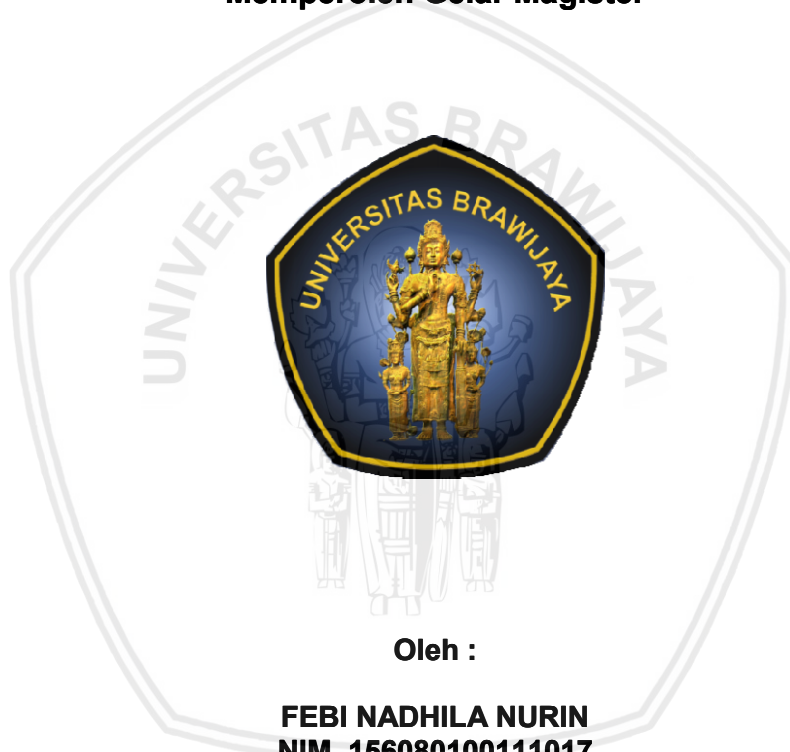


**PENGARUH MAGGOT (*Hermetia illucens* larvae) SEBAGAI
IMUNOSTIMULAN TERHADAP RESPON IMUN NON SPESIFIK,
HISTOPATOLOGI OTOT DAN INSANG IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)
YANG DITANTANG BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

TESIS

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Magister**



Oleh :

**FEBI NADHILA NURIN
NIM. 156080100111017**

**MINAT PENYAKIT IKAN
PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH MAGGOT (*Hermetia illucens* larvae) SEBAGAI
IMUNOSTIMULAN TERHADAP RESPON IMUN NON SPESIFIK,
HISTOPATOLOGI OTOT DAN INSANG IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)
YANG DITANTANG BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

TESIS

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Magister**

Oleh :

**FEBI NADHILA NURIN
NIM. 156080100111017**

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
MINAT PENYAKIT IKAN**

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH MAGGOT (*Hermetia illucens* larvae) SEBAGAI
IMUNOSTIMULAN TERHADAP RESPON IMUN NON SPESIFIK,
HISTOPATOLOGI OTOT DAN INSANG IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)
YANG DITANTANG BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

TESIS

OLEH

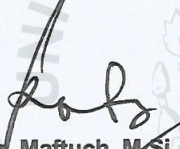
**FEBI NADHILA NURIN
NIM. 156080100111017**

**Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal : 22 Mei 2018
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

**Menyetujui :
Komisi Pembimbing,**

Ketua

Anggota


**Dr. Ir. Maftuch, M.Si
NIP. 19660825 199203 1 001**


**Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si
NIP. 19730404 200212 2 001**

Tanggal: 05 JUN 2018

Tanggal: 05 JUN 2018

Mengetahui,



**Dekan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan**

**Ketua
Program Magister**


**Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
NIP. 19600322 198601 1 001**


**Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS
NIP. 19611106 198602 2 001**

Tanggal: 05 JUN 2018

Tanggal: 05 JUN 2018

JUDUL TESIS:

**PENGARUH MAGGOT (*Hermetia illucens* larvae) SEBAGAI
IMUNOSTIMULAN TERHADAP RESPON IMUN NON SPESIFIK,
HISTOPATOLOGI OTOT DAN INSANG IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)
YANG DITANTANG BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

Nama Mahasiswa : Febi Nadhila Nurin

NIM : 156080100111017

Program Studi : Magister Budidaya Perairan

Minat : Penyakit Ikan

KOMISI PEMBIMBING :

Pembimbing 1` : Dr. Ir. Maftuch, M.Si

Pembimbing 2 : Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M. Si

KOMISI PENGUJI :

Dosen Penguji 1 : Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS

Dosen Penguji 2 : Andi Kurniawan, S. Pi, M. Eng, D.Sc

Tanggal Ujian : 22 Mei 2018

PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah tesis ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Malang, Mei 2018

Mahasiswa,



FEBI NADHILA NURIN
NIM.156080100111017

RIWAYAT HIDUP



Nama lengkap penulis yaitu, Febi Nadhila Nurin, lahir di Surabaya pada tanggal 02 Februari 1992. Adapun riwayat pendidikan penulis, yaitu pada tahun 2004 lulus dari SD Negeri Sawunggaling VII Surabaya, pada tahun 2007 lulus dari SMP Negeri 16 Surabaya, dan pada tahun 2010 lulus dari SMA Negeri 13 Surabaya. Pada tahun 2014 lulus dari Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang. Pada tahun 2015 penulis melanjutkan pendidikan di Program Pendidikan Strata (S2) Magister Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur. Saat menempuh program S1 saya membuat tugas akhir yang berjudul "Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) Terhadap Histopatologi Otot Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*". Saat menempuh program S2 saya membuat tesis yang berjudul "Pengaruh Maggot (*Hermetia illucens* Larvae) Sebagai Imunostimulan Terhadap Respon Imun Non Spesifik, Histopatologi Otot dan Insang Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Ditantang Bakteri *Aeromonas hydrophila*"

UCAPAN TERIMA KASIH

Selama menyelesaikan penyusunan Tesis ini penulis telah banyak menerima bantuan dan dukungan dari banyak pihak. Untuk itu, dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang turut membantu, khususnya :

1. Allah SWT atas segala limpahan Rahmat, sehingga penulis mampu menyelesaikan Tesis ini dan tidak lupa shalawat serta salam untuk Nabi Muhammad SAW.
2. Orang tua, adik, dan suami tercinta yang selalu memberikan kasih sayang, doa, motivasi yang tak terhingga.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS selaku Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.
4. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku Ketua Program Magister Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya dan selaku dosen penguji.
5. Ibu Dr. Ir. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si dan Bapak Dr. Ir. Maftuch, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan sebagian waktunya untuk memberikan bimbingan dan pengarahan.
6. Bapak Andi Kurniawan, S.Pi, M.Eng, D.Sc selaku dosen penguji atas masukan dan arahnya.
7. Bapak, Ibu Dosen serta Keluarga Besar FPIK Universitas Brawijaya atas bantuan serta dukungannya selama studi.

8. Teman-teman Pascasarjana Magister FPIK UB khususnya angkatan 2015 terima kasih atas kebersamaan, persahabatan, motivasi dan bantuan dalam bentuk apapun yang telah diberikan selama masa pendidikan.
9. Teman-teman dekat di Surabaya yang senantiasa mendoakan, memberikan semangat, dan bantuan selama ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa Tesis ini masih jauh dari sempurna. Karena sejatinya kesempurnaan hanya milik Allah SWT. Sehingga kritik dan saran sangat diharapkan dari semua pihak demi perbaikan dimasa mendatang. Akhirnya, semoga Tesis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, amiin ya robbal alamin.



RINGKASAN

Febi Nadhila Nurin. **PENGARUH MAGGOT (*Hermetia illucens* Larvae) SEBAGAI IMUNOSTIMULAN TERHADAP RESPON IMUN NON SPESIFIK, HISTOPATOLOGI OTOT DAN INSANG IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DITANTANG BAKTERI *Aeromonas hydrophila*.** Di bawah bimbingan Dr. Ir. Maftuch, M. Si dan Dr. Uun Yanuhar, S. Pi, M. Si

Ikan mas (*C. carpio*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Di Indonesia, wabah penyakit pada ikan mas sejak Juni 2002 telah menimbulkan kekhawatiran, terutama para petani ikan. Salah satu faktor penyebab munculnya wabah penyakit ini adalah bakteri *A. hydrophila*, yang dapat menyebabkan ikan sakit hingga mengalami kematian. Sehingga, perlu untuk mencari tindakan pencegahan yang ramah lingkungan, salah satu tindakan pencegahan yakni dengan pemberian imunostimulan. Imunostimulan dengan bahan alami yang ramah lingkungan dan dapat digunakan untuk meningkatkan respon imun ikan salah satunya adalah maggot.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen, dimana tujuan dari metode ini adalah untuk menganalisa ada tidaknya hubungan sebab-akibat serta berapa besar hubungan sebab-akibat tersebut. Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan 4 perlakuan dan tiga kali ulangan. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perbedaan pemberian dosis maggot sebagai imunostimulan yang disubsitusikan pada pakan komersil (4%, 6%, 8%, 10%) dari 5% pakan komersil per biomassa (perhari). Variabel terikatnya meliputi survival rate, total leukosit, diferensial leukosit, aktivitas fagositosis, histopatologi otot dan insang serta kualitas air (pH, suhu, dan DO).

Penelitian ini dibagi dua yaitu penelitian tahap I dan penelitian tahap II. Pada penelitian tahap I dilakukan uji fitokimia dan identifikasi dengan FT-IR untuk mengetahui senyawa aktif pada maggot. Pada tahap II dilakukan pemberian maggot sebagai imunostimulan yang ditambahkan pada pakan komersil dengan masa pemeliharaan selama 30 hari kemudian proses uji tantang bakteri *A. hydrophila* dilakukan pada minggu ke 4 dan dilakukan pengamatan respon imun non spesifik (total leukosit, diferensial leukosit, aktivitas fagositosis) pada 3 hari pasca infeksi. Serta dilakukan uji parameter pendukung yakni presentase *survival rate* dan kualitas air selama penelitian.

Hasil menunjukkan bahwa pada dosis C (8%) yang memberikan hasil mendekati kontrol negatif (kontrol normal) dilihat dari total leukosit pasca infeksi yakni $13,37 \times 10^4$ sel/ml. Hasil diferensial leukosit (limfosit, monosit, neutrofil) menunjukkan bahwa pada perlakuan C (8%) masing-masing memiliki nilai terendah, sebelum infeksi masing-masing 75,3%; 24,67%; 0% sedangkan sesudah infeksi masing-masing 81,67%; 18,33%; 0,33%. Pada uji aktifitas fagositosis didapatkan hasil paling rendah yakni 29,52% pada perlakuan C (8%). Pada uji histopatologi otot didapatkan rata-rata skoring kerusakan otot ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* setelah diberi imunostimulan maggot yakni edema (1,27), vakuoliasasi (1,47), dan nekrosis (1,4), sedangkan pada insang didapatkan kerusakan edema (1,53), hipertropi (1,67), dan nekrosis (1,4).

SUMMARY

Febi Nadhila Nurin. **MAGGOT INFLUENCE (*Hermetia illucens* larvae) AS IMMUNOSTIMULANT TO NON-SPECIFIC IMMUNE RESPONSE, MUSCLE HISTOPATHOLOGY AND GILL FISH (*Cyprinus carpio*) CHALLENGED BY *Aeromonas hydrophila* BACTERIA.** Under the guidance of Dr. Ir. Maftuch, M. Si and Dr. Uun Yanuhar, S. Pi, M. Si

Goldfish (*C. carpio*) is one type of freshwater fish that has high economic value. In Indonesia, outbreaks of disease in carp since June 2002 have raised concerns, especially fish farmers. One of the factors causing the outbreak of this disease is the bacteria *A. hydrophila*, which can cause sick fish to death. Thus, it is necessary to seek environmental friendly precautions, one of the precautions that is with the provision of immunostimulants. Immunostimulants with natural ingredients that are environmentally friendly and can be used to enhance the immune response of fish one of them is maggot.

The research method used is experimental method, where the purpose of this method is to analyze the presence or absence of cause-effect relationship and how much the cause-effect relationship. Data analysis used in this research is Completely Randomized Design with 4 treatments and three replications. The independent variables in this study were the difference of dosage of maggot as immunostimulan which was substituted on commercial feed (4%, 6%, 8%, 10%) from 5% commercial feed per biomass per day. The dependent variables include survival rate, total leucocyte, leukocyte differential, phagocytic activity, muscle and gill histopathology and water quality (pH, temperature, and DO).

This research is divided into two: phase I and phase II research. In the first phase, phytochemical and identification with FT-IR was done to determine the active compound on maggot. In the second phase, maggot administration as immunostimulant was added to commercial feed with maintenance period for 30 days then the test of *A. hydrophila* bacteria was done at 4 weeks and observation of non-specific immune response (total leukocyte, leukocyte differential, phagocytosis activity) at 3 days post infection. And tested the supporting parameters namely the percentage of survival rate and water quality during the study.

The results showed that at the dose of C (8%) which resulted in close to negative control (normal control) seen from the total leukocytes post infection ie 13.37×10^4 cells / ml. The results of the differential leukocytes (lymphocytes, monocytes, neutrophils) showed that at treatment C (8%) each had the lowest value, before the infection of each 75.3%; 24.67%; 0% while after infection respectively 81.67%; 18.33%; 0.33%. Phagocytosis activity test showed the lowest result was 29.52% at treatment C (8%). In the histopathological test of muscle was obtained the average score of muscle muscle damage infected by *A. hydrophila* bacteria after being given immunostimulan maggot ie edema (1.27), vacuoliasasi (1.47), and necrosis (1.4), while at gills obtained damage to edema (1.53), hypertrophy (1.67), and necrosis (1.4).

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puja dan puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan dan menyajikan Tesis yang berjudul Pengaruh Maggot (*Hermetia illucens* Larvae) Terhadap Respon Imun Non Spesifik Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Ditantang Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan meliputi pengaruh pemberian imunostimulan berupa maggot terhadap respon imun non spesifik, kelulushidupan pasca penginfeksi bakteri, histopatologi otot dan insang serta kualitas air selama pemeliharaan.

Penulis menyadari, bahwa pembuatan Tesis ini masih jauh dari sempurna, hal ini disebabkan oleh kekurangan dan keterbatasan pengetahuan yang penulis miliki. Dengan segala kerendahan hati, penulis berharap semoga laporan tesis ini dapat bermanfaat dan berguna bagi segenap pihak yang membutuhkan.

Malang, Mei 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	ix
SUMMARY	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
 1.PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
 2.TINJAUAN PUSTAKA	 6
2.1 Sifat Biologi Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Mas	6
2.1.2 Habitat dan Daerah Penyebaran Ikan mas	7
2.1.3 Jenis pakan dan Kebiasaan Makan Ikan Mas	8
2.1.4 Kualitas Air	8
2.2 Penyakit Ikan	9
2.3. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	10
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>A. hydrophila</i>	10
2.3.2 Pertumbuhan Optimal Bakteri <i>A. hydrophila</i>	11
2.3.3 Infeksi dan Tanda Penyerangan Bakteri <i>A hydrophila</i>	12
2.4 Sistem Imun Non Spesifik.....	13
2.5 Imunostimulan	17
2.6 Strategi Pemberian Imunostimulan	18
2.7 Maggot	19
2.7.1 Siklus Hidup Maggot	20
2.7.2 Kandungan Maggot.....	21
2.8 Parameter Immunologi	22
2.8.1 Sel Darah Putih (Leukosit)	22
2.8.2 Diferensial Leukosit	23
2.8.3 aktivitas Fagositosis.....	25
2.9 Pengertian Histologi dan Histopatologi	26
2.9.1 Pengamatan Histopatologi Jaringan	27
2.9.2 Histopatologi Otot dan Insang.....	28
 3. KERANGKA PENELITIAN	 33
3.1 Landasan Teori.....	33
3.2 Kerangka Konsep Penelitian.....	34
3.3 Hipotesis.....	36
3.4Kerangka Operasional Penelitian	36
3.5 Kebaharuan Penelitian	38

3.6 Strategi Publikasi.....	39
4. METODE PENELITIAN	40
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	40
4.2Alat dan Bahan Penelitian	40
4.2.1 Alat Penelitian	40
4.2.2 Bahan Penelitian.....	40
4.3 Pendekatan Penelitian	41
4.4Variabel Penelitian	41
4.5Metode Penelitian	42
4.5.1 Tahapan 1	42
4.5.2 Tahapan 2	46
4.6Rancangan Percobaan	47
4.7Parameter Uji	49
4.7.1 Survival rate	49
4.7.2Total Leukosit	49
4.7.3Diferensial Leukosit	50
4.7.4 Aktivitas Fagositosis	51
4.7.5 Pembuatan Preparat dalam Histologi.....	52
4.8 Parameter Penunjang	53
5.HASIL DAN PEMBAHASAN.....	54
5.1 Uji Fitokimia	54
5.2 Uji Spektrofotometer <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR) Maggot.....	51
5.3 Uji Lethal Dosage 50%	56
5.4 Total Leukosit	56
5.5 Diferensial Leukosit	59
5.6 Aktivitas Fagositosis	63
5.7 Gambaran Histologi dan Histopatologi Otot Ikan Mas.....	66
5.8 Gambaran Histologi dan Histopatologi Jaringan Insang Ikan Mas ...	72
5.9 Survival Rate	77
5.10 Kualitas Air	78
5.10.1 Suhu.....	78
5.10.2 Derajat Keasaman (pH).....	79
5.10.3 Oksigen Terlarut (DO)	79
6. PENUTUP	81
6.1 Kesimpulan.....	81
6.2 Saran.....	81
DAFTAR PUSTAKA	82
Lampiran	89

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi Ikan Mas	7
2. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	11
3. Pengelompokan Sistem Pertahanan Tubuh (Imun) pada Ikan.....	15
4. Sistem Pertahanan Tubuh.....	15
5. Morfologi Maggot	20
6. Siklus Hidup <i>Hermetia illucens</i>	21
7. Perkembangan Maggot.....	21
8. Penampang Limfosit Diamati Dibawah Mikroskop.....	23
9. Penampang Monosit Diamati Dibawah Mikroskop.....	24
10. Penampang Neutrofil Diamati Dibawah Mikroskop.....	25
11. Aktivitas Fagositosis.....	26
12. Kerangka Konsep Penelitian	35
13. Kerangka Operasional Penelitian	37
14. Denah Perlakuan Penelitian	48
15. Alur Perhitungan Skoring	53
16. Hasil Spektrofotometer <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR) Maggot	55
17. Grafik total leukosit sebelum dan sesudah infeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>	60
18. Grafik hasil uji diferensial leukosit (limfosit, monosit, dan neutrofil) sebelum diinfeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>	60
19. Grafik hasil uji diferensial leukosit (limfosit, monosit, dan neutrofil) sesudah infeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>	60
20. Analisa Diferensial leukosit. (L) Limfosit, (M) Monosit, dan (N) Neutrofil.....	63
21. Grafik aktifitas fagositosis ikan mas sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>	64
22. Aktifitas Fagositosis	64
23. Struktur jaringan histopatologi otot pada ikan mas	67
24. Nilai Skoring Kerusakan Otot ikan mas yang diinfeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>	69
25. Gambaran Histopatologi Jaringan Insang Ikan Mas	73
26. Nilai Skoring Kerusakan pada Jaringan Insang Ikan Mas.....	74
27. Grafik Survival Rate Ikan Mas.....	77

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jurnal Terdahulu Terkait Penelitian.....	38
2. Publikasi Karya Ilmiah	39
3. Persentase Nilai Skoring.....	53
4. Hasil Uji Fitokimia	54
5. Hasil Uji FTIR Maggot.....	55
6. Uji Lethal Dosage 50%	56
7. Total leukosit	57
8. Presentase jumlah Limfosit.....	59
9. Presentase jumlah Monosit.....	59
10. Presentase jumlah Neutrofil.....	59
11. Aktifitas Fagositosis.....	63
12. Rerata Skoring Hasil Penelitian Kerusakan Jaringan Otot	68
13. Rerata Skoring Kerusakan pada Insang	74
14. Survival Rate Ikan Mas.....	77



2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sifat Biologi Ikan Mas (*C. carpio*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Mas (*C. carpio*)

Klasifikasi ikan mas (*C. carpio* Linn.) menurut Khairuman, *et al.*, (2002), adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Pisces
Subkelas	: Teleostei
Ordo	: Ostariophysi
Subordo	: Cyprinoidea
Famili	: Cyprinidae
Subfamili	: Cyprininae
Genus	: <i>Cyprinus</i>
Spesies	: <i>Cyprinus carpio</i> Linn.

Menurut Rochdianto (2005), secara morfologi, ikan mas memiliki ciri-ciri bentuk tubuh agak memanjang dan memipih, mulut terletak di ujung tengah. Bagian anterior mulut terdapat dua pasang sungut berukuran pendek. Sisik ikan mas berukuran relatif besar dan digolongkan ke dalam tipe sisik sikloid dengan warna yang sangat beragam.

Menurut Prawesti, *et al.*, (2015), tubuh ikan mas dibagi tiga bagian, yaitu kepala, badan, dan ekor. Pada kepala terdapat sepasang mata, sepasang cekung hidung yang tidak berhubungan dengan rongga mulut, celah-celah insang, sepasang tutup insang, alat pendengar dan keseimbangan yang tampak dari luar. Jaringan tulang atau tulang rawan yang disebut jari-jari. Sirip-sirip ikan ada yang berpasangan dan ada yang tunggal, sirip yang tunggal merupakan anggota gerak yang bebas. Warna sisik pada tubuh ikan mas dari tubuh atas dan

bawah yakni cenderung berwarna hijau gelap, hijau keabu-abuan, hijau kekuningan, merah keemasan, kuning kemerahan, kuning, hitam, abu-abu, dan putih. Ukuran sisiknya besar, matanya sipit dan agak menonjol, berenang di permukaan, tengah, dan dasar air, gerakan berenangannya cepat dan juga lambat. Morfologi ikan mas dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi Ikan Mas (*C. carpio*) (Williams, 2008).

