutama setelah 21 hari pemberian pakan uji diduga karena adanya pengaruh penambahan ekstrak daun sirsak dalam pakan, dimana kandungan bahan aktif dalam ekstrak daun sirsak mampu meningkatkan respon imun ikan melalui peningkatan persentase monosit, hal lain diduga bahwa ekstrak daun sirsak dianggap zat asing dalam tubuh ikan. Moyle dan Cech (1988), menyatakan bahwa jumlah monosit di dalam populasi sel darah putih sedikit, namun jumlahnya akan meningkat jika ada substansi asing pada jaringan atau sirkulasi. Hal serupa dilaporkan juga dalam Vonti (2008), bahwa nilai monosit lebih tinggi dari kisaran normal diduga dikarenakan kondisi ikan yang stress.

Hari ke-4 pasca ujiantang *A. hydrophila* jumlahnya menurun dan tidak menunjukkan adanya

pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak. Hal ini diduga bahwa monosit menuju tempat terjadinya infeksi, hal ini sesuai dengan pernyataan Sukenda *et al.* (2008) bahwa penurunan jumlah monosit dikarenakan monosit tersebut meninggalkan pembuluh darah menuju daerah yang terinfeksi dan memfagosit bakteri.

Penurunan nilai monosit pasca ujiantang juga bisa diduga bahwa peradangan pada hari ke-4 pasca ujiantang dalam jaringan darah telah kembali menuju normal sehingga tidak ada peningkatan jumlah monosit, selain itu diduga adanya jenis leukosit lain yang ikut berperan dalam merespon radang akibat infeksi *A. hydrophila*. Prakoso, (2012) mengemukakan bahwa meningkatnya jumlah leukosit karena komponen leukosit yaitu heterofil (neutrofil) dan monosit yang merupakan bagian dari leukosit, yang memberikan respon imun terhadap bakteri, sedangkan penurunan jumlah leukosit mengindikasikan bahwa proses peradangan telah berhenti.

Persentase Neutrofil

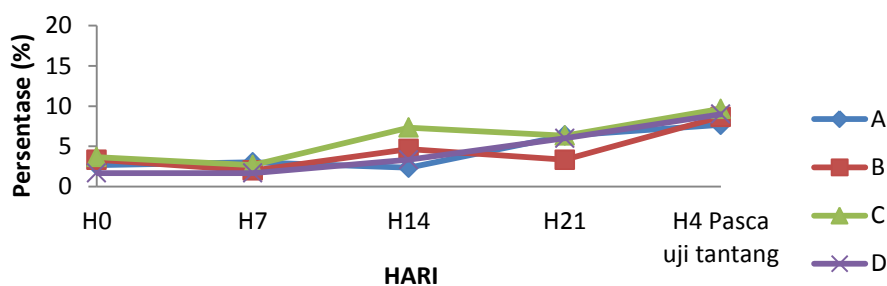
Hasil pengamatan persentase neutrofil tersaji pada Tabel 5 dan grafik perbandingannya dapat dilihat pada Gambar 4.



Tabel 5. Rata-rata Persentase Neutrofil pada Ikan mas

Perlakuan	Hari ke-				
	0	7	14	21	4 pasca ujiantang
A	2.67±1.15	3.00±1.73	2.33±1.53 ^{ab}	6.33±1.15	7.67±0.58
B	3.33±1.15	2.00±1.00	4.67±1.53 ^{ab}	3.33±0.57	8.67±2.51
C	3.67±0.58	2.67±1.53	7.33±1.53 ^{ab}	6.33±2.08	9.67±3.21
D	1.67±1.15	1.67±1.15	3.33±1.53 ^a	6.00±1.00	9.00±3.61

Keterangan: A: 0g/kg, B: 5g/kg, C: 10g/kg, D: 15g/kg. Nilai dengan superscript yang sama pada kolom menunjukkan tidak adanya pengaruh yang nyata ($P>0.05$).



Gambar 4. Grafik Persentase Neutrofil Ikan Mas Perlakuan A (0 g/kg pakan), B (5g/kg pakan), C (10 g/kg pakan) dan D (15 g/kg pakan).

Tabel 5 dan Gambar 4 menunjukkan bahwa, persentase neutrofil setelah 7 hari mengalami penurunan, dan tidak menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak. Hal ini diduga bahwa pemberian ekstrak daun sirsak belum berpengaruh terhadap sel neutrofil dalam merespon antigen. Hari ke-14 persentasenya meningkat dan menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak. Hal ini diduga bahwa peningkatan jumlah neutrofil merupakan mekanisme kerja ekstrak sebagai imunostimulan yaitu meningkatkan respon imun melalui peningkatan sel neutrofil.

Hari ke-21 terjadi penurunan, namun tidak dipengaruhi penambahan ekstrak daun sirsak. Penurunan persentase neutrofil masih dalam kisaran normal yaitu rata-rata 6%. Menurut Nabib dan Pasaribu, (1989) proporsi neutrofil dalam darah adalah 6-8%. Penurunan jumlah neutrofil mendekati kisaran normal menunjukkan peran daun sirsak sebagai immunosupresi yaitu menekan atau menormalkan kembali reaksi imun. Sesuai dengan pernyataan Suhirman dan Winarti, (2005) bahwa tanaman obat memiliki fungsi sebagai immunostimulan dan immunosupresi.

Hari ke-4 pasca uji tantang *A. hydrophila* terjadi peningkatan persentase neutrofil di atas kisaran normal terutama pada perlakuan D (9,67%), C (9,67%) dan B (8,67%) namun berdasarkan analisa

ragam tidak menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak. Hal ini diduga bahwa peningkatan jumlah neutrofil dikarenakan adanya respon alami akibat infeksi *A. hydrophila*, sebagaimana diketahui bahwa ikan memiliki sistem imun bawaan atau alamiah, yang memiliki kemampuan mempertahankan maupun meningkatkan kekebalan tubuh terhadap zat asing atau antigen, dalam hal ini perlakuan A (kontrol). Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Sukenda *et al.* (2008), bahwa jumlah neutrofil meningkat karena dalam tubuh ikan telah terbentuk sistem pertahanan tubuh, sehingga saat terjadi infeksi bakteri, neutrofil diproduksi oleh limfa untuk dikirim ke tempat infeksi. Hal serupa juga dilaporkan Mones (2008), bahwa peningkatan jumlah neutrofil disebabkan karena adanya infeksi pathogen. Berdasarkan hasil pengamatan jumlah neutrofil pasca uji tantang, perlakuan C nilainya lebih tinggi dibandingkan perlakuan B, secara tidak langsung hal ini juga berkaitan dengan penambahan ekstrak dengan dosis yang lebih tinggi pada perlakuan C yang telah diberikan selama 21 hari.

Persentase Limfosit

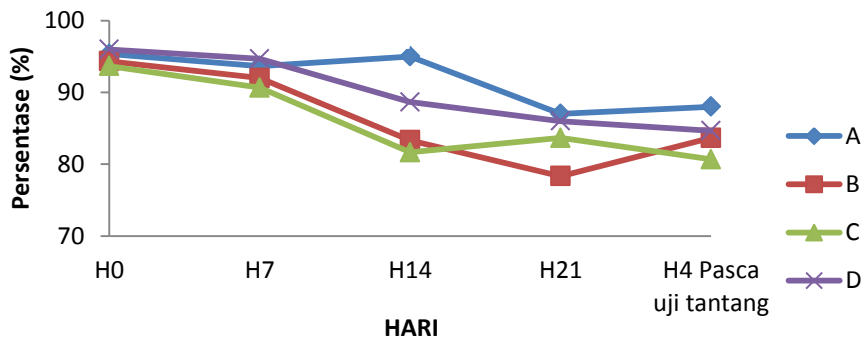
Hasil pengamatan persentase limfosit tersaji pada Tabel 6 dan grafik perbandingannya dapat dilihat pada Gambar 5.



