



**PENGARUH PENAMBAHAN SERBUK LIDAH BUAYA (*Aloe vera*) DALAM PAKAN TERHADAP KELULUSHIDUPAN DAN PROFIL DARAH IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI "*Aeromonas hydrophila*"**

*The Effect of Aloe vera Powder on Food toward Survival rate and Blood Profile of Cyprinus carpio Infected by "Aeromonas hydrophila"*

**Chyntia Arindita, Sarjito<sup>\*)</sup>, Slamet Budi Prayitno**

Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah-50275, Telp/Fax. +6224 7474698

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh penambahan serbuk lidah buaya (*Aloe vera*) dalam pakan terhadap kelulushidupan dan profil darah ikan mas pasca infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* serta mengetahui penambahan dosis serbuk lidah buaya yang terbaik. Ikan uji yang digunakan adalah ikan mas (*Cyprinus carpio*) berukuran  $8,55 \pm 0,71$  cm dan bobot  $10,18 \pm 2,24$  g. Metode penelitian ini adalah eksperimen dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan yaitu perlakuan A (0 g/kg pakan), B (30 g/kg pakan), C (60 g/kg pakan) dan D (90 g/kg pakan). Pemberian pakan selama 14 hari sebelum ujiantang. Ujiantang dilakukan dengan menyuntikkan suspensi *A. hydrophila* dengan dosis  $10^7$  sel/mm<sup>3</sup> sebanyak 0,1 mL secara *intramuscular*. Pengamatan dilakukan selama 10 hari pasca infeksi *A. hydrophila*, pengamatan tersebut meliputi gejala klinis, kelulushidupan dan profil darah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gejala klinis ikan pasca infeksi diantaranya berenang tidak normal (lamban atau vertikal), respon makan menurun, produksi lendir berlebih, peradangan, timbul *ulcer*, sirip punggung geripis, sisik lepas, daging rusak. Total eritrosit hari ke-4 pasca infeksi mengalami penurunan disemua perlakuan. Total leukosit ikan mas pada hari ke-1 pasca infeksi semakin meningkat. Kadar hematokrit pasca infeksi pada perlakuan B, C dan D lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan A. Kesimpulan yang diperoleh adalah penambahan serbuk lidah buaya memberikan pengaruh sangat nyata terhadap kelulushidupan ikan mas pasca infeksi bakteri, penambahan serbuk lidah buaya dalam pakan dapat meningkatkan nilai total leukosit, eritrosit dan hematokrit lebih banyak dibandingkan dengan ikan yang tidak diberi pakan dengan tambahan serbuk lidah buaya dan dosis serbuk lidah buaya 30 g/kg pakan merupakan dosis terbaik.

**Kata kunci:** Lidah buaya; Ikan mas; *Aeromonas hydrophila*; Profil darah; Kelulushidupan

**ABSTRACT**

*The aims of this research was to determine the effect of Aloe vera powder in the feed to againts survival rate and blood profile of carp that infected by Aeromonas hydrophila and to know the addition of A. vera powder dose is best. The fish samples used were carp (C. carpio) with  $8.55 \pm 0.71$  cm lenght and the average weight are  $10.18 \pm 2.24$  g. The method in this research was experimental with 4 treatments and 3 replications. The treatment were A (0 g/kg of feed), B (30 g/kg of feed), C (60 g/kg of feed) and D (90 g/kg feed) and feeds for 14 days. Challenge test was done by injecting a suspension of A.hydrophila at a dose of  $10^7$  cells/mm<sup>3</sup> as much as 0.1 mL intramuscularly. The observations were done at 10th days post-infection by A. hydrophila, these observations clinical symptoms, survival and include blood profile. The results showed clinical sign experienced after infected that fishes were swimming in a slant condition (whirling), decreased feed response, inflammation, ulcers arise, necrosis, and scales loose. The results showed that the total erythrocytes at 4th days decrease in all treatments. Total leukocyte carp at the 1st day increased. Total hematocrit in treatment, B, C and D post-infection were higher than treatment A. The conclusion of this research highly significant effect ( $P > 0.05$ ) to survival rate carp infected by A. hydrophila and A. vera powder addition in feed able to increase the total erythrocytes, leukoist and total value compared with more hematokrit fish not given feed with the addition of A. vera powder and were dose of A. vera powder 30 g/kg feed gave a better survival rate of carp infected by bacteria A. hydrophila.*

**Keyword:** *Aloe vera*, *Cyprinus carpio*, *Aeromonas hydrophila*, Blood profile, Survival rate

<sup>\*)</sup>corresponding author (Email: sarjito\_msdp@yahoo.com)



## PENDAHULUAN

Ikan mas (*Cyprinus carpio*) mempunyai sifat unggul diantaranya, mudah dalam pemeliharaan, pertumbuhannya cepat dan mempunyai nilai ekonomis penting, sehingga banyak dibudidayakan. Provinsi Jawa Tengah sasaran produksi ikan mas tahun 2013 sebesar 8.707 ton dan tahun 2014 meningkat menjadi 10.377 ton (Kementerian Perikanan dan Kelautan, 2013). Meningkatnya permintaan ikan mas mendorong pembudidaya ikan untuk meningkatkan sistem budidaya kearah intensif. Namun dalam sistem budidaya tersebut mengalami permasalahan salah satunya penyakit. Penyakit yang sering menyerang ikan mas adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* (Maryani dan Rosita 2006). Bakteri tersebut bersifat patogen dan mampu menurunkan tingkat pertumbuhan, mematikan ikan sampai dengan 80%–100% dalam waktu 1-2 minggu (Cipriano, 2001). Tindakan pencegahan dan pengobatan merupakan cara yang dapat dilakukan untuk menanggulangi serangan penyakit bakteri *A. hydrophila*. Upaya pencegahan dan pengobatan adalah pemberian antibiotik, penambahan vitamin dan pemberian probiotik. Penggunaan antibiotik ini dalam waktu yang relatif lama dapat menimbulkan dampak negatif yaitu munculnya bakteri yang resisten dan dapat mencemari lingkungan (Yuhana *et al.*, 2008).