2.1.2 Habitat dan Daerah Penyebaran Ikan Mas (*C. carpio*)

Menurut Susanto (2008), ikan mas pertama kali masuk ke Indonesia berasal dari daratan Eropa dan China yang kemudian berkembang menjadi ikan budidaya yang sangat penting. Ikan mas berkembang membentuk beberapa ras atau strain. Strain-strain yang ada terbentuk secara alami maupun rekayasa dalam waktu cukup lama. Ras-ras ikan mas berwarna gelap diduga berasal dari Eropa dan warna terang berasal dari China. Ikan mas dapat dibudidayakan hampir pada semua jenis kolam baik kolam yang airnya mengalir deras atau kolam berair tenang. Ikan mas juga dapat tumbuh baik di sungai, danau, waduk atau kolam buatan. Kondisi optimal untuk pertumbuhan ikan mas yaitu pada ketinggian antara 150-600 meter di atas permukaan laut, suhu air antara 20°C – 25°C dan pH air antara 7-8.

Ikan mas termasuk jenis ikan yang bersifat termofil karena mampu menyesuaikan diri dengan suhu lingkungan yang tinggi karena masih dapat

tumbuh pada suhu 35°C. Ikan mas dapat hidup dengan kandungan oksigen air kurang dari 4mg/L, kandungan nitrit kurang dari 0,1mg/L, kandungan nitrat kurang dari 0,25 mg/L serta kandungan amonia kurang dari 0,6 mg/L (Susanto, 2007).

2.1.3 Jenis Pakan dan Kebiasaan Makan Ikan Mas (*C. carpio*)

Ikan mas merupakan ikan omnivora, biasanya memakan organisme planktonik. Larva ikan mas biasa memakan invertebrata seperti rotifera, copepoda, kutu air, dan fitoplankton seperti chlorophyta dan cyanophyta. Sesuai pola perkembangannya, kebiasaan makan ikan mas berubah-ubah dari hewan pemakan plankton menjadi pemakan dasar (Sitawati, 2002).

Menurut Partosuwiryo dan Warseno (2011), ikan mas termasuk ikan yang aktif, akan bergerak cepat ke arah makanannya dan menangkap pakan tersebut. Ikan mas akan lebih agresif apabila dalam kepadatan tinggi. Ikan ini tergolong jenis ikan omnivora, yakni pemakan segala. Pakan utama ikan mas adalah tumbuhan dan binatang yang terdapat di dasar dan tepi perairan. Agar pertumbuhannya optimal, dalam budidaya ikan mas diperlukan pakan tambahan berupa pelet.

2.1.4 Kualitas Air

Ikan mas (*C. carpio*) masuk kedalam golongan family *cyprinidae*, memiliki tempat hidup (habitat) di perairan tawar yang tidak terlalu dalam dan tidak terlalu deras, misalnya di pinggiran sungai atau danau. Ikan ini dapat hidup baik pada ketinggian 150-600 m di atas permukaan laut (dpl) dan pada suhu 25-30°C (Praseno *et al.*, 2010).

Derajat keasaman (pH) adalah suatu ukuran dari konsentrasi ion hidrogen yang menunjukkan suasana air tersebut bereaksi asam atau basa. Pada umumnya pH yang sangat cocok untuk semua jenis ikan berkisar antara 6,7 – 8,6. Saputra *et al.*, (2010), menambahkan bahwa keasaman (pH) air pada media

pemeliharaan berkisar antara 6,32-7,85. Kondisi keasaman perairan pada media pemeliharaan tidak mempengaruhi pertumbuhan ikan mas (*C. carpio*) yang dipelihara, karena masih dalam kondisi optimum untuk pertumbuhan yaitu berkisar antara 6-8.

Kandungan oksigen terlarut (DO) pada media pemeliharaan berkisar antara 3,60-6,03 mg/L. Kondisi ini sangat baik untuk pertumbuhan ikan mas (*C. carpio*) yang dipelihara, karena nilai DO sekitar 4-5 mg/L saja sudah sangat baik untuk pemeliharaan ikan mas (*C. carpio*) (Saputra *et al.*, 2010). Mantau dan Sudarty (2011), menambahkan bahwa kisaran oksigen terlarut untuk ikan mas (*C. carpio*) yang optimal antara 3-6 ppm.

2.2 Penyakit Ikan

Dalam kegiatan budidaya tentu saja mengalami kendala dalam pengembangannya, salah satunya adalah timbulnya penyakit. Penyakit ikan didefinisikan sebagai segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan suatu fungsi/struktur dari alat tubuh/sebagian alat tubuh baik secara langsung maupun tidak langsung. Pada prinsipnya penyakit yang menyerang ikan tidak datang begitu saja, melainkan melalui proses hubungan antara 3 faktor, yaitu kondisi lingkungan (kondisi di dalam air), kondisi inang (ikan) dan adanya jasad patogen (jasad penyakit). Dengan demikian timbulnya serangan penyakit merupakan hasil interaksi yang tidak serasi antara lingkungan, ikan, dan jasad organisme penyakit. Interaksi yang tidak serasi ini menyebabkan stress pada ikan, sehingga mekanisme pertahanan tubuh yang dimilikinya menjadi lemah dan akhirnya mudah diserang oleh penyakit (Kordi, 2004).

Dalam budidaya ikan, penyakit ikan dapat mengakibatkan kerugian ekonomis. Kerugian yang ditimbulkan bergantung pada presentase populasi yang terserang penyakit, umur ikan yang sakit, parahnya penyakit, dan adanya

infeksi sekunder. Penyakit-penyakit tersebut banyak yang bersifat infeksi seperti juga penyakit pada hewan berdarah panas. Bagi ikan, faktor-faktor noninfeksi juga sangat berperan. Degradasi lingkungan lahan budidaya akibat tingginya cemaran dan kesalahan pengelolaan budidaya karena kurang efisiensinya penggunaan bahan baku/input produksi merupakan salah satu faktor penyebab timbulnya masalah penyakit pada usaha budidaya ikan (Supriyadi, 2004).

2.3 Bakteri *A. hydrophila*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi *A. hydrophila*

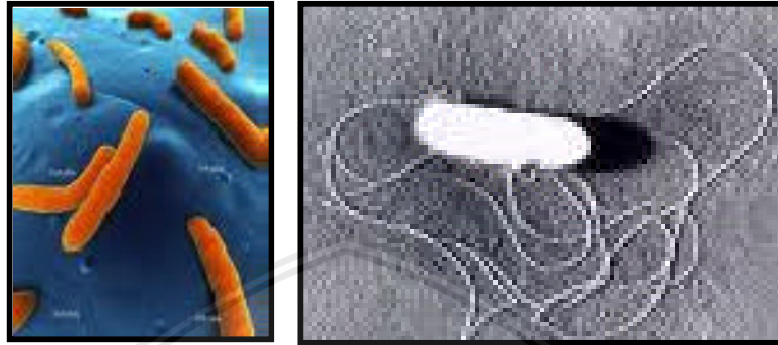
Klasifikasi bakteri *A. hydrophila* menurut Setiaji, *et al.*, (2015), adalah sebagai berikut :

Super Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Aeromonadales
Family	: Aeromonadaceae
Genus	: Aeromonas
Species	: <i>Aeromonas hydrophila</i> .

Menurut Gardenia *et al.*, (2010), *A. hydrophila* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang yang banyak ditemukan di lingkungan air tawar dan air payau. *A. hydrophila* dikenal sebagai bakteri oportunist karena biasanya menimbulkan masalah pada saat ikan sedang mengalami stress maupun sehat. Pemeliharaan pada padat tebar tinggi merupakan salah satu faktor yang menimbulkan stres pada ikan.

Menurut Isonhood, J, H dan M. Drake (2002), *A. hydrophila* adalah gram-negatif, oksidase-positif, anaerob fakultatif, dan sebagian besar motil. Kata *Aeromonas* adalah berasal dari kata Yunani aer, yang berarti udara atau gas, dan monas, yang berarti monad atau tunggal. Sel *A. hydrophila* biasanya

memiliki panjang 1,0 sampai 4,4 μm terkadang membentuk filamen hingga 8,0 μm . Kebanyakan *A. hydrophila* bisa tumbuh pada pH 5,5-9,0. *A. Hydrophila* telah dilaporkan memiliki suhu pertumbuhan optimal dari 28°C, meskipun dapat tumbuh pada suhu mulai 1 hingga 42°C



Gambar 2. Bakteri *A. hydrophila* (Aberoum dan Jooyandeh, 2010)

2.3.2 Pertumbuhan Optimal Bakteri *A. hydrophila*

Menurut Mangunwardoyo *et al.*, (2010), bakteri *A. hydrophila* diperkirakan mencapai pertumbuhan optimal pada fase eksponensial, yaitu pada jam ke 4 sampai ke 12. Bakteri selanjutnya akan mengalami fase stasioner pada masa inkubasi sampai dengan 48 jam. Pada fase tersebut, presentase antara bakteri yang hidup dan yang mati adalah sama. Bakteri akan mengalami fase kematian setelah melewati fase 24 jam. Kondisi tersebut terkait dengan ketersediaan nutrisi dan lingkungan yang tepat untuk kehidupan bakteri tersebut.

Bakteri ini dapat bertahan dalam lingkungan aerob maupun anaerob dan dapat mencerna material-material seperti gelatin dan hemoglobin. *A. hydrophila* resisten terhadap *chlorine* serta suhu yang dingin (faktanya *A. hydrophila* dapat bertahan dalam temperatur rendah $\pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$), tetapi setidaknya hanya dalam waktu 1 bulan. Sebagian besar isolat *A. hydrophila* mampu tumbuh dan berkembangbiak pada suhu 37°C dan tetap motil pada suhu tersebut. Disamping itu, bakteri *A. hydrophila* mampu tumbuh pada kisaran pH 4,7-11 (Rahman, 2008).

2.3.3 Infeksi dan Tanda Penyerangan Bakteri *A. hydrophila*

Pada penelitian Pane (2013), menyatakan bahwa tahapan bakteri gram negatif dalam menginfeksi ikan adalah dengan menempel pada sisik ikan tersebut yang kemudian menghasilkan zat kitin yang merusak sisik ikan tersebut sehingga menimbulkan luka pada tubuh ikan. Maka bakteri masuk ke dalam tubuh ikan ke jaringan yang lebih dalam dengan menggunakan alat gerak flagel dan menyebabkan penyebarannya sangat cepat hingga menyebabkan kematian.

Menurut Lukistyowati, I dan Kurniasih, (2011), kemerahan kulit atau hiperemi merupakan tanda klinis yang pertama kali timbul setelah penginfeksi, *A. hydrophila* dapat mengenali dan berikatan dengan sel reseptor pada sel-sel tertentu dan mengurai sel inang dengan memproduksi enzim-enzim ekstraseluler seperti hemolisin, protease dan elastase sehingga menyebabkan inflamasi, peradangan dan berkembang menjadi borok. Hiperemi merupakan respon awal terhadap infeksi mikrobial, kemudian diikuti dengan terjadinya peradangan, nekrosis dan terbentuknya tukak. Hiperemi ini terjadi karena mobilitas eritrosit ke jaringan tempat berkembangnya patogen, leukosit yang merupakan salah satu komponen sel darah yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik akan melokalisasi dan mengeliminasi patogen. Eliminasi ini dilakukan melalui proses fagositosis. Ada tiga tahapan utama dalam reaksi peradangan (*inflammatory response*), pertama terjadi peningkatan suplai darah ke daerah sekitar luka/terinfeksi, kemudian diikuti dengan bertambahnya sifat permeabilitas pipa kapiler tubuh dan kemudian terjadi proses migrasi leukosit yang keluar dan masuk ke dalam jaringan secara merata. Di dalam jaringan, leukosit bergerak menuju tempat infeksi untuk menghadapi patogen yang berhasil masuk dengan cara mengaktifkan potensi pembunuh bakteri, sehingga membatasi penyebaran atau mematikan patogen tersebut. Reaksi peradangan juga merupakan reaksi untuk mempertahankan diri pada daerah luka/infeksi. Pada reaksi peradangan

terjadi penurunan jumlah leukosit yang dimungkinkan karena sel-sel tersebut bermigrasi atau juga lisis. Pelepasan enzim intraseluler merupakan suatu konsekuensi dari sel fagosit yang lisis sehingga akan merugikan patogen dan bahkan diperkirakan sel neutrofil secara aktif mengeluarkan enzim ekstraselulernya sebagai suatu mekanisme membunuh patogen. Enzim ekstraseluler seperti hemolisin, protease dan elastase yang diduga sebagai faktor virulen dapat merusak jaringan tubuh ikan sehingga menimbulkan hemoragik yang biasa terjadi akibat adanya infeksi bakteri.

Menurut Munasir (2001), bakteri ekstraselular dapat menimbulkan penyakit melalui beberapa mekanisme yaitu 1. Merangsang reaksi inflamasi yang menyebabkan destruksi jaringan di tempat infeksi. 2. Produksi toksin yang menghasilkan berbagai efek patologik. Toksin dapat berupa endotoksin dan eksotoksin. Endotoksin yang merupakan komponen dinding bakteri adalah suatu lipopolisakarida yang merupakan stimulator produksi sitokin yang kuat, suatu adjuvan serta aktivator poliklonal sel limfosit B. Respons imun terhadap bakteri ekstraselular ditujukan untuk eliminasi bakteri serta netralisasi efek toksin.

2.4 Sistem Imun Non Spesifik

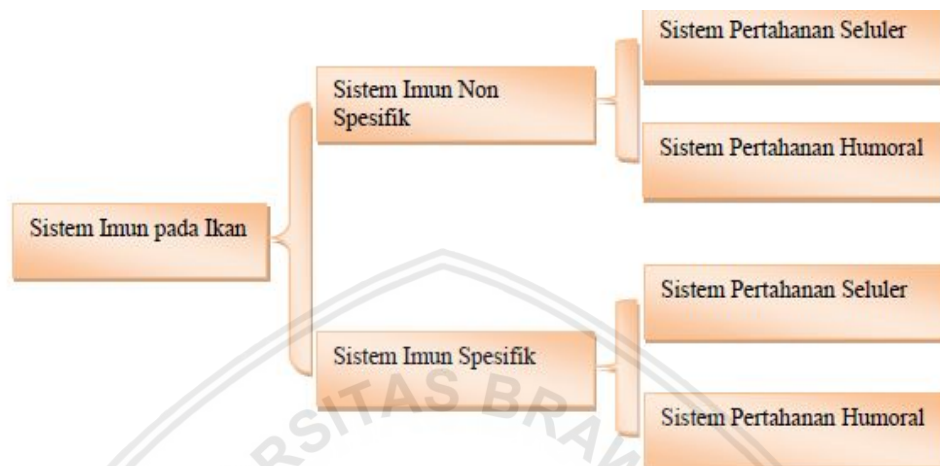
Sistem Imunitas atau kekebalan adalah mekanisme pertahanan diri terhadap partikel asing / patogen. Setiap adanya infeksi mikroorganisme baik bakteri, virus dan parasit/jamur ke dalam tubuh, maka ikan atau udang akan memberikan respon dengan sistem pertahanan tubuh. Ikan telah diketahui lebih mengandalkan mekanisme sistem kekebalan non-spesifiknya /alamiah /bawaan (*innate immune system*) dari pada sistem kekebalan spesifiknya. Pertahanan non-spesifik merupakan sistem pertahanan tubuh yang sangat penting pada sistem kekebalan tubuh ikan. Pada ikan, respon imun baru terbentuk secara sempurna manakala ikan telah dewasa. Ikan-ikan muda tidak mempunyai respon

imun spesifik yang sempurna dan bergantung pada respon selular non-spesifik untuk bertahan dari serangan infeksi mikroba. Pertahanan non-spesifik merupakan pertahanan utama pada ikan stadia benih dan ikan muda (Ode, 2013).

Menurut Iwama dan Nakanishi (2001), secara garis besar sistem pertahanan tubuh (imun) pada ikan ada 2 yaitu : sistem imun nonspesifik dan sistem imun spesifik. Masing-masing sistem imun tadi terbagi lagi menjadi sistem imun yaitu seluler dan humoral. Sistem imun nonspesifik untuk pertahanan seluler pada ikan diketahui termasuk diantaranya adalah monosit/makrofag, granulosit, dan sel sitotoksik nonspesifik (NCCs). Makrofag dan granulosit merupakan sel mobil fagositosis yang ditemukan di dalam darah dan jaringan sekunder limfoid, juga biasanya ditemukan pada kasus inflamasi penting, yang merupakan respon seluler terhadap invasi mikroba dan atau cedera jaringan yang mengakibatkan akumulasi lokal pada leukosit dan cairan mukus. Sistem imun nonspesifik pada pertahanan humoral diantaranya adalah serum, mukus dan telur pada ikan yang mengandung berbagai macam substansi nonspesifik yang bisa menghambat pertumbuhan mikroorganisme penginfeksi.

Menurut Munasir (2001), respons imun tubuh dipicu oleh masuknya antigen/ mikroorganisme ke dalam tubuh dan dihadapi oleh sel makrofag yang selanjutnya akan berperan sebagai antigen presenting cell (APC). Sel ini akan menangkap sejumlah kecil antigen dan diekspresikan ke permukaan sel yang dapat dikenali oleh sel limfosit T penolong (Th atau T helper). Sel Th ini akan teraktivasi dan (selanjutnya sel Th ini) akan mengaktivasi limfosit lain seperti sel limfosit B atau sel limfosit T sitotoksik. Sel T sitotoksik ini kemudian berpoliferasi dan mempunyai fungsi efektor untuk mengeliminasi antigen. Setiap prosesi ini sel limfosit dan sel APC bekerja sama melalui kontak langsung atau melalui sekresi sitokin regulator. Sel-sel ini dapat juga berinteraksi secara simultan dengan sel

tipe lain atau dengan komponen komplemen, kinin atau sistem fibrinolitik yang menghasilkan aktivasi fagosit, pembekuan darah atau penyembuhan luka. Respons imun dapat bersifat lokal atau sistemik dan akan berhenti bila antigen sudah berhasil dieliminasi melalui mekanisme kontrol.



Gambar 3. Pengelompokan Sistem Pertahanan Tubuh (Imun) pada Ikan (Gusman, 2010).



Gambar 4. Sistem Pertahanan Tubuh (Ode, 2013).

- Imun Non Spesifik/Innate Immunity

Menurut Munasir (2001), innate immunity merupakan mekanisme pertahanan tubuh nonspesifik yang mencegah masuknya dan menyebarnya mikroorganisme dalam tubuh serta mencegah terjadinya kerusakan jaringan. Ada beberapa komponen innate immunity yaitu 1. Pemusnahan bakteri intraselular

oleh sel polimorfonuklear (PMN) dan makrofag. 2. Aktivasi komplemen melalui jalur alternatif. 3. Degranulasi sel mast yang melepaskan mediator inflamasi. 4. Protein fase akut: C-reactive protein (CRP) mengikat mikroorganisme, selanjutnya terjadi aktivasi komplemen melalui jalur klasik yang menyebabkan lisis mikroorganisme. 5. Produksi interferon alfa (IFN α) oleh leukosit dan interferon beta (IFN β) oleh fibroblast yang mempunyai efek antivirus. 6. Pemusnahan mikroorganisme ekstraselular oleh sel natural killer (sel NK) melalui pelepasan granula yang mengandung perforin. 7. Pelepasan mediator eosinofil seperti major basic protein (MBP) dan protein kationik yang dapat merusak membran parasit. Respon imun alamiah terhadap bakteri ekstraselular terutama melalui mekanisme fagositosis oleh neutrofil, monosit serta makrofag jaringan. Resistensi bakteri terhadap fagositosis dan penghancuran dalam makrofag menunjukkan virulensi bakteri. Aktivasi komplemen tanpa adanya antibodi juga memegang peranan penting dalam eliminasi bakteri ekstraselular. Lipopolisakarida (LPS) dalam dinding bakteri gram negatif dapat mengaktivasi komplemen jalur alternatif tanpa adanya antibodi. Salah satu hasil aktivasi komplemen ini yaitu C3b mempunyai efek opsonisasi bakteri serta meningkatkan fagositosis. Selain itu terjadi lisis bakteri melalui membrane attack complex (MAC) serta beberapa hasil sampingan aktivasi komplemen dapat menimbulkan respons inflamasi melalui pengumpulan (recruitment) serta aktivasi leukosit. Endotoksin yang merupakan LPS merangsang produksi sitokin oleh makrofag serta sel lain seperti endotel vaskular. Beberapa jenis sitokin tersebut antara lain tumour necrosis factor (TNF), IL-1, IL-6 serta beberapa sitokin inflamasi dengan berat molekul rendah yang termasuk golongan IL-8. Fungsi fisiologis yang utama dari sitokin yang dihasilkan oleh makrofag adalah merangsang inflamasi non-spesifik serta meningkatkan aktivasi limfosit spesifik oleh antigen bakteri. Sitokin akan menginduksi adhesi neutrofil dan monosit pada endotel vaskular pada

tempat infeksi yang diikuti migrasi, akumulasi lokal serta aktivasi sel inflamasi. Kerusakan jaringan yang terjadi adalah akibat efek samping mekanisme pertahanan untuk eliminasi bakteri tersebut. Banyak fungsi sitokin yang sama yaitu sebagai ko-stimulator sel limfosit T dan B yang menghasilkan mekanisme amplifikasi untuk imunitas spesifik, yang paling berat adalah gejala klinis oleh infeksi bakteri Gram-negatif yang menyebabkan disseminated intravascular coagulation (DIC) yang progresif.

- **Imunitas Spesifik**

Menurut Munasir (2001), bila mikroorganisme dapat melewati pertahanan nonspesifik/innate immunity, maka tubuh akan membentuk mekanisme pertahanan yang lebih kompleks dan spesifik. Mekanisme imunitas ini memerlukan pengenalan terhadap antigen lebih dulu. Mekanisme imunitas spesifik ini terdiri dari: 1. Imunitas humoral Produksi antibodi spesifik oleh sel limfosit B (T dependent dan non T dependent). 2. Cell mediated immunity (CMI) Sel limfosit T berperan pada mekanisme imunitas ini melalui: 1. Produksi sitokin serta jaringan interaksinya. 2. Sel sitotoksik matang di bawah pengaruh interleukin 2 (IL-2) dan interleukin 6 (IL-6).

2.5 Imunostimulan

Menurut Sari (2016), imunostimulan merupakan bahan yang dapat meningkatkan sistem imun dengan menginduksi atau meningkatkan aktivitas dari komponen-komponennya. Imunostimulan diklasifikasikan menjadi dua yaitu imunostimulan spesifik dan imunostimulan tidak spesifik. Perbedaan imunostimulan ini terletak pada cara kerjanya, imunostimulan spesifik bersifat antigenik spesifik, sedangkan imunostimulan tidak spesifik bekerja dengan menstimulasi respon imun.

Menurut Aliffudin (2002), imunostimulan merupakan senyawa kimia, obat atau bahan lainnya yang mampu meningkatkan mekanisme respon imunitas

ikan, baik seluler maupun humoral. Berbeda dengan vaksin, imunostimulan tidak direspon ikan dengan mensintesis antibodi, melainkan peningkatan aktivitas dan reaktivitas sel pertahanan seluler ataupun humoral. Secara *in vitro* peningkatan respon seluler ditunjukkan oleh aktivitas fagositik. Aktivitas fagositik ini merupakan manifestasi peningkatan respon seluler dan pada akhirnya akan meningkatkan respon humoral. Seperti halnya dengan vaksin, imunostimulan dapat diberikan melalui injeksi, bersama pakan (per oral) dan perendaman. Pemilihan cara aplikasi imunostimulan didasarkan atas kepraktisan dan efisiensi dalam kegiatan budidaya.

2.6 Strategi Pemberian Imunostimulan

Pemberian imunostimulan menurut Jasmanidar (2009) secara luas bertujuan untuk mengaktifkan sistem imun non-spesifik sel seperti makrofag pada vertebrata dan *hemocyte* pada avertebrata. Pemberian imunostimulan dapat dilakukan dengan:

- Penyuntikan : penyuntikan stimulant imun I dapat memberikan respon non-spesifik yang kuat, tetapi tidak praktis dan efektif dalam hal biaya dalam usaha budidaya
- Perendaman : memberikan respon imun non-spesifik yang sedikit, tetapi lebih efektif dalam hal biaya daripada dengan penyuntikan. Namun dapat menimbulkan stres karena meningkatnya penanganan dan kepadatan dalam perendaman. Makrofag dapat diaktifkan pada fase larva ikan.
- Oral : memberikan respon imun non-spesifik yang baik dan merupakan metode yang lebih efektif.

Menurut Sari (2016), kondisi pemeliharaan yang berbeda-beda memberikan cara-cara yang berbeda pula dalam penerapan imunostimulan. Melalui penyuntikan, perendaman, dan oral merupakan metode dasar yang

digunakan dalam cara-cara pemberian imunostimulan. Metode penyuntikan dan perendaman cocok hanya pada kondisi pemeliharaan yang intensif, metode ini membutuhkan penanganan yang ekstra terhadap ikan, tetapi cara ini membutuhkan tenaga yang lebih besar, memakan waktu dan menjadi tidak praktis ketika berat ikan kurang dari 15 g. Melalui oral merupakan cara pemberian imunostimulan dengan metode yang paling ekonomis, cocok diterapkan pada budidaya ekstensif, dalam pelaksanaannya tidak menimbulkan stres pada ikan dan memungkinkan pelaksanaan secara masal.

2.7 Maggot

Istilah "maggot" mulai dikenal pada pertengahan tahun 2005, yang diperkenalkan oleh tim Biokonversi IRD-Perancis dan Loka Riset Budidaya Ikan Hias Air Tawar (LRBIHAT), Depok. Maggot merupakan larva serangga (Diptera : *Stratiomyidae*, Genus *Hermetia*) yang hidup di bungkil kelapa sawit (Palm kernel meal/PKM). PKM sebagai media tempat hidupnya akan dimakan dan dicerna oleh maggot dan disimpan dalam organ penyimpanan yang disebut *trophocytes*. Sekitar 33% dari berat tubuh serangga adalah *trophocytes* (Nayar *et al.*, 1981) .

Larva serangga *H. illucense* lebih dikenal dengan istilah maggot (Fahmi, Hem. S dan Subamia, 2009), merupakan fase yang paling lama dalam siklus hidupnya. Fenomena ini yang banyak dijadikan sebagai landasan untuk mengelompokkan larva *H. illucense* (maggot) sebagai agen biokonversi karena sebagian besar fase hidupnya berperan sebagai decomposer (larva). Fase dewasa serangga *H. illucense* merupakan fase yang cukup pendek yaitu 6-8 hari, jika dibandingkan dengan fase dewasa serangga domestik yang memiliki fase dewasa selama 2 hingga 3 bulan, fenomena ini menunjukkan larva *H. illucense* tidak terindikasi sebagai agen penyebaran penyakit (Tomberlin, Sheppard, dan Joyce, 2002).

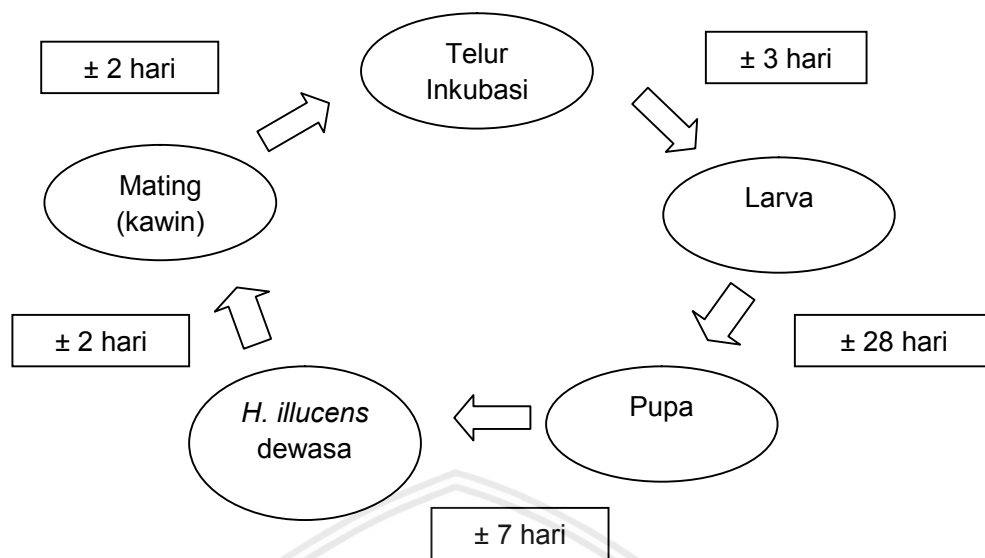


Gambar 5. Morfologi Maggot (Wangko, 2014)

2.7.1 Siklus Hidup Maggot

Menurut Fahmi (2015), telur serangga *H. illucens* akan menetas 3-6 hari setelah pertama kali diletakkan oleh induk betina. Kemudian telur yang telah menetas akan menjadi larva yang dikenal sebagai maggot. Fase larva atau maggot berlangsung selama 4 minggu. Fase pupa akan berlangsung selama 6-7 hari, setelah itu akan mengalami metamorphosis menjadi *H. illucens* dewasa (*Black Soldier Fly*) yang fasenya akan berlangsung selama 6-7 hari.

Menurut Rachmawati *et al.* (2010), telur *H. illucens* melewati masa inkubasi selama 72 jam atau 3 hari, kemudian pergerakan tubuh embrio mulai terlihat dan telur menetas. Selanjutnya akan menjadi larva dan langsung memasuki tahap makan, laju pertumbuhan relatif larva sangat pesat hingga hari ke-8. Pada tahap larva masih berkulit putih kurang lebih selama 12 hari, selanjutnya akan berubah warna menjadi coklat dan semakin gelap seminggu kemudian, yakni sejak hari ke-19 setelah menetas. Hari ke 24 akan menjadi fase pupa yang berlangsung selama 8 hari, setelah itu maggot akan bermetamorfosis menjadi *H. illucens* dewasa.



Gambar 6. Siklus Hidup *H. illucens* (Carruso *et al.*, 2014).



Gambar 7. Perkembangan maggot setelah 2 hari menetas hingga menjadi larva, (A) larva 1-7 hari, (B) larva hingga 21 hari dan (C) larva hingga prepupa. Garis = 2 cm (Fahmi, 2015).

2.7.2 Kandungan Maggot

Park *et al.*, (2014), melaporkan bahwa imunisasi hemolimf *H. illucens* dengan *Staphylococcus aureus* memperlihatkan aktivitas *broad spectrum* yang kuat terhadap mikroba gram negatif dan positif, termasuk *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Fraksi yang memperlihatkan efek MRSA

dimurnikan dengan kolumn C18HPLC dan terbukti mengandung *antimicrobial peptide* (AMP) baru yang dapat dikembangkan menjadi obat anti-infeksi.

Menurut Wangko (2014), salah satu bahan yang dihasilkan maggot untuk mempertahankan hidupnya berefek antimikroba. Sampai saat ini, terapi maggot telah dikenal sebagai metode yang efektif untuk pengobatan kronis, nekrosis, dan infeksi luka, serta untuk menyembuhkan luka bakar "in vivo" pada manusia (Feng *et al.*, 2010). Selain itu, studi ini menunjukkan tidak hanya efek terapi maggot baik "in vitro" dan "in vivo" tetapi juga berbagai fungsi biologis dan efek dari maggot. Pengaruh zat aktif/senyawa yang terisolasi dari maggot dan potensi fungsi farmakologi belum diberitakan dalam berbagai bakteri, sel, dan hewan.

Menurut Choi dan MeiHua (2014), maggot pada instar ke 4 hingga instar ke 6 mengandung senyawa antibakteri yakni asam heksanedioat yang secara efektif menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif, sehingga pada penelitian Choi dan MeiHua ini menemukan potensi bahwa maggot dapat digunakan sebagai kandidat antibakteri baru untuk pengobatan infeksi bakteri.

2.8 Parameter Immunologi

2.8.1 Sel Darah Putih (Leukosit)

Menurut Suhermanto *et al.*, (2011), leukosit merupakan komponen penting, mempunyai peran dalam sistem kekebalan tubuh ikan. Peningkatan jumlah sel darah putih ini merupakan respon dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel asing termasuk adanya infeksi bakteri yang masuk ke tubuh ikan. Hasil produksi leukosit akan diarahkan menuju daerah terinfeksi sebagai pertahanan ikan. Naiknya jumlah leukosit merupakan indikator adanya infeksi yang mengakibatkan terjadinya inflamasi

Menurut Noercholis *et al.*, (2013), imunitas non spesifik memiliki peranan penting dalam menginduksi respon imun spesifik. Leukosit juga berfungsi

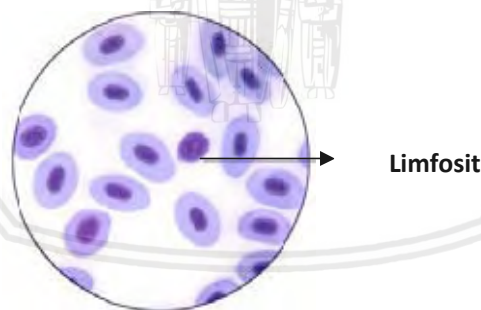
sebagai sistem pertahanan tubuh ikan yang bereaksi terhadap gangguan dari luar termasuk infeksi patogen. Dibandingkan dengan sel darah merah, leukosit memiliki jumlah yang lebih sedikit yaitu berkisar antara $20.000/\text{mm}^3$ hingga $150.000/\text{mm}^3$. Leukosit terdiri atas limfosit, monosit, basofil, neutrofil/heterofil dan eosinofil. Perubahan jumlah leukosit dalam sirkulasi darah dapat diartikan sebagai timbulnya agen penyakit, peradangan, penyakit autoimun atau reaksi alergi (Lestari *et al.*, 2013)

2.8.2 Diferensial Leukosit

- **Limfosit**

Limfosit memiliki diameter berkisar antara $8-12\ \mu\text{m}$. Sitoplasma berwarna biru pucat, inti berbentuk bulat hingga oval, lebih sering berbentuk tidak beraturan, serta berisi vakuola kecil dan granula azurofilik (Abbas *et al.*, 2010).

Limfosit merupakan sel darah yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh. Pada ikan teleost, limfosit diproduksi di organ timus, limpa dan ginjal. Inti sel limfosit hampir memenuhi ruangan sel, berwarna gelap dengan sedikit sitoplasma yang mengelilingi inti, dan tidak bergranula (Mones, 2008).



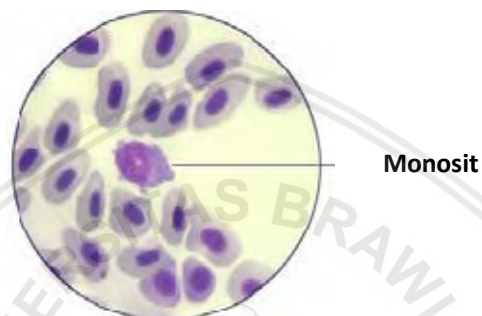
Gambar 8. Penampang limfosit diamati di bawah mikroskop perbesaran 10×10 kali, dengan ukuran diameter sel $8.2\ \mu\text{m}$ (Mones, 2008).

- **Monosit**

Menurut Suhermanto, *et al.*, (2011), monosit terdiri dari sitoplasma berwarna biru keabu-abuan hingga biru, bentuk inti bervariasi mulai bulat hingga oval. Monosit merupakan sel dalam aliran darah dan berkembang menjadi

makrofag. Ketika mengalami aktivasi, makrofag memiliki kapasitas fagosit lebih kuat daripada neutrofil meskipun granulosit mempunyai jumlah lebih besar

Monosit ikan berasal dari jaringan hematopoietik ginjal. Secara morfologi bentuk monosit ikan serupa dengan monosit mamalia. Persentase monosit pada ikan sebanyak 0.1 % dari populasi leukosit total yang bersirkulasi. Namun demikian, jumlahnya akan bertambah dalam waktu singkat (± 48 jam) setelah disuntik dengan benda asing seperti karbon (Mones, 2008).

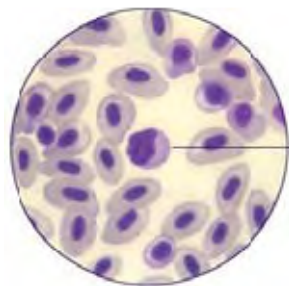


Gambar 9. Penampang Monosit Diamati Dibawah Mikroskop Perbesaran 10x10 kali, dengan ukuran diameter sel 10 μm (Mones, 2008).

- **Neutrofil**

Menurut Suhermanto, *et al.*, (2011), fungsi utama neutrofil adalah penghancuran bahan asing melalui proses fagositik yaitu kemotaksis dengan jalan sel bermigrasi menuju partikel atau perlekatan partikel pada sel, penelanan partikel oleh sel dan penghancuran partikel oleh enzim lisosom didalam fagolisosom.

Neutrofil berbentuk bundar dan berukuran besar (diameter 9-13 μm), dengan sitoplasma yang besar dan mengandung granula. Sitoplasma berwarna biru cerah atau ungu pucat, sedangkan inti berwarna biru gelap dan memperlihatkan gumpalan neutrofil ikan teleost dibentuk di dalam organ ginjal dan limpa. Proporsi neutrofil dalam populasi leukosit darah sangat rendah, yaitu sekitar 6 – 8 % (Mones, 2008).



Neutrofill

Gambar 10. Penampang neutrofil diamati di bawah mikroskop perbesaran 10x10 kali (Mones, 2008).

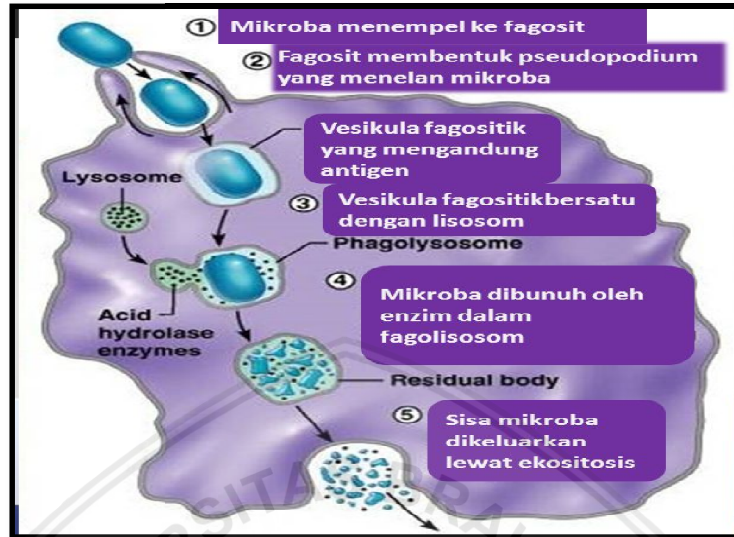
2.8.3 Aktivitas Fagositosis

Menurut Lukistyowati dan Kurniasih (2011), sistem imun diindikasikan dapat meningkatkan aktivitas fagositosis dan pertahanan lain. Kemampuan leukosit untuk memfagosit bakteri merupakan salah satu cara untuk mempertahankan diri terhadap serangan pathogen. Ada tiga fase utama dalam fagositosis yaitu pelekatan patogen pada permukaan sel darah, penelanan melalui fosisi fagosom dan penghancuran partikel dalam fagosom. Pelekatan suatu patogen pada membran fagosit merupakan suatu presyarat untuk mempermudah dan biasanya relatif berlangsung secara pasif. Berbagai jenis leukosit berperan dalam pertahanan non spesifik. Kemampuan leukosit untuk memfagosit bakteri merupakan salah satu cara untuk mempertahankan diri terhadap serangan patogen.

Menurut Laelawati (2008), mekanisme terbentuknya antibodi spesifik karena rangsangan antigen dimulai dari masuknya antigen ke dalam tubuh ikan, kemudian difagositosis oleh makrofag. Fagositosis adalah salah satu elemen paling penting dalam sistem kekebalan. Proses ini memberi perlindungan segera dan efektif terhadap infeksi. Mekanisme pertahanan tubuh terdiri atas tiga tahapan penting, yaitu :

1. Pengenalan musuh yang dihadapi. Dalam hal ini musuh yang dihadapi adalah antigen (mikroorganisme), bisa berupa bakteri ataupun virus.

2. Penghancuran antigen oleh sistem pertahanan.
3. Kembali ke keadaan normal.



Gambar 11. Aktivitas Fagositosis (Lukistyowati dan Kurniasih, 2011)

2.9 Pengertian Histologi dan Histopatologi

Menurut Harjana (2011), histologi mempelajari jaringan penyusun tubuh, kimia jaringan dan sel dipelajari dengan metode analitik mikroskopik dan kimia. Zat-zat kimia di dalam jaringan dan sel dapat dikenali dengan reaksi kimia yang menghasilkan senyawa berwarna tak dapat larut, diamati dengan mikroskop cahaya. Jaringan adalah kumpulan dari sel-sel sejenis atau berlainan jenis termasuk matrik antar selnya yang mendukung fungsi organ atau sistem tertentu.

Histopatologi merupakan penelusuran penyakit secara mikroskopik dimana dalam pengamatan histopatologi informasi yang diperoleh dalam bentuk gambaran perubahan organ/jaringan. Informasi yang diperoleh juga dapat digunakan sebagai data untuk mengetahui ada atau tidak infeksi penyakit serta untuk meramalkan proses kejadian penyakit dan tingkat epidemik suatu penyakit. Infeksi suatu penyakit baik yang infeksius maupun yang non-infeksius dapat didiagnosa dengan beberapa cara, diantaranya dengan diagnosa secara

histopatologi yang bertujuan untuk mendapatkan berbagai informasi tentang penyakit (Pazra, 2008).

2.9.1 Pengamatan Histoptologi Jaringan

Menurut Setyowati *et al.*, (2012), analisa histopatologi dapat digunakan sebagai biomarker untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ-organ yang menjadi sasaran utama dari bahan pencemar seperti insang, hati, ginjal, otot dan sebagainya. Selain itu, penggunaan biomarker histopatologi dapat digunakan dalam memonitoring lingkungan dengan mengamati organ-organ tersebut yang memiliki fungsi penting dalam metabolisme tubuh sehingga dapat digunakan sebagai diagnosis awal terjadinya gangguan kesehatan pada suatu organisme.

Persiapan jaringan melalui tahap fiksasi, pemotongan jaringan, pelabelan specimen, refiksasi, dan dekalsifikasi. Selanjutnya, pengolahan jaringan dilakukan dengan tahap dehidrasi, penjernihan, penyusupan parafin dan pembuatan blok. Jaringan berparafin dalam bentuk blok yang akan dibuat irisan tipis jaringan dengan mikrotom sehingga menjadi preparat yang dapat diwarnai dengan beberapa jenis pewarna jaringan, seperti pewarnaan hematoksilin eosin, giemsa dan lain-lain (Panigoro *et al.*, 2007).

Pada penelitian ini melihat perubahan gambaran jaringan otot dan insang ikan mas. Peneliti memilih jaringan otot karena ciri khas bakteri *A. hydrophila* yakni menempel pada kulit dan menimbulkan luka sehingga berpengaruh pada otot akibat merosotnya mitokondria dan kerusakan retikula endoplasma. Sedangkan peneliti memilih jaringan insang karena lapisan epitel insang yang tipis dan berhubungan langsung dengan lingkungan luar menyebabkan insang berpeluang besar terinfeksi penyakit.

2.9.2 Histopatologi Otot dan Insang

Beberapa penelitian telah mempelajari tentang perubahan histopatologi otot yang ditengarai dapat mengindikasikan penyakit akut dan menunjukkan gejala dini adanya infeksi. Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa nekrosis dan degenerasi otot pada ikan ditimbulkan oleh infeksi *Aeromonas sp.* Gejala selanjutnya adalah Inflamasi akut dan penebalan lamella, inflamasi pada vakuola dan lemak di hepatocyte, serta nekrosis pada otot cardiac. Menurut hasil observasi, kesemuanya itu adalah infeksi bakteri *Aeromonas sp.* (Aydin dan Ciltas, 2004).

Menurut Miyazaki *et al.*, (2001), akibat serangan bakteri *Aeromonas* akan menyebabkan edematous dan pendaharan, sehingga memperluas kerusakan pada jaringan kulit dan memisahkan jaringan epidermis kemudian diikuti dengan pemisahan jaringan ikat longgar yang akan mengakibatkan deposisi fibrin pada lapisan kulit. Hal tersebut menunjukkan bahwa ada kemungkinan myofibril yang terfragmentasi sehingga berpengaruh pada otot akibat merosotnya mitokondria dan kerusakan retikula endoplasma. Pada bagian jantung, serat otot yang mengandung myofibril mengalami degenerasi vacuolar, dan myofibril digumpalkan dalam keadaan atrofi dalam lapisan miokardium. Pada lapisan miokardium, pendarahan kadang-kadang terjadi diantara serat otot.

a) Otot

- **Pengertian Otot**

Menurut Susanto (2008), otot ikan seperti pada vertebrata tersusun atas bagian-bagian kecil yang disebut dengan serabut otot. Secara morfologi dan fungsi otot dibagi menjadi dua yaitu otot halus dan otot lurik. Otot lurik dibagi lagi menjadi otot tulang dan otot jantung. Otot tulang bekerja sama dengan tulang dalam sistem muskuloskeletal dan menyusun bentuk tubuh ikan. Otot halus dapat ditemukan pada dinding pembuluh darah, saluran pencernaan, buluh

empedu, dan buluh pankreas. Sedangkan otot lurik jantung merupakan otot khusus penyusun organ jantung.

Menurut Pazra (2008), hasil pemeriksaan histopatologi dari otot ikan ternyata terdapat sejumlah tipe serabut otot yang pada banyak spesies ikan tersusun dalam banyak kelompok-kelompok yang terpisah. Umumnya ada 2 kelompok yaitu, kelompok muskularis lateralis superfisialis yang terdiri atas otot merah dan kelompok muskularis lateralis profundus yang terdiri atas serabut-serabut putih. Serabut-serabut merah ini adalah serabut aerob berdaya kontraksi lamban dan banyak pembuluh darah, serupa dengan serabut-serabut merah pada otot mamalia, sedangkan serabut-serabut putih adalah anaerob berdaya kontraksi cepat dan mudah mengalami kerusakan. Diantara lapisan otot-otot merah dan putih terdapat serabut merah muda yang fungsinya berada diantara serabut-serabut merah dan putih.

- **Fungsi Otot**

Menurut Susanto (2008), otot ikan seperti pada vertebrata tersusun atas bagian-bagian kecil yang disebut dengan serabut otot. Secara morfologi dan fungsi otot dibagi menjadi dua yaitu otot halus dan otot lurik. Otot lurik dibagi lagi menjadi otot tulang dan otot jantung. Otot tulang bekerja sama dengan tulang dalam sistem muskuloskeletal dan menyusun bentuk tubuh ikan. Otot halus dapat ditemukan pada dinding pembuluh darah, saluran pencernaan, buluh empedu, dan buluh pankreas. Sedangkan otot lurik jantung merupakan otot khusus penyusun organ jantung. Serabut otot halus panjang berbentuk gelondong. Otot ini berfungsi dalam kontraksi beberapa organ pencernaan dan membentuk struktur pembuluh darah, buluh empedu, dan buluh pankreas. Otot halus biasanya tersusun dari satu atau beberapa gelondong serabut otot. Di dalam beberapa lapisan terdapat fibroblast, kolagen, dan jaringan ikat lunak

lainnya. Selain itu terdapat pembuluh darah dan serabut syaraf sebagai sistem koordinasi gerakan

- **Kerusakan Otot**

Menurut Susanto (2008), perubahan patologis pada otot ikan yang ditemukan pada dasarnya tidak berbeda jauh dengan perubahan patologis pada otot vertebrata. Hasil penelitian para ahli patologi ikan saat ini masih belum cukup untuk menjelaskan perubahan patologis yang terjadi. Oleh karena itu penelitian patologi ikan masih sangat diperlukan. Perubahan serabut yang menjadi tidak jelas dapat menunjukkan adanya kelainan. Perubahan ini dapat terjadi sebagian atau menyeluruh tergantung derajat keparahannya. Perubahan patologis yang terjadi pada otot antara lain perubahan serabut otot, perubahan nukleus sel otot, bengkak (*cloudy swelling*), degenerasi hyalin, degenerasi granular, degenerasi lemak sampai nekrosa serabut otot.

b) Insang

- **Pengertian Insang**

Insang merupakan alat respirasi ikan seperti paru-paru pada mamalia atau hewan darat lainnya. Luas permukaan epitel insang hampir setara dengan luas total permukaan kulit, bahkan pada sebagian besar spesies ikan luas permukaan epitel insang ini jauh melebihi kulit. Fungsi lain dari insang yaitu mengatur homeostasis ikan. Lapisan epitel insang yang tipis dan berhubungan langsung dengan lingkungan luar menyebabkan insang berpeluang besar terinfeksi penyakit. Insang juga berfungsi sebagai pengatur pertukaran garam dan air, serta pengeluaran limbah-limbah yang mengandung nitrogen. Kerusakan struktur yang ringan sekalipun dapat sangat mengganggu pengaturan osmosis dan kesulitan pernafasan (Nabib dan Pasaribu 1989).

- **Bagian – Bagian Insang**

Insang terdiri dari dua rangkaian yang tersusun atas empat lengkungan tulang rawan dan tulang keras (holobrankhia) yang menyusun sisi faring. Masing-masing holobrankhia menonjol dari pangkal posterior lengkung insang. Hemibrankhia terdiri dari dua baris filamen tipis panjang yang disebut lamela primer. Lamela primer permukaannya mengalami perluasan oleh adanya lamela sekunder yang merupakan lipatan semilunar yang menutupi permukaan dorsal dan ventral. Insang juga dilengkapi dengan lapisan sel-sel penghasil mukus dan sel-sel yang mengekresi amonia dan kelebihan garam. Pada bagian tepi tengah anterior dilengkapi *gill rakers* yang berperan menyaring partikel-partikel pakan (Roberts 2001).

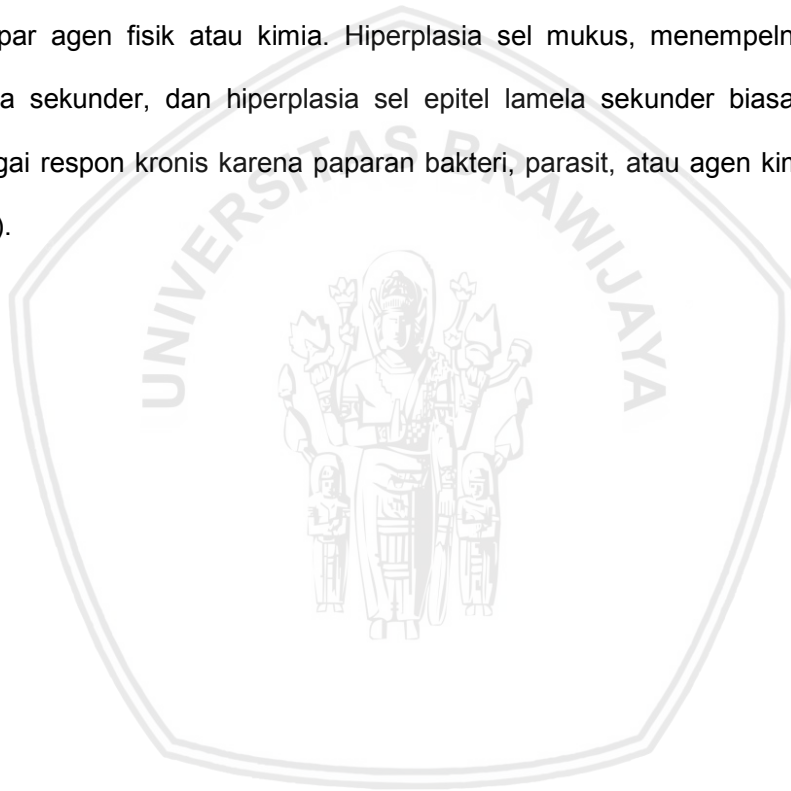
Insang memiliki beberapa glandula yang disebut dengan glandula brankhial. Glandula brankhial merupakan sel-sel epitel insang yang mengalami diferensiasi. Glandula tersebut adalah glandula mukosa dan glandula asidofilik (sel-sel khlorida). Glandula mukosa berupa sejumlah sel-sel tunggal berbentuk oval yang terletak pada lengkung insang, filamen insang maupun lamela sekunder. Glandula ini berfungsi menghasilkan mukus glikoprotein yang bersifat basa atau netral. Fungsi mukus tersebut antara lain: sebagai perlindungan atau proteksi, menurunkan terjadinya friksi atau gesekan, antipatogen, membantu pertukaran ion, membantu pertukaran gas dan air (Irianto 2005).

- **Kerusakan Insang**

Insang merupakan komponen utama sistem respirasi ikan. Beberapa perubahan histopatologi pada insang yang umum terjadi antara lain: perubahan regresif, anomali sirkulasi, dan perubahan progresif. Banyak agen patologis menyebabkan edema, vakuolasi, nekrosis lamela sekunder, dan sekresi mukus berlebihan sampai kematian sel mukus. Umumnya edema akan disertai radang

yang dapat diketahui dari infiltrasi sel-sel radang sebagai reaksi pertahanan (Hibiya 1995).

Secara mikroskopis pada lamela sekunder dapat kita temukan eritrosit di dalam lumen-lumen kapiler. Kadang-kadang darah itu menumpuk menjadi kongesti atau menyebar ke jaringan menjadi hemoragik. Edema atau penumpukan darah pada kapiler dapat mendorong telangiektasis. Telangiektasis terlihat berupa perbesaran lamela sekunder yang berbentuk seperti bola. Hiperplasia sel epitel pada lamela primer dan sekunder dapat terjadi karena terpapar agen fisik atau kimia. Hiperplasia sel mukus, menempelnya lamela-lamela sekunder, dan hiperplasia sel epitel lamela sekunder biasanya terjadi sebagai respon kronis karena paparan bakteri, parasit, atau agen kimia. (Hibiya 1995).



3 KERANGKA PENELITIAN

3.1 Landasan Teori

Ikan mas merupakan ikan konsumsi air tawar yang banyak digemari oleh masyarakat karena rasa dagingnya yang gurih dan memiliki kadar protein tinggi. Di Indonesia ikan mas merupakan salah satu jenis ikan tawar yang memiliki daerah penyebaran yang merata. Oleh sebab itu jenis ikan ini banyak dikenal dan digemari oleh masyarakat dan dapat meningkatkan pendapatan petani ikan. Namun dalam berlangsungnya budidaya ikan mas terdapat kendala yang dapat merugikan para petani ikan, salah satu kendalanya yakni timbulnya penyakit. Menurut Reverter *et al.*, (2014) telah dilaporkan bahwa produksi perikanan budidaya dunia rentan dan mengalami peningkatan wabah sehingga mengakibatkan hilangnya sebagian atau total produksi. Penyakit dalam budidaya ikan disebabkan oleh adanya infeksi dari golongan patogen yang terdiri dari bakteri, virus, jamur dan juga parasit. Oleh karena itu, berbagai penyakit menular menyebabkan besarnya kerugian ekonomi dalam akuakultur. Salah satu penyebab penyakit pada budidaya ikan mas adalah infeksi bakteri *A. hydrophila*.

Menurut Gardenia *et al.*, (2010), *A. hydrophila* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang yang banyak ditemukan di lingkungan air tawar dan air payau. Gejala klinis yang ditimbulkan antara lain infeksi di bagian tubuh maupun sirip dan kadang-kadang diikuti dengan mata menonjol, pendarahan pada bagian tubuh, sisik terkuak, perut busung, ikan lemah, dan sering berada di permukaan air atau dasar kolam. Untuk mengatasi timbulnya bakteri tersebut maka perlu dilakukan pemberian imunostimulan dari bahan alami yang ramah lingkungan.

Salah satu bahan alami yang berpotensi sebagai imunostimulan adalah maggot. Menurut Wangko (2014), salah satu bahan yang dihasilkan maggot

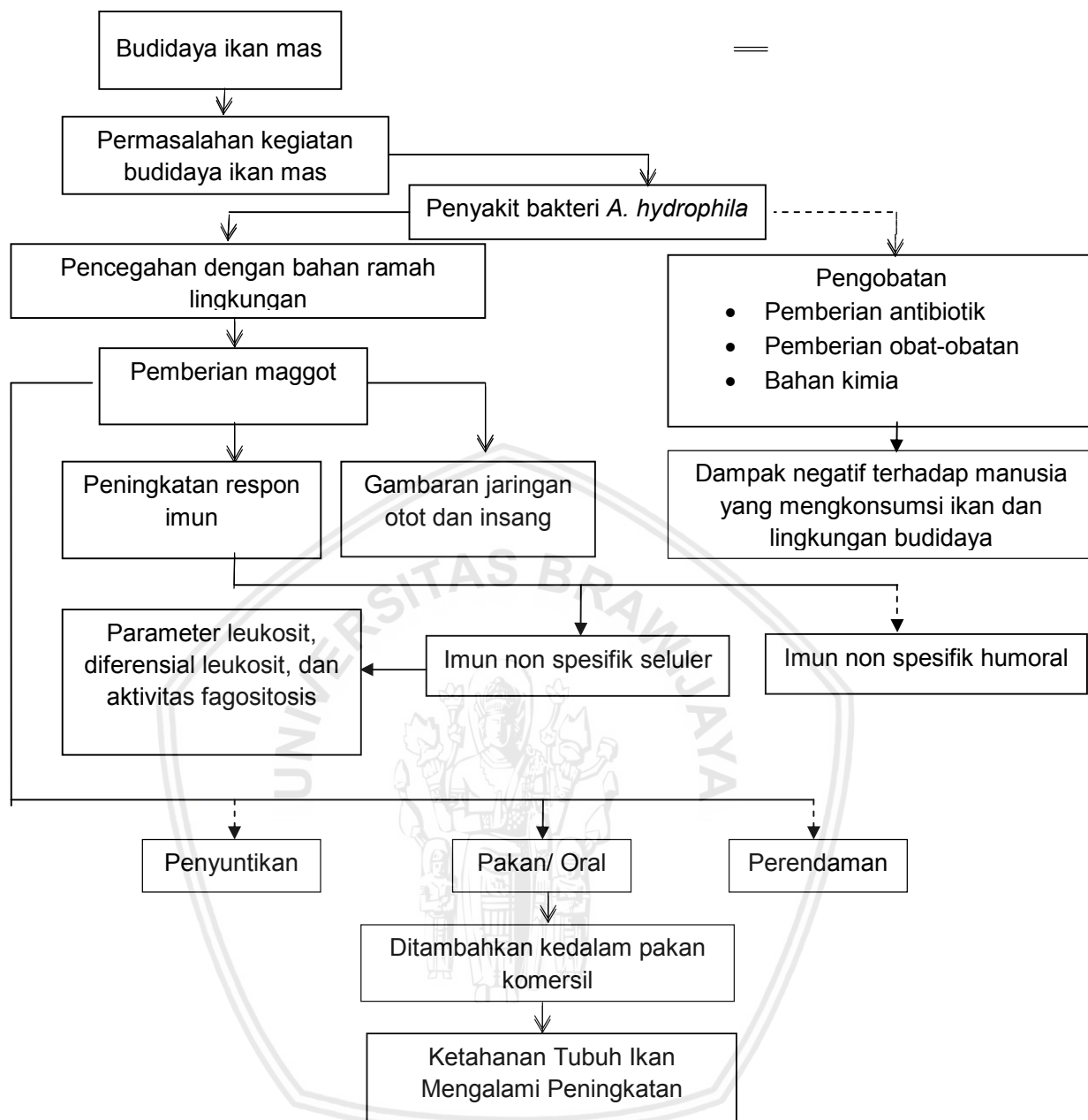
untuk mempertahankan hidupnya berefek antimikroba. Choi *et al*' (2014), melakukan ekstraksi larva *H. illucens* dengan beberapa pelarut organik dan efek antimikroba tersebut ditentukan antara lain dengan metoda *agar disk diffusion* dan *turbidometric assay*. Ekstrak metanol mengindikasikan efek antimikroba terhadap *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, dan *Shigella sonnei* tetapi tidak terhadap mikroba Gram positif seperti *Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*, dan *Sarcina lutea*.

Menurut Choi dan MeiHua (2014), maggot pada instar ke 4 hingga instar ke 6 mengandung senyawa antibakteri yakni asam heksanedioat yang secara efektif menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif, sehingga pada penelitian Choi dan MeiHua ini menemukan potensi bahwa maggot dapat digunakan sebagai kandidat antibakteri baru untuk pengobatan infeksi bakteri.

Menurut Setyowati *et al.*, (2012), analisa histopatologi dapat digunakan sebagai biomarker untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ-organ yang menjadi sasaran utama dari bahan pencemar seperti insang, hati, ginjal, otot dan sebagainya.

3.2 Kerangka Konsep

Merujuk pada landasan teori yang telah dipaparkan, dirasa perlu untuk dilakukan penelitian tentang penggunaan imunostimulan dengan pemanfaatan maggot. Pada penelitian ini diharapkan pemberian maggot dapat meningkatkan respon imun non spesifik pada ikan mas yang ditantang bakteri *A. hydrophila*. Kerangka konsep penelitian dapat dilihat pada Gambar 12.



Keterangan: Garis putus-putus adalah langkah yang tidak dilakukan pada penelitian ini

Gambar 12. Kerangka Konsep Penelitian

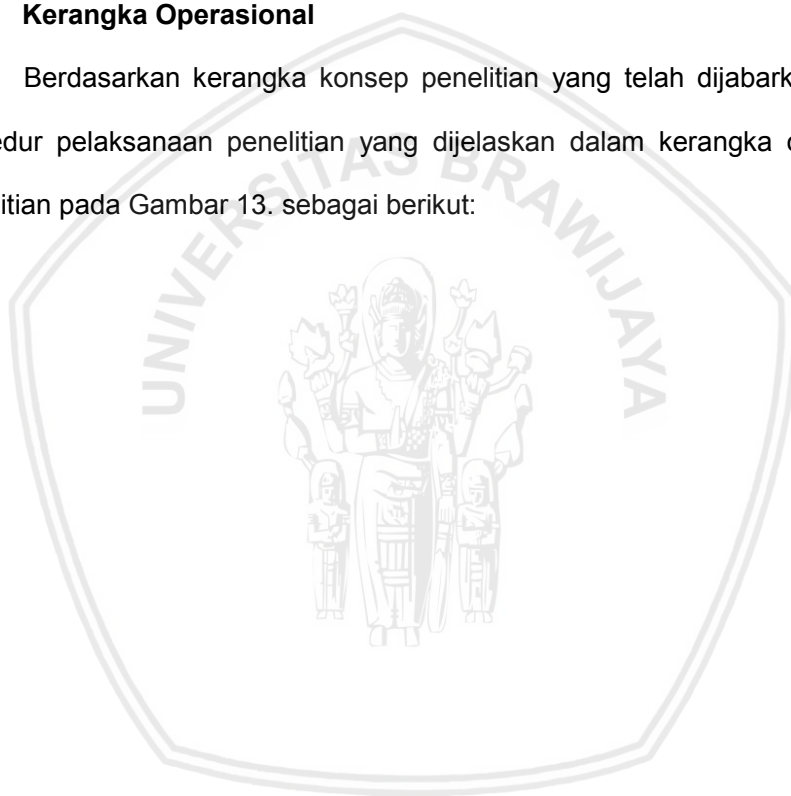
3.3 Hipotesis

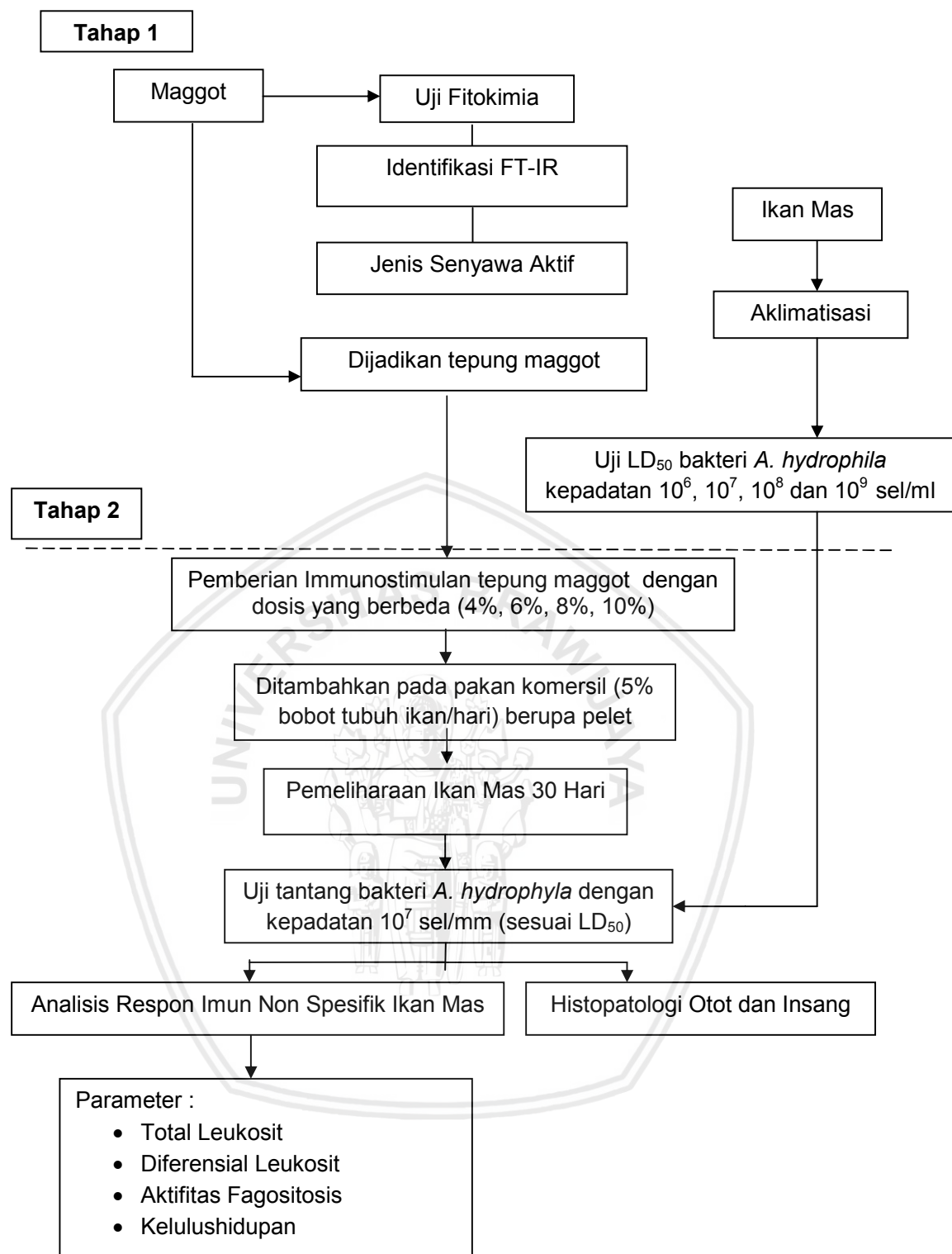
Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

- Diduga pemberian dosis maggot yang berbeda berpengaruh terhadap respon imun non spesifik ikan mas yang ditantang bakteri *A. hydrophyla*
- Diduga pemberian dosis maggot yang berbeda berpengaruh terhadap gambaran jaringan otot dan insang ikan mas yang ditantang bakteri *A. hydrophyla*

3.4 Kerangka Operasional

Berdasarkan kerangka konsep penelitian yang telah dijabarkan adapun prosedur pelaksanaan penelitian yang dijelaskan dalam kerangka operasional penelitian pada Gambar 13. sebagai berikut:





Gambar 13. Kerangka Operasional Penelitian

3.5 Kebaharuan Penelitian

Tabel 1. Jurnal Penelitian Terkait Pemanfaatan Maggot untuk Meningkatkan Respon Imun Non Spesifik Ikan Mas yang ditantang bakteri *A. hydrophila*

No	Judul	Tahun	Peneliti
1.	Evaluation of antibacterial activity of hexanedioic acid isolated from <i>Hermetia illucens</i> larvae	2014	Won Hyung Choi; MeiHua Jiang
2.	Purification and characterization of a novel antibacterial peptide from black soldier fly (<i>Hermetia illucens</i>) larvae	2015	Soon-Ik Park; Jong-Wan Kim; Sung Moon Yoe
3.	Perbandingan efektivitas larva <i>Chrysomya rufifacies</i> dan <i>Musca domestica</i> dalam uji ekstrak in vitro, uji ekstrak in vivo, dan maggot debridement therapy pada luka terinfeksi <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	2011	Prof.dr.Soebaktinin gsih, DTM&H, M.Sc, Sp.Par.K; Albert Cendikiawan; Hadianto Gunawan; Obed Trinurcahyo K.P; Vianney Tedjamulya; Cokorda A; Wahyu P.
4.	Pengaruh pemberian tepung magot (<i>hermetia illucens</i>) dalam pakan buatan terhadap pertumbuhan, efisiensi pakan dan kelangsungan hidup benih ikan mas (<i>cyprinus carpio</i> l.)	2011	Yudi Cahyoko, Danita Garneda Rezi dan Akhmad Taufiq Mukti
5.	Pengaruh tingkat pemberian maggot terhadap pertumbuhan dan efisiensi pemberian pakan benih ikan Gurame (<i>Osphronemus gouramy</i>)	2007	Deni Sugianto

Berdasarkan Tabel 1, penelitian pemanfaatan maggot untuk meningkatkan respon imun non spesifik ikan mas yang ditantang bakteri *A. hydrophila* belum dilakukan sehingga penelitian ini masih tergolong baru karena penelitian yang sudah dilakukan yakni maggot sebagai antibakteri. Kebaharuan penelitian ini yaitu berusaha untuk melihat sejauh mana pemberian maggot

sebagai imunostimulan untuk meningkatkan sistem imun ikan mas sehingga diharapkan dapat digunakan sebagai informasi baru kedepannya.

3.6 Publikasi Karya Ilmiah

Publikasi karya ilmiah merupakan tahapan setelah pelaksanaan penelitian. Publikasi dipersyaratkan pada Pelaksanaan Kurikulum Program Magister Budidaya Perairan Fakultas Kelautan dan Perikanan Universitas Brawijaya adalah Jurnal Nasional terakreditasi dan Jurnal Internasional.

Adapun publikasi jurnal penelitian dapat dilihat pada Tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 2. Publikasi Jurnal

No	Judul	Bulan	Jurnal
1	Larvae of <i>Hermetia illucens</i> Promotes the Immunocompetence of Haematology, Muscle and Gills Histopatology of Common Carp (<i>Cyprinus carpio</i>) Challenged with <i>Aeromonas hydrophila</i>	Maret 2018	International Journal of Scientific & Technology Research (IJSTR)

4 METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2017 sampai Januari 2018 di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan (Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang), UPT Materia Medica Batu Malang, Balai Karantina Ikan Kelas I Surabaya I dan Laboratorium Kimia Organik (Fakultas Sains dan Teknologi (Saintek), Universitas Islam Negeri Malang. Tabel jadwal penelitian bisa dilihat pada Lampiran 1.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

4.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari gelas ukur 100 ml, Aquarium 40×40×40 cm sebanyak 18 buah, aerator, selang aerasi dan batu aerasi digunakan sebagai media pemeliharaan hewan uji. Timbangan digital, pipet tetes, nampan, mikroskop cahaya, objek glass, cover glass, *hotplate*, petri disk, mikropipet, spuit 1 ml, pipet thoma leukosit, *handtally counter*, *haemocytometer*, incubator, *centrifuge*. Alat uji histopatologi otot dan insang, alat uji fitokimia dan FT-IR. Peralatan yang digunakan untuk analisis kualitas air, yaitu; pH dan DO meter.

4.2.2 Bahan Penelitian

Pada penelitian ini bahan yang digunakan dibagi menjadi dua yaitu bahan baku dan bahan tambahan. Bahan baku yang digunakan meliputi, maggot sebagai bahan yang diperoleh dari pembudidaya maggot Bapak Yurie di Slipi Jakarta Barat. Ikan Mas (*C. carpio*) dengan ukuran 7-9 cm sebagai hewan uji diperoleh dari Balai Benih Ikan Punten, Kota Batu, Malang. Bakteri *A. hydrophyla* yang diperoleh dari Balai Karantina Ikan Kelas I Surabaya I.

Bahan tambahan yang digunakan meliputi aquades, methanol, kertas label, alkohol 70%, aluminium foil, cotton swap, tissue, media NA (*Nutrient Broth*), media TSB (*Tryptitone Sot Broth*), larutan hayem, larutan turk, Na-fisiologis, anti koagulan (Na-sitrat 3,8%), sampel darah ikan mas, safranin, larutan giemsa, larutan PBS, formalin, bahan-bahan histopatologi otot dan insang. Foto alat dan bahan yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 3.

4.3 Pendekatan Penelitian

Pendekatan penelitian didasarkan pada hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan sebelumnya namun pada manusia yaitu maggot dapat digunakan untuk menyembuhkan luka pada manusia yang terjangkit bakteri *Staphylococcus aureus* dan ditemukan asam heksanedioat yang berfungsi sebagai antibakteri. Penggunaan pendekatan eksperimen pendahuluan bertujuan untuk menghasilkan suatu dasar atau landasan yang berasal dari hasil uji pendahuluan. Untuk penelitian tahap selanjutnya dapat dilakukan pada hewan uji ikan dengan dosis yang tepat untuk menghasilkan respon imun non spesifik terbaik namun pada bakteri yang umum ditemukan pada budidaya ikan mas yakni bakteri *A. hydrophyla*.

4.4 Variabel Penelitian

Objek penelitian atau apa yang menjadi titik perhatian suatu penelitian disebut sebagai variabel (Arikunto, 2006). Disebut variabel karena secara kualitatif atau kuantitatif dapat bervariasi. Apabila sesuatu tidak dapat bervariasi maka hal tersebut bukan merupakan variabel melainkan konstanta (Azwar, 2007). Variabel dibagi menjadi dua yaitu variabel bebas dimana akan diselidiki pengaruhnya dan variabel terikat sebagai faktor yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perbedaan penambahan dosis maggot sebagai imunostimulan pada ikan mas. Sedangkan variabel terikatnya meliputi survival rate, kadar total leukosit, diferensial leukosit, fagositosis, makrofag, dan histopatologi otot serta kualitas air (pH, suhu, dan DO).

4.5 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Menurut Simatupang (2000) tujuan dari metode penelitian ini adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab-akibat serta berapa besar hubungan sebab-akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan-perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol sebagai perbandingan. Penelitian ini dibagi dua tahap yaitu penelitian tahap I dan penelitian tahap II. Penelitian tahap I dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh senyawa aktif dari maggot melalui uji fitokimia dan FT-IR sedangkan pada penelitian tahap II bertujuan untuk memperoleh dosis pemberian maggot dengan metode pemberian secara oral yang menghasilkan respon imun non spesifik dan gambaran jaringan otot dan insang ikan mas terbaik yang ditantang bakteri *A. hydrophyla*. Tahapan penelitian yang dilakukan dapat diuraikan sebagai berikut:

4.5.1 Tahapan 1

Pada tahapan 1 atau penelitian pendahuluan dilakukan persiapan sampel maggot.

a. Sampel Maggot

Maggot yang digunakan dalam penelitian pendahuluan berupa maggot kering angin, karena berdasarkan beberapa penelitian tentang senyawa aktif menunjukkan bahwa sampel kering angin adalah yang terbaik, menurut Sugianto (2007), maggot dibersihkan lalu diawetkan/dimatikan didalam *freezer*, kemudian maggot dikeringkan ditempat terbuka dan terhindar dari sinar matahari hingga

kering dan kadar air hilang. Maggot yang sudah kering tersebut kemudian dihaluskan dengan *blender* atau mesin giling agar didapatkan maggot dalam bentuk serbuk, setelah itu serbuk diayak sehingga diperoleh serbuk yang lebih halus. Serbuk ini yang nantinya akan dijadikan bahan uji fitokimia dan yang akan digunakan untuk campuran pakan komersil yang diberikan pada ikan mas sebagai pakan tiap harinya.

b. Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan terhadap ekstrak maggot sesuai dengan *Stansart Operating Procedure* (SOP) UPT Materia Medica Batu Malang dengan cara sebagai berikut :

- **Uji Alkaloid**

5 gram serbuk maggot ditambahkan H_2SO_4 2 ml lalu dikocok sehingga terbentuk 2 lapisan, lapisan asam yang paling atas diambil dan ditetesi dengan pereaksi Meyer, Wagner dan Dragendrof. Ekstrak yang positif mengandung alkaloid akan terdapat endapan putih, coklat dan merah jingga.

- **Uji Flavonoid**

5 gram serbuk maggot ditambahkan 0,5 g serbuk Mg, 1 ml HCl pekat, kemudian dikocok dengan kuat. Apabila positif terdapat flavonoid maka muncul warna merah, kuning atau jingga.

- **Uji Saponin**

Air panas sebanyak 5 ml ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 gram serbuk maggot dan dihomogenkan, setelah itu dibiarkan selama 10 menit. Ekstrak positif mengandung saponin jika terbentuk buih yang stabil.

- **Uji Tanin**

5 gram serbuk maggot ditambahkan 1 ml FeCl_3 1 % Jika positif tanin maka terbentuk warna hijau kehitaman.

c. Identifikasi Senyawa dengan FT-IR

Untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif maggot dilakukan dengan menggunakan 3 tahap. Tahap pertama dilakukan analisis menggunakan analisis FT-IR. Dilakukan analisis-analisis tersebut sebenarnya tujuannya sama dengan uji fitokimia yakni untuk mengetahui senyawa aktif pada maggot, namun dalam penelitian ini menggunakan keduanya untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat sehingga dapat digunakan sebagai informasi yang pasti kedepannya.

- **Analisis Spektrofotometer FT-IR (*Fourier Transform Infrared*)**

Analisis spektrofotometer ini adalah analisis lanjutan dari uji fitokomia, karena penentuan panjang gelombang pada analisis spektrofotometer FTIR ditentukan dari hasil uji fitokimia yang kandungan senyawanya sudah diketahui, sehingga pada uji spektrofotometer FTIR hanya menguji apakah pada panjang gelombang senyawa hasil uji fitokimia muncul frekuensi gugus fungsi. Menurut Anam, C., Sirojudin, K.S. Firdausi (2007), spektroskopi FTIR (*Fourier Transform Infrared*) ini sendiri merupakan spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi Fourier untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya. Inti spektroskopi FTIR adalah interferometer Michelson yaitu alat untuk menganalisis frekuensi dalam sinyal gabungan. Analisis gugus fungsi suatu sampel dilakukan dengan membandingkan pita absorpsi yang terbentuk pada spectrum infra merah menggunakan tabel korelasi dan menggunakan spektrum senyawa pembanding (yang sudah diketahui).

d. Pembiakan Bakteri *A. hydrophila*

- Media Padat TSA (*Tryptic Soya Agar*)

TSA merk OXOID dengan dosis 40 gram/L sebanyak 2,4 gram dilarutkan ke dalam 60 ml akuades pada Erlenmeyer. Media dipanaskan di atas hotplate hingga homogen. Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan kertas

perkamen/aluminium foil lalu ditali dengan benang. Media disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Media dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas. Media dituang pada cawan petri lalu ditunggu hingga dingin dan digunakan atau disimpan pada lemari pendingin dengan diberi label.

- Media Cair TSB (*Tryptitone Sot Broth*)

TSB ditimbang 6 gram dilarutkan dalam 200 ml akuades dalam erlenmeyer kemudian diaduk hingga larut sempurna dan berwarna kuning. Erlenmeyer ditutup kapas dan aluminium foil lalu diikat menggunakan benang. Media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang akan digunakan untuk pembiakan bakteri dibiarkan dingin karena bakteri akan mati bila dinokulasi pada media yang masih panas.

- Pembiakan Bakteri *A. hydrophila*

Larutan TSB disiapkan sebanyak 6 gram dalam erlenmeyer sebanyak 200 ml. Jarum osse dipanaskan diatas Bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum osse disentuhkan ke biakan murni *A. hydrophila* kemudian dicelupkan pada TSB sebanyak 2 osse. Larutan TSB dibiarkan 12 – 24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C. Disiapkan cawan petri yang berisi media TSA. Setelah TSB menjadi keruh, jarum osse dicelupkan ke TSB dan digoreskan ke permukaan TSA. Digoreskan ke dalam media TSA secara zig-zag dengan metode goresan sinabung, T, atau kuadran. Media TSA di inkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

e. Lethal Dosage 50% Bakteri *A. hydrophila* (LD₅₀)

Uji LD₅₀ ini digunakan untuk menentukan kepadatan bakteri *A. hydrophila* yang akan digunakan dalam uji tahap penentuan kepadatan bakteri yang

digunakan. Menurut Wahjuningrum, *et al.*, (2013), uji LD₅₀ merupakan penentuan konsentrasi suatu bakteri yang dapat mematikan sekitar 50% populasi. Pada penelitian ini kepadatan yang digunakan untuk Uji LD₅₀ yakni 10⁶, 10⁷, 10⁸, dan 10⁹ sel/ml.

4.5.2 Tahapan 2

Pada tahapan 2 penelitian dilakukan pemberian imunostimulan maggot dalam bentuk tepung yang ditambahkan kedalam tepung pakan komersil yang selanjutnya dijadikan pellet, dosis tepung maggot yang diberikan berbeda-beda yakni perlakuan A 4% dari pakan komersil (5% bobot biomassa), perlakuan B 6% dari pakan komersil (5% bobot biomassa), perlakuan C 8% dari pakan komersil (5% bobot biomassa), dan perlakuan D 10% dari pakan komersil (5% bobot biomassa), hal ini sesuai dengan (Sugianto, 2007) yang melakukan penelitian menggunakan maggot sebagai pakan utama dengan hasil 8,6% dari bobot biomassa yang merupakan pemberian optimal dengan parameter pertumbuhan, pertumbuhan berhubungan erat dengan metabolisme tubuh yang mana apabila metabolisme tubuh meningkat maka sistem imun pada tubuh juga meningkat, oleh karena itu dalam penelitian ini mengacu pada hasil penelitian Sugianto tersebut dengan diambil 2 range dibawah 8% dan 1 range diatas 8%.

Dilakukan persiapan aquarium sebanyak 18 buah dengan jumlah ikan mas masing-masing 10 ekor, kemudian diaklimatisasi selama 3 hari. Wu *et al.*, (2010) menyatakan kepadatan ikan untuk uji *in vivo* eksperimen dapat dilakukan dengan jumlah 10 ekor/aquarium. Setelah itu dilakukan pemeliharaan hewan uji selama 30 hari dengan pemberian pakan imunostimulan (pakan komersil+maggot) 5% dari berat ikan sebanyak 2 kali sehari. Hewan uji atau ikan mas dibagi dalam 4 perlakuan. Proses uji tantang bakteri *A. hydrophila* dilakukan pada minggu ke 4 dengan kepadatan bakteri yang diperoleh dari uji LD₅₀. Selama pemeliharaan dilakukan pengambilan darah pada hari ke- 0, minggu pertama,

minggu kedua, minggu ketiga, minggu ke empat, dan setelah ujiantang. Setelah itu dilakukan pengamatan pada parameter-parameter yang telah ditentukan.

- **Penginfeksi Bakteri *A. hydrophila***

Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Surabaya I dengan kepadatan 10^9 sel/ml, pada pengukuran kepadatan bakteri dengan spektrofotometer diketahui kepadatan bakteri yakni $2,726 \times 10^9$ sel/ml, untuk mendapatkan kepadatan 10^6 , 10^7 , dan 10^8 sel/ml dilakukan pengenceran menggunakan rumus :

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

Dengan:

- N1 : Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)
- N2 : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)
- V1 : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan
- V2 : Volume yang diinginkan

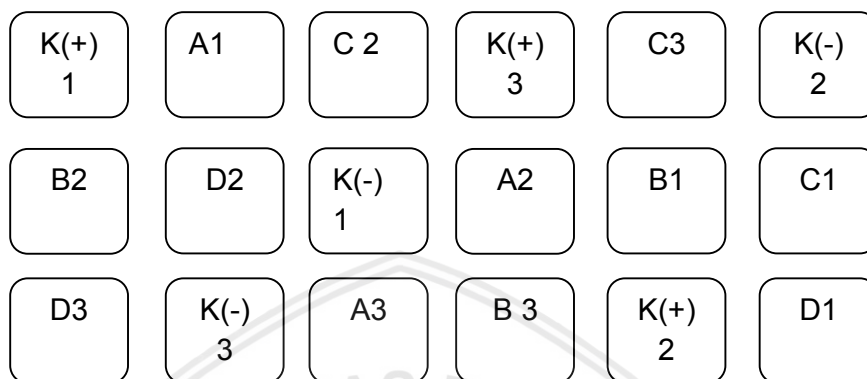
4.6 Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). RAL digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam sehingga kondisi lingkungan tempat penelitian dalam keadaan sama (Sastrosupadi, 2002).

Langkah selanjutnya ialah membandingkan antara F hitung dengan F tabel :

- Jika F hitung < F tabel 5%, maka perlakuan tidak berbeda nyata.
- Jika F hitung > F tabel 1%, maka perlakuan menyebabkan hasil sangat berbeda nyata.
- Jika F tabel 5% < F hitung < F tabel 1 %, maka perlakuan menyebabkan hasil berbeda nyata.

Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan yang nyata (F hitung $> F$ tabel 5 %) maka dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menentukan yang terbaik. Denah perlakuan Rancangan Acak Lengkap (RAL) disajikan sebagai berikut:



Gambar 14. Denah perlakuan penelitian

Keterangan :

A : Perlakuan pemberian maggot dengan dosis 4% dari pakan komersil (5% dari bobot biomassa)

B : Perlakuan pemberian maggot dengan dosis 6% dari pakan komersil (5% dari bobot biomassa)

C : Perlakuan pemberian maggot dengan dosis 8% dari pakan komersil (5% dari bobot biomassa)

D : Perlakuan pemberian maggot dengan dosis 10% dari pakan komersil (5% dari bobot biomassa)

K (+) : Ikan mas diinfeksi *A. hydrophila* dan tanpa pemberian imunostimulan maggot.

K (-) : Ikan mas tanpa infeksi bakteri *A. hydrophila* dan tanpa pemberian imunostimulan maggot

1, 2, 3 : Ulangan Perlakuan.

4.7 Parameter Uji

4.7.1 *Survival Rate*

Analisis kelangsungan hidup ikan berdasarkan rumus menurut Masykur, Kasmaruddin, dan Gunawan (2016) :

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

Keterangan:

SR = Kelangsungan hidup hewan Uji (%).

N_t = Jumlah ikan uji pada akhir penelitian (ekor).

N_o = Jumlah ikan uji pada awal penelitian (ekor).

4.7.2 **Total Leukosit**

Prosedur kerja dari perhitungan total leukosit menurut Bijanti (2005) sebagai berikut : diambil darah ikan yang telah ditambahkan antikoagulan sebanyak 0,5 µl dengan menggunakan pipet leukosit. Kemudian diencerkan dengan larutan turk dalam pipet leukosit hingga 11 µl. Darah yang telah tercampur larutan turk dikocok hingga homogen. Dua tetes pertama dari hasil campuran tersebut buang, tetesan ketiga diletakkan pada kotak haemocytometer kemudian ditutup dengan cover glass dan diamati dengan mikroskop cahaya yakni dengan cara menghitung total leukosit pada semua kotak leukosit.

Perhitungan jumlah sel leukosit dideskripsikan berikut ini. Mikroskop diletakkan pada meja yang datar, lensa kondensor diturunkan atau diafragma dikecilkan. Kamar hitung dengan bidang bergarisnya diletakkan dibawah lensa objektif dan fokus mikroskop diarahkan pada garis-garis tersebut. Leukosit dihitung pada keempat bidang besar dimana kotak tersebut berwarna hijau. Perhitungan dimulai dari sudut kiri atas, terus ke kanan, kemudian turun kebawah dan dari kanan ke kiri. Metode ini diulang pada keempat bidang besar.

Menurut Svobodova (1991), perhitungan total leukosit yaitu :

$$SDP = (A/N) \times (1/V) \times Fp$$

Dimana :

SDP = jumlah leukosit

A = jumlah sel leukosit terhitung

N = jumlah kotak haemocytometer yang diamati

V = volume kotak haemocytometer yang diamati

Fp = faktor pengenceran

4.7.3 Diferensial Leukosit

Prosedur kerja perhitungan differensial leukosit menurut Bijanti (2005) adalah sabagai berikut. Darah ikan yang telah diberi antikoagulan diambil dengan pipet kapiler dan diteteskan pada ujung objek glass untuk membuat hapusan darah yakni dengan cara meletakkan objek glass lain pada ujung objek glass yang telah ditetesi darah sehingga membentuk sudut 30-40 derajat, kemudian didorong dengan sudut yang sama sehingga membentuk lapisan tipis pada objek glass lalu dikeringkan. Setelah kering, objek glass difiksasi dengan menggunakan methanol selama 1-2 menit. Dilakukan pengecatan dengan pengecatan giemsa pada hapusan darah yang telah difiksasi dan ditunggu selama ± 15 menit. Kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan kembali. Hasil dari perlakuan tersebut kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya. Pengambilan darah untuk uji diferensial leukosit dilakukan tiga hari setelah ujiantang bakteri karena menurut Vonti (2008) bahwa setelah 2-3 hari injeksi bakteri, jumlah limfosit meningkat dan meningkatkan produksi antibodi. Menurut Sukenda *et al.*, (2008), rumus diferensial leukosit yakni :

$$\text{Presentase limfosit} = \frac{\text{limfosit}}{100} \times 100\%$$

$$\text{Presentase monosit} = \frac{\text{monosit}}{100} \times 100\%$$

$$\text{Presentase neutrofil} = \frac{\text{neutrofil}}{100} \times 100\%$$

4.7.4 Aktivitas Fagositosis

Menurut Lukistyowati (2011), sampel darah ikan yang akan digunakan untuk memfagositosis bakteri dipersiapkan dengan cara sebagai berikut, sampel darah dengan koagulan EDTA (1:10) disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 3 menit. Bagian supernatant dibuang yang merupakan plasma dengan menggunakan mikropipet. Bagian tengah yang merupakan bafiquat berisi sel-sel polimorfonuklear (PMN) diambil dengan mikropipet sebanyak 50 µl dan diletakkan dalam mikroplate. 50µl darah ikan dicampur dengan 50 µl suspensi sel bakteri dan keduanya digoyang perlahan-lahan selama 1 menit untuk memastikan adanya kontak antara bakteri dan sel leukosit. Campuran antara darah ikan dengan suspensi bakteri diinkubasi dalam suhu ruangan selama 20 menit. 5µl campuran tersebut diletakkan pada gelas objek untuk dibuat preparat apus darah tipis. Selanjutnya dikering anginkan pada suhu ruangan dan setelah itu difiksasi dengan methanol selama 5 menit dan dikeringanginkan lagi. Preparat diwarnai dengan safranin 1% selama 30 menit, kemudian dibilas dengan akuades hingga bersih. Jumlah sel bakteri yang ditelan/fagosit oleh sel leukosit ikan diamati dengan menggunakan mikroskop pembesaran 1000x.

Menurut Irianto *et al.*, (2004), uji fungsi fagositosis makrofag yakni, suspensi sel ditetaskan pada object glass dan diratakan, diinkubasi selama 60 menit pada suhu kamar (26° C). Object glass kemudian dicuci dengan RPMI 1640+, selanjutnya ditambah 1,0 suspensi yeast 10⁹ sel/ml. Diinkubasi selama 60 menit pada suhu kamar (26°C). Kemudian object glass dicuci 3x dengan RPMI 1640+, difiksasi dengan methanol 96% (v/v) dan dibiarkan selama 3–5 menit

pada suhu kamar (26° C). Dikeringkan dan ditetesi dengan larutan giemsa, dibiarkan selama 20–30 menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir. Object glass dihitung dengan perbesaran 400×. Dihitung untuk determinasi perbandingan yang menelan bakteri. Fungsi fagositosis makrofag dihitung dengan cara:

$$PA = (\Sigma \text{ makrofag yang menelan bakteri} / 100 \text{ makrofag}) \times 100\%$$

4.7.5 Pembuatan Preparat dalam Histologi

Menurut Susanto (2008), ikan dibedah kemudian diambil sebagian organ usus, otot, insang dan diawetkan dalam larutan fiksatif Bufer Netral Formalin (BNF) 10% selama 1-2 hari. Setelah itu organ ditrimming dan dimasukkan ke dalam kaset plastik untuk dibuat blok lilin. Blok lilin yang terbentuk di potong dengan menggunakan mesin mikrotom dan diletakkan di gelas objek. Setelah itu dilakukan pewarnaan HE (Haematoxillin Eosin). Pertama kali dimasukan ke dalam xylol I, xylol II, alkohol absolut, alkohol 95% dan alkohol 85% masing-masing selama dua menit. Setelah itu secara berurutan dicuci dengan air kran selama satu menit, direndam pada larutan pewarna Haematoxilin selama delapan menit, dicuci dengan air kran selama 30 detik, dimasukkan ke lithium carbonat selama 15-30 detik, kemudian dicuci dengan air kran selama 2 menit dan dimasukkan ke eosin selama 2-3 menit. Setelah itu secara berlawanan seperti perlakuan awal di celupkan ke dalam alkohol 85%, alkohol 95%, alkohol absolut, xylol I dan xylol II masing-masing dua menit. Preparat di keringkan dan ditutup dengan *cover glass* yang diberi perekat.

Untuk hasil uji histopatologi otot pada ikan mas menggunakan analisis secara deskriptif. Untuk mengetahui tingkat kerusakan jaringan otot ikan mas yang telah diberi pengobatan maka dilakukan analisis statistik pemberian skoring dengan metode semi kuantitatif. Menurut Kakkilaya (2002), yang digunakan

untuk menghitung jumlah area yang terwarnai dan dilakukan secara manual dengan menghitung persentasenya. Pembacaan dimulai dari tepi kiri (sesuai dengan posisi ekor preparat) ke arah kepala kemudian turun ke bawah dan bergeser ke arah ekor kembali (gerak zig zag) dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Alur Perhitungan Skoring (Gerak Zigzag) (Siswandari, 2005).

Pada metode semi kuantitatif dilihat dari lima luas bidang lapang pandang sehingga mendapatkan hasil yang maksimal pada tingkat kerusakan jaringan. Setiap bidang lapang pandang diamati tingkat kerusakan jaringannya dengan kriteria nekrosis, degenerasi otot (kerusakan serabut otot), pyknosis (perubahan inti otot), hialinasi (pecahnya serabut otot), edema (meningkatnya jumlah cairan antar jaringan) (Panigoro *et al.*, 2007). Persentase nilai skoring kerusakan setiap luas bidang lapang pandang menurut Raza'i (2008):

Tabel 3. Persentase nilai skoring (Raza'i, 2008).

Nilai Skoring	Persentase Kerusakan (%)
1	0-5%
2	6-25%
3	26-50%
4	>50%

4.8 Parameter Penunjang

Selain parameter yang telah dijabarkan diatas, dalam penelitian ini juga terdapat parameter penunjang yang akan dilakukan selama masa pemeliharaan ikan mas meliputi pengamatan kelulushidupan ikan mas dan pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, pH, dan DO (oksigen terlarut).

5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Uji Fitokimia

Pada uji fitokimia maggot yang dilakukan di UPT Materia Medica Batu Malang didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 4. Hasil Uji Fitokimia

Senyawa	Hasil	Ciri-Ciri Positif
Flavonoid	+	Warna merah tua
Tanin/Polifenol	+	Warna hijau kehitaman
Saponin	-	Busa permanen tidak hilang
Alkaloid P. Meyer	-	Endapan putih
Alkaloid P. Dragendrof	+	Endapan jingga

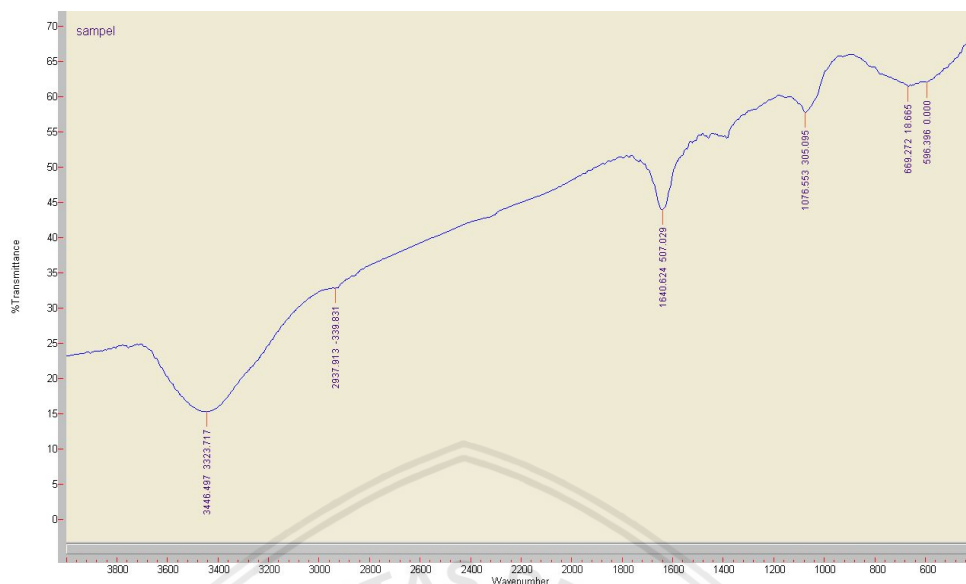
Uji fitokimia digunakan untuk mengetahui adanya golongan senyawa seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Uji fitokimia menunjukkan hasil bahwa maggot positif mengandung senyawa fenol, flavonoid, dan alkaloid. Menurut Ukhrowi (2011), mekanisme alkaloid dan flavonoid fenolik sebagai imunomodulator pada maggot yaitu meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Penelitian secara *in vitro* menunjukkan adanya respon imun dari bahan alam berkaitan dengan kandungan kimianya yaitu, flavonoid bergugus fenolik golongan flavon dan flavonol

Menurut Naim (2004), alkaloid diketahui mampu meningkatkan daya tahan tubuh dengan cara berinteraksi dengan DNA. Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada Lampiran 2.

5.2 Uji Spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) Maggot

Pada uji FTIR didapatkan pada maggot menunjukkan 5 daerah frekuensi

yang menunjukkan jenis ikatan dalam suatu senyawa.



Gambar 16. Hasil Spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) Maggot

Tabel 5. Hasil Uji FTIR Maggot

Panjang Gelombang	Gugus Fungsi
3446.497	Gugus O-H
2937.913	Gugus C-H
1640.624	Phenols
1076.553	Gugus C-OH
669.272	Phenols
696.396	Phenols

Hasil spektrum inframerah maggot menunjukkan adanya ikatan O-H pada bilangan gelombang 3446.497 cm^{-1} . Ikatan C-H ditunjukkan pada bilangan gelombang 2937.913 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang 1640.624 cm^{-1} menunjukkan adanya fenol kemudian pada 1076.553 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus fungsi C-OH. Fenol juga berada pada bilangan gelombang 669.272 cm^{-1} dan 696.396 cm^{-1} . Menurut Skoog *et al.*, (1998) pada panjang gelombang 3446.497 menunjukkan gugus fungsi O-H dan amonia primer, pada panjang gelombang 2937.913 menunjukkan gugus fungsi CH_2 , CH_3 , C-OOH, dan ammonia, pada panjang gelombang 1640.624 menunjukkan gugus fungsi fenol dan amino primer, pada panjang gelombang 1076.553 menunjukkan adanya

gugus fungsi CH_2OH dan amino, sedangkan pada panjang gelombang 669.272 dan 696.396 menunjukkan adanya gugus fungsi fenol dan amino primer. Hasil analisis di atas, spektrum inframerah maggot diketahui mengandung gugus O-H, C-H, C-OH, dan senyawa fenol. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Nugraha, Prasetya, dan S, Mursiti (2017) bahwa pada isolat flavonoid ini menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, C=O, C=C, C-H, C-OH, dan C-O menandakan bahwa isolat ini positif mengandung senyawa flavonoid.

5.3 Uji *Lethal Dosage* 50% Bakteri *A. hydrophila* (LD_{50})

Berdasarkan uji LD_{50} ini didapatkan kepadatan bakteri yang mengakibatkan kematian sebesar 50% populasi ikan mas selama 8 jam adalah bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^7 sel/ml.

Tabel 6. Uji *Lethal Dosage* 50% Bakteri *A. hydrophila* (LD_{50})

Jam Ke-	Jumlah Ikan Mas yang Masih Hidup			
	10^6	10^7	10^8	10^9
2	10	10	9	9
4	10	9	8	7
6	10	7	6	5
8	8	5	3	2
	80%	50%	30%	20%

Berdasarkan Tabel 6. diperoleh hasil *Lethal dosage* 50% bakteri *A. hydrophila* yaitu pada perlakuan perendaman dengan kepadatan bakteri 10^7 sel/ml pada jam ke 8. Sehingga yang digunakan pada penelitian ini yakni perendaman bakteri dengan lama waktu 8 jam. Menurut Laili (2007), bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/ml yang digunakan, karena dalam waktu 8 jam ikan mas sudah mati. Bakteri dengan kepadatan 10^5 , 10^6 sel/ml dalam waktu lebih dari 24 jam belum mati hanya menunjukkan gejala-gejala klinis saja.

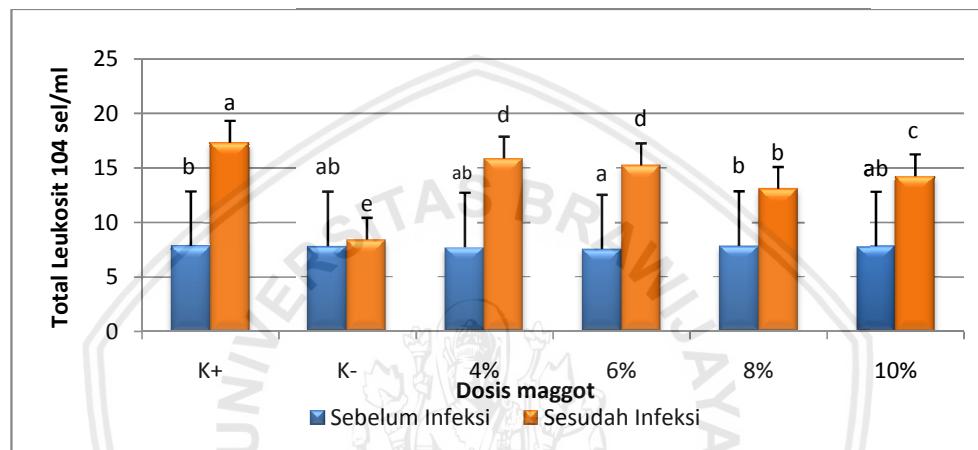
5.4 Total Leukosit

Setelah pemeliharaan ikan mas selama 30 hari didapatkan total leukosit sebelum infeksi (data SPSS pada Lampiran 6) dan sesudah diinfeksi bakteri *A.*

hydrophila (data SPSS pada Lampiran 7) dengan pemberian pakan imunostimulan maggot sebagai berikut:

Tabel 7. Total leukosit sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*

Perlakuan	Sebelum Infeksi (10^4)	Sesudah Infeksi (10^4)
A	$7,73 \pm 0.19^{ab}$	$15,87 \pm 0.07^d$
B	$7,55 \pm 0.12^a$	$15,25 \pm 0.52^d$
C	$7,86 \pm 0.06^b$	$13,10 \pm 0.02^b$
D	$7,82 \pm 0.10^{ab}$	$14,25 \pm 0.01^c$
K+	$7,85 \pm 0.09^b$	$17,33 \pm 0.09^a$
K-	$7,83 \pm 0.07^{ab}$	$8,43 \pm 0.11^e$



Gambar 17. Grafik total leukosit sebelum dan sesudah infeksi bakteri *A. hydrophila*

Pada Gambar 17 dapat dilihat bahwa total leukosit sebelum diinfeksi bakteri *A. hydrophila* menunjukkan hasil tidak berbeda nyata antar perlakuan, hal ini dikarenakan ikan mas belum diuji tantang dengan bakteri sehingga total leukosit masih stabil antar perlakuan. Menurut Lestari *et al.*, (2013), leukosit merupakan sel darah yang dapat membentuk sistem imun karena berperan dalam melawan berbagai penyakit infeksi dan benda asing, sehingga semakin banyak jumlah leukosit maka semakin banyak penyakit infeksi dan benda asing yang dilawan.

Dengan demikian tidak adanya perbedaan jumlah leukosit tersebut berarti tidak ada perbedaan kondisi (perbedaan perlawanan terhadap benda asing)

pada tubuh ikan mas tersebut. Pada grafik diatas juga didapatkan hasil bahwa total leukosit sesudah infeksi pada semua perlakuan mengalami peningkatan dari sebelum diinfeksi sesuai yang dilakukan oleh Shao *et al.*, (2004) bahwa leukosit ikan *Carassius auratus* meningkat jumlah leukositnya setelah diinfeksi oleh *A. hydrophyla*. Hasil total leukosit pada semua perlakuan lebih rendah daripada kontrol positif dan lebih tinggi daripada hasil total leukosit pada kontrol negatif, hal itu dikarenakan imunostimulan yang diberikan dapat bekerja dengan baik, sesuai pernyataan Aliffudin (2002), tujuan spesifik pemberian imunostimulan adalah untuk memperoleh ketahanan terhadap suatu infeksi tertentu, sehingga diperoleh sintasan hidup yang tinggi akibat proteksi imunologik tersebut. Secara umum, manfaat pemberian imunostimulan antara lain dalam hal peningkatan daya tahan ikan, proteksi terhadap serangan penyakit infeksi tertentu, keamanan lingkungan budidaya dari pencemaran bahan kemoterapeutik dan keamanan konsumen dari residu antibiotik.

Didapatkan notasi pada perlakuan A, B, C, D yakni d, d, b, c. Pada perlakuan A (4%) tidak berbeda nyata dengan perlakuan B (6%) yang ditandai dengan notasi d, pada perlakuan C (8%) dengan notasi b berbeda sangat nyata dengan perlakuan D (10%) yang ditandai dengan notasi c. Namun pada dosis C (8%) adalah total leukosit yang paling mendekati total leukosit kontrol negatif. Hal tersebut menunjukkan bahwa bahan aktif terutama flavonoid pada maggot mampu berperan dalam menstimulasi leukosit sebagai pertahanan non spesifik sehingga bahan aktif tersebut dapat berfungsi sebagai immunostimulan. Wahjuningrum *et al.*, (2008), menyatakan peningkatan total leukosit menunjukkan bahwa flavonoid dapat meningkatkan produksi leukosit. Flavonoid juga memacu sistem imun karena leukosit sebagai pemakan benda asing lebih cepat diaktifkan. Perbedaan total leukosit pada tiap perlakuan menunjukkan adanya perbedaan pertahanan tubuh pada ikan, seperti yang dikemukakan oleh

Alexander *et al.*, (2010), bahwa hasil produksi leukosit akan diarahkan menuju daerah terinfeksi sebagai pertahanan ikan. Naiknya jumlah leukosit merupakan indikator adanya infeksi yang mengakibatkan terjadinya inflamasi. Kemampuan leukosit untuk membunuh mikroba patogen merupakan salah satu mekanisme perlindungan paling penting dalam tubuh ikan dengan menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) dan nitrogen yang dianggap beracun untuk bakteri patogen pada ikan. Sel darah putih mampu memproteksi adanya infeksi yang dihasilkan oleh mikroba.

5.5 Diferensial Leukosit

Pada uji diferensial leukosit didapatkan perbandingan presentase limfosit, monosit, dan neutrofil pada ikan mas baik sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* (data SPSS pada Lampiran 8) sebagai berikut:

Tabel 8. Presentase jumlah Limfosit

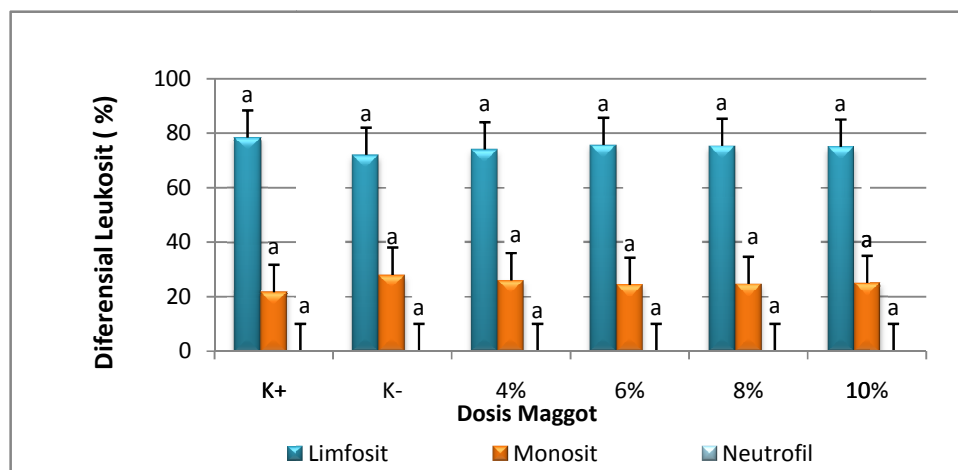
Perlakuan	Sebelum Infeksi (%)	Sesudah Infeksi (%)
K+	78.33±0.09 ^a	87.00±1.00 ^b
K-	72.00±0.11 ^a	75.67±0.57 ^a
A	74.00±0.07 ^a	85.67±0.57 ^b
B	75.67±0.52 ^a	83.33±1.52 ^{ab}
C	75.33±0.33 ^a	81.67±0.57 ^{ab}
D	75.00±0.57 ^a	82.33±0.57 ^{ab}

Tabel 9. Presentase jumlah Monosit

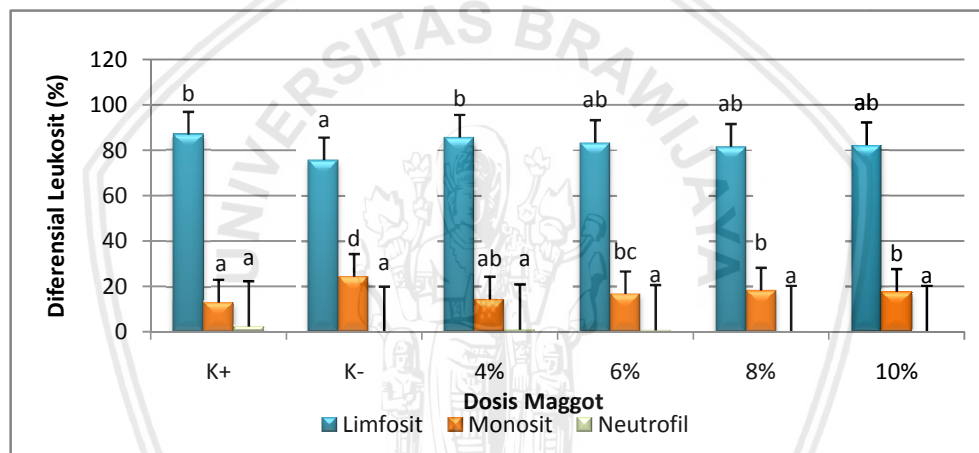
Perlakuan	Sebelum Infeksi (%)	Sesudah Infeksi (%)
K+	21.67±2.64 ^a	13.00±0.22 ^a
K-	28.00±1.52 ^a	24.33±0.27 ^d
A	26.00±2.51 ^a	14.33±0.47 ^{ab}
B	24.3±2.08 ^a	16.67±0.90 ^{bc}
C	24.67±5.68 ^a	18.33±0.30 ^b
D	21.67±2.08 ^a	13.00±0.22 ^a

Tabel 10. Presentase jumlah Neutrofil

Perlakuan	Sebelum Infeksi (%)	Sesudah Infeksi (%)
K+	0 ^a	2.33±1.52 ^a
K-	0 ^a	0.00±2.51 ^a
A	0 ^a	1.00±1.52 ^a
B	0 ^a	0.67±0.57 ^a
C	0 ^a	0.3±0.57 ^a
D	0 ^a	0.33±0.57 ^a



Gambar 18. Grafik hasil uji diferensial leukosit (limfosit, monosit, dan neutrofil) sebelum diinfeksi bakteri *A. hydrophila*



Gambar 19. Grafik hasil uji diferensial leukosit (limfosit, monosit, dan neutrofil) Sesudah infeksi bakteri *A. hydrophila*

Hasil pada Gambar 18 diferensial leukosit sebelum diinfeksi bakteri *A. hydrophila*, dimana jumlah limfosit, monosit, dan neutrofil masing-masing sangat berbeda jauh. Limfosit cenderung jauh lebih tinggi dibandingkan dengan monosit dan neutrofil, bahkan pada semua perlakuan tidak didapatkan neutrofil, dan didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata pada tiap perlakuan. Sementara pada Gambar 19 juga didapatkan perbedaan hasil antara limfosit, monosit, dan neutrofil masing-masing cukup jauh. Menurut Lestari *et al.*, (2013), fungsi utama leukosit secara umum adalah *immune system*, namun terdapat mekanisme

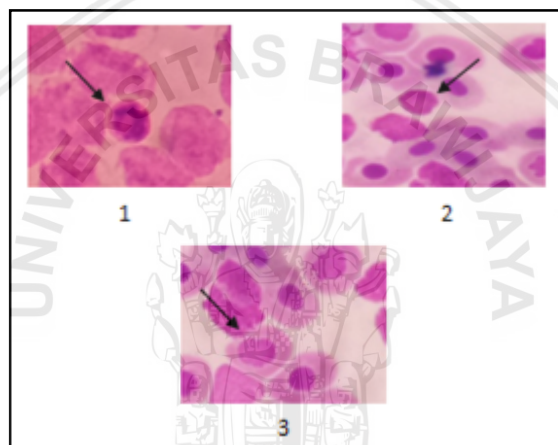
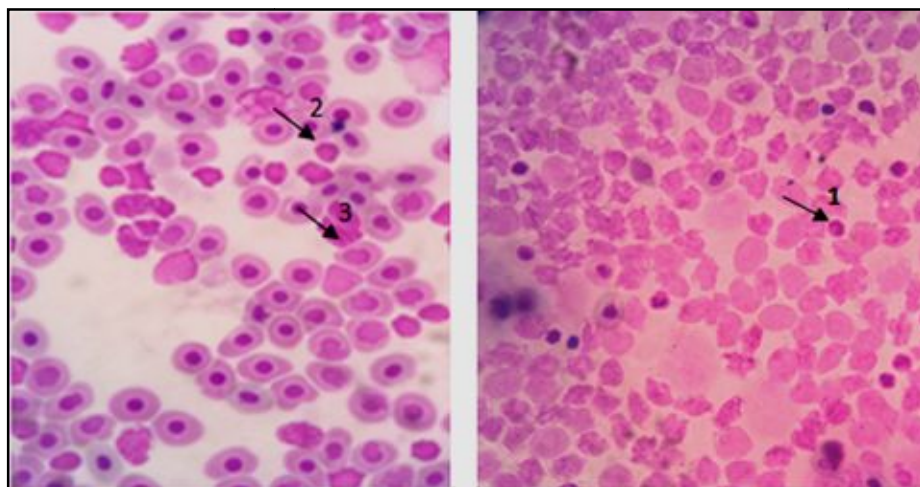
berbeda pada setiap fraksi leukosit. Perubahan jumlah leukosit dalam sirkulasi darah dapat diartikan sebagai timbulnya agen penyakit, peradangan, penyakit autoimun atau reaksi alergi. Oleh karena itu hasil diferensial leukosit menunjukkan hasil yang berbeda antara limfosit, monosit, dan neutrofil karena timbulnya penyakit pada ikan mas sehingga jenis leukosit tersebut bekerja sesuai dengan tugasnya masing-masing.

Hasil pengamatan menunjukkan peningkatan persentase monosit selama proses infeksi bakteri *A. hydrophila* disebabkan dalam tubuh ikan yang memicu monosit untuk menghancurkan benda asing yang masuk (bakteri *A. hydrophila*). Presentase monosit sangat rendah dalam populasi leukosit, akan tetapi dapat meningkat dalam waktu singkat bila terjadi infeksi. Hal ini diduga monosit meninggalkan pembuluh darah menuju daerah yang terinfeksi pada tiga hari pasca ujiantang. Hal ini ditunjang oleh pendapat Fujaya (2004), bahwa monosit meninggalkan pembuluh darah menuju daerah yang terinfeksi dan memfagosit bakteri karena monosit memiliki kemampuan memfagosit lebih besar dari pada neutrofil. Monosit dalam melaksanakan fungsi sistem imun berperan sebagai makrofag yakni menelan dan menghancurkan sel, mikroorganisme dan benda asing yang bersifat pathogen (Isroli, S. *et al*, 2009).

Selain itu, hasil data menunjukkan presentase limfosit ditemukan lebih tinggi dari monosit dan neutrofil pada semua perlakuan. Hal ini didukung oleh pernyataan Bikrisirna *et al.*, (2013) bahwa limfosit berperan untuk merespon antigen (benda-benda asing) dengan membentuk antibodi dan pengembangan imunitas. Diduga adanya limfosit yang tinggi dikarenakan adanya senyawa flavonoid pada maggot, seperti pernyataan Bone *et al.*, (2013) bahwa flavonoid terbukti bermanfaat sebagai imunostimulan dengan cara meningkatkan proliferasi limfosit dan aktivasi makrofag. Menurut Ilmayati *et al.*, (2015), mekanisme kerja sel limfosit dalam peranannya sebagai sistem kekebalan tubuh berfungsi

menyediakan zat kebal untuk pertahanan tubuh dengan cara mengenali antigen melalui reseptor spesifik pada membran sel. Pada limfosit T, ketika tubuh atau jaringan terpapar oleh antigen, maka limfosit T tidak mampu mengenali antigen tersebut sendirian tanpa melalui reseptor spesifik. Dengan adanya sel reseptor spesifik ini memungkinkan sel T lebih cepat mengenali antigen yang ada sehingga langsung memberikan reaksi kekebalan dan menstimulasi sel B untuk mengeluarkan antibodi.

Hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa jumlah neutrofil makin meningkat pada setiap perlakuan dan meningkat dari perlakuan sebelum diinfeksi. Sesuai pernyataan Napirah *et al.*, (2013), bahwa persentase neutrofil akan mengalami peningkatan ketika terdapat penyakit infeksi bakteri dalam tubuh. Hasil menunjukkan bahwa sebelum uji tantang tidak ditemukan adanya neutrofil, sementara pasca uji tantang didapatkan adanya neutrofil, peningkatan persentase neutrofil tersebut menunjukkan adanya peningkatan sistem imun. Hal ini diperkuat pendapat Sukenda (2008), bahwa dalam tubuh ikan telah terbentuk sistem pertahanan tubuh sehingga saat terjadi infeksi, neutrofil menuju tempat terjadinya infeksi. Neutrofil merupakan sel fagosit sistem polymorphonuklear yaitu sel yang bekerja cepat dalam melakukan fagosit tetapi tidak mampu bertahan lama dan akan mati oleh apoptosis sekitar 24 jam. Sel ini berupa sel bundar dengan sitoplasma bergranula halus dan ditengahnya terdapat nukleus bersegmen. Sel ini merupakan fagosit kuat, satu neutrofil dapat memfagosit 5 – 20 bakteri sebelum kemudian tidak aktif. Neutrofil yang teraktivasi memiliki kemampuan menghasilkan jenis oksigen (ROS) dan nitrogen (RNS) relatif (*reactive oxygen dan nitrogen species*) yang bersifat toksik terhadap berbagai spesies bakteri, parasit dan protozoa (Himaya *et al.*, 2010).



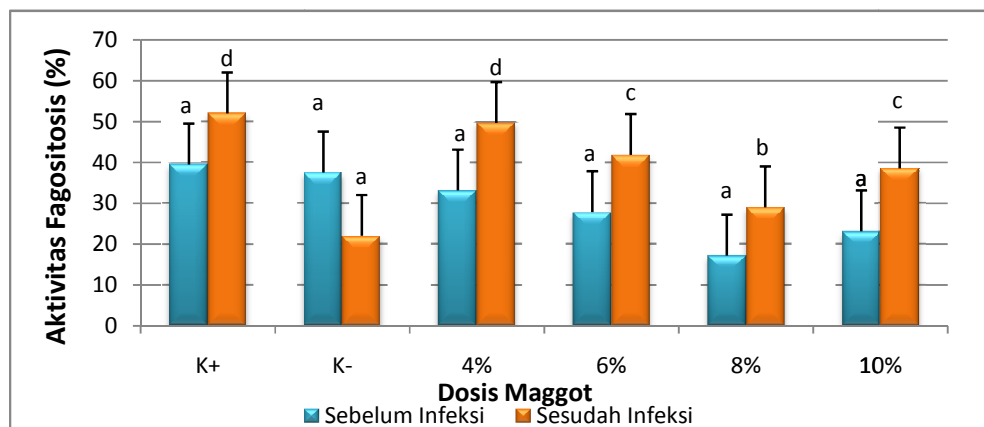
Gambar 20. Analisa Diferensial leukosit. (1) Neutrofil, (2) Limfosit, dan (3) Monosit.

5.6 Aktivitas Fagositosis

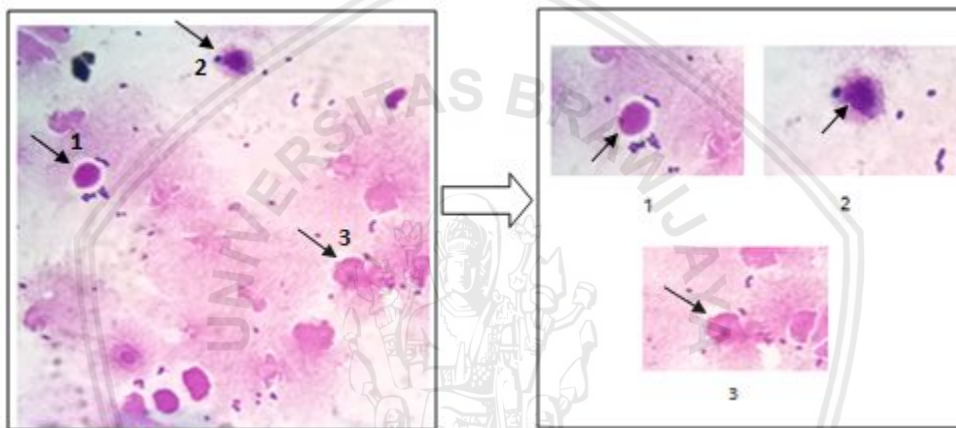
Pada uji aktivitas fagositosis hasil pada perlakuan sebelum dan sesudah ujiantang bakteri *A. hydrophila* sebagai berikut :

Tabel 11. Aktifitas Fagositosis sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*

Perlakuan	Sebelum Infeksi	Sesudah Infeksi
	Aktifitas Fagositosis (%)	Aktifitas Fagositosis (%)
A	28.16±30.47 ^a	38.41±2.08 ^d
B	26.80±15.11 ^a	36.18±0.91 ^c
C	25.78±5.37 ^a	29.52±1.00 ^b
D	26.80±1.64 ^a	31.30±1.00 ^c
K+	21.81±15.82 ^a	43.54±1.00 ^d
K-	21.89±13.14 ^a	22.91±1.00 ^a



Gambar 21. Grafik aktifitas fagositosis ikan mas sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*



Gambar 22. Aktifitas Fagositosis, 1. Pelekatan, 2. Penelanan, 3. Penghancuran

Dari Gambar 21 didapatkan hasil aktifitas fagositosis sebelum diinfeksi bakteri *A. hydrophila* tidak berbeda nyata antar perlakuan, namun hasil aktifitas fagositosis setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* (data SPSS pada Lampiran 9) mengalami peningkatan dari sebelum diinfeksi, dan hasil aktivitas fagositosis pada semua perlakuan lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif dan lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol negatif, hal ini dikarenakan ada benda asing yakni bakteri *A. hydrophila* yang sedang meyerang tubuh ikan mas sehingga terjadilah aktivitas fagositosis untuk menelan bakteri yang masuk, pada perlakuan C (8%) dengan notasi b yang berbeda nyata dengan perlakuan A, B, dan D memiliki hasil aktifitas fagositosis yang paling mendekati kontrol negatif,

diduga pada dosis tersebut kandungan senyawa yang terkandung pada maggot memiliki porsi yang sesuai untuk menghambat benda asing yang masuk, sesuai dengan pernyataan Dugenci *et al.*, (2003) bahan yang bersifat immunosupresif dapat mempengaruhi sistim fagosit melalui penekanan sistem *myelopoiesis* akan menurunkan pembentukan oksidan untuk membunuh antigen yang masuk. Menurut Abbas dan lichtman, (2005), kenaikan aktivitas fagositosis disebabkan oleh makrofag yang diakibatkan oleh interaksi langsung dengan agen pengivasi seperti mikroorganisme, dapat juga diaktifkan oleh produk limfosit (limfokin) yang dirangsang oleh antigen/senyawa aktif alkaloid (senyawa yang juga terkandung pada maggot). Sekali sel makrofag diaktifkan maka akan menunjukkan aktivitas metabolitnya dan peningkatan fungsi yaitu untuk memfagositosis dan membunuh kuman serta memproses kuman tersebut. Fagositosis dilakukan dengan cara mendekati partikel asing dan mengeluarkan pseudopodi kesegala arah sekitar partikel (rangsangan kmiawi eksternal). Sel-sel fagosit teleostei memiliki kemampuan menghasilkan RNS dan prosesnya berlangsung melalui proses induksi yang menghasilkan nitrogen oksida (NO) dan berpeluang pula menghasilkan nitrogen dioksida (NO₂), Nitrogen trioksida (NO₃) dan ion-ion nitronium (NO)⁺². Pada ikan mekanisme membunuh pada fagosit melalui oksigen bebas dalam vakuola lisosom yang mampu meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri (Irianto, 2005).

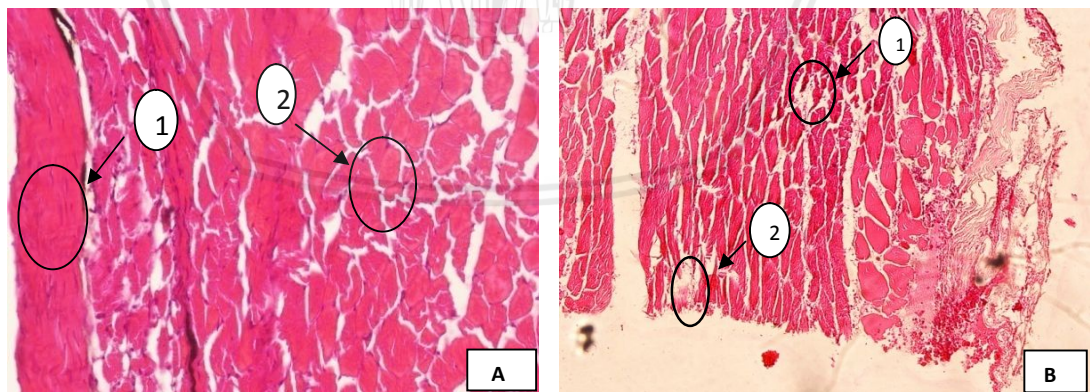
Menurut Ukhrowi (2011), alkaloid dan flavonoid berperan dalam peningkatan respon imun dengan meningkatkan aktivitas IL-2 (interleukin 2) dan proliferasi limfosit. Sel Th1 (T *helper* 1) yang teraktivasi akan mempengaruhi SMAF (*Specific Macrophag Arming Factor*), yaitu molekul-molekul termasuk IFN γ (interferon gamma) yang dapat mengaktifkan makrofag. Jika terdapat antigen yang masuk ke tubuh, misalnya bakteri, maka limfosit T dan makrofag saling bekerja sama untuk membunuh bakteri tersebut. Makrofag akan memfagosit

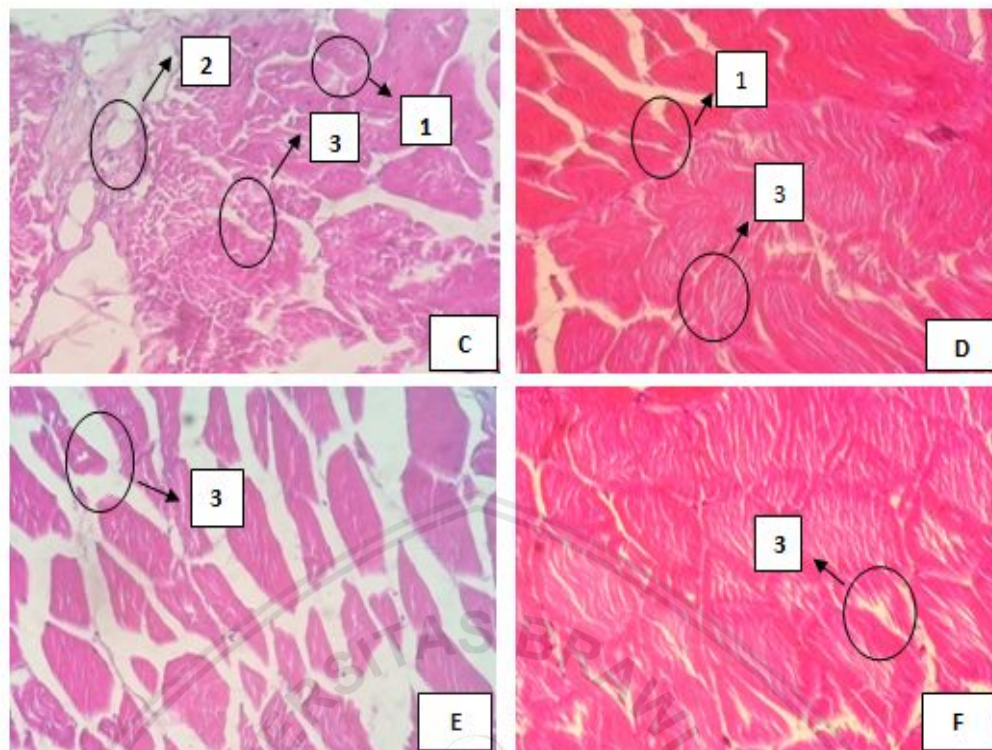
bakteri dan limfosit T berdiferensiasi menjadi CD4+ dan CD8+. Sel CD4+ berdiferensiasi menjadi Th1 yang kemudian menghasilkan sitokin IFN γ dan TNF α serta memacu sel *Natural Killer*. Sel CD8+ pun menghasilkan sitokin IFN γ . Sitokin tersebut akan mengaktifkan makrofag untuk menghasilkan senyawa salah satunya nitrit oksida yang berguna membunuh bakteri. Bakteri ini mampu menginduksi respon imun seluler yang dilakukan oleh makrofag dengan proses *T-cell mediated immunity*.

Meningkatnya aktivitas fagositosis juga diduga adanya senyawa tanin pada maggot, seperti pernyataan Bone *et al.*,(2013), tanin dapat berperan sebagai imunostimulator. Tanin berperan membantu mengoptimalkan fungsi sistem imun, sistem utama yang berperan penting dalam mekanisme pertahanan tubuh terhadap mikroba atau penyakit. Tanin dapat meningkatkan aktivitas fagositosis dari makrofag dalam menghancurkan mikroba.

5.7 Gambaran Histopatologi Otot Ikan Mas (*C. carpio*)

Berdasarkan hasil penelitian, gambaran jaringan otot ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 23.





Gambar 23. Struktural Jaringan Histopatologi Otot Ikan Mas yang Telah Diberi Perlakuan A) kontrol negatif (1)Otot halus, (2)Otot lurik. (B)Kontrol positif (C)Dosis maggot 4%, (B)Dosis maggot 6%, (C)Dosis maggot 8% dan (D)Dosis maggot 10%. (1). Edema, (2). Vakuolisasi dan (3)Nekrosis. Perbesaran 400x.

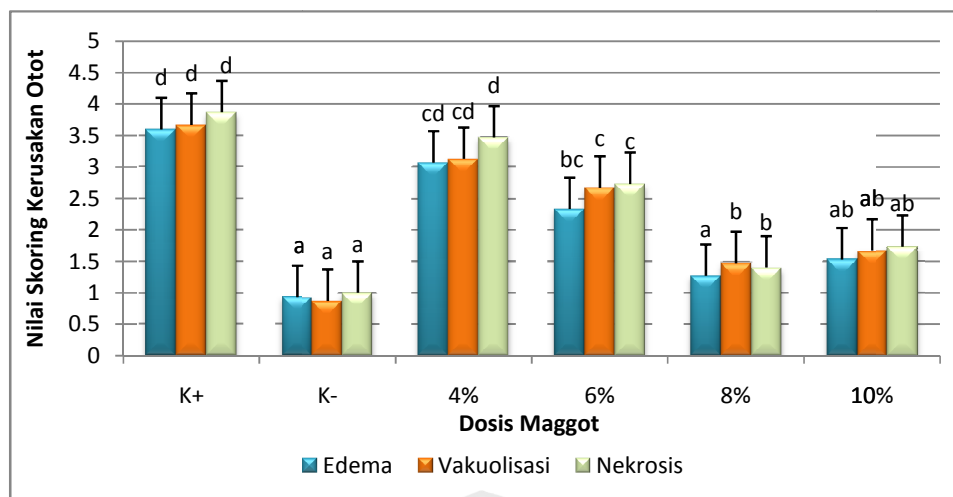
Berdasarkan hasil penelitian, kondisi otot ikan mas normal memperlihatkan kondisi jaringan yang normal, dengan penampakan struktur jaringan yang rapat tanpa rongga. Posisi otot lurik dan otot halus juga terlihat teratur tanpa adanya kerusakan. Pada penampang jaringan otot diatas, dapat dilihat perbedaan antara jaringan otot ikan kontrol negatif (A) dan ikan kontrol positif (B). Pada gambar A terlihat otot lurik satu dengan yang lain tampak merapat. Hal tersebut menandakan struktur otot yang utuh dan masih terlihat teratur. Sedangkan pada gambar B yakni kontrol positif nampak adanya kerusakan jaringan diantaranya nekrosis dan edema. Nekrosis menyebabkan kerusakan terkoyaknya otot lurik ditandai dengan adanya rongga, sedangkan edema menyebabkan kerusakan membengkaknya struktur jaringan otot karena terdapat cairan yang berlebihan. Seperti yang diungkapkan oleh Esa (2008),

nekrosis adalah kematian sel-sel atau jaringan yang menyertai degenerasi sel pada setiap kehidupan hewan dan merupakan tahap akhir degenerasi yang irreversibel. Karakteristik dari jaringan nekrotik, yaitu memiliki warna yang lebih pucat dari warna normal, hilangnya daya rentang (jaringan menjadi rapuh dan mudah terkoyak), atau memiliki konsistensi yang buruk atau pucat, sedangkan edema adalah suatu akumulasi cairan yang abnormal di dalam rongga-rongga tubuh atau di dalam ruang-ruang interstitial dari jaringan dan organ yang dapat mengakibatkan kebengkakan. Edema ditandai oleh adanya cairan kuning di dalam rongga abdominal atau material encer atau berair. Kondisi-kondisi ini dapat dihubungkan dengan bahan-bahan toksik kimia, virus, bakteri dan penyakit parasitik. Kerusakan mekanis atau penyakit dapat mempengaruhi ikan terhadap infeksi lebih lanjut karena edematos menyediakan suatu medium yang baik untuk pertumbuhan bakteri.

Pada perlakuan A, B, C dan D rata-rata mengalami kerusakan jaringan yang sama, yaitu edema, vakuolisasi dan nekrosis. Akan tetapi perbedaan persentase kerusakan jaringan otot yang berbeda pada tiap perlakuan dapat ditunjukkan melalui nilai skoring yang dapat dilihat pada Tabel Skoring (Lampiran 4). Analisis data kerusakan pada histopatologi jaringan otot (data SPSS pada Lampiran 10) adalah sebagai berikut :

Tabel 12. Rerata Skoring Hasil Penelitian Kerusakan Jaringan Otot

Perlakuan	Edema	Vakuolisasi	Nekrosis
A	3.07±0.80 ^{cd}	3.13±0.41 ^{cd}	3.47±0.30 ^d
B	2.33±0.11 ^{bc}	2.67±0.23 ^c	2.73±0.11 ^c
C	1.27±0.11 ^a	1.47±0.11 ^b	1.4±0.23 ^b
D	1.53±0.23 ^{ab}	1.67±0.30 ^{ab}	1.73±0.20 ^{ab}
K+	3.6±0.20 ^d	3.67±0.30 ^d	3.87±0.11 ^d
K-	0.93±0.11 ^a	0.87±0.11 ^a	1±0.00 ^a



Gambar 24. Grafik Skoring Kerusakan Otot Ikan Mas yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

a. Edema

Menurut Priosoeryanto *et al.*, (2010), edema merupakan suatu akumulasi cairan yang abnormal di dalam rongga tubuh atau di dalam ruang interstitial dari jaringan dan organ yang dapat mengakibatkan kebengkakan. Edema dapat dihubungkan dengan bahan-bahan kimia, virus, bakteri, dan penyakit parasitik. Kerusakan mekanis atau penyakit dapat mempengaruhi ikan terhadap infeksi lebih lanjut, karena edematus menyediakan suatu medium yang baik untuk pertumbuhan bakteri

Berdasarkan Gambar 24 dapat ditunjukkan bahwa rerata kerusakan edema pada jaringan otot ikan mas yang terendah diperoleh pada perlakuan C (8%) dan rerata kerusakan edema pada perlakuan C (8%) mendekati perlakuan kontrol negatif, hal tersebut diduga karena dosis penambahan maggot sebagai imunostimulan pada perlakuan C yang diberikan dapat memperbaiki gambaran jaringan otot ikan mas yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

Pada Tabel 12 dapat terlihat kerusakan jaringan yakni edema didapatkan notasi cd, bc, a dan ab. Hal ini dapat dikatakan bahwa perlakuan C (8%) dengan notasi a tidak berbeda nyata dengan perlakuan D (10%) dengan notasi ab, sedangkan perlakuan D (10%) juga tidak berbeda nyata dengan perlakuan B

(6%) dengan notasi bc, perlakuan A (4%) yang memiliki notasi cd tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, namun perlakuan C (8%) sangat berbeda nyata dengan perlakuan A dan B.

Perbedaan penampang jaringan histopatologi otot yang berbeda pada tiap perlakuan bisa dikatakan karena pemberian dosis yang berbeda, pada nilai skoring menunjukkan bahwa perbedaan pemberian dosis yang berbeda mempengaruhi pemulihan jaringan otot ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Hal ini dikarenakan pada maggot mengandung senyawa flavonoid, seperti yang dikemukakan oleh Yuhana *et al.*, (2011), flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi sel pada bakteri sehingga kerusakan pada jaringan tidak akut.

b. Vakuolisasi

Menurut Sari, S, D, Wardiyanto, dan A, Setyawan (2014) Vakuolisasi terbentuk karena terjadinya degenerasi. Degenerasi merupakan perubahan jaringan menjadi bentuk yang kurang aktif, vakuola yang terbentuk kemungkinan karena mengalami edema.

Berdasarkan Gambar 24 dapat ditunjukkan bahwa rerata kerusakan vakuolisasi pada jaringan otot ikan mas yang terendah dan yang paling mendekati kontrol negatif diperoleh pada perlakuan C (8%), hal tersebut diduga karena dosis maggot pada perlakuan C yang diberikan dapat memperbaiki jaringan otot ikan mas yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*

Pada Tabel 12 dapat terlihat kerusakan jaringan yakni vakuolisasi didapatkan notasi cd, c, b dan ab. Hal ini dapat dikatakan bahwa perlakuan C (8%) dengan notasi b tidak berbeda nyata dengan perlakuan D (10%) dengan notasi ab, tetapi perlakuan C (8%) berbeda sangat nyata dengan perlakuan A

dan B, dan perlakuan B (6%) dengan notasi c tidak berbeda nyata dengan perlakuan A (4%) yakni dengan notasi cd.

Berdasarkan hasil skoring kerusakan jaringan vakuolisasi dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi dosis maka semakin kecil kerusakan vakuolisasi pada histopatologi otot ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Seperti yang dikemukakan oleh Jasmanidar (2008), bahwa dosis yang tinggi dapat menekan mekanisme pertahanan dan dosis yang terendah tidak efektif atau tidak cukup untuk mengobati ikan yang terinfeksi bakteri.

c. Nekrosis

Menurut Setyawan *et al.*, (2015), nekrosis yang terjadi pada otot tubuh dapat disebabkan oleh adanya infeksi patogen dari jenis parasit yang dalam mekanisme infeksi melekatkan diri dengan cara menusukkan alat pengaitnya pada jaringan kulit. Kondisi ini akan menyebabkan sel-sel otot mengalami kerusakan dan pada infeksi serius dapat menyebabkan terjadinya lesi yang kemudian akan berkembang menjadi luka terbuka. Selain infeksi parasit, infeksi bakteri juga dapat menyebabkan terjadinya nekrosis akibat sel-sel yang mati karena faktor virulensi bakteri tersebut. Menurut Pazra (2008), nekrosis adalah kematian sel-sel atau jaringan. Karakteristik dari jaringan nekrotik, yaitu memiliki warna yang lebih pucat dari warna normal, hilangnya daya rentang (jaringan menjadi rapuh dan mudah terkoyak), atau memiliki konsistensi yang buruk atau pucat.

Berdasarkan Gambar 24 dapat ditunjukkan bahwa rerata kerusakan nekrosis pada jaringan otot ikan mas yang terendah dan mendekati kontrol negatif diperoleh pada perlakuan C (8%). Pada Tabel 12 dapat terlihat kerusakan jaringan yakni nekrosis didapatkan notasi d, c, b dan ab. Hal ini dapat dikatakan bahwa perlakuan C (8%) dengan notasi b tidak berbeda nyata dengan perlakuan D (10%) dengan notasi ab, tetapi perlakuan C (8%) berbeda sangat nyata

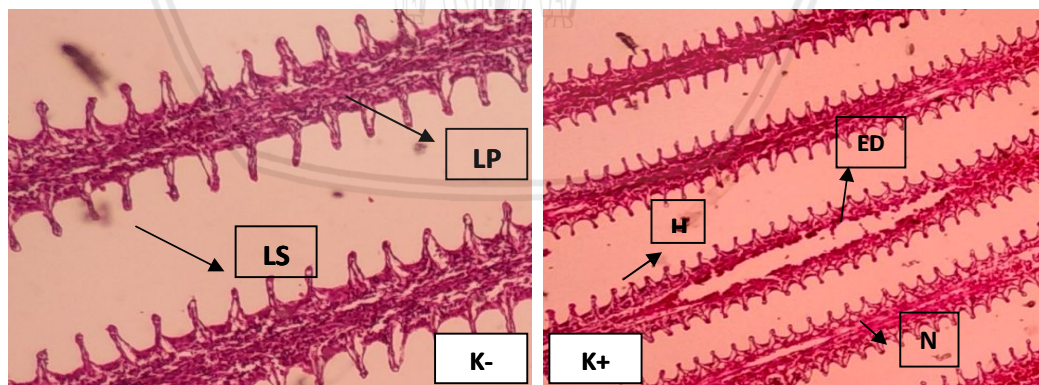
dengan perlakuan A dan B, dan perlakuan B (6%) dengan notasi c berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (4%) yakni dengan notasi cd dan perlakuan D.

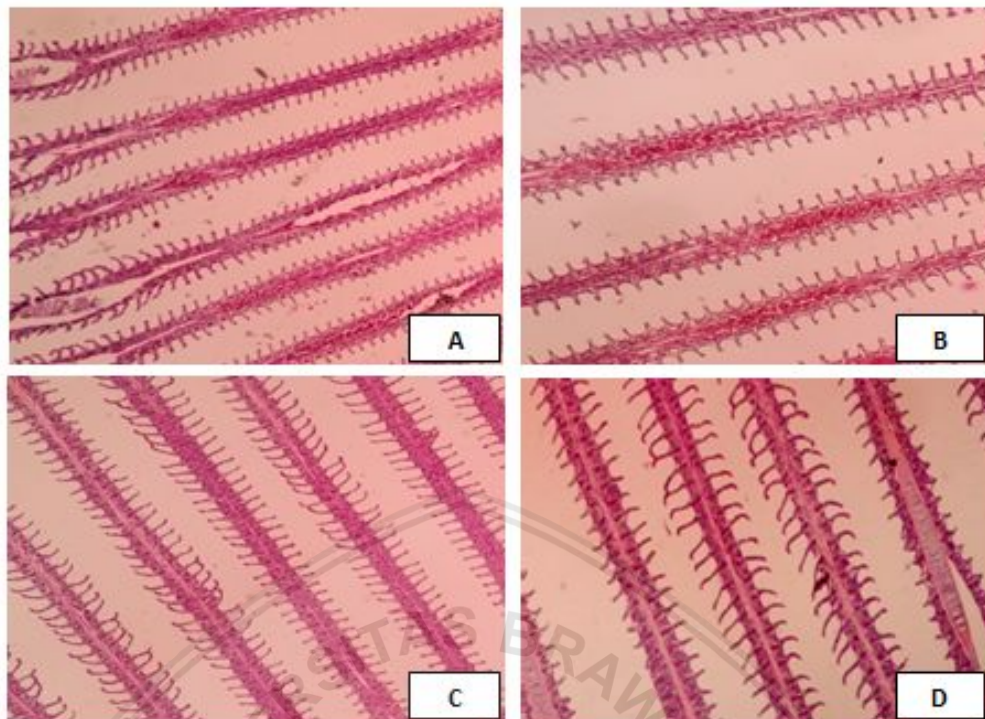
Berdasarkan nilai rerata skoring kerusakan jaringan nekrosis dapat disimpulkan bahwa tingginya dosis pengobatan dapat mempengaruhi kecilnya kerusakan nekrosis pada histopatologi otot ikan mas seperti yang dikemukakan oleh Harmita dan Radji (2008) bahwa dosis dan jumlah kelompok dosis harus cukup, sehingga dapat diperoleh dosis toksik dan dosis tidak berefek.

5.8 Gambaran Histopatologi Jaringan Insang Ikan Mas

Menurut Supriyono *et al.*, (2013), insang adalah organ respirasi utama pada ikan. Epitel insang merupakan bagian utama dalam pertukaran gas, oleh karena itu kerusakan struktur yang sangat ringan sekalipun dapat mengganggu osmoregulasi pada ikan.

Menurut Susanto (2008), insang merupakan alat respirasi ikan yang memiliki fungsi mengatur homeostasis ikan, insang juga berfungsi sebagai pengatur pertukaran garam dan air. Kerusakan struktur yang ringan sekalipun dapat sangat mengganggu pengaturan osmose dan kesulitan pernafasan. Berikut gambaran insang ikan mas yang diinfeksi apabila diiris melintang (Gambar 25).





Gambar 25. Gambaran Histopalogi Jaringan Insang Ikan Mas (K-) kontrol negatif: (LP) Lamella Primer, (LS) Lamella sekunder. (K+) kontrol positif: ED (Edema), (N) Nekrosis, (H) Hipertropi. Gambar A, B, C, D perubahan gambaran jaringan histopatologi insang ikan mas pada perlakuan A (4%), B (6%), C (8%), dan D (10%).

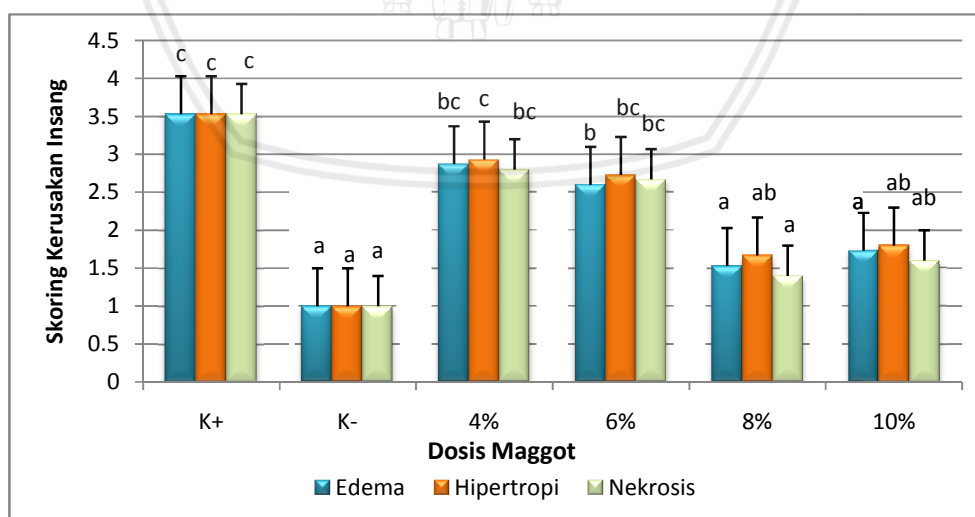
Berdasarkan hasil penelitian, kondisi insang ikan mas normal memperlihatkan kondisi jaringan yang normal, dengan penampakan struktur jaringan yang rapat tanpa rongga. Posisi lamella primer dan lamella sekunder juga terlihat teratur tanpa adanya kerusakan. Pada penampang jaringan insang diatas, dapat dilihat perbedaan antara jaringan insang ikan kontrol negatif dan ikan kontrol positif. Pada kontrol negative terlihat lamella satu dengan yang lain tampak merapat. Hal tersebut menandakan struktur insang yang utuh dan masih terlihat teratur. Sedangkan pada gambar kontrol positif nampak adanya kerusakan jaringan diantaranya nekrosis, hipertropi, dan edema. Hal ini disebabkan insang merupakan organ pertama tempat penyaringan air yang masuk ke dalam tubuh ikan, oleh karena itu jika air di suatu perairan mengandung bahan asing maka akan memberikan dampak pada jaringan organ

insang tersebut. Sesuai dengan pernyataan Susanto (2008), bahwa lapisan epitel insang yang tipis dan berhubungan langsung dengan lingkungan luar menyebabkan insang berpeluang besar terpapar penyakit. Insang juga berfungsi sebagai pengatur pertukaran garam dan air serta pengeluaran limbah-limbah yang mengandung nitrogen. Kerusakan struktur yang ringan sekalipun dapat sangat mengganggu pengaturan osmose dan kesulitan pernafasan.

Gambaran histopatologi insang pada tiap perlakuan sebagian besar menunjukkan jenis kerusakan yang sama yakni edema, hipertropi, dan nekrosis (Gambar 25). Untuk melihat perbedaan nilai pada masing-masing kerusakan jaringan insang maka dilakukan uji skoring. (Lampiran 5). Hasil rerata kerusakan insang ikan mas ditunjukkan pada Tabel 13.

Tabel 13. Rerata Skoring Kerusakan pada Insang

Perlakuan	Edema	Hipertropi	Nekrosis
A	2.87±0.41 ^{bc}	2.93±0.64 ^c	2.8±0.87 ^{bc}
B	2.6±0.40 ^b	2.73±0.41 ^{bc}	2.67±0.41 ^{bc}
C	1.53±0.20 ^a	1.67±0.41 ^{ab}	1.4±0.34 ^a
D	1.73±0.11 ^a	1.8±0.40 ^{ab}	1.6±0.34 ^{ab}
K+	3.53±0.30 ^c	3.53±0.30 ^c	3.53±0.30 ^c
K-	1±0.00 ^a	1±0.00 ^a	1±0.00 ^a



Gambar 26. Nilai Skoring Kerusakan pada Jaringan Insang Ikan Mas

a. Edema

Menurut Pratiwi dan A.Manan (2015), edema (pembengkakan) adalah suatu bagian yang terisi cairan sehingga bagian tersebut membesar dan tidak dapat menjalankan fungsinya dengan baik.

Pada Gambar 26 didapatkan hasil nilai skoring (data SPSS pada Lampiran 11) kerusakan paling rendah dan yang paling mendekati nilai skoring kerusakan pada ikan kontrol negatif yakni pada perlakuan C (8%) dengan rerata nilai skoring yakni 1,53. Pada perlakuan C (8%) yang memiliki notasi a tidak berbeda nyata dengan perlakuan D (10%) yang juga memiliki notasi a, dan perlakuan A (4%) dengan notasi bc tidak berbeda nyata dengan perlakuan B (6%) dengan notasi b, namun perlakuan A dan B sangat berbeda nyata dengan perlakuan C dan D. Dosis pemberian imunostimulan yang paling tinggi diantara perlakuan tersebut menunjukkan kerusakan yang paling rendah, sesuai dengan pernyataan Sakai (1999), bahwa kemampuan imunostimulan untuk meningkatkan respon imun dan mengembangkan proteksi terhadap infeksi patogen dipengaruhi oleh dosis aplikasi. Pemberian imunostimulan pada konsentrasi dibawah nilai minimal untuk terjadinya respon imun tidak akan memberikan pengaruh.

b. Hipertropi

Menurut Alifia (2013) hipertropi yang terus berkembang pada lamella menyebabkan lamella-lamella sekunder bergabung. Respon adaptasi yang demikian pada epitel lamella merupakan mekanisme pertahanan yang dapat meningkatkan jarak antara darah dan lingkungan luar. Perubahan-perubahan tersebut merupakan barier terhadap masuknya kontaminan.

Pada Gambar 26 didapatkan hasil nilai skoring kerusakan paling rendah dan yang paling mendekati nilai skoring kerusakan pada ikan kontrol negatif yakni pada perlakuan C (8%) dengan rerata nilai skoring yakni 1,67. Pada

perlakuan C (8%) yang memiliki notasi ab tidak berbeda nyata dengan perlakuan D (10%) yang juga memiliki notasi ab dan juga tidak berbeda nyata dengan perlakuan B (6%) dengan notasi bc. Pada perlakuan A (4%) dengan notasi bc tidak berbeda nyata dengan perlakuan B (6%) dengan notasi bc, sehingga perlakuan A sangat berbeda nyata dengan perlakuan C dan D. Rendahnya skoring kerusakan hipertropi diduga dikarenakan dosis pemberian imunostimulan maggot yang dapat mempengaruhi sistem imun sehingga gambaran jaringan insang semakin baik, sesuai dengan pernyataan Agung (2007), bahwa dosis imunostimulan yang terlalu kecil menyebabkan pengaruh dalam sistem imun kecil selain itu juga dapat berubah menjadi toksin.

C. Nekrosis

Menurut Wikiandy *et al.*, (2013), nekrosis menggambarkan keadaan dimana terjadi penurunan aktivitas jaringan yang ditandai dengan hilangnya beberapa bagian sel satