



Diferensiasi Leukosit Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila* dan Diobati dengan Larutan Daun Salam (*Syzygium polyantha*)

Differentiation of Leukocytes of Dumbo Catfish (*Clarias gariepinus*) Infected with *Aeromonas hydrophila* and Treated with Bay Leaf Solution (*Syzygium polyantha*)

Tomuso Angdi Suryani Sinaga^{1*}, Morina Riauwati², dan Henni Syawal²

1) Mahasiswa Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

2) Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

INFORMASI ARTIKEL

Diterima: 00 December 00

Distujui: 00 January 00

Keywords:

Leukocyte differentiation, *Syzygium polyantha*, *Clarias gariepinus*, *Aeromonas hydrophila*, immersion.

ABSTRACT

The research was conducted from January to October 2021 at the Laboratory of Fish Parasites and Diseases, Departement of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Marine, University of Riau. The purpose of this research was to analyze and obtain the best dose of bay leaf solution to treat catfish (*Clarias gariepinus*) infected with *Aeromonas hydrophilla*. Bay leaf is a plant that has antibacterial properties in fish because it contains secondary metabolites, namely tannins, saponins, steroids, alkaloids, flavonoids, and essential oils. The method used is an experimental method with a Completely Randomized Design (CRD), one factor with five treatments. The treatment applied is Kn (without immersed with bay leaf solution and not infected by *A. hydrophila*), Kp (without immersed with bay leaf solution and infected by *A. hydrophila*), P₁ (1000 ppm), P₂ (1100 ppm), P₃ (1200 ppm). The curing is done by immersed with bay leaf solution for 5 minutes, carried out three times with an interval of 24 hours and then maintained for 14 days after treatment. The result shown that bay leaf solution able to cure catfish infected by *A. hydrophila*. The best dose was 1200 ppm with average total leukocytes of 12.61×10^4 cells /mm³, leukocyte differentiation (lymphocytes 84.66%, Neutrophils 6.66%, Monocytes 8.66%), phagocytosis activity is 35.33%, and the survival rate 96.67%.

1. PENDAHULUAN

Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang sudah dibudidayakan secara komersial dan digemari oleh masyarakat Indonesia. Berdasarkan data Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) produksi ikan nasional tumbuh sebesar 879.000 ton dari tahun 2015-2018. Faktor yang mempengaruhi kegagalan usaha budidaya ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) salah satunya adalah serangan penyakit *Aeromonas hydrophila*. Aspek yang dapat dilihat jika adanya infeksi pada ikan adalah terjadinya perubahan pada gambaran darah dengan melihat total leukosit dan diferensiasi leukosit. Selama ini usaha yang dilakukan untuk mengobati penyakit ikan dengan menggunakan antibiotik namun memiliki dampak negatif karena tertinggalnya residu

* Corresponding author

E-mail address: adehelfris01@gmail.com

berbahaya di tubuh ikan yang dapat berdampak buruk bagi kesehatan manusia yang mengkonsumsinya, maka perlu dilakukan upaya pengobatan menggunakan bahan alami. Salah satu jenis tumbuhan bahan alami yang berpotensi digunakan sebagai obat adalah daun salam (*Syzygium polyantha*) karena tanaman salam merupakan tanaman obat tradisional yang berkhasiat sebagai antibakteri mengandung senyawa tanin (21,7%), flavonoid (0,4%) dan minyak atsiri (0,05%) (Tiara, 2015).

2. METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Mei 2021 bertempat di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.

Bahan dan Alat

Bahan uji yang digunakan untuk penelitian adalah daun salam (*Syzygium polyantha*) yang berasal dari Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau (FPK UNRI) serta isolat bakteri yang berasal dari FPK UNRI. Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) diperoleh dari usaha pembenihan ikan di Jalan Suka Karya Kota Pekanbaru Riau dengan ukuran 10-12 cm sebanyak 150 ekor.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor dengan lima taraf perlakuan. Untuk mengurangi tingkat kekeliruan maka dilakukan ulangan sebanyak tiga kali sehingga diperlukan 15 unit percobaan. Dosis yang digunakan mengacu pada penelitian Ramadhi (2019), yaitu dosis LD₅₀ sensitivitas larutan daun salam (*S. polyantha*) terhadap bakteri *A. hydrophila* pada ikan lele dumbo adalah 1300 ppm. Perlakuan yang dilakukan pada penelitian ini adalah:

- Kn : Kontrol negatif (Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) tidak direndam larutan daun salam dan tidak terinfeksi bakteri *A. hydrophila*)
- Kp : Kontrol positif (Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) tidak direndam larutan daun salam dan terinfeksi bakteri *A. hydrophila*)
- P₁ : Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) terinfeksi *A. hydrophila* dan dilakukan perendaman larutan daun salam dengan dosis 1000 ppm
- P₂ : Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) terinfeksi *A. hydrophila* dan dilakukan perendaman larutan daun salam dengan dosis 1100 ppm
- P₃ : Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) terinfeksi *A. hydrophila* dan dilakukan perendaman larutan daun salam dengan dosis 1200 ppm

Prosedur Penelitian

Persiapan Wadah

Wadah yang digunakan adalah akuarium berukuran 40 x 30 x 30 cm sebanyak 15 unit. Terlebih dahulu wadah dibersihkan disucihamakan dengan larutan KMnO₄ (Kalium Permanganat), kemudian didiamkan selama 24 jam agar bebas dari mikroorganisme patogen. Masing-masing akuarium diisi air setinggi 25 dengan padat tebar 10 ekor/30 L (1 ekor/ 2,4L). Ikan uji berukuran 10-12cm

*Pembuatan Larutan Daun Salam (*S. polyantha*)*

Daun salam yang digunakan adalah daun ke 3 dan 4 dari pucuk. Daun salam yang sudah dipetik lalu dibersihkan dengan air mengalir, selanjutnya dikering anginkan selama 30 menit. Daun ditimbang sebanyak 750 g untuk menghasilkan ±25 ml larutan daun salam, daun dihaluskan dengan menggunakan blender, kemudian dihaluskan kembali dengan menggunakan mortar. Setelahnya daun salam diperas dengan menggunakan kain kasa yang sudah dicuci dengan aquades steril untuk mendapatkan sarinya. Hasil perasan daun salam disaring kembali menggunakan kertas saring Whatman nomor 42 µm sehingga didapatkan larutan murni 100%.

Penginfeksian Bakteri

Penginfeksian bakteri pada ikan lele dumbo dilakukan dengan cara ikan dibius terlebih dahulu menggunakan minyak cengkeh 0,1 ml/L agar ikan tidak terlalu stress saat dilakukan penyuntikan. Kemudian dilakukan penyuntikan pada ikan menggunakan *syringe* secara *intramuscular* dengan menginfeksikan sebanyak 0,1 ml/ekor dengan kepadatan suspensi bakteri 10^8 CFU/mL. Setelah ikan menunjukkan gejala klinis terinfeksi *A. hydrophila* seperti adanya pendarahan pada ikan, sirip gripis, munculnya ulcer pada bekas penginfeksian, produksi lendir yang berlebihan, maka selanjutnya ikan dilakukan pengobatan dengan larutan daun salam (*S. polyantha*).

Pengambilan Darah

Pengambilan darah ikan uji dilakukan sebanyak 3 kali, yaitu pada awal pemeliharaan, 15 jam setelah terlihat gejala klinis ikan yang terinfeksi, dan hari ke-14 pascapengobatan dengan larutan daun salam. Ikan uji terlebih dahulu dibius dengan minyak cengkeh sebanyak 0,1 ml/L. Sampel ikan diambil dari tiap ulangan sebanyak 3 ekor dari setiap perlakuan. Sebelum pengambilan darah, *syringe* ukuran 1 mL dan tabung *eppendorf* dibasahi dengan antikoagulan yaitu EDTA 10% untuk mencegah pembekuan darah. Pengambilan darah dilakukan di bagian *vena caudalis*, kemudian darah yang berada dalam *syringe* dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf* untuk digunakan dalam pengamatan total leukosit, diferensiasi leukosit dan aktifitas fagositosis.

Pengobatan Dengan Larutan Daun Salam (S. polyantha).

Pengobatan ikan dilakukan dengan cara perendaman sebanyak tiga kali dengan selang waktu 24 jam. Perendaman pertama dilakukan menggunakan wadah toples setelah ikan menunjukkan gejala klinis terserang *A. hydrophila*. Wadah toples diisi 5 liter air yang sudah berisi larutan daun salam (*S. polyantha*) sesuai dengan dosis yang berbeda di setiap perlakuan selama 5 menit dan diberi aerasi. Ikan kemudian dikembalikan ke wadah pemeliharaan dan dilakukan pemeliharaan hingga hari ke-14 pascapengobatan. Selama pemeliharaan ikan uji tetap diberikan pakan tiga kali sehari pada pukul 07:00, 12:00, dan 17:00 WIB.

Parameter yang diukur

Pengamatan Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis dilihat 10-15 jam pascainfeksi *A. hydrophila*, meliputi perubahan morfologi dan tingkah laku.

Total Leukosit

Prosedur perhitungan total leukosit mengacu pada Blaxhall dan Daisley (1973) dalam Syatma (2016), yaitu sampel darah dihisap dari mikrotube menggunakan pipet leukosit hingga skala 0,5 dan ditambah larutan Turk hingga garis 11, lalu dihomogenkan. Setelah homogen, darah dibuang sebanyak dua tetes untuk menghilangkan rongga udara, lalu darah diteteskan pada kotak *haemocytometer* dan ditutup dengan kaca penutup. Selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 x. Jumlah total leukosit dihitung dengan menggunakan mikroskop pada 4 kotak besar *haemocytometer* dengan rumus sebagai berikut :

$$\sum \text{Leukosit} = \sum n \times 50 \text{ sel/mm}^3$$

Dimana : $\sum n$ = Jumlah total leukosit pada 4 kotak besar

50 = Faktor pengenceran

Diferensiasi Leukosit

Perhitungan jenis leukosit berdasarkan metode Blaxhall dan Daisley (1973) dalam Syatma (2016), yakni dengan cara dibuat preparat ulas darah ikan pada kaca objek lalu dikeringanginkan, selanjutnya difiksasi dengan larutan methanol 95% selama 5 menit, setelah itu dibilas dengan akuades lalu dikeringanginkan dan dilanjutkan dengan pewarnaan giemsa selama 15 menit dan dicuci dengan air mengalir, kemudian dikering anginkan, lalu diamati di bawah mikroskop

binokuler dengan pembesaran 1000x. Jenis leukosit yang diamati adalah limfosit, monosit dan neutrofil, kemudian dihitung sampai berjumlah 100 sel dan dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Persentase sel} = \sum n \times 100\%$$

Dimana : $\sum n$ = jumlah sel yang dihitung

Aktivitas Fagositosis

Sampel darah diambil sebanyak 50 μl dan dimasukkan ke dalam mikrotube. Kemudian ditambahkan sebanyak 50 μl suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kepadatan 107 sel/mL. Selanjutnya suspensi tersebut dihomogenkan dan diinkubasi dalam inkubator selama 20 menit. Setelah itu suspensi tersebut diambil sebanyak 5 μl untuk pembuatan preparat ulas darah, lalu difiksasi dalam larutan metanol selama 3-5 menit, setelah itu dikering anginkan lalu direndam dalam larutan giemsa selama 30 menit. Selanjutnya dibilas dengan air mengalir dan kembali dikering anginkan. Setelah itu, preparat ulas dapat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Persentase sel-sel fagositik dihitung dengan cara mengamati jumlah sel-sel yang menunjukkan proses fagositosis dari 100 sel fagosit yang teramati. Adapun cara perhitungannya adalah sebagai berikut :

$$\text{Aktifitas fagositik} = \frac{\sum \text{sel fagositik}}{100} \times 100\%$$

Tingkat Kelulushidupan

Kelulushidupan ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang diberi pengobatan menggunakan larutan daun salam (*S. polyantha*) setelah terinfeksi bakteri *A. hydrophila* yang dipelihara selama 14 hari pascapengobatan kemudian dihitung menurut Effendie (2002), sebagai berikut :

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

Dimana : SR = Kelulushidupan (%)
 N_t = Jumlah ikan yang hidup pada akhir penelitian (ekor)
 N_o = Jumlah ikan yang hidup pada awal penelitian (ekor)

Kualitas Air

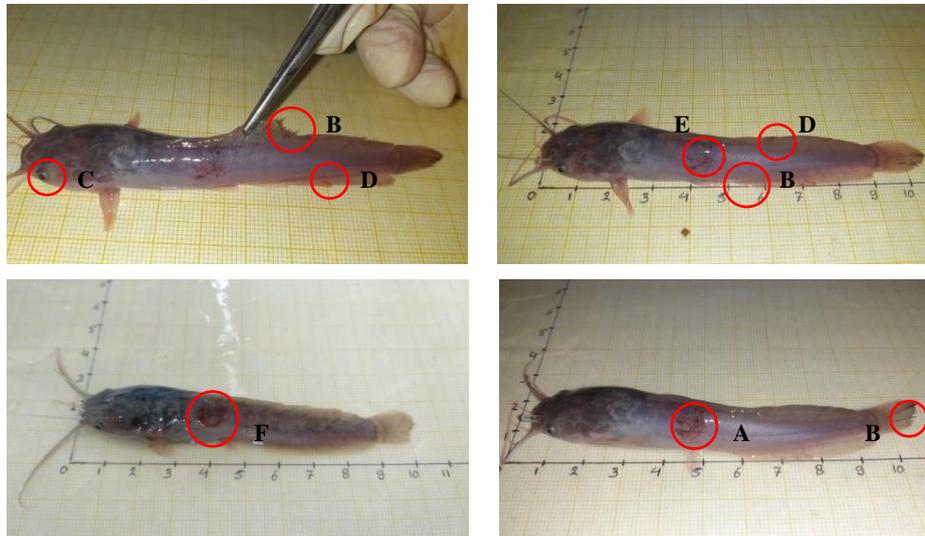
Parameter kualitas air yang diukur yaitu suhu, pH dan Oksigen terlarut (DO), amonia. Pengukuran kualitas air dilakukan 2 kali selama penelitian, yakni awal penelitian (awal pemeliharaan) dan 14 hari pascapengobatan .

Analisis Data

Data hasil penelitian yang meliputi total leukosit, diferensiasi leukosit, aktifitas fagositosis, dan kelulushidupan, ditabulasikan dalam bentuk tabel atau grafik. Data kemudian dianalisis homogenitasnya dan selanjutnya dianalisa menggunakan analisa variansi (ANOVA). Apabila ada pengaruh perlakuan terhadap parameter yang di uji dimana $P < 0.05$ maka dilakukan uji lanjut Newman-Keuls untuk menentukan perbedaan dari masing-masing perlakuan (Sudjana, 1992). Sedangkan data penunjang seperti kualitas air, tingkat kelulushidupan dan pengamatan gejala klinis ikan akan dianalisis secara deskriptif

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

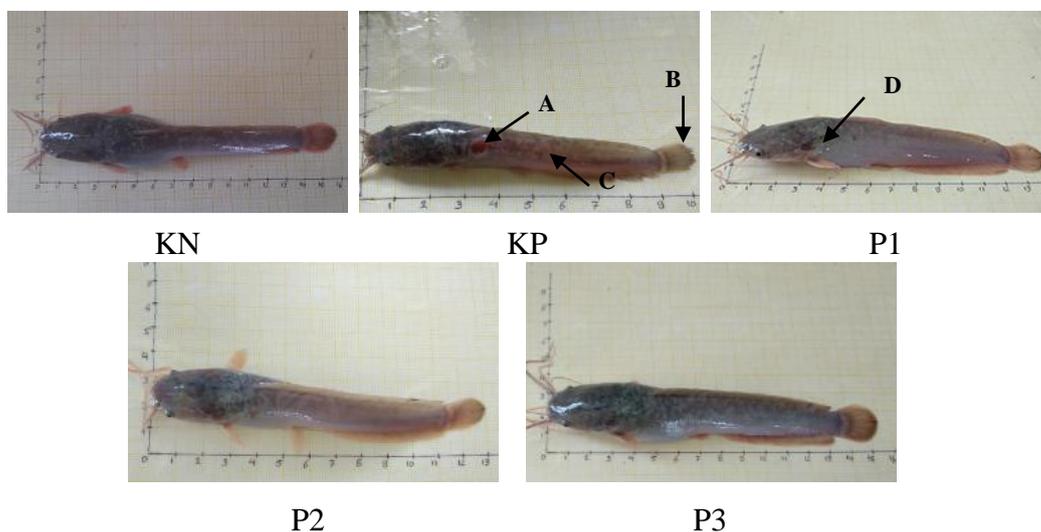
Gejala Klinis Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)



Gambar 1. Gejala Klinis Ikan yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Keterangan: a). Ulcer b). Gripis pada sirip c). Exophthalmia
d). Pendarahan pada sirip e). Luka pada bekas suntikan f). Borok.

Gejala klinis yang terlihat pada ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang terinfeksi *A. hydrophilla* sesuai dengan penelitian (Chandra, 2018), bahwa penyakit yang disebabkan *A. hydrophilla* berakibat bercak merah pada ikan, perdarahan pada sirip ekor dan punggung, terjadinya luka pada daerah bekas suntikan, sirip punggung ikan uji terjadi gripis dan bagian perut juga terlihat membesar karena berisi cairan, gerakan ikan menjadi lamban, ikan cenderung diam di dasar akuarium, ikan sebelum mati naik ke permukaan air dengan sikap berenang yang tidak beraturan. Ikan yang terinfeksi *A. hydrophilla* memiliki perubahan tingkah laku ditandai dengan ikan berenang abnormal, ikan berdiam diri di dasar akuarium, berenang mendekati aerasi, dan nafsu makan ikan menurun (Apriliana *et al.*, 2018).



Gambar 2. Gejala Klinis Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) Hari ke-14 Pascapengobatan dengan Larutan Daun Salam (*S. polyantha*)

Keterangan: a). Borok semakin membesar b). Gripis pada sirip
c). Warna tubuh ikan pucat d). Borok mulai menutup

Perlakuan P₁-P₃ ikan secara perlahan kembali normal di hari ke-14 pascapengobatan. Hal tersebut diduga bahwa kandungan fitokimia daun salam mampu mengobati ikan lele dumbo yang terinfeksi *A. hydrophila*. Komponen kimia dalam daun salam antara lain flavonoid, tanin, minyak atsiri, saponin, alkaloida, dan polifenol. Kandungan flavonoid, tanin, dan minyak atsiri memiliki aktivitas antibakteri yaitu dengan cara mengkoagulasikan protein yang akhirnya dapat mengganggu permeabilitas membran sel dan menyebabkan inaktivasi fungsi materi genetik bakteri (Nurul *et al.*, 2016).

Total Leukosit

Perhitungan total leukosit dilakukan untuk mengetahui dan melihat perubahan jumlah total leukosi ikan lele dumbo (*C. gariiepinus*) selama pemeliharaan ikan lele dumbo (*C. gariiepinus*) mulai dari awal terinfeksi bakteri *A. hydrophila* hingga diobati dengan larutan daun salam (*S. polyantha*). Adapun rata-rata total leukosit ikan lele dumbo (*C. gariiepinus*) selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Total Leukosit Ikan Lele Dumbo (*C. gariiepinus*) Selama Penelitian

Perlakuan	Total Leukosit ($\times 10^4$ sel/mm ³)		
	Awal Pemeliharaan	Pasca Infeksi	Pasca Pengobatan
Kn	10,18	10,20 \pm 0,01 ^a	10,20 \pm 0,03 ^a
Kp	10,18	17,14 \pm 0,05 ^{bc}	16,96 \pm 0,04 ^e
P ₁	10,21	17,22 \pm 0,10 ^c	13,17 \pm 0,02 ^d
P ₂	10,20	17,03 \pm 0,02 ^b	12,82 \pm 0,09 ^c
P ₃	10,17	17,15 \pm 0,04 ^{bc}	12,61 \pm 0,02 ^b

Ket : Huruf superscript yang berbeda menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

Berdasarkan Tabel 1, diketahui bahwa total leukosit ikan lele (*C. gariiepinus*) pada awal pemeliharaan berkisar antara 10,17-10,21 $\times 10^4$ sel/mm³. Total leukosit yang didapat pada awal pemeliharaan sesuai dengan total leukosit normal menurut Bastiawan (2001) dalam Lukistyowati (2016), bahwa total leukosit (sel darah putih) ikan dalam kondisi normal jumlahnya sekitar 2-15 $\times 10^4$ sel/mm³ dan mempunyai bentuk lonjong atau bulat, tidak berwarna. Leukosit juga merupakan unit yang aktif dari sistem pertahanan (imun) tubuh, serta leukosit diproduksi di organ limus dan ginjal. Sedangkan, total leukosit ikan lele (*C. gariiepinus*) pasca infeksi mengalami peningkatan menjadi 17,03-17,22 $\times 10^4$ sel/mm³ dimana total leukosit tertinggi yaitu pada P₁ 17,22 $\times 10^4$ sel/mm³, nilai leukosit tersebut terbilang tidak normal menurut Bastiawan (2001) dalam Lukistyowati (2016).

Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa total leukosit ikan lele (*C. gariiepinus*) setelah terinfeksi bakteri *A. hydrophila* memberikan pengaruh nyata terhadap total leukosit ikan lele dumbo (*C. gariiepinus*) (P<0,05) (Lampiran 6). Hasil uji lanjut Newman-Keuls menunjukkan bahwa Kn berbeda nyata dengan Kp, P₁, P₂, P₃, dimana total leukosit terendah terdapat pada Kn yaitu 10,20 $\times 10^4$ sel/mm³, total leukosit tertinggi Kp 17,14 $\times 10^4$ sel/mm³ namun tidak berbeda nyata terhadap P₃ yaitu 17,15 $\times 10^4$ sel/mm³ dan P₁, P₂ yaitu 17,22 $\times 10^4$ sel/mm³ dan 17,03 $\times 10^4$ sel/mm³.

Total leukosit ikan lele dumbo (*C. gariiepinus*) pasca pengobatan mengalami penurunan pada setiap perlakuan berkisar antara 10,20-16,96 $\times 10^4$ sel/mm³ dimana nilai Kn berada di posisi terendah 10,20 $\times 10^4$ sel/mm³, nilai Kp berada di posisi tertinggi 16,96 $\times 10^4$ sel/mm³ dan nilai P₁ - P₃ yaitu 12,61 $\times 10^4$ sel/mm³ - 13,17 $\times 10^4$ sel/mm³. Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa pemberian larutan daun salam pada ikan lele dumbo yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* memberikan pengaruh nyata terhadap total leukosit ikan lele dumbo yang terinfeksi bakteri namun tidak diberikan larutan daun salam (P<0,05). Hasil uji lanjut student Newman-Keuls menunjukkan Kp berbeda nyata terhadap P₁, - P₃ dimana diantara P₁, - P₃ yang memiliki total leukosit paling mendekati normal yaitu P₃ dengan total leukosit 12,61 $\times 10^4$ sel/mm³. Hal tersebut dikarenakan leukosit pada ikan lele dumbo mulai mendeteksi adanya pengurangan bakteri yang masuk ke dalam darah ikan lele dumbo sehingga total leukosit yang awalnya terinfeksi lalu diobati dengan larutan daun salam kembali mendekati total leukosit normal. Total leukosit ikan lele dumbo tidak bisa menunjukkan jumlah normal dikarenakan ikan lele dumbo masih dalam proses penyembuhan dan leukosit masih siaga dalam menghalau benda-benda asing yang masih tertinggal.

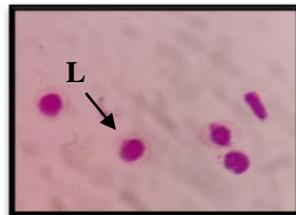
Diferensiasi Leukosit Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*)

Perhitungan diferensiasi leukosit penting untuk dilakukan agar dapat mengetahui dan melihat perubahan jenis-jenis leukosit yang terjadi selama pemeliharaan mulai dari awal terinfeksi bakteri hingga diobati dengan larutan daun salam sampai akhir pemeliharaan. Hasil rata-rata persentase pengamatan leukosit selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Diferensiasi Leukosit Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) Selama Penelitian

Waktu Pemeliharaan	Perlakuan	Limfosit (%)	Monosit (%)	Neutrofil (%)
Awal	Kn	75,00	11,67	13,33
	Kp	75,33	11,67	13,00
	P ₁	74,67	12,33	13,00
	P ₂	75,33	11,33	13,33
	P ₃	74,67	12,66	12,67
Pasca Infeksi	Kn	75,33 ± 0,57 ^b	11,66 ± 0,57	13,00 ± 1,00 ^a
	Kp	71,33 ± 1,15 ^a	12,00 ± 1,00	16,66 ± 0,57 ^b
	P ₁	71,00 ± 1,00 ^a	13,33 ± 0,57	15,66 ± 0,57 ^b
	P ₂	71,33 ± 1,15 ^a	13,00 ± 1,00	15,66 ± 0,57 ^b
	P ₃	71,66 ± 1,15 ^a	12,33 ± 0,57	16,00 ± 1,00 ^b
Pasca Pengobatan	Kn	75,33 ± 1,52 ^b	11,33 ± 1,15 ^b	13,33 ± 0,57 ^d
	Kp	72,33 ± 1,15 ^a	12,33 ± 1,52 ^b	15,33 ± 0,57 ^e
	P ₁	79,00 ± 1,00 ^c	10,66 ± 1,15 ^{ab}	10,33 ± 0,57 ^c
	P ₂	81,33 ± 1,15 ^d	10,33 ± 0,57 ^{ab}	8,33 ± 0,57 ^b
	P ₃	84,66 ± 1,15 ^e	8,66 ± 0,57 ^a	6,66 ± 0,57 ^a

Ket : Huruf superscript yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Limfosit**Gambar 3. Morfologi Sel Limfosit**

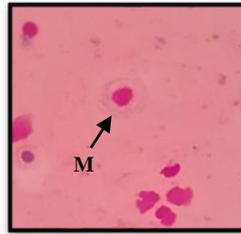
Ket: L = Limfosit

Berdasarkan Tabel 2, Limfosit ikan lele pada awal penelitian berkisar antara 74,67-75,33%. Menurut Preanger *et al.* (2016), persentase leukosit ikan lele normal berkisar antara 71,12-82,88%. Limfosit merupakan jenis sel leukosit yang paling dominan di dalam populasi leukosit pada ikan. Berdasarkan hasil pengamatan, limfosit ikan lele dumbo pada perlakuan Kp, P₁, P₂, P₃ mengalami penurunan pasca infeksi yaitu 71,00% - 71,66%. Jumlah sel limfosit tertinggi pasca pengobatan terdapat pada perlakuan P₃ sebesar 84,66% dan yang terendah terdapat pada perlakuan Kp yaitu sebesar 72,33%. Hasil uji statistik (ANOVA) dan uji Student Newman-Keuls menunjukkan bahwa, perlakuan Kp berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan P₁, P₂, P₃ dan limfosit mengalami peningkatan dari pascainfeksi ke pascapengobatan.

Melalui hasil pengamatan tersebut dapat diketahui larutan daun salam membantu limfosit dalam memperbanyak jumlahnya, karena diketahui limfosit merupakan sel leukosit yang berperan aktif sebagai antibodi ketika tubuh ikan menerima penyerangan dari penyakit berupa bakteri dan larutan daun salam memiliki senyawa antibakteri yang ikut membantu limfosit untuk menghalau serangan dari bakteri. Menurut Harpeni (2015), peningkatan presentasi limfosit mengindikasikan bahwa respon

imunitas non spesifik ikan terpicu untuk melawan infeksi bakteri.

Monosit



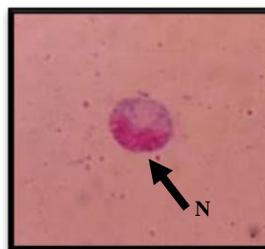
Gambar 4. Morfologi Sel Monosit

Ket: M = Monosit.

Presentase monosit normal ikan lele dumbo pada awal pemeliharaan dapat dilihat pada Tabel 5, yaitu berkisar antara 11,33-12,66%. Sedangkan jumlah monosit ikan lele dumbo pasca terinfeksi bakteri *A. hydrophila* pada perlakuan Kn - P₃ mengalami peningkatan yaitu 11,66% - 13,33%. monosit dalam darah berperan aktif memfagosit agen penyebab penyakit dan peningkatan pada tiap perlakuan disebabkan karena adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuh sehingga merangsang produksi monosit. Menurut Sugiani *et al.* (2012) apabila terjadi suatu serangan patogen atau benda asing pada ikan maka akan terjadi respon imun alami yang melibatkan sirkulasi dan perbaikan jaringan melalui respon fagosit granulosit (neutrofil, eosinofil sel glanular) monosit, dan sel makrofag.

Hasil pengamatan persentase monosit ikan lele dumbo pasca pengobatan diketahui bahwa monosit pada ikan lele dumbo mengalami penurunan menjadi 8,66-12,33%, dimana jumlah monosit tertinggi terdapat pada perlakuan Kp dan jumlah monosit terendah terdapat pada perlakuan P₃. Hal ini karena tubuh lele dumbo secara perlahan telah mengetahui berkurangnya benda asing yang masuk ke dalam tubuh sehingga tubuh tidak lagi merangsang monosit untuk berproduksi dalam jumlah banyak. Sesuai dengan pernyataan Utami *et al.* (2013) monosit merupakan sel dalam aliran darah yang berkembang menjadi makrofag. Rendahnya proporsi monosit berkaitan dengan fungsi monosit itu sendiri yaitu sebagai makrofag, dimana monosit tidak terlalu banyak dibutuhkan di dalam tubuh dikarenakan tidak ada infeksi yang masuk ke dalam tubuh yang merangsang produksi monosit.

Neutrofil



Gambar 5. Morfologi Sel Neutrofil

Ket: N = Neutrofil.

Hasil presentase neutrofil ikan lele dumbo pasca pengobatan diketahui bahwa neutrofil ikan lele dumbo berkisar 16,66-15,33%, dimana yang tertinggi terdapat pada perlakuan Kp dan yang terendah terdapat pada perlakuan P₃. Berdasarkan uji statistika analisis variansi (ANAVA) menunjukkan pemberian larutan daun salam memberikan pengaruh nyata terhadap neutrofil ikan lele dumbo yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Hasil uji Newman-Keuls menunjukkan bahwa perlakuan Kp memiliki presentasi yang paling tinggi dari semua perlakuan, hal ini karena Kp tidak diberikan larutan daun salam sebagai pengobatan sehingga neutrofil masih memberikan respon peningkatan jumlah untuk menghancurkan benda asing yang masuk ke dalam tubuh ikan lele dumbo (*C. gariepinus*).

Presentase neutrofil ikan lele dumbo terendah terdapat pada P₃, neutrofil kembali mendekati normal dikarenakan neutrofil tidak lagi aktif dalam memakan benda asing yang masuk ke dalam tubuh ikan lele dumbo karena tidak ada lagi rangsangan benda asing yang diterima oleh neutrofil ikan lele dumbo. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Firly *et al.* (2015) bahwa hal tersebut berkaitan dengan fungsi utama dari neutrofil yaitu penghancuran bahan asing melalui proses fagositosis yaitu kemotaksis dimana sel akan bermigrasi menuju partikel, peletakan partikel pada sel, penelanan partikel oleh sel, dan penghancuran partikel oleh enzim lisosim di dalam fagolisosom. Sehingga tanpa adanya rangsangan dari benda asing baik berupa bakteri, virus, maupun patogen neutrofil tidak akan menunjukkan reaksi peningkatan.

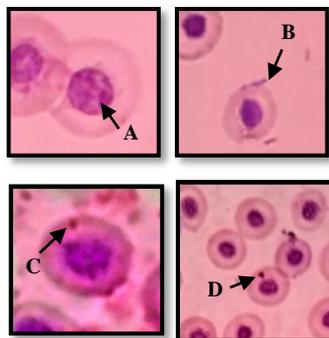
Aktifitas Fagositosis

Perhitungan aktivitas fagositosis sangat penting dilakukan untuk mengetahui bagaimana kemampuan sel leukosit dalam memakan benda asing khususnya bakteri patogen pada ikan lele dumbo awal, pertengahan, hingga akhir penelitian. Hasil pengamatan aktivitas fagositosis ikan lele dumbo selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase Aktivitas fagositosis Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) Selama Penelitian

Perlakuan	Aktivitas Fagositosis (%)		
	Awal Pemeliharaan	Pasca Infeksi	Pasca Pengobatan
Kn	24,67	24,66 ± 0,57 ^a	25,00 ± 1,00 ^a
Kp	23,00	44,66 ± 1,52 ^b	43,66 ± 1,52 ^d
P ₁	21,67	43,00 ± 1,00 ^b	32,00 ± 1,00 ^b
P ₂	23,00	43,66 ± 0,57 ^b	33,33 ± 0,57 ^{bc}
P ₃	23,33	43,33 ± 1,52 ^b	35,33 ± 1,52 ^c

Ket : Huruf superscript yang berbeda menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).



Gambar 6. Proses Aktivitas Fagositosis

Ket: A) Sel Monosit, B) Pelekatan Antigen, C) Penelanan Antigen, D) Proses fagositosis.

Dapat diketahui melalui Tabel 3, bahwa aktivitas fagositosis ikan lele dumbo pada awal pemeliharaan berkisar antara 21,67-24,67%. Sedangkan persentase aktivitas fagositosis pada ikan lele dumbo setelah terinfeksi bakteri *A. hydrophila* mengalami peningkatan pada Kp, P₁, P₂, P₃ yaitu 43,00%, - 44,66%. Aktivitas fagositosis setelah pengobatan lebih tinggi dari awal pemeliharaan namun mengalami penurunan dibanding dengan aktivitas fagositosis pascaterinfeksi. Aktivitas fagositosis pasca pengobatan yaitu 25,00% - 43,66%. Pada perlakuan Kp, aktivitas fagositosis masih tinggi walaupun sudah mengalami penurunan, tingginya aktivitas fagositosis pada Kp merupakan usaha dari sel fagosit untuk terus memakan benda asing yang masih ada di dalam tubuh. Sedangkan pada P₁, P₂, dan P₃ mengalami penurunan walau masih lebih tinggi dari aktivitas fagositosis pada awal pemeliharaan.

Pemberian lauratan daun salam pada ikan lele dumbo yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dapat membantu sel fagosit karena larutan daun salam memiliki bahan aktif berupa tanin dan flavonoid yang mempunyai efek anti inflamasi dan antimikroba. Berdasarkan hasil pada Tabel 3 diketahui bahwa kondisi ikan uji pascapengobatan dengan perendaman larutan daun salam menunjukkan adanya penurunan jumlah leukosit dan peningkatan sistem imun. Senyawa yang terkandung yaitu flavonoid, dimana flavonoid bekerja terhadap limfokin yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis terhadap partikel asing yang masuk kedalam tubuh (Raa, 2000 dalam Payung dan Monoppo, 2015).

Tingkat Kelulushidupan

Tingkat kelulushidupan ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) selama masa penelitian dapat dilihat pada Tabel 4

Tabel 4. Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) Selama Penelitian

Perlakuan	Kelulushidupan (%)	
	Awal Pemeliharaan	Pascapengobatan
Kn	100	100±0,00 ^d
Kp	100	13,33±5,77 ^a
P ₁	100	70,00±10,00 ^b
P ₂	100	83,33±5,77 ^c
P ₃	100	96,67±5,77 ^d

Ket : Huruf superscript yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P<0,05$).

Kelulushidupan tertinggi terdapat pada perlakuan P₃, yaitu 96,67%, diikuti dengan P₂, yaitu 83,33%. Namun, kelulushidupan pada P₁ masih tergolong rendah, yaitu 70%. Faktor yang berpengaruh pada rendahnya kelulushidupan ikan selama penelitian dapat disimpulkan dosis yang digunakan pada P₁ masih rendah untuk mengobati ikan lele dumbo yang terinfeksi bakteri *A. hydrophilla* sehingga belum berpengaruh secara optimal dalam merangsang pengobatan ikan terhadap infeksi bakteri *A. hydrophilla*. Kelulushidupan ikan lele dumbo semakin meningkat sejalan dengan bertambahnya konsentrasi larutan daun salam yang diberikan. Rosidah dan Afizia (2012) menyatakan, konsentrasi larutan yang semakin tinggi maka kemampuan antibakterinya juga semakin besar. Dengan demikian, membuktikan bahwa terdapat konsentrasi optimum dari larutan daun salam dan dosis terbaik untuk tingkat kelulushidupan ikan lele dumbo terdapat pada dosis 1200 ppm yaitu perlakuan P₃. Berdasarkan hasil uji analisis variansi (ANAVA) membuktikan bahwa ikan lele dumbo pascapengobatan dengan larutan daun salam memberikan pengaruh nyata terhadap kelulushidupan ikan lele dumbo ($P<0,05$).

Kualitas Air

Pengukuran kualitas air selama penelitian adalah Suhu, pH, DO dan amoniak. Kualitas air selama penelitian berada dalam kisaran baik untuk pemeliharaan ikan lele dumbo. Data kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kualitas Air Selama Penelitian

Pengukuran	Kualitas Air		Baku Mutu*
	Awal Pemeliharaan	Pascapengobatan	
Suhu (°C)	27,3–27,6	27,3–28,0	25-30
pH	6,5–6,6	6,6–6,8	6,5-8,0
DO (mg/L)	3,4–3,5	4-4,2	>3
Amoniak (mg/L)	0,01	0,01-0,02	<0,2

Ket: SNI 6484.3:2014

Berdasarkan Tabel 5, suhu selama penelitian berkisar antara 27,3-28,00°C, suhu pada kisaran ini baik untuk pemeliharaan ikan lele dumbo. Hal ini sesuai dengan Mulia *et al.* (2015) bahwa suhu 27-28°C layak untuk kehidupan ikan lele dumbo. Oksigen terlarut sangat diperlukan untuk respirasi dan metabolisme serta kelangsungan hidup organisme. Oksigen terlarut selama penelitian berkisar 3,4-4,2 mg/L. Hal ini sesuai dengan pernyataan Suminto *et al.* (2018) bahwa oksigen terlarut dalam air (DO) kisaran 3,3-6,5 mg/L layak untuk kehidupan ikan lele dumbo (*C. gariepinus*). Kadar amonia selama penelitian berkisar antara 0,01-0,02 mg/L, sesuai dengan pernyataan Putri (2014) bahwa kandungan amonia untuk ikan lele dumbo sebaiknya tidak lebih dari 0,2 mg/L.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh perendaman daun salam (*S. polyantha*) dalam mempercepat penyembuhan ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Perlakuan terbaik terdapat pada P₃ (Perendaman lautan daun salam dengan dosis 1200 ppm) dengan rata-rata total leukosit adalah 12,61 sel/mm³, limfosit adalah 84,66 %, monosit adalah 12,33%, neutrofil adalah 16,00%, aktivitas fagositosis adalah 35,33% dan kelulushidupan mencapai 96,67%. Parameter kualitas air selama penelitian yaitu, suhu berkisar antara 27,3°C - 28°C, pH berkisar antara 6,6–6,8, oksigen terlarut (DO) berkisar antara 4 - 4,2 mg/L, dan amoniak (NH₃) berkisar antara 0,01-0,02 mg/L.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui pengaruh larutan daun salam pada beberapa dosis tertentu terhadap organ dalam ikan lele dumbo melalui pengamatan histopatologi.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada dosen pembimbing yang telah banyak membantu penulis dalam melakukan penelitian dan penulisan artikel ini, serta kepada jurusan budidaya perairan fakultas perikanan dan kelautan universitas riau yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan pendidikan sarjana perikanan.

6. DAFTAR PUSTAKA

Apriliana, L., Susilowati, T., Harjuno, A., Basuki, F., Yuniarti, T. 2018. Uji Penggunaan Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*) Sebagai Antibakteri Untuk Mengobati Infeksi *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*: 2 (2018) 2:36-43.

- Bastiawan, D., Wahid, A., Alifudin, A dan Agustiawan, I. 2001. Gambaran Darah Lele Dumbo (*Clarias* sp) yang diinfeksi Cendawan *Aphanomyces* sp pada pH yang Berbeda. *Jurnal Penelitian Indonesia*, 7 (3) : 44 – 47.
- Blaxhall, P. C., Daisley, K. W. 1973. Routine Haematological Methods for Use with Fish Blood. *Journal of Fish Biology*. 5 (6): 771-781.
- Chandra. 2018. Diferensiasi Leukosit Ikan Jambal Siam *Pangasius hypophthalmus* yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila* dan Diobati dengan Ekstrak Daun *Rhizophora* sp. [Jurnal]. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau. 13.
- Firly, WR., Mahasri, G dan Sumartiwi, L. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak *Sargassum* sp. dengan Pelarut Metanol pada Pakan terhadap Jumlah Eritrosit dan Diferensiasi Leukosit Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 7 (2): 213-218.
- Harpeni, E., Santoso, L., Sari, W.R., dan Purna, D.O. 2015. Kajian *Ulva* sp. Sebagai Suplemen Pakan terhadap Performa Pertumbuhan dan Respon Imun Non-Spesifik Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) *Maspari Journal* 7(2):65-84.
- Lukistyowati, I., Syatma, M. 2016. Potensi Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L) yang Dicampur Dalam Pakan Untuk Meningkatkan Ketahanan Tubuh dan Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Terhadap Penyakit *Motile Aeromonas Septicemia*. Berkala Perikanan Terubuk Vol.44 No.1 Februari 2016 : 1 – 16.
- Mulia, D. S., Wahyuningsih, S., Maryanto, H., Purbomartono, C. 2015. Uji Lapangan Pakan Bervaksin *Aeromonas hydrophila* pada Lele Dumbo di Daerah Cilacap. *Techno*. 16 (2) : 85-97.
- Nurul, S., Effendy, R., Widjiastuti, I. 2016. Konsentrasi Efektif Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight) terhadap Hambatan Biofilm *Enterococcus faecalis*. *Conservative Dentistry Journal* Vol.6 No.2 Juli-Desember 2016 : 87-92.
- Payung NR, Manopo H. 2015. Peningkatan Respon Kebal Nonspesifik dan Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Melalui Pemberian Jahe (*Zingiber Officinale*). *Jurnal Budidaya Perairan* Vol.3 No.1 11-18. Univesitas Sam Ratulangi, Manado.
- Putri, A. S. 2014. Pemanfaatan Bakteri Heterotrof Terhadap SR (*Survival Rate*) dan Laju Pertumbuhan Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.) dengan Sistem Tanpa Pergantian Air. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga.
- Preagrer C. I. H., Utama, I. Kardena, M. 2016. Gambaran Ulas Darah Ikan Lele di Denpasar Bali. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Udaya. *Indonesia Medicus Veterinus*. 5(2): 96-103.
- Raa J. 2000. The use of immune-stimulants in fish and shellfish feeds. University of Tromso Norway
- Ramadhi, V. 2019. Sensitivitas Larutan Daun Salam (*Syzygium polyantha*) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Skripsi. Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau.

-
- Sugiani, D., Sukenda., Haris, E., Lusiastuti. 2012. Pengaruh Ko-Infeksi Bakteri *Streptococcus agalactiae* Terhadap Gambaran Hematologi dan Histopatologi Ikan Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Jurnal Ris Akuakultur VII (1) : 85-91.
- Syatma, M. 2016. Penambahan Simplisia Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangosta* L.) dalam Pakan terhadap diferensiasi Leukosit Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) yang diinfeksi *A. hydrophyla*. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau. 112 hlm.
- Tiara Eka Saputri., Mahmud kholifah, dan yuletnawati. 2015. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Terhadap Hambatan Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus Faecalis* Dominan Di Saluran Akar *In Vitro*. [Jurnal]. Surakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta. 9 hlm.
- Utami, D, T., Prayitno, S, B., Hastuti, S., Santika, A. 2013. Gambaran Parameter Hematologis Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diberi Vaksin DNA *Streptococcus iniae* Dengan Dosis yang Berbeda. *Journal of Akuaculture Managemen and Technology*. II (4) : 7-20.