



Efek Perendaman Ikan Jambal Siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) Dalam Larutan Kulit Nanas (*Ananas comosus*) Terhadap Gambaran Leukosit

The Effect Of Soaking Jambal Siam Fish (*Pangasianodon hypophthalmus*) In Pineapple Peel (*Ananas comosus*) Solution On Leukocyte Image

Herparinda Novita^{1*}, *Morina Riauwaty*², dan *Henni Syawal*²

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

2) Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

INFORMASI ARTIKEL

Diterima: 01 Maret 2023

Disetujui: 15 Mei 2023

Keywords:

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

ABSTRACT

This research was carried out in July 2021 – September 2021 at the Laboratory of Parasites and Fish Diseases. This study aims to obtain the best dose of pineapple peel solution. This study used a Complete Randomized Design (RAL) consisting of 5 treatments and 3 tests. The treatment in this study was that there was an influence where the best treatment was found in P2 (Soaking of pineapple skin solution dose 1,800 ppm tested challenged with *A. hydrophila* bacteria) with an average total leukocytes of 9.92×10^4 cells / mm³, total lymphocytes 82.67%, total monocytes 9.33%, neutrophil value 8.00% phagocytic value 37.00%, siamese jambal fish dilution classified as good with a value of 93.33%, and water quality during the study temperatures ranged from 27.3–29°C, pH 6.3–6.6, DO 3.4–4.2 mg/L, and NH₃ 0.01–0.02 mg/L.

1. PENDAHULUAN

Ikan jambal siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) merupakan jenis ikan *catfish* yang berasal dari perairan Negara Thailand dan Vietnam. Salah satu desa di Provinsi Riau, Kabupaten Kampar, Desa Koto Masjid saat ini telah menjadikan Central budidaya ikan patin dengan luas usaha budidaya mencapai 62 Ha, dan telah berproduksi sebanyak 60 ton perhari (Anonim, 2014). Kendala yang dihadapi oleh pembudidaya ikan adalah penurunan tingkat produksi ikan yang disebabkan oleh bakteri. Penyebaran bakteri pada ikan umumnya sangat cepat serta dapat menyebabkan kematian yang sangat tinggi, yaitu sekitar 80-100% dalam waktu 1-2 minggu. Salah satu jenis bakteri yang sering menginfeksi ikan pada budidaya air tawar adalah *Aeromonas hydrophila* atau dikenal dengan nama penyakit “*Motile Aeromonas Septicemia* (MAS)”. Pencegahan penyakit (MAS) Penggunaan bahan kimia cenderung tidak ramah lingkungan dan ada yang bersifat karsinogenik. Penggunaan bahan kimia dapat menyebabkan bakteri patogen menjadi resisten. Sehubungan dengan permasalahan tersebut pemanfaatan bahan-bahan alami yang ada di sekitar kita dapat dijadikan salah satu alternatif

* Corresponding author

E-mail address: adehelfris01@gmail.com

pengecahan untuk mengatasi penyakit ini adalah dengan menggunakan kulit nanas (*A. comosus*). depended on the human activities in the surrounding area (Islami et al., 2012).

2. METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

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

Bahan dan Alat

Bahan uji yang digunakan untuk penelitian ini adalah kulit nanas (*Ananas comosus*) yang berasal dari Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau (FPK UNRI), serta isolat bakteri dari FPK UNRI. Ikan Jambal Siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) diperoleh dari usaha pembenihan Ikan di Jalan Budidaya Kota Pekanbaru Riau, dengan ukuran 10-12 cm sebanyak 150 ekor.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), satu faktor dengan lima taraf perlakuan. Untuk memperkecil kekeliruan, setiap media perlakuan dilakukan tiga kali ulangan, sehingga diperlukan 15 unit percobaan. Dosis yang digunakan mengacu pada hasil uji pendahuluan, dosis LD₅₀ ikan jambal siam dengan perendaman larutan kulit nanas adalah pada konsentrasi 18% setara dengan 1.800 ppm.

- Kn : Kontrol negatif tanpa perendaman larutan kulit nanas dan diuji tantang dengan (*A. hydrophila*)
- Kp : Kontrol positif tanpa perendaman larutan kulit nanas dan diuji tantang dengan *A. hydrophila*
- P₁ : Perendaman dalam larutan kulit nanas dosis 1.600 dan diuji tantang *A. hydrophila*
- P₂ : Perendaman dalam larutan kulit nanas dosis 1.800 dan diuji tantang *A. hydrophila*
- P₃ : Perendaman dalam larutan kulit nanas dosis 1.200 dan diuji tantang *A. hydrophila*

Prosedur Penelitian

Persiapan Wadah

Wadah dalam penelitian yang digunakan adalah akuarium dengan ukuran 40x30x30 cm sebanyak 15 unit. Sebelum digunakan terlebih dahulu akuarium dibersihkan, lalu diisi air sampai penuh dan diberi larutan KMnO₄ dan didiamkan selama 24 jam dengan tujuan agar wadah bebas dari mikroorganisme patogen. Setelah itu, akuarium dibilas dan dikeringkan. Kemudian akuarium diisi dengan air pemeliharaan yang berasal dari sumur bor yang telah diendapkan di dalam tangki yang diberi aerasi selama 2 x 24 jam dengan tujuan menaikkan pH dan kadar oksigen terlarut (DO). Masing-masing akuarium diisi air sebanyak 20L.