Tabel 6. Rata-rata Persentase Limfosit pada Ikan Mas

Perlakuan	Hari ke-				
	0	7	14	21	4 pasca uji tantang
A	95.33±2.08	93.67±1.15	95.00±1.00 ^b	87.00±1.00 ^{ab}	88.00±1.00
B	94.33±2.52	92.00±2.00	83.33±2.31 ^{ab}	78.83±2.08 ^b	83.67±3.21
C	93.67±1.15	91.33±1.15	81.67±2.52 ^{ab}	83.67±1.15 ^{ab}	80.67±4.16
D	96.00±1.00	94.67±2.08	88.67±2.08 ^{ab}	86.00±1.00 ^{ab}	84.67±1.53

Keterangan: A: 0g/kg, B: 5g/kg, C: 10g/kg, D: 15g/kg. Nilai dengan superscript yang sama pada kolom menunjukkan tidak adanya pengaruh yang nyata ($P>0.05$).



Gambar 5. Grafik Persentase Limfosit Ikan Mas Perlakuan A (0 g/kg pakan), B (5g/kg pakan), C (10 g/kg pakan) dan D (15 g/kg pakan).

Berdasarkan Tabel 6 dan Gambar 5 Persentase limfosit pada sampai hari ke-21 mengalami penurunan, namun menunjukkan adanya peningkatan pada hari ke-4 pasca infeksi *A. hydrophila*. Penurunan persentase limfosit yang terjadi selama 21 hari perlakuan menunjukkan bahwa nilainya masih dalam kisaran normal yaitu 78 – 95%. Menurut Svobodová dan Vykusová (1991), persentase limfosit pada ikan mas berkisar antara 76 – 97,5%.

Hari ke-4 pasca uji tantang *A. hydrophila* menunjukkan peningkatan persentase limfosit tidak dipengaruhi penambahan ekstrak daun sirsak. Hal ini diduga bahwa zat aktif dalam ekstrak daun sirsak belum memberi pengaruh yang optimal dalam merangsang respon imun.

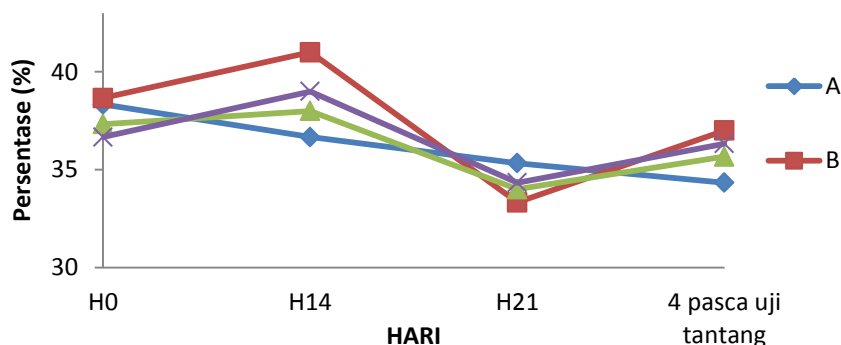
Aktivitas Fagositosis

Hasil pengamatan persentase monosit tersaji pada Tabel 7 dan grafik perbandingannya dapat dilihat pada Gambar 6.

Tabel 7. Rata-rata Aktivitas Fagositosis Pada Ikan Mas

Perlakuan	Hari ke-			
	0	14	21	4 pasca ujitantang
A	38,33±1,53	36,67±3,21	35,33±0,58	34,33±1,53
B	38,67±0,57	41,00±1,00	33,33±1,53	37,00±1,00
C	37,33±2,52	38,00±2,65	34,00±2,00	35,67±1,53
D	36,67±1,15 ^a	39,00±2,61 ^a	34,33±1,53 ^a	36,33±1,53 ^a

Keterangan: A: 0g/kg, B: 5g/kg, C: 10g/kg, D: 15g/kg. Nilai dengan superscript yang sama pada kolom menunjukkan tidak adanya pengaruh yang nyata ($P>0.05$).



Gambar 6. Grafik Aktivitas Fagositosis Ikan Mas Perlakuan A (0 g/kg pakan), B (5 g/kg pakan), C (10 g/kg pakan) dan D (15 g/kg pakan).

Berdasarkan Tabel 7 dan Gambar 6, rata-rata aktivitas fagositosis meningkat setelah pemberian pakan uji selama 14 hari, dan cenderung menurun setelah 21 hari, kemudian meningkat kembali setelah 4 hari pasca uji tantang.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun sirsak yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas fagositosis sampai hari ke-21 dan hari ke-4 pasca infeksi *A. hydrophila*. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun sirsak (flavonoid) belum mampu meningkatkan aktivitas fagositosis, sehingga kurang merangsang sel makrofag untuk melakukan respon

fagositosis. Berdasarkan grafik aktivitas fagositosis yang diamati, terjadi peningkatan aktivitas fagositosis pada hari ke-4 pasca uji tantang, hal ini berbanding lurus dengan peningkatan total leukosit pasca infeksi *A. hydrophila*, hal ini mengindikasikan bahwa terjadinya respon imun dalam tubuh ikan yang ditandai dengan peningkatan aktivitas fagositosis terutama pada perlakuan B (37%).

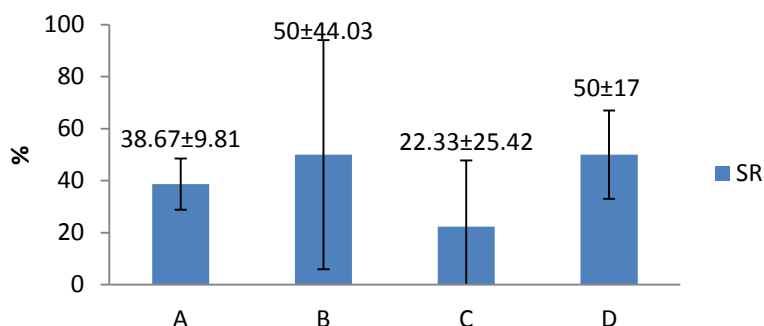
Kelulushidupan dan Pola Kematian

Hasil pengamatan kelulushidupan ikan mas yang diamati selama 4 hari pasca infeksi *A. hydrophila* tersaji pada Tabel 8 dan Gambar 7.

Tabel 8. Rata-rata Kelulushidupan Ikan Mas Pasca Uji Tantang *A. hydrophila*

Ulangan	Perlakuan (%)			
	A	B	C	D
1	50,00	67,00	50,00	67,00
2	33,00	0,00	0,00	33,00
3	33,00	83,00	17,00	50,00
Rata-rata±SD	38.67±9.81	50,00±44,03	22.33±25.42	50±17,03

Keterangan: A: 0g/kg, B: 5g/kg, C: 10g/kg, D: 15g/kg.





Gambar 7. Grafik Kelulushidupan Ikan Mas Pasca Uji tantangan Perlakuan A (0g/kg pakan), B (5 g/kg pakan), C (10 g/kg pakan) dan D (15 g/kg pakan).

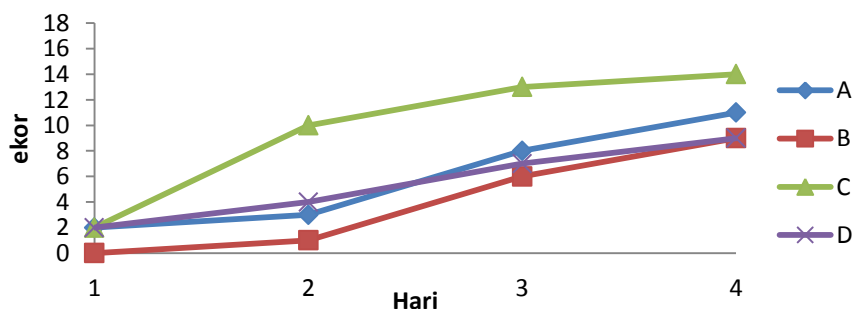
Tabel 9. Pola Kematian Ikan Mas Pasca Uji Tantang

Perlakuan	Hari ke- ... Pasca uji tantang				Total ikan mati (ekor)
	1	2	3	4	
A	2	1	5	3	11
B	0	1	5	3	9
C	2	8	3	1	14
D	2	2	3	2	9

Keterangan: A: 0g/kg, B: 5g/kg, C: 10g/kg, D: 15g/kg.

Tabel 9 menunjukkan bahwa jumlah ikan mati paling banyak terdapat pada perlakuan C (14 ekor), disusul perlakuan A (11 ekor) kemudian perlakuan D dan B masing-masing sebanyak 9 ekor. Kematian

ikan diamati setiap 24 jam. Kematian ikan pada hari ke-4 pasca uji tantang terjadi dalam selang waktu 8-9 jam pasca pengambilan sampel darah.



Gambar 8. Grafik Pola Kematian Ikan Mas Pasca Uji tantangan Perlakuan A(0g/kgpakan), B (5 g/kg pakan), C (10 g/kg pakan) dan D (15g/kg pakan).

Berdasarkan Tabel 8 dan Gambar 7, persentase kelulushidupan (SR) tertinggi terdapat pada perlakuan D (15 g/kg) dan B (5 g/kg) sebesar 50%, sedangkan kematian pada ikan mas terjadi mulai hari ke-1 sampai ke-4 pasca infeksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kematian ikan uji lebih cepat dibandingkan dengan penelitian Priminarti, (1991) dalam Rahman, (2008) yang mengemukakan bahwa kematian ikan akibat serangan *A. hydrophila* mati dalam waktu 3 – 4 hari setelah infeksi (Tabel 9 dan Gambar 8). Hal ini diduga berkaitan dengan patogenisitas *A. hydrophila* yang berbeda dan adanya kekebalan alami pada tubuh ikan uji sehingga ikan uji masih mampu mempertahankan hidupnya. Hal lain diduga adanya pengaruh dari ekstrak daun sirsak yang diberikan selama 21 hari, dimana bahan aktif yang terkandung didalamnya secara tidak langsung berpengaruh terhadap ketahanan tubuh saat terjadi serangan penyakit.

Menurut Adewole dan Caxton-Martins, (2006), *A. muricata* bersifat antibakteri terhadap sejumlah bakteri patogen, dan kaya dengan berbagai macam

senyawa tannin, lakton dan alkaloid isokunolina, sedangkan menurut penelitian Takahashi *et al.* (2006) ekstrak etanol daun *A. muricata* mengandung senyawa flavonoid yang bekerja sebagai antibakteri dan mampu mengatasi infeksi yang disebabkan bakteri. Penelitian yang dilakukan Doss *et al.* (1995) menemukan bahwa tumbuh-tumbuhan yang kaya akan tannin memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi, karena senyawa tannin diduga mampu mengganggu dinding sel bakteri sehingga koloni bakteri terdisintegrasi dan pertumbuhannya terhambat.

Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Penambahan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) dengan dosis yang berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap total leukosit akan tetapi tidak berpengaruh terhadap total eritrosit, diferensial leukosit, aktivitas fagositosis dan kelulushidupan ikan mas yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*.



2. Dosis terbaik penggunaan ekstrak daun sirsak dalam pakan yang dapat memberi pengaruh terhadap total leukosit ikan mas yang diinfeksi *A. hydrophila* adalah 5 g/kg.

Saran

Saran yang dapat diberikan adalah penggunaan ekstrak daun sirsak dalam pakan untuk merangsang ataupun meningkatkan ketahanan tubuh ikan mas terhadap serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* sebaiknya digunakan dosis 5gr/kg pakan.

Ucapan Terimakasih

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

DAFTAR PUSTAKA

- Adewole, S.O. and E.A. Caxton-Martins. 2006. Morphological Changes and Hypoglycemic Effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) Leaf Aqueous Extract on Pancreatic B-Cells of Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. *African Journal of Biomedical Research*, 9 (2006); 173 – 187.
- Anderson, D.P. and A.K. Siwicki. 1993. Basic Haematology and Serology For Fish Health Programs. Paper Presented in Second Symposium on Diseases in Asian Aquaculture, Aquatic Animal Health and the Environment, Phuket, Thailand. 25-29th October 1993. Pp.185-202.
- Blaxhall, P.C. and K.W. Daisley. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish Biol.*, 5: 577-581 p.
- Citarasu, T, A. Dhas, K Velmurugan, ST Viji, V. Kumaran, T.M. Babu, T. Selvaraj. 2011. Isolation of *Aeromonas hydrophila* from Infected Ornamental Fish Hatchery during Massive Disease Outbreak. *International Journal of Current Research* 2(1): pp 037-041.
- Doss, S.A. G.S. Tillotson, N.L. Barg and S.G. Amyes. 1995. In-vitro and In-vivo Selection of *Staphylococcus aureus* Mutants Resistant to Ciprofloxacin. *J. Antimicrob Chemother.* 35 (1): 95-102 p.
- Erika, Y. 2008. Gambaran Diferensial Leukosit Pada Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) Di Daerah Ciampea Bogor. *Jurnal Penelitian. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor*, 36 hal.
- Ikbal. 2006. Aplikasi Imunostimulan pada Pakan Ikan Kerapu Bebek *Cromileptes altivelis* yang Dipelihara Di Jaring Apung. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, Bogor, 47 hlm.
- Kabata, Z. 1985. Parasites and Diseases of Fish Cultured in the Tropics. Taylor and Francis. London and Philadelphia. 318 hlm.
- Mones, R. A. 2008. Gambaran Darah pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn) Strain Majalaya yang Berasal dari Daerah Ciampea Bogor. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor, 35 hlm.
- Moyle PB, Cech JJ. 1988. Fishes : an Introduction to Ichthyology. Prentice Hall, Inc. USA.559 p.
- Nabib R. dan FH. Pasaribu. 1989. Patologi dan Penyakit Ikan. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 158 hlm.
- Nurrahmani, L.S. 2012. Pemeriksaan Parameter Mutu Ekstrak Etanol 70% Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) dan Uji Penghambatan Enzim α -Glukosidase Secara In Vitro. Artikel Ilmiah. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta, 82 hlm.
- Prakoso, W. S. A. 2012. Gambaran Jumlah dan Hitung Jenis Sel Leukosit Darah Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn) yang Diterapi Ekstrak Daun Sambaloto (*Andrographis paniculata*) setelah Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Artikel Ilmiah. Fakultas Kedokteran Hewan Airlangga. Surabaya.
- Pleczar, MJ, E.C.S. Chan. 2009. Dasar-dasar Mikrobiologi, Jilid 2. Jakarta: Universitas Indonesia. hal 446-997.
- Purnomo, H. dan A. Utami. 2011. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Pestisida Hayati. *Jurnal Penelitian. Jurnal Of Education IKIP PGRI Semarang* 1(1): hal 45-54.
- Rahman, M. F. 2008. Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya pada Ikan Gurami yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor, 42 hlm.
- Roberts, R.J. 2001. Fish Pathology. Bailliere Tindal. London.
- Suhirman, S. dan C. Winarti. 2005. Prospek dan Fungsi Tanaman Obat sebagai



- Imunomodulator. Jurnal Ilmiah. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik dalam <http://balitro.litbanbang.go.id> (28 Januari 2013).
- Sukenda, L. Jamal, D. Wahyuningrum, dan 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., and Vyukusova, B., 1991. Diagnostic, Prevention and Therapy of Fish Disease and Intoxication dalam <http://www.fao.org/fi/website/firetriveaction.do?dom=topic&fid=16064&lang=en> (31 Januari 2013).
- Syawal, H., Syafriadiman, S. Hidayah. 2008. Pemberian Ekstrak Kayu Siwak (*Salvadora persica* L) Untuk Meningkatkan Kekebalan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) Yang Dipelihara Dalam Keramba. Biodiversitas 9(1), 44-47.
- Takahashi J.A., C.R. Pereira, L.P.S. Pimenta, M. Amelia D., Boaventura and L.G.F.E. Silva. 2006. Antibacteria Activity of Eight Brazilian Annonaceae Plants. Natural Product Research, 20(1): 21-2
- Tambunan, J. E., G. Mahasri dan K. Setiawan. 2011. Infestasi Ektoparasit *Lernaea* Sebagai Faktor Pemicu Munculnya Infeksi Bakteri *Aeromonas* pada Benih Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). Jurnal penelitian. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. Surabaya. 2011. 15 hlm.
- Vonti, O. 2008. Gambaran Darah Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn) Strain Sinyonya Yang Berasal dari Daerah Ciampea-Bogor. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor, 60 hlm.
- Zonneveld, N. E., A. Huisman, dan J.H. Boon. 1991. Prinsip-prinsip Budidaya Ikan. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 381 hlm.
- Zuhud A.M. 2011. Bukti Kedahsyatan Sirsak Menumpas Kanker. Agro Media.Jakarta. hal 46-75