Untuk itu diperlukan upaya pencegahan terhadap serangan bakteri *A. hydrophila* dengan menggunakan bahan herbal. Salah satu bahan herbal yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan tidak menimbulkan residu pada ikan adalah lidah buaya (*Aloe vera*). Menurut Jatnika dan Saptorningsih (2009), lidah buaya mampu menstimulasi kekebalan tubuh. Hal ini dikarenakan lidah buaya mengandung senyawa aktif flavonoid yang mampu mengaktifkan sel imun (Wahyuningrum *et al.*, 2013). Lidah buaya juga mengandung saponin berfungsi sebagai antiseptik selain itu senyawa quinon pada lidah buaya digunakan sebagai antibakteri. Senyawa alkaloid dalam lidah buaya mampu meningkatkan daya tahan tubuh (Gusviputri *et al.*, 2012). Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai penggunaan serbuk lidah buaya (*Aloe vera*) yang dapat ditambahkan kedalam pakan dalam upaya pencegahan serangan bakteri *A. hydrophila* pada ikan mas.

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2013 sampai dengan Februari 2014 di Laboratorium Budidaya Perairan Jurusan Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro, Semarang.

## MATERI DAN METODE

Ikan uji yang digunakan adalah ikan mas (*C. carpio*) dengan ukuran panjang  $8,55 \pm 0,71$  cm dan bobot  $10,18 \pm 2,24$  g sebanyak 120 ekor. Ikan mas dipelihara dalam 12 akuarium dengan kepadatan 10 ekor/akuarium. Ikan mas dipelihara dalam akuarium berukuran  $40 \times 30 \times 40$  cm<sup>3</sup>. Bakteri uji yang digunakan adalah isolat murni *A. hydrophila* berasal dari hasil koleksi penelitian Sarjito *et al* (2013). Bakteri tersebut ditingkatkan keganasannya dengan melakukan pasase sebanyak 2 kali.

Lidah buaya (*A. vera*) diperoleh di Kecamatan Gayamsari, Semarang. Serbuk lidah buaya dibuat sesuai dengan metode Sari *et al* (2012), lidah buaya dicuci bersih, kemudian diiris tipis-tipis selanjutnya dijemur dibawah sinar matahari selama 1 – 3 hari sampai kering. Lidah buaya yang sudah kering dibuat serbuk dengan cara dihaluskan dengan menggunakan blender, kemudian diayak hingga mendapatkan bubuk yang halus. Uji fitokimia lidah buaya dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro, Semarang. Uji *in vitro* dilakukan untuk mengetahui penentuan dosis serbuk lidah buaya yang nantinya digunakan dalam uji *in vivo*. Uji ini dilakukan dengan metode cakram. Berdasarkan uji *in vitro*, diperoleh bahwa dosis perlakuan sebesar 0 ppt (0 g atau tanpa serbuk lidah buaya), 30 ppt (30 g/kg pakan), 60 ppt (60 g/kg pakan) dan 90 ppt (90 g/kg pakan). Ikan mas diberi pakan komersil berbentuk pelet yang ditambah serbuk lidah buaya. Metode pemberian pakan mengacu pada Wahyuningrum *et al* (2013), pakan tersebut diberikan secara *at satiation* dengan frekuensi pemberian pakan sebanyak 3 kali sehari yaitu pukul 09.00, 13.00 dan 17.00 WIB.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu dengan penambahan serbuk lidah buaya ke dalam pakan dengan dosis yang berbeda. Perlakuan A (0 g/kg pakan), perlakuan B (30 g/kg pakan), perlakuan C (60 g/kg pakan) dan perlakuan D (90 g/kg pakan). Metode penambahan serbuk lidah buaya ini mengacu pada Febriani *et al* (2013). Serbuk lidah buaya dicampurkan ke dalam pakan komersil berbentuk pelet lalu dilapisi (*coating*) menggunakan putih telur lalu pakan di keringanginkan pada suhu ruang. Pakan yang telah siap dimasukkan dalam wadah plastik dan disimpan dalam lemari pendingin hingga siap untuk digunakan.

Pakan diberikan selama 14 hari sebelum diuji tantang dengan menginjeksikan bakteri *A. hydrophila*. Kepadatan bakteri yang digunakan untuk uji tantang ikan mas adalah  $10^7$  CFU/mL sebanyak 0,1 di bagian *intramuscular*. Perhitungan konsentrasi bakteri dilakukan dengan mencocokkan kekeruhan larutan PBS yang tercampur bakteri dengan standar McFarland. Ikan mas dipelihara selama 10 hari pasca infeksi bakteri *A. hydrophila*. Parameter yang diamati pasca uji tantang yaitu gejala klinis, kelulushidupan, profil darah (total eritrosit, total leukosit dan kadar hematokrit). Pengambilan darah ikan mas dilakukan sebelum dan setelah



infeksi bakteri *A. hydrophila* yaitu hari ke-7 dan ke-14 setelah aplikasi pakan uji dan hari ke- 1, 4 dan 7 pasca infeksi.

Metode perhitungan jumlah eritrosit dan leukosit mengacu pada metode Blaxhall dan Daisley (1973). Jumlah total eritrosit dirumuskan dengan jumlah eritrosit = jumlah eritrosit terhitung x 10<sup>4</sup> sel/mm<sup>3</sup>. Total leukosit dirumuskan dengan jumlah leukosit = jumlah sel leukosit terhitung x 50 sel/mm<sup>3</sup>. Perhitungan kadar hematokrit mengacu pada Anderson dan Swicki(1993). Menurut Effendi (2002), perhitungan kelulushidupan ikan mas pasca diinfeksi *A. hydrophila* dihitung dengan menggunakan rumus :

$$SR = \frac{Nt}{No} \times 100\%$$

Keterangan: SR : Tingkat kelangsungan hidup (%)

Nt : Jumlah ikan yang hidup pada akhir pengamatan (ekor)

No : Jumlah ikan yang hidup pada ujiantang (ekor)

## HASIL

Hasil yang diperoleh dari uji *in vitro* terhadap serbuk lidah buaya yaitu serbuk lidah buaya mempunyai aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram yang telah disebar dengan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10<sup>8</sup> CFU/ml . Diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing dosis serbuk lidah buaya terhadap bakteri *A. hydrophila* tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat Serbuk Lidah Buaya Terhadap Bakteri *A. hydrophila*

Dosis Serbuk Lidah Buaya	Zona hambat (mm)
A (0 ppt) atau 0 g/kg pakan	0
B (30 ppt) atau 30 g/kg pakan	12,30
C (60 ppt) atau 60 g/kg pakan	11,70
D (90 ppt) atau 90 g/kg pakan	11,10
E (3ppt) atau 3 g/kg pakan	9,10
F (10 ppt) atau 10 g/kg pakan	7,05
G (20 ppt) atau 20 g/kg pakan	7,00

Hasil pengamatan perubahan tingkah laku dan morfologi ikan mas pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Tabel 2. Perubahan morfologi tersaji pada Tabel 3 dan Gambar 1.

Tabel 2. Perubahan Tingkah Laku Ikan Mas Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Hari Ke-	Perlakuan A 0 g/kg pakan			Perlakuan B 30 g/kg pakan			Perlakuan C 60 g/kg pakan			Perlakuan D 90 g/kg pakan		
	Ulangan			Ulangan			Ulangan			Ulangan		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Aplikasi pakan dengan penambahan serbuk lidah buaya												
1-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8-14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Infeksi <i>A. hydrophila</i>												
0												
1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
3	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++
4	+++	+++	+++	++	+++	++	++	++	++	++	++	+
5	++	+++	++	++	++	+	+	++	+	+	+	+
6	++	+++	++	+	++	+	+	+	+	-	-	-
7	(-)	(-)	++	-	+	-	-	+	-	-	-	-
8	(-)	(-)	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	(-)	(-)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	(-)	(-)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

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

Perubahan tingkah laku ikan mas pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* secara umum terjadi pada hari ke-1 hal ini terjadi pada semua perlakuan. Perubahan tingkah laku yang dialami yaitu penurunan terhadap respon



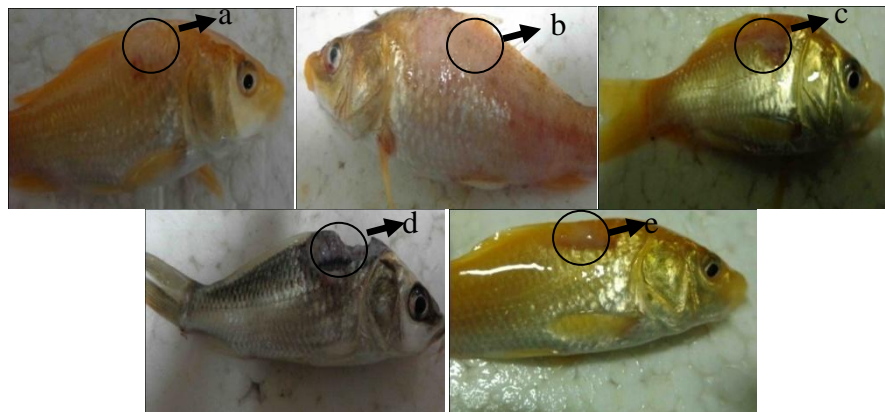
makan dan berenang tidak normal (berenang lamban atau secara vertikal). Perubahan tersebut terjadi sampai hari ke 4 yang dialami oleh perlakuan A dan B sedangkan perlakuan C dan D terjadi sampai hari ke-2. Hari ke-3 sampai ke-4 pada perlakuan C dan D ikan berenang tidak normal. Hari ke-5 sampai ke-6 mulai terjadi perubahan tingkah laku yaitu ikan berenang aktif namun nafsu makan menurun terjadi pada perlakuan B, C dan D. Hari ke-7 sampai hari ke-10 pada perlakuan B, C dan D ikan sudah mulai aktif berenang dan respon makan normal.

Tabel 3. Perubahan Morfologi Ikan Mas Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Hari Ke-	Perlakuan A 0 g/kg pakan			Perlakuan B 30 g/kg pakan			Perlakuan C 60 g/kg pakan			Perlakuan D 90 g/kg pakan		
	Ulangan			Ulangan			Ulangan			Ulangan		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Aplikasi pakan dengan penambahan serbuk lidah buaya												
1-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8-14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0	Infeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>											
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
3	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
4	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
5	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	++	++
6	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	++	++
7	(-)	(-)	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	++	++
8	(-)	(-)	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	++	++
9	(-)	(-)	+++	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
10	(-)	(-)	+++	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

Keterangan:

- = Tidak terdapat luka di bagian tubuh
- + = Produksi lendir berlebih dan muncul peradangan
- ++ = Sirip punggung geripis dan sisik lepas serta timbul *ulcer*
- +++ = *Ulcer* semakin membesar hingga daging rusak
- (+) = Daging yang terluka mulai tertutupi oleh jaringan-jaringan baru di area bekas suntikan.
- (-) = Ikan mati



Gambar 1. Perubahan Morfologi Ikan Mas Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Keterangan : a. Produksi lendir berlebih dan peradangan pada bekas suntikan, b. Sirip punggung geripis dan sisik lepas, c. *Ulcer*, d. *Ulcer* membesar hingga daging rusak, e. Daging yang terluka mulai tertutupi oleh jaringan-jaringan baru di area bekas suntikan.

Perubahan tingkah laku yang dialami ikan uji pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* yaitu produksi lendir berlebih dan muncul peradangan (Gambar 1a), sirip punggung geripis dan sisik lepas (Gambar 1b), timbulnya *ulcer* (Gambar 1c) hingga daging rusak (gambar 1d). Ikan mas juga mengalami pemulihan yaitu daging yang terluka mulai tertutupi oleh jaringan-jaringan baru di area bekas suntikan (Gambar 1e).

Hasil kelulushidupan ikan mas pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* tersaji pada Tabel 4.



Tabel 4. Kelulushidupan Ikan Mas Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Perlakuan	Kelulushidupan (%)			Rerata(%)
	Ulangan			
	1	2	3	
A	0,00	0,00	18,43	6,14±10,64
B	63,43	50,77	90,00	68,07±20,02
C	90,00	56,79	90,00	78,93±19,17
D	90,00	90,00	71,56	83,85±10,65

Keterangan: Pakan dengan penambahan serbuk lidah buaya perlakuan A (0 g/kg pakan); B (30 g/kg pakan) C (60 g/kg pakan) dan D (90 g/kg pakan).

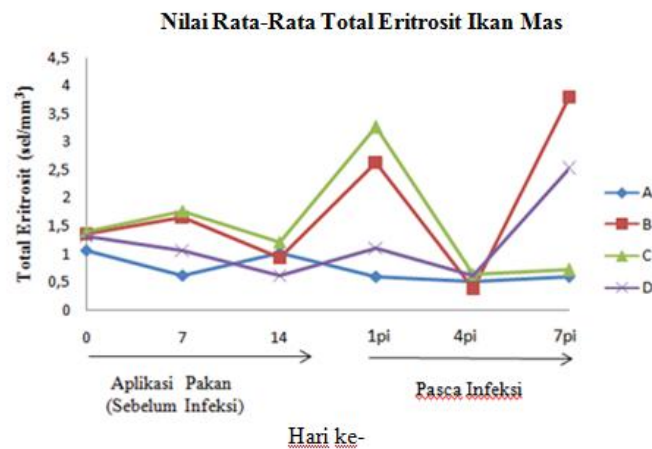
Berdasarkan Tabel 4, diperoleh bahwa kelulushidupan tertinggi hingga terendah diperoleh pada perlakuan D yaitu sebanyak 83,85%, kemudian perlakuan C sebesar 78,93%, perlakuan B sebesar 68,07% dan terendah diperoleh perlakuan A yaitu 6,14%.

Hasil penelitian diperoleh jumlah total eritrosit ikan mas saat aplikasi pakan (sebelum infeksi) dan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* tersaji pada Tabel 5 dan Gambar 2.

Tabel 5. Nilai Rata-Rata Total Eritrosit ( $\times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>) Ikan Mas

Perlakuan	Aplikasi Pakan (Sebelum Infeksi)			Pasca Infeksi		
	Hari ke-					
	0	7	14	1	4	7
A	1,06±0,13	0,61±0,14	1,01±0,80	0,59±0,59	0,50±0,54	0,60±1,05
B	1,36±0,06	1,65±0,77	0,93±0,23	2,63±1,46	0,38±0,20	3,81±1,54
C	1,40±0,04	1,76±2,71	1,21±0,81	3,26±0,48	0,64±0,19	0,71±0,09
D	1,32±0,03	1,06±0,93	0,61±0,08	1,10±0,44	0,61±0,31	2,52±1,71

Keterangan: Pakan dengan penambahan serbuk lidah buaya perlakuan A (0 g/kg pakan); B (30 g/kg pakan) C (60 g/kg pakan) dan D (90 g/kg pakan).



Gambar 2. Grafik Nilia Rata-Rata Total Eritrosit Ikan Mas

Keterangan: A (0 g/kg pakan), B (30 g/kg pakan), C (60 g/kg pakan) dan D (90 g/kg pakan), pi (pasca infeksi)

Berdasarkan Tabel 5 dan Gambar 2, memperlihatkan bahwa pada hari ke-0 nilai rata-rata total eritrosit berkisar antara  $1,06 \times 10^6$  –  $1,40 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>. Hari ke-7 setelah diberi pakan dengan tambahan serbuk lidah buaya nilai eritrosit meningkat pada perlakuan B dan C, sedangkan perlakuan A dan D terjadi penurunan. Total eritrosit hari ke-14 setelah pemberian pakan uji cenderung mengalami penurunan pada perlakuan B, C dan D yaitu berkisar antara  $0,61 \times 10^6$  –  $1,21 \times 10^6$ . Hari ke-1 pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* perlakuan B, C dan D cenderung mengalami peningkatan berkisar antara  $1,10 \times 10^6$  –  $3,26 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup> tetapi perlakuan A mengalami penurunan menjadi  $0,59 \times 10^6$ . Hari ke-4 pasca infeksi pada perlakuan A, B, C dan D mengalami penurunan. Hari ke-7 pasca infeksi terjadi peningkatan nilai total eritrosit pada semua perlakuan.

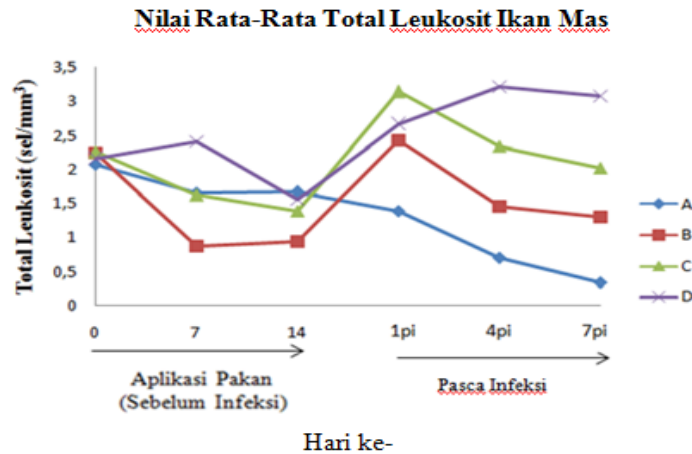
Hasil penelitian diperoleh jumlah total leukosit ikan mas saat aplikasi pakan (sebelum infeksi) dan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* tersaji pada Tabel 6 dan Gambar 3.



Tabel 6. Nilai Rata-Rata Total Leukosit ( $\times 10^4 \text{ sel/mm}^3$ ) Ikan Mas

Perlakuan	Aplikasi Pakan (Sebelum Infeksi)			Pasca Infeksi		
	Hari ke-					
	0	7	14	1	4	7
A	2,07±0,02	1,66±0,30	1,67±0,32	1,39±0,37	0,71±0,20	0,34±0,58
B	2,24±0,02	0,88±0,38	0,94±0,08	2,43±0,60	1,46±0,34	1,30±0,21
C	2,25±0,02	1,62±0,69	1,39±0,19	3,14±1,16	2,34±0,44	2,02±0,88
D	2,15±0,04	2,24±0,30	1,56±0,08	2,66±0,32	3,22±0,52	3,08±0,06

Keterangan: Pakan dengan penambahan serbuk lidah buaya perlakuan A (0 g/kg pakan); B (30 g/kg pakan) C (60 g/kg pakan) dan D (90 g/kg pakan).



Gambar 3. Grafik Nilai Rata-Rata Total Leukosit Ikan Mas

Keterangan: A (0 g/kg pakan), B (30 g/kg pakan), C (60 g/kg pakan) dan D (90 g/kg pakan), pi (pasca infeksi)

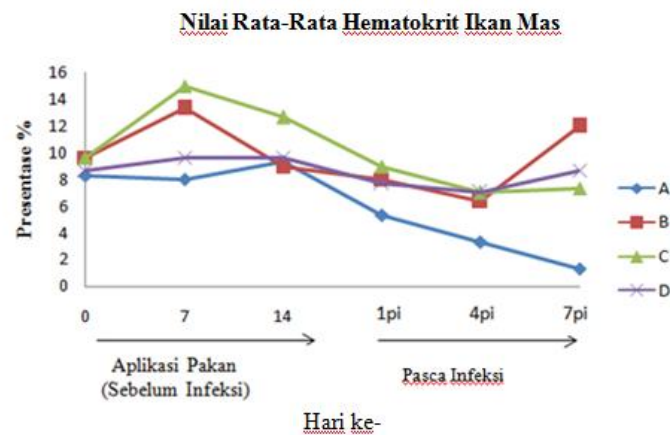
Berdasarkan Tabel 6 dan Gambar 3, menunjukkan bahwa pada hari ke-0 nilai rata-rata total leukosit berkisar antara  $2,07 \times 10^4 - 2,25 \times 10^4 \text{ sel/mm}^3$ . Hari ke-7 setelah diberi pakan dengan tambahan serbuk lidah buaya nilai total leukosit cenderung rendah pada A, B dan C, sedangkan perlakuan D mempunyai nilai tertinggi yaitu  $2,24 \times 10^4 \text{ sel/mm}^3$ . Hari ke-14 nilai leukosit perlakuan B, C dan D cenderung mengalami penurunan. Hari ke-1 pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* nilai leukosit pada perlakuan B, C dan D cenderung meningkat, sedangkan perlakuan A menurun. Nilai tertinggi diperoleh pada perlakuan C sebesar  $3,14 \times 10^4 \text{ sel/mm}^3$ . Hari ke-4 pasca infeksi cenderung mengalami penurunan, hal ini terjadi pada perlakuan A, B dan C, sedangkan perlakuan D mengalami peningkatan. Hari ke-7 pasca infeksi nilai leukosit semua perlakuan mengalami penurunan dari hari sebelumnya.

Hasil penelitian diperoleh pula kadar hematokrit ikan mas saat aplikasi pakan (sebelum infeksi) dan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* tersaji pada Tabel 7 dan Gambar 4.

Tabel 7. Nilai Rata-Rata Kadar Hematokrit (%) Ikan Mas

Perlakuan	Aplikasi Pakan (Sebelum Infeksi)			Pasca Infeksi		
	Hari ke-					
	0	7	14	1	4	7
A	8,33±0,58	8,00±2,00	9,33±2,08	5,33±0,58	3,33±1,53	1,33±2,31
B	9,67±0,58	13,33±4,16	9,00±1,00	8,00±2,00	6,33±1,53	12,00±5,29
C	9,67±0,58	15,00±3,46	12,67±5,03	9,00±1,00	7,00±1,00	7,33±3,06
D	8,67±0,58	9,67±2,08	9,67±1,53	7,67±2,89	7,00±2,00	8,67±4,73

Keterangan: Pakan dengan penambahan serbuk lidah buaya Perlakuan A (0 g/kg pakan); B (30 g/kg pakan) C (60 g/kg pakan) dan D (90 g/kg pakan).



Gambar 4. Grafik Nilai Rata-Rata Kadar Hematokrit Ikan Mas

Keterangan: A (0 g/kg pakan), B (30 g/kg pakan), C (60 g/kg pakan) dan D (90 g/kg pakan), pi (pasca infeksi)

Berdasarkan Tabel 7 dan Gambar 4, diperoleh bahwa pada hari ke-0 nilai hematokrit berkisar antara 8,3 – 9,67% . Hari ke-7 setelah pemberian pakan yang ditambah serbuk lidah buaya diperoleh nilai hematokrit mengalami peningkatan pada perlakuan B, C dan D. Hari ke-14 memperoleh hasil nilai hematokrit mengalami penurunan pada perlakuan B dan C. Hari ke-1 pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* semua perlakuan cenderung mengalami penurunan dan kembali meningkat pada hari ke-7 pasca infeksi.

## PEMBAHASAN

Uji *in vitro* yang dihasilkan dari serbuk lidah buaya menunjukkan bahwa serbuk lidah buaya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Hasil dari zona hambat yang terbentuk bahwa dosis serbuk lidah buaya yang berbeda menunjukkan zona hambat yang bervariasi. Menurut Ariyanti *et al* (2012), hal ini terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar serta jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda juga memberikan zona hambat yang berbeda. Berdasarkan hasil zona hambat tersebut diketahui kemampuan serbuk lidah buaya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* tergolong kuat pada dosis 30 ppt, 60 ppt dan 90 ppt. Hal ini dikarenakan pada dosis tersebut zona hambat yang terbentuk berdiameter lebih dari 10 mm. Sedangkan pada dosis 3 ppt, 10 ppt dan 20 ppt menunjukkan bahwa kemampuan serbuk lidah buaya dalam menghambat pertumbuhan bakteri tergolong sedang. Menurut Rahayu (2006), daerah hambatan dengan nilai > 20 mm sangat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Daerah hambatan 10 mm-20 mm tergolong kuat dan daerah hambatan 5-10 mm tergolong sedang serta dibawah 5 mm tergolong lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Gejala klinis yang dialami ikan mas pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* yaitu terjadi perubahan tingkah laku dan morfologi. Perubahan tingkah laku pasca infeksi *A. hydrophila* pada hari pertama ikan mengalami penurunan respon makan dan berenang lamban. Hal ini terjadi pada semua perlakuan. Menurut Kabata (1985), ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* akan memperlihatkan perubahan tingkah laku seperti cara berenang tidak normal (lamban dan vertikal) dan nafsu makan menurun. Ikan berenang lamban diduga karena mengalami stres pasca infeksi. Lestari (2006), bahwa bakteri *A. hydrophila* yang menyerang ikan mampu mengganggu keseimbangan berenang sehingga ikan tersebut menjadi abnormalitas dalam berenang seperti ikan berenang lamban atau vertikal. Penurunan respon makan ikan menurun, hal ini dikarenakan adanya proses metabolisme tubuh yang terganggu. Menurut Irianto (2005), hati adalah salah satu organ target bakteri *A. hydrophila* dimana hati merupakan pusat metabolisme tubuh, sehingga saat hati terganggu akibat toksik patogen maka dapat mempengaruhi proses metabolisme tubuh. Selain perubahan tingkah laku diikuti pula oleh berubahnya morfologi ikan mas pasca infeksi. Perubahan tersebut adalah ikan memproduksi lendir yang berlebih, peradangan, sirip punggung geripis dan sisik terkelupas, timbul *ulcer* dan terjadi kerusakan daging. Menurut Wahjuningrum *et al* (2010), gejala klinis yang ditimbulkan pasca infeksi yaitu adanya peradangan pada bekas suntikan, hemoragi hingga berkembang menjadi tukak. Timbulnya gejala klinis berupa perubahan morfologi ini terjadi pada semua perlakuan baik A, B, C dan D. Hari ke-1 sudah nampak adanya gejala klinis yaitu produksi lendir yang berlebih sampai muncul peradangan. Peradangan yang terjadi dikarenakan adanya toksin yang keluar dari bakteri tersebut. Hal ini disebabkan oleh adanya enzim yang dihasilkan oleh *A. hydrophila* seperti enzim hemolisin. Menurut Wahjuningrum *et al* (2010), bakteri *A. hydrophila* mendegradasi jaringan organ tubuh serta mengeluarkan toksin berupa hemolisin yang disebarkan keseluruh tubuh melalui aliran darah sehingga menimbulkan peradangan. Hari ke-2 peradangan berkembang menjadi *ulcer*, hingga sisik terlepas dan sirip



punggung geripis. Hari ke-5 *ulcer* mulai membesar hingga mengakibatkan daging rusak. Hal tersebut terjadi pada perlakuan A, B dan C. *Ulcer* yang terbentuk karena aktivitas proteolitik dari bakteri, dimana keadaan kemungkinan adanya substansi produk ekstraseluler bakteri seperti protease dan sitokin yang menghidrolisis dan melisiskan jaringan inang (Lukistyowati dan Kurniasih, 2011). Proses pemulihan tingkah laku mulai terjadi pada hari ke-7 pasca infeksi dan pemulihan morfologi mulai terjadi pada hari ke-9 pasca infeksi. Tingkah laku ikan kembali normal (respon makan normal dan ikan berenang aktif), sedangkan pemulihan morfologi ditandai dengan adanya daging ikan mulai tertutupi jaringan-jaringan baru. Pemulihan tersebut terjadi pada perlakuan B,C dan D sedangkan perlakuan A belum mengalami pemulihan. Hal tersebut diduga adanya pengaruh penambahan serbuk lidah buaya didalam pakan. Haryani *et al* (2012) kandungan flavonoid dapat mengurangi peradangan dan meningkatkan sistem imun ikan. Selain mengandung flavonoid didalam lidah buaya juga terkandung protein yang berperan dalam membentuk dan memperbaiki jaringan. Hal ini juga dilaporkan oleh Morsy (1991), kadar protein dalam lidah buaya secara kualitatif kaya akan asam-asam amino esensial yang berperan dalam pembentukan jaringan baru dan memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak.

Berdasarkan Tabel 4, nilai kelulushidupan tertinggi diperoleh pada perlakuan D diikuti perlakuan C dan B serta kelulushidupan terendah pada perlakuan A. Perlakuan A memperoleh nilai terendah dikarenakan selama pemberian pakan 14 hari, pakan yang diberikan tidak ditambah serbuk lidah buaya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hastuti (2010), bahwa lidah buaya memiliki kemampuan untuk meningkatkan daya tahan tubuh ikan. Dari hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa serbuk lidah buaya memiliki kandungan senyawa aktif alkaloid, saponin, quinon, fenolik, steroid dan flavonoid. Senyawa alkaloid memiliki kemampuan untuk meningkatkan daya tahan tubuh dan mengaktifkan sel-sel dalam tubuh dan memperbaiki struktur sel (Haryani *et al.*, 2012). Sedangkan senyawa flavonoid yang terkandung dalam serbuk lidah buaya mampu mengaktifkan sel imun pada ikan (Wahjuningrum *et al.*, 2013).

Nilai total eritrosit pada hari ke-0 hingga 7 hari setelah aplikasi pakan uji nilai eritrosit ikan mas pada semua perlakuan masih pada kondisi normal. Menurut Moyle dan Cech (2004), ikan teleostei saat kondisi normal sel eritrosit berkisar antara  $1,05 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup> sampai  $3,0 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>. Setelah 14 hari pemberian pakan uji nilai total eritrosit perlakuan B, C dan D cenderung mengalami penurunan. Penurunan total eritrosit ini diduga ikan mengalami anemia. Menurut Wedemeyer and Yasutake (1997), bahwa total eritrosit yang rendah mengindikasikan bahwa ikan mengalami anemia. Hari ke-1 pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* pada perlakuan B, C dan D menunjukkan total eritrosit yang meningkat dibandingkan dengan nilai total eritrosit sebelum infeksi. Hari ke-4 pasca infeksi mengalami penurunan pada semua perlakuan hal ini diakibatkan adanya eksotoksin dan endotoksin yang mengakibatkan peradangan atau pendarahan sehingga jumlah sel darah merah menurun (Syamsir, 2008). Hari ke-7 pasca infeksi mengalami peningkatan total eritrosit pada perlakuan B, C dan D sedangkan perlakuan A masih menurun. Peningkatan nilai total eritrosit diduga adanya pengaruh penambahan pakan yang sudah ditambah serbuk lidah buaya selama pemberian pakan 14 hari, sehingga mampu meningkatkan nilai total eritrosit.

Pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* pada hari ke-1 nilai total leukosit pada perlakuan B, C dan D mengalami peningkatan dari hari sebelumnya (sebelum infeksi bakteri). Meningkatnya total leukosit ikan mas pasca infeksi *A. hydrophila* menunjukkan adanya perlawanan tubuh terhadap zat asing penyebab penyakit yaitu infeksi *A. hydrophila* pada tubuh ikan mengakibatkan terjadinya respon imun yang ditandai dengan meningkatnya total leukosit. Meningkatnya total leukosit pada ikan merupakan respon pertahanan tubuh ikan terhadap antigen (Nurjannah *et al.*, 2013). Hari ke-4 pasca infeksi perlakuan D mendapatkan nilai total leukosit tertinggi dibandingkan dengan perlakuan A, B, dan C. Peningkatan jumlah total leukosit ini dikarenakan adanya respon perlawanan tubuh terhadap zat asing penyebab penyakit, yaitu infeksi bakteri *A. hydrophila*. Meningkatkannya total leukosit ini dikarenakan adanya serbuk lidah buaya yang dicampurkan kedalam pakan, berfungsi sebagai imunostimulan bagi tubuh ikan. Senyawa flavonoid mampu meningkatkan sistem kerja imun pada tubuh ikan. Senyawa alkaloid pada lidah buaya mampu meningkatkan daya tahan tubuh ikan (Wahjuningrum *et al.*, 2013; Haryani *et al.*, 2012). Hari ke-7 pasca infeksi memperoleh hasil bahwa pada semua perlakuan mengalami penurunan nilai total leukosit dari hari ke-4. Penurunan yang terjadi disebabkan oleh sel darah putih (leukosit) yang ada pada pembuluh darah menurun karena sebagian besar leukosit bergerak menuju jaringan-jaringan yang terinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila*. Sesuai dengan pendapat Nuryati *et al* (2010), yang menyatakan bahwa terjadinya penurunan total leukosit pasca infeksi disebabkan karena sel ini aktif dan keluar dari pembuluh darah menuju jaringan yang terinfeksi. Hal ini merupakan respon ikan dalam upaya mengenal dan mengingat kembali jenis patogen yang masuk didalam tubuh ikan. Menurunnya total leukosit pasca infeksi hari ke-7 karena respon yang diberikan mampu menstabilkan kembali tubuh ikan sehingga ikan dapat beradaptasi. Saat itulah sistem kekebalan tubuh mampu mengatasi adanya serangan infeksi bakteri dari sistem pertahanan tubuh yang sudah mulai aktif bekerja.





Kadar hematokrit hari ke-0 pada perlakuan A, B C, dan D antara 8,33%-9,67%. Nilai tersebut masih dalam kisaran rendah. Moyle dan Cech (2004), menyatakan bahwa nilai hematokrit *C. carpio* adalah 27,1%. Nilai hematokrit dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain eritrosit (jumlah, ukuran, bentuk, perbandingan antikoagulan dengan darah, tempat penyimpanan dan homogenitas), lingkungan, jenis kelamin, spesies dan umur ikan ketika dilakukan pengambilan darah (Suhermanto *et al.*, 2013). Setelah hari ke-7 pemberian pakan uji perlakuan B, C dan D menunjukkan peningkatan dari hari ke-0 sebelum diberi pakan dengan tambahan serbuk lidah buaya. Hal ini sejalan dengan pendapat (Kamaludin, 2011), peningkatan nilai hematokrit pada pakan ikan yang ditambah dengan serbuk lidah buaya sebagai (*immunogenic*) tidak berdampak negatif pada kondisi ikan. Hari ke-1 dan hari ke-4 pasca infeksi terjadi penurunan nilai hematokrit pada semua perlakuan. Hal ini diduga kondisi ikan awal dan penanganan saat pengambilan darah yang menyebabkan stres pada ikan. Penurunan nilai hematokrit juga dapat disebabkan karena adanya serangan bakteri *A. hydrophila* sehingga mengakibatkan ikan tersebut mengalami stres. Menurut Hastuti (2007) menyatakan bahwa rendahnya hematokrit menunjukkan terjadinya kontaminasi akibat serangan bakteri atau terjadinya infeksi, penanganan saat pengambilan darah dan kondisi awal. Oleh karena itu, pada hari ke-7 pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* perlakuan B, C dan D mengalami peningkatan pada nilai hematokrit.

### KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang dapat diambil dalam penelitian ini adalah:

1. Penambahan serbuk lidah buaya dalam pakan berpengaruh sangat nyata terhadap kelulushidupan ikan mas pasca infeksi bakteri *A. hydrophila*;
2. Penambahan serbuk lidah buaya mampu meningkatkan nilai total eritrosit, leukosit dan hematokrit ikan mas dibandingkan perlakuan yang tidak ditambah dengan serbuk lidah buaya;
3. Dosis terbaik penambahan serbuk lidah buaya dalam pakan yaitu 30 g/kg pakan.

Saran yang diberikan yaitu sebaiknya dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri sebelum penelitian dan setelah uji tantangan dan dilakukan uji lanjut mengenai penambahan serbuk lidah buaya kedalam pakan dengan metode penambahan serbuk lidah buaya berbeda (*repelleting*) menggunakan dosis minimum 30 g/kg pakan.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan sebagian dari penelitian payung yang dilakukan oleh Dr. Ir. Sarjito, M.App.Sc., *et al.* Pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Prof. Ocky Karna Radjasa, M. Sc, Ph.D., Handung Nuryadi, S.Kel., Tim Penyakit BDP 2009-2010 dan Bapak Marsudi yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini serta petani budidaya ikan di Kecamatan Muntilan.

### DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, D. P and A. K. Siwicki. 1993. Basic Hematology and Serology for Fish Health Program. In : Symposium on Disease in Asia Aquaculture Aquatic Animal Health and Environment, Thailand, 11-193 p.
- Ariyanti, N. K., I. B. G. Darmayasa dan S. K. Sudirga. 2012. Daya Hambat Ekstrak Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe barbadensis* Miller) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25911. J. Biologi XVI.,(1):1-4.
- Blaxhall, P.C and K.W. Daisley. 1973. Routine Haematological Methods For Use With Fish Blood. J. Fish Biol., 5: 577-581.
- Cipriano, R. G. 2001. *Aeromonas hydrophila* and *Motil Aeromonad Septicaemias* of Fish. Fish Disease Leaflet of the US Fish and Wildlife service, US Department of TheInterior., 68:1-24.
- Effendi, M.I. 2002. Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusantra, Jakarta, 163 hlm.
- Febriani, D., Sukenda dan S. Nuryati. 2013. Kappa-Karragenan Sebagai Immunostimulan Untuk Pengendalian Penyakit *Infectious myonecrosis* (IMN) Pada Udang Vaname *Litopenaeus vannamei*. J. Akuakultur Indonesia., 12 (1): 77-85.
- Gusviputri, A., N. Meliana, P.S., Ayliaawati dan N. Indraswati. 2012. Pembuatan Sabun Dengan Lidah Buaya (*Aloe vera*) Sebagai Antiseptik Alami. Widya Teknik., 12 (1): 11-21.
- Haryani, A., R. Grandiosa., I.D. Buwono dan A. Santika. 2012. Uji Efektifitas Daun Pepaya (*Carica papaya*) Untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas Koki ( *Carassius auratus*). J. Perikanan dan Kelautan., 3 (3): 213-220.
- Hastuti, S. R. 2007. Evaluation of Non-Specific Defence of Tilapia (*Oreochromis* sp) Injeted with LPS (*Lipopolysaccharides*) of *Aeromonas hydrophila*. J. Protein., 14 (1): 81-84.
- Hastuti, S.D. 2010. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe Barbadensis* Miller) Terhadap Bakteri Patogen Pada Ikan. J. Gamma., 6(1): 60-68.
- Irianto, A. 2005. Patologi Ikan Teleostei. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 256 hlm



- Jatnika, A. dan Saptoningsih. 2009. Meraup Laba dari Lidah Buaya. Agro Media Pustaka, Jakarta, 26 hlm.
- Kabata, Z. 1985. Parasites and Disease of Fish Cultured in the Tropics. Taylor and Francis Press, London and Philadelphia, 318 hlm.
- Kamaludin, K . 2011. Efektivitas Ekstrak Lidah Buaya *Aloe Vera* Untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias sp.* Melalui Metode Pakan. [Skripsi]. Departemen Budidaya perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Petanian Bogor, Bogor, 54 hlm.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2013. Statistik Menakar Target Ikan Air Tawar Tahun 2013. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Jakarta. Diakses dari [www.djpb.kkp.go.id](http://www.djpb.kkp.go.id) (20 Maret 2014).
- Lestari, U. 2006. Penghambatan Produksi Enzim Eksoprotease *Aeromonas hydrophila* oleh Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* (roxb.)). [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, 70 hlm.
- Lukistyowati, I dan Kurniasih. 2011. Kelangsungan Hidup Ikan Mas (*Cyprinus carpio L*) Yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) Dan Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. J. Perikanan dan Kelautan., 16 (1): 144-160.
- Maryani dan Rosita. 2006. Efektivitas Ekstrak Daun Biji Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava L.*), Sambiloto (*Andrographis Paniculata*), Dan Daun Sirih (*Piper Betle L*) Dalam Menanggulangi Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*). *Journal of Tropical Fisheries.*, 1 (2): 132-139.
- Morsy, E.M. 1991. The Final Technical Report of *Aloe vera*: Stabilization and Processing for The Cosmetic Beveage and Food Industries. Aloe Industry and Technologi Institut, Phoenix, USA, 48 p.
- Moyle P.B and Cech J.J . 2004. Fishes: An Introduction to Ichthyologi. 5<sup>th</sup> ed. USA: Prentice Hall, Inc. USA, 559 p
- Nurjannah, R.D.D., S.B. Prayitno., Sarjito dan A. M. Lusiasuti. 2013. Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) Terhadap Profil Darah dan Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. J. Aquaculture Mangement and Technology., 2 (4): 72-83.
- Nuryati, S., N.A. Maswan., Alimuddin., Sukenda., K. Sumantadinata., F.H. Pasaribu., R.D. Soejoedono dan A. Santika. 2010. Gambaran Darah Ikan Mas setelah Divaksinasi dengan Vaksin DNA dan Diuji Tantang dengan Koi Herpes Virus. J. Akuakultur Indonesia., 9 (1): 9-15.
- Rahayu, T . 2006. Potensi Antibiotik Isolat Bakteri *Rizosfer* Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Multiresisten. J. Penelitian Sains dan Teknologi., 7 (2): 81-91.
- Sari, N.W., I. Lukistyowati dan N. Aryani. 2012. Pengaruh Pemberian Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Terhadap Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio L*) Setelah Di Infeksi *Aeromonas hydrophila*. J. Perikanan dan Kelautan ., 17 (2): 43-59.
- Sarjito., A.H.C. Haditomo dan S.B. Prayitno. 2013. Agensia Penyebab Penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* Di Sentra Produksi Lele Jawa Tengah. Universitas Diponegoro. [Inpres]. Disajikan pada Seminar KAI 2013, Solo, 23 September 2013.
- Suhermanto, A., S. Andayani dan Maftuch. 2013. Pengaruh Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria scarbra*) Terhadap Respon Imun Spesifik Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). J. Bumi Lestari., 13 (2): 225:233.
- Syamsir, E. 2008. Perbedaan Endotoksin dan Eksotoksin. <http://ilmupangan.blogspot.com/2014/04/perbedaan-endotoksin-dan-eksotoksin.htm> [28 Maret 2014].
- Wahjuningrum, D., E.H. Solikhah., T. Budiardi dan M. Setiawati. 2010. Pengendalian Infeksi *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp*) dengan Campuran Meniran (*Phyllanthus niruri*) dan Bawang Putih (*Allium sativum*) Dalam Pakan. J. Akuakultur Indonesia., 9 (2): 93-103.
- Wahjuningrum, D., R. Astrini dan M. Setiawati. 2013. Pencegahan Infeksi *Aeromonas hydrophila* Pada Benih Ikan Lele *Clarias sp* Yang Berumur 11 hari Menggunakan Bawang Putih *Allium sativum* dan Meniran *Phyllanthus niruri*. J. Akuakultur Indonesia ., 12 (1): 94-104.
- Wedemeyer, G.A and W.T. Yasutake. 1997. Clinical Methods for the Assesment of the Effect Environmental Stress on Fish Health. Technical Papers of the U.S. Fish and Wildlife Service, U.S, department of the Interior, 89:1-18p
- Yuhana, M., I. Normalina dan Sukenda. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Bawang Putih *Allium sativum* Untuk Pencegahan dan Pengobatan Pada Ikan Patin *Pangasionodon hypophthalmus* Yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. J. Akuakultur Indonesia., 7 (1): 95-107.