Pembuatan Larutan Daun Salam (*S. polyantha*)

Pembuatan larutan kulit nanas dilakukan pada saat ikan akan diberi perlakuan. Pembuatan larutan kulit nanas (*A. comosus*) dilakukan dengan cara mempersiapkan bahan kulit nanas (*A. comosus*) yang sudah berwarna kuning kehijauan dikumpulkan sebanyak 200 g dari penjual buah nanas di Pasar pag Jl.Subrantas Panam. Selanjutnya kulit nanas dicuci dengan air mengalir, ditiriskan, dan dipotong menjadi dadu. Kemudian bahan tersebut diblender sampai halus. Lalu bahan yang telah diblender sampai halus disaring menggunakan kertas saring. Dari 200 g kulit nanas menghasilkan 80 mL larutan kulit nanas, kemudian ditampung dalam beker glass. Larutan kulit nanas siap digunakan dengan konsentrasi 1.600 ppm, 1.800 ppm dan 2.000 ppm.

Pemeliharaan dan Perendaman

Pemeliharaan ikan dilakukan selama 44 hari dan selama pemeliharaan benih ikan uji diberi pakan komersial tiga kali sehari, yaitu pada pagi 08:00, siang 12:00 dan sore hari 16:00, pemberian pakan dilakukan secara *Satiation*. Perendaman dilakukan 4 kali, yaitu setelah adaptasi ikan (Hari ke-7, 14, 21, dan 28). Ikan uji direndam dalam 10 liter air yang telah diberi larutan kulit nanas sesuai dosis perlakuan selama 5 menit. Menurut Lukistyowati, (2012) pada larutan dengan konsentrasi tinggi

ikan direndam selama 1-5 menit. Selama perendaman tetap diberi aerasi., kemudian ikan dikembalikan ke akuarium untuk dipelihara dan diamati gejala klinisnya. Selama pemeliharaan dilakukan penyiponan setiap hari pada waktu pagi hari. Pada hari ke-32, kemudian dilakukan ujiantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Setelah diuji tantang ikan dipelihara kembali selama 14 hari.

Pengambilan Darah

Pengambilan darah dilakukan dengan cara ikan terlebih dahulu dibius dengan minyak cengkeh dosis 0,1 ml/L selama ± 5 menit. Sebelum pengambilan darah, *syringe* ukuran 1 mL dan tabung eppendorf dibasahi dengan EDTA 10% untuk mencegah pembekuan darah. Pengambilan darah dilakukan di bagian *vena caudalis*, kemudian darah yang berada dalam *syringe* dimasukkan ke dalam tabung eppendorf. Pengambilan darah untuk ikan uji dilakukan pemeriksaan darah sebanyak 3 kali, pengambilan pertama dilakukan sebelum diberi perlakuan yaitu pada hari ke-5, pengambilan kedua dilakukan pada hari ke-30 pemeliharaan dan pengambilan ketiga dilakukan pada hari ke-14 pasca uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Pengambilan darah dilakukan untuk pemeriksaan Leukosit, Limfosit, Monosit.

Peremajaan Isolat Bakteri

Isolat bakteri *A. hydrophila* yang digunakan pada penelitian ini berasal dari stok bakteri di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. Stok isolat bakteri *A. hydrophila* ditumbuhkan pada media GSP dan dibuat stok pada agar miring, agar biakan bertahan lebih lama. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 28°C setelah diinkubasi dilihat koloni yang tumbuhnya seragam, untuk bakteri stok isolat bakteri *A. hydrophila* yang ada pada media GSP berubah menjadi warna kuning. dikultur ke media TSA kemudian diinkubasikan selama 24 jam dalam inkubator. Bakteri *A. hydrophila* yang telah tumbuh pada media TSB divortex selama ± 1 menit agar bakteri homogen dengan media. Kemudian bakteri dicentrifuge dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit agar bakteri *A. hydrophila* benar-benar terpisah dengan media. Bakteri murni yang didapat ditambahkan dengan larutan PBS sebanyak 10 ml kemudian dicentrifuge dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Larutan PBS akan terpisah dari bakteri, lalu larutan PBS dibuang sampai yang tertinggal hanya endapan bakteri (pellet) di dasar tabung. Kemudian bakteri ditambahkan larutan PBS sebanyak 10 ml, dicentrifuge dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit untuk kedua kalinya.

Larutan PBS yang terpisah dibuang dan pelet ditambahkan larutan PBS lagi sedikit demi sedikit sampai warnanya sama/ setara dengan warna larutan Mc. Farland no.1 kemudian divortex agar bakteri homogen. Untuk mendapatkan kepadatan bakteri 10^8 CFU/ml dilakukan menggunakan spektrofotometer. Larutan standar Mc Farland no. 1 dimasukkan ke dalam tube spektrofotometer, kemudian bakteri *A. hydrophila* juga dimasukkan ke dalam tube ke-2 spektrofotometer. Kemudian OD (*Optical Density*) diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang yang digunakan 600 nm.

Uji Tantang

Setelah dipelihara selama 30 hari, hari ke-31 ikan diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* kepadatan 10^8 CFU/ml sebanyak 0,1 ml/ekor dengan cara penyuntikan secara intramuscular menggunakan *syringe* ukuran 1 ml. Setelah ikan diuji tantang, ikan dikembalikan ke akuarium dan dipelihara selama 14 hari dan di amati gejala klinisnya.

Parameter yang diukur

Pengamatan Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis meliputi perubahan morfologi berupa (warna tubuh, luka/borok, mata menonjol, perut gembung, dan sirip rusak). Pengamatan gejala klinis dilihat selama 72 jam pasca uji tantang bakteri *A. hydrophila*.

Total Leukosit

Perhitungan total leukosit mangacu pada Blaxhall dan Daisley (1973) Syatma (2016), yaitu dengan cara sampel darah dihisap dari mikrotube dengan menggunakan pipet leukosit hingga skala 0,5 dan

ditambahkan larutan Truk hingga garis 11, setelah homogen, darah dibuang sebanyak dua tetes dengan tujuan untuk menghilangkan udara, lalu darah diteteskan pada kotak *haemocytometer* dan ditutup dengan *cover glass*. Selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400kali. 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

Darah sampel diambil dan diteteskan pada gelas objek pada bagian sisi kanan. Gelas objek lain diletakkan disebelah kanan darah membentuk sudut 30⁰. Gelas objek tersebut ditarik ke arah kiri dengan tetap menyentuh darah tersebut hingga membentuk preparat ulas darah yang cukup tipis sehingga mudah diamati. Setelah itu, preparat ulas dikeringanginkan. Preparat ulas yang telah kering lalu difiksasi dalam larutan methanol 95% selama 5-10 menit. Setelah itu, preparat ulas dikering anginkan. Preparat ulas direndam dalam larutan Giemsa selama 10-15 menit. Selanjutnya dibilas dengan akuades dan kembali dikeringanginkan. Setelah itu, preparat ulas dapat diamati di bawah mikroskop. Persentase sel-sel fagositosis dapat dihitung dengan cara mengamati jumlah sel-sel yang memfagosit bakteri hingga berjumlah 100 sel. Adapun cara per-hitungannya adalah sebagai berikut :

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

Tingkat Kelulushidupan

Kelulushidupan ikan lele dumbo (*C. gariiepinus*) 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 :

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

Dimana : SR = Kelulushidupan (%)
Nt = Jumlah ikan yang hidup pada akhir penelitian (ekor)
No = Jumlah ikan yang hidup pada awal penelitian (ekor)

Kualitas Air

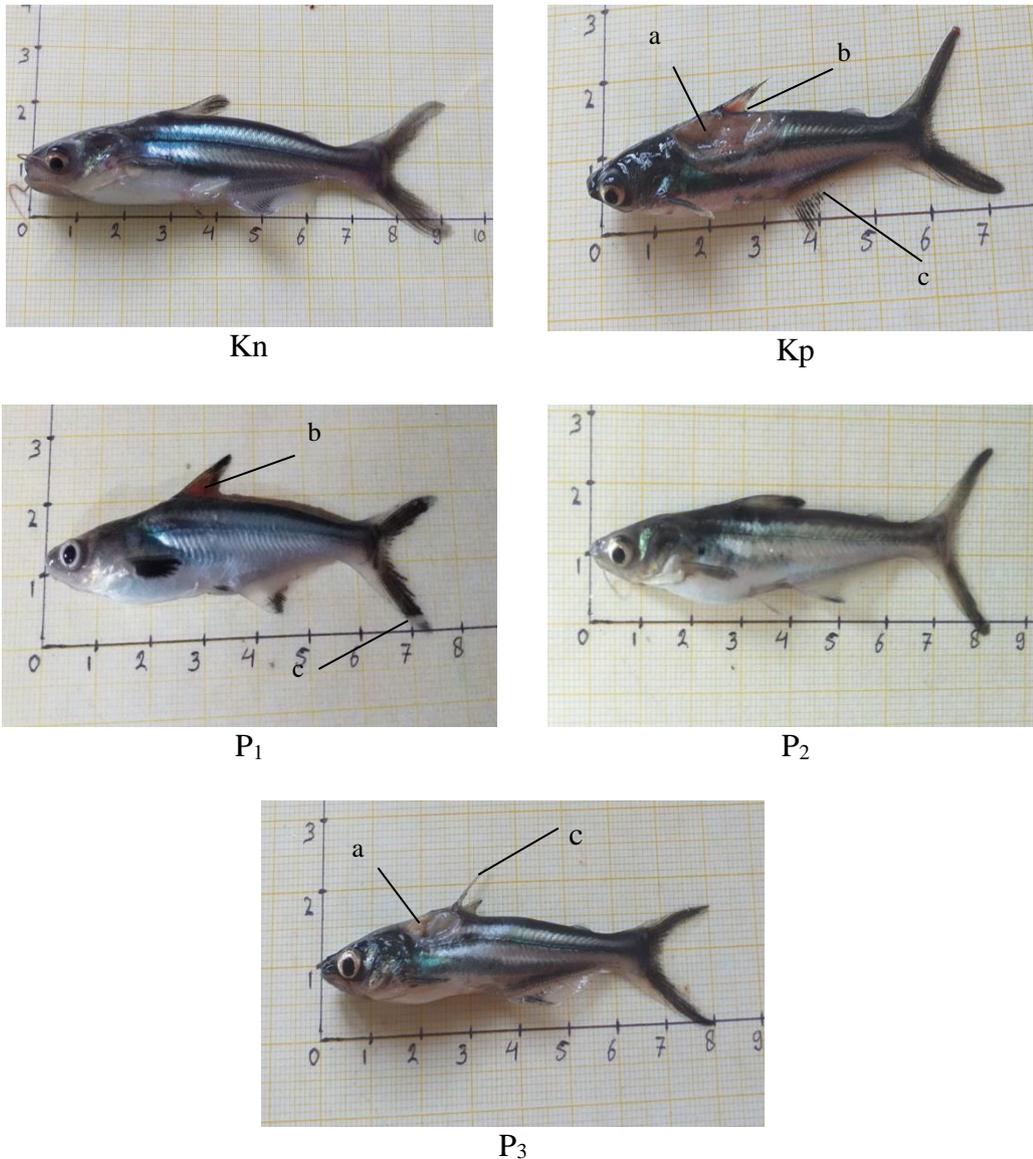
Parameter kualitas air yang diukur adalah suhu, pH, DO, dan amoniak. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali, yaitu awal, tengah, dan akhir penelitian. Alat yang digunakan adalah termometer, pH meter, DO meter dan spektrofotometer.

Analisis Data

Data parameter kualitas air dan pengamatan gejala klinis ikan dianalisis secara deskriptif. Data hasil penelitian yang meliputi pengukuran total leukosit, diferensiasi leukosit, dan aktivitas fagositosis, serta kelulushidupan hidup dan ditabul bentuk tabel atau grafik. Data kemudian dianalisis homogenitasnya dan selanjutnya dianalisa menggunakan analisa variansi (ANOVA). Apabila perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata dimana $P < 0.05$ maka dilakukan uji lanjut Newman-Keuls untuk menentukan perbedaan dari masing-masing perlakuan (Sudjana, 1992).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Klinis Ikan Jambal Siam (*Pangasianodon hypophthalmus*)



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

Keterangan: Kn = Kontrol negatif (tanpa perendaman larutan kulit nanas dan tidak diujitantang bakteri *A. hydrophila*); Kp = Kontrol positif (tanpa perendaman larutan kulit nanas dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*); P1 = Perendaman larutan kulit nanas dosis 1,600 ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*; P2 = Perendaman larutan kulit nanas 1,800 ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*; P3 = Perendaman larutan kulit nanas dosis 2,000 ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*. ; a = Luka; b = Hemoragi; c = Sirip putus.

Gejala klinis pada perlakuan P2 menunjukkan gejala klinis yang lebih ringan dari pada perlakuan P1 dan P3, yaitu hanya terjadi peradangan di bagian bekas suntikan pada 48 jam pascaujitantang dan peradangan hanya bertahan selama dua hari. Larutan kulit nanas memiliki empat senyawa aktif meliputi : flavonoid, saponin, tannin, dan bromelin. Kulit nanas memiliki senyawa aktif yang tertinggi adalah flavonoid (3,82%) yang berperan penting menjadi antibakteri, menurut (Marlin, 2018) .

Total Leukosit

Perhitungan total leukosit dilakukan untuk melihat perubahan total leukosit yang terjadi di awal pemeliharaan, hari ke-30 pemeliharaan dan 14 hari pasca uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Nilai dari total leukosit masing-masing perlakuan selama penelitian yang terhitung dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. Total Leukosit ($\times 10^4$ sel/mm³) pada Ikan Jambal Selama Penelitian

Perlakuan	Total Leukosit ($\times 10^4$ sel/mm ³)		
	Awal Pemeliharaan	Hari ke-30	Hari ke-14 Pasca ujitantang
Kn	7,25±0,97	7,36±0,67 ^a	7,50±1,13 ^a
Kp	7,30±0,30	7,15±0,45 ^a	9,05±0,96 ^b
P1	7,25±2,40	7,85±1,81 ^b	9,53±1,96 ^c
P2	7,21±1,19	8,37±1,58 ^c	9,92±2,20 ^d
P3	7,23±1,65	8,64±1,62 ^d	10,52±1,29 ^e

Keterangan: Kn = Kontrol negatif (tanpa perendaman larutan kulit nanas dan tidak diujitantang bakteri *A. hydrophila*); Kp = Kontrol positif (tanpa perendaman larutan kulit nanas dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*); P1 = Perendaman larutan kulit nanas dosis 1,600 ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*; P2 = Perendaman larutan kulit nanas 1,800 ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*; P3 = Perendaman larutan kulit nanas dosis 2,000 ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*. Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$); ± Standar Deviasi (SD).

Berdasarkan Tabel 5 dapat diketahui bahwa total leukosit ikan jambal siam pada awal pemeliharaan berkisar antara 7,21-7,30 $\times 10^4$ sel/mm³. Menurut Dontriska *et al.* (2014), total leukosit ikan jambal siam normal 7,24-11,98 $\times 10^4$ sel/mm³. Total leukosit ikan jambal siam pada hari ke 30 pemeliharaan mengalami peningkatan menjadi 7,15-8,64 $\times 10^4$ sel/mm³ dimana total leukosit tertinggi terdapat pada P3 8,64 $\times 10^4$ sel/mm³, nilai ini lebih tinggi. Sinaga (2020), dimana nilai total leukosit ikan jambal siam dengan perendaman larutan kulit nanas 1,5 ppm yaitu 7,87 $\times 10^4$ sel/mm³.

Berdasarkan ikan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan perendaman larutan kulit nanas memberikan pengaruh nyata terhadap total leukosit pada ikan jambal siam pasca ujitantang dengan *A. hydrophila* ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut Newman-Keuls menunjukkan pada perlakuan Kn berbeda nyata dengan Kp, P1, P2 dan P3 (Lampiran 10). Leukosit merupakan sel-sel darah yang berperan dalam sistem kekebalan dan juga berfungsi membersihkan tubuh dari benda asing. Leukosit memiliki fungsi terhadap respon kekebalan, apabila ada zat asing atau antigen yang masuk ke dalam tubuh maka leukosit akan membuat antibodi yang akan digunakan oleh sistem kekebalan tubuh untuk memberikan rangsangan, mengidentifikasi dan menetralkan benda asing (antigen) yang masuk, seperti bakteri. Bakteri yang masuk ke dalam tubuh ikan akan diidentifikasi oleh leukosit sebagai antigen (Hazzulli *et al.* 2015). Saat terjadi infeksi, maka leukosit diarahkan menuju ke tempat terjadinya infeksi untuk memberikan pertahanan yang cepat terhadap gen infeksi, pada saat ikan terinfeksi bakteri maka jumlah leukosit akan meningkat (Fauzan *et al.* 2017).

Total leukosit ikan jambal siam tertinggi pasca ujitantang dengan *A. hydrophila* terdapat pada P3 (2,0 ppm), yaitu 10,52 $\times 10^4$ sel/mm³. Peningkatan jumlah leukosit disebabkan karena leukosit berfungsi

sebagai pertahanan dalam tubuh yang bereaksi cepat terhadap masuknya antigen ke dalam tubuh ikan (Bahariansyah, 2014). Hal ini sependapat dengan pernyataan kresno (2017) bahwa tingginya sel leukosit merupakan reflex keberhasilan sistim imunitas ikan dalam mengembangkan respon imunitas seluler (non spesifik) sebagai pemicu respon kekebalan.

Diferensiasi Leukosit Ikan Lele Dumbo (Clarias Gariepinus)

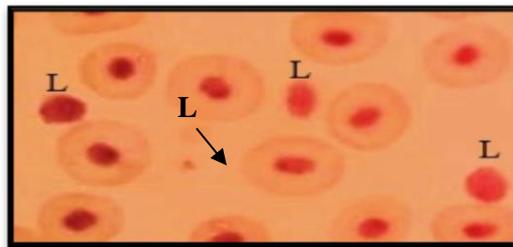
Hasil pengamatan diferensiasi leukosit selama penelitian merupakan rata-rata persentase tiga jenis sel leukosit yaitu limfosit, neutrofil dan monosit dari ulangan pada masing-masing perlakuan. Hasil pengamatan terhadap diferensiasi leukosit pada ikan jambal siam dapat dilihat pada 2.

Tabel 2. Diferensiasi Leukosit pada Ikan Jambal Siam Selama Penelitian

Diferensiasi Leukosit	Perlakuan	Persentase Sel (%)		
		Limfosit	Monosit	Neutrofil
Awal Pemeliharaan	Kn	74,33±0,58	12,33±0,58	13,33±0,58
	Kp	74,00±1,00	12,33±0,58	13,67±0,58
	P1	74,00±1,00	11,67±0,58	14,33±0,58
	P2	75,00±1,53	11,00±1,73	14,00±1,00
	P3	74,33±0,97	12,00±0,99	13,67±0,58
Hari ke-30	Kn	75,33±1,53 ^a	12,67±0,58 ^c	12,00±1,73 ^b
	Kp	75,67±0,58 ^a	12,33±0,58 ^c	12,00±1,00 ^b
	P1	81,00±1,00 ^b	7,67±1,15 ^{ab}	11,33±1,53 ^b
	P2	83,33±1,15 ^b	6,67±0,58 ^a	10,00±1,00 ^{ab}
	P3	82,33±1,53 ^b	9,67±2,08 ^b	8,00±1,00 ^a
Pascaujitantang (Hari ke-14)	Kn	75,00±2,00 ^b	11,67±0,58 ^{ab}	13,33±1,53 ^b
	Kp	52,67±1,53 ^a	28,67±2,08 ^c	18,67±0,58 ^c
	P1	78,67±0,58 ^c	12,00±1,73 ^{ab}	9,33±2,52 ^a
	P2	82,67±0,58 ^d	9,33±1,15 ^a	8,00±1,73 ^a
	P3	79,00±1,00 ^c	13,33±0,58 ^b	7,67±1,53 ^a

Keterangan: Kn = Kontrol negatif (tanpa perendaman larutan kulit nanas dan tidak diujitantang bakteri *A. hydrophila*); Kp = Kontrol positif (tanpa perendaman larutan kulit nanas dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*); P1 = Perendaman larutan kulit nanas dosis 1,6 ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*; P2 = Perendaman larutan kulit nanas 1,8 ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*; P3 = Perendaman larutan kulit nanas dosis 2,0 ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*. Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$); ± Standar Deviasi (SD).

Limfosit



Gambar 2. Morfologi Sel Limfosit (Perbesaran 1000x)

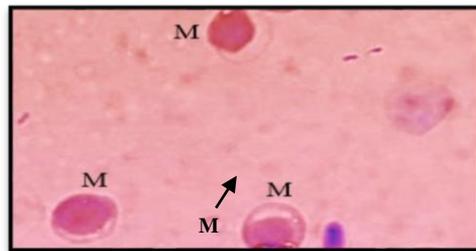
Keterangan: Limfosit

Hasil ikan uji statistik analisis variansi (ANOVA), menunjukkan bahwa perendaman dengan larutan kulit nanas memberikan pengaruh nyata terhadap persentase limfosit ikan jambal siam ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut Newman-Keuls menunjukkan bahwa Kn berbeda nyata terhadap Kp, P1, P2 dan P3. Limfosit berperan penting dalam pembentukan antibodi. Persentase limfosit pasca uji tantang yang tertinggi terdapat pada perlakuan P2 (1.800 ppm) yaitu 82,67%, sedangkan persentase limfosit terendah ada pada Kp (tanpa perendaman larutan kulit nanas) yaitu 52,67%. Perlakuan Kp terjadi penurunan karena ikan masih mengalami stress akibat terinfeksi bakteri patogen dan sistem kekebalan

tubuh yang rendah, sedangkan pada perlakuan P2 ikan sudah mulai normal kembali karena sistem kekebalan tubuh sudah terbentuk. Hal ini dikarenakan perendaman dengan larutan kulit nanas mampu meningkatkan limfosit dalam darah.

Peningkatan persentase limfosit disebabkan karena adanya kandungan senyawa flavonoid dalam larutan kulit nanas. Flavonoid bersifat sebagai *imunostimulan* yang dapat meningkatkan kerja dari sistem imun. Flavonoid mampu memacu *proliferasi* limfosit sehingga terjadi peningkatan jumlah sel limfosit. Menurut Asep (2014), flavonoid dapat memacu *proliferasi* limfosit, meningkatkan jumlah sel T, dan meningkatkan sekresi terhadap IL-2, sedangkan menurut Laswati (2017) senyawa flavonoid ini berfungsi sebagai antimikrobia, antivirus, antioksidan merangsang pembentukan estrogen dan mengobati gangguan fungsi hati. Vitamin C di dalam tubuh juga berfungsi dalam fungsi *biochemical* tubuh, katekolamin di sistem saraf, membantu absorpsi besi, menstimulasi aktivitas antibodi dan sel sistem imun, diantaranya adalah limfosit B (sel B) dan limfosit T (sel T) (Nugroho, 2013).

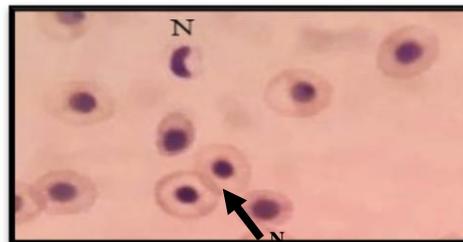
Monosit



Gambar 3. Morfologi Sel Monosit (Perbesaran 1000x)
Keterangan: Monosit

Persentase monosit pada ikan jambal siam diawal pemeliharaan berkisar 11,00-12,33% pada 30 hari pemeliharaan menjadi 6,67-12,67% dan pasca ujiantang berkisar 9,33-28,67%. Menurut Lukistyowati *et al.*, (2007) persentase jumlah monosit hanya mencapai 0,1-3% dari total darah putih. Menurut Sitepu (2016), nilai monosit ikan dalam kondisi normal adalah 7,79-29,20%. Persentase monosit yang tinggi merupakan indikasi adanya pertahanan tubuh yang terbentuk karena masuknya patogen atau benda asing ke dalam tubuh. Monosit dalam melaksanakan fungsi sistem imun berperan sebagai *makrofag* yakni menelan dan menghancurkan sel mikroorganisme dan benda asing yang bersifat patogen. Hal ini bertujuan untuk menekan terjadinya infeksi patogen (Hartika, 2014). Menurut Sugiani *et al.*, (2012) apabila terjadi suatu serangan patogen atau benda asing pada ikan maka akan terjadi respons imun alami yang melibatkan sirkulasi dan perbaikan jaringan melalui respons fagosit granulosit (neutrofil, eosinofil sel granular) monosit dan sel makrofag. Ikan dapat membentuk pertahanan diri terhadap serangan infeksi bakteri. Akan tetapi, respons imun alami ini hanya dapat bertahan dan berfungsi dengan baik pada beberapa hari atau minggu setelah adanya invasi bakteri ke dalam tubuh.

Neutrofil



Gambar 4. Morfologi Sel Neutrofil (Perbesaran 1000x)
Keterangan: Neutrofil

Jumlah neutrofil pada perlakuan Kp mengalami peningkatan, hal ini karena sel neutrofil masih bekerja dalam proses menekan infeksi bakteri yang terjadi. Tingginya neutrofil ini dapat meningkatkan

aktivitas fagosit. Menurut Rustikawati (2012), sel-sel fagosit yang terbentuk diantaranya monosit dan neutrofil akan memfagosit benda asing juga mengeluarkan senyawa oksidatif yang akan menghancurkan patogen. Menurut Sukenda *et al.*, (2008) peningkatan jumlah neutrofil disebabkan oleh adanya infeksi patogen. Jumlah neutrofil meningkat karena dalam tubuh ikan telah terbentuk sistem pertahanan tubuh, sehingga saat terjadi infeksi yang disebabkan oleh masuknya zat asing, neutrofil diproduksi oleh limfa untuk dikirim ke tempat yang terinfeksi.

Aktifitas Fagositosis

Perhitungan aktivitas fagositosis dilakukan untuk melihat kemampuan sel leukosit untuk memakan benda asing khususnya serangan bakteri patogen pada ikan di awal pemeliharaan, hari ke-30 pemeliharaan dan pascaujitantang dengan *A. hydrophila*. Hasil pengamatan aktivitas fagositosis sel leukosit ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*) selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase Aktivitas fagositosis Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) Selama Penelitian
Rerata Sel Leukosit Yang Melakukan Aktivitas Fagositosis (%)

Perlakuan	Rerata Sel Leukosit Yang Melakukan Aktivitas Fagositosis (%)		
	Awal Pemeliharaan	Hari ke-30	Pascauji tantang
Kn	20,33±0,58	19,33±2,52 ^a	21,67±1,53 ^a
Kp	20,00±1,73	22,33±0,57 ^a	20,67±0,58 ^a
P1	20,67±1,53	27,33±2,31 ^b	32,67±2,52 ^b
P2	21,00±1,00	29,33±3,05 ^b	37,00±1,73 ^c
P3	19,67±2,08	28,67±1,53 ^b	33,67±1,15 ^b

Keterangan: Kn = Kontrol negatif (tanpa perendaman larutan kulit nanas dan tidak diujitantang bakteri *A. hydrophila*); Kp = Kontrol positif (tanpa perendaman larutan kulit nanas dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*); P1 = Perendaman larutan kulit nanas dosis 1,600 ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*; P2 = Perendaman larutan kulit nanas 1,800 ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*; P3 = Perendaman larutan kulit nanas dosis 2,0 00ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*. Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$); ± Standar Deviasi (SD).

Berdasarkan Tabel 8, kisaran aktivitas fagositosis awal pemeliharaan berkisar antara 19,33-21,33% dan kisaran aktivitas fagositosis pada hari ke-30 pemeliharaan berkisar antara 21,67-27,67%. Nilai yang terendah terdapat pada perlakuan Kn 21,67% dan tertinggi pada perlakuan P₃ 27,67%. Hal inimenunjukkan bahwa perendaman dengan larutan kulit nanas mampu meningkatkan aktivitas fagositosis sel leukosit ikan jambal siam. Menurut Nuryati *et al.*(2010) bahwa fagosit adalah bagian paling kuat dan paling penting dari sistem pertahanan tubuh yang dapat beroperasi segera dalam melawan invasi mikroorganisme setelah melintasi permukaan tubuh dan masuk ke dalam tubuh.

Aktivitas fagositosis ikan jambal siam pasca ujitantang dengan *A. hydrophila* berkisar antara 17,67-36,67%, dimana yang terendah pada perlakuan Kp, yaitu 17,67%, dan tertinggi pada perlakuan P₃, yaitu 36,67%. Pada perlakuan Kp, menunjukkan penurunan jumlah sel yang melakukan aktivitas fagositosis dan pada perlakuan P₁, P₂ dan P₃ terlihat peningkatan. Hal ini diduga larutan kulit nanas mampu menstimulasi aktivitas sel fagosit. Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan perendaman dengan larutan daun kersen pasca ujitantang dengan *A. hydrophila* memberikan pengaruh nyata terhadap indeks fagositosis ikan jambal siam ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut studi Newman Keuls menunjukkan Kn berbeda nyata terhadap perlakuan Kp, P₁, P₂ dan P₃.

Tingkat Kelulushidupan

Kelulushidupan ikan jambal siam (*P. hypophthalmus*) selama penelitian dapat dilihat pada awal pemeliharaan, hari ke-30 pemeliharaan dan pascaujitantang dengan *A. hydrophila*. Kelulushidupan

ikan dapat dijadikan indikator apakah perendaman larutan daun kersen dapat mempengaruhi kesehatan ikan setelah diujitantang dengan bakteri. Pengamatan terhadap kelulushidupan ikan jambal siam selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kelulushidupan Ikan Jambal Siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) Selama Penelitian

Perlakuan	Kelulushidupan/SR (%)	
	Awal pemeliharaan	Akhir Pemeliharaan
Kn	100	96,67 ± 5,78 ^c
Kp	100	33,33 ± 5,78 ^a
P1	100	80,00 ± 10,00 ^b
P2	100	93,33 ± 5,78 ^c
P3	100	73,33 ± 5,78 ^b

Keterangan: Kn = Kontrol negatif (tanpa perendaman larutan kulit nanas dan tidak diujitantang bakteri *A. hydrophila*); Kp = Kontrol positif (tanpa perendaman larutan kulit nanas dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*); P1 = Perendaman larutan kulit nanas dosis 1,600 ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*; P2 = Perendaman larutan kulit nanas 1,800 ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*; P3 = Perendaman larutan kulit nanas dosis 2,000 ppm dan diujitantang bakteri *A. hydrophila*. Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa antar perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$); ± Standar Deviasi (SD).

Berdasarkan Tabel 9, dapat diketahui bahwa kelulushidupan ikan jambal dengan perendaman larutan kulit nanas dan diujitantang dengan *A. hydrophila* persentase kelulushidupannya lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan positif (Kp). Pada perlakuan Kn terdapat ikan yang mati disebabkan karena proses pengambilan darah yang menyebabkan luka pada tubuh ikan jambal siam sehingga meningkatkan potensi terjadi infeksi sekunder, maka dari itu kelulushidupan pada perlakuan Kn tidak diperoleh 100%.

Kualitas Air

Kualitas air memiliki peranan penting terhadap pertumbuhan dan kelulushidupan ikan jambal siam. Parameter kualitas air yang diukur, yaitu meliputi suhu, pH, oksigen terlarut (DO) dan amonia (NH₃). Rata-rata dari hasil pengukuran masing-masing parameter kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kualitas Air Selama Penelitian

Perlakuan	Parameter			
	Suhu(°C)	pH	DO(mg/L)	NH ₃ (mg/L)
Kn	27,3	6,3	3,45-4	0,01
Kp	27,3	6,3	3,42-3,8	0,01
P1	27,6-29	6,3-6,6	3,44-4,22	0,01-0,02
P2	27,6-28,3	6,3-6,6,6	3,42-4	0,01-0,02
P3	27,3-29	6,3-6,6	3,35-4,20	0,01-0,02
Baku mutu (SNI 2014)	25-32	6,5-8	>3	<0,1

Ket: SNI 6484.3:2014

Suhu pemeliharaan ikan jambal siam selama penelitian berkisar antara 27,3-29°C, dimana suhu selama penelitian berada pada kisaran normal baku mutu dan masih layak untuk budidaya ikan jambal siam. Suhu berpengaruh terhadap pertumbuhan ikan karena suhu mempengaruhi nafsu makan ikan. Suhu berpengaruh terhadap pertumbuhan ikan karena suhu mempengaruhi nafsu makan ikan. Apabila suhu

mengalami peningkatan masih sesuai baku mutu maka akan mengakibatkan meningkatnya laju metabolisme sehingga nafsu makan ikan juga akan meningkat namun jika perubahan suhu secara drastis akan menyebabkan stres pada ikan, nafsu makan menurun dan ikan rentan terhadap serang penyakit.

Nilai pH pada media pemeliharaan ikan jambal siam selama penelitian berkisar antara 6,3–6,6, nilai ini masih bisa ditolerir oleh ikan. Nilai pH yang baik untuk kelangsungan hidup ikan jambal siam berkisar antara 6-8 (Kordi, 2010). Hasil pengukuran oksigen terlarut selama penelitian berkisar antara 3,35-4,22 mg/L. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa kandungan oksigen terlarut termasuk dalam kategori baik dan dapat ditoleransi oleh ikan jambal siam. Kisaran normal oksigen terlarut (DO) untuk pertumbuhan ikan jambal siam adalah 3-7 ppm (Kordi, 2010; Minggawati dan Saptono, 2012). Kandungan oksigen terlarut selama penelitian cukup mendukung untuk kelangsungan hidup ikan, hal ini disebabkan selama penelitian air yang digunakan maupun air yang ditampung pada wadah penempungan diaerasi selama 24 jam, sehingga suplai oksigen kedalam air dapat lebih cepat.

Kadar amonia (NH_3) selama pemeliharaan ikan jambal siam berkisar antara 0,01-0,02 mg/L, kisaran amoniak ini tergolong dalam rentang baik dan dapat ditolerir oleh ikan jambal siam. Hal ini sesuai dengan pernyataan Minggawati dan Saptono (2012) bahwa kandungan amonia yang baik untuk kegiatan budidaya adalah < 1 mg/L. Naiknya nilai amonia dalam perairan disebabkan oleh sisa metabolisme ikan dari proses perombakan protein, baik berupa feses ataupun urin, juga dari sisa pakan yang tidak termakan oleh ikan. Bahan organik dan anorganik pada pemeliharaan ikan terutama berasal dari sisa pakan yang tidak termakan dan sisa metabolisme ikan (Pangabeian *et al.* 2016). Kualitas air yang baik akan mempengaruhi ketahanan tubuh ikan terhadap serangan penyakit. Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air selama penelitian, kualitas air tersebut masih berada dalam rentang normal dan aman untuk kelangsungan hidup dan pertumbuhan ikan jambal siam.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh dimana perlakuan terbaik terdapat pada P₂ (Perendaman larutan kulit nanas dosis 1.800 ppm diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*) dengan rata-rata total leukosit $9,92 \times 10^4$ sel/mm³, total limfosit 82,67%, total monosit 9,33%, nilai neutrofi 8,00% nilai fagositosis 37,00%, kelulushidupan ikan jambal siam tergolong baik dengan nilai 93,33%, dan kualitas air selama penelitian suhu berkisar antara 27,3-29°C., pH 6,3–6,6, DO 3,4-4,2 mg/L, dan NH_3 0,01-0,02 mg/L.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disarankan kepada pembudidaya untuk memberikan larutan kulit nanas dengan dosis 1.800 ppm terhadap ikan jambal siam yang terserang penyakit (*A. hydrophila.*) untuk meningkatkan kesehatan dan pertumbuhan ikan.

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

-
- 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.
- Iman K.N. 2017. Diferensi Leukosit Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang diberi Pakan Mengandung Ekstrak Kurkumin Kunyit (*curcuma domestica* v) (Skripsi), Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau.
- Kordi, K.M. dan Ghufuran, H. 2010. *Budidaya Ikan Patin di Kolam Terpal*. Lily Publisher. Yogyakarta. 98.
- 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.
- Lukistyowati, I dan Kurniasih. 2012. Pelacakan Gen Aerolysin Dari *A. hydrophila* Pada Ikan Mas yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih. *Jurnal Veteriner* (2012) 13 (1) : 43-50.
- 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.
- Marlin, E., Harlia, E., & Hidayati, Y. (2018) . Efektivitas Limbah Kulit Nanas (*Anans comusus*) Sebagai Desifektan Alami Pada Milk can. Ilmu Ternak, 60.
- 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.
- Mulia D.S. 2012 Penggunaan Vaksin Debris Sel *Aeromonas hydrophila* dengan interval waktu booster berbeda terhadap respon Imun Lele dumbbo (*Clarias gariepinus* Burchell). *Sains Aquaticus*, 10 (2) : 86-95
- Raa J. 2000. The use of immune-stimulants in fish and shellfish feeds. University of Tromso Norway
- Mahasri G., P. Widyastuti, dan L. Sulmatiwi. 2011. Gambaran Leukosit Darah Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang Terinfestasi *Ichthyophthirius multifiliis* pada Derajat Infestasi yang Berbeda dengan Metode Kohabitasi. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 3(1): 91-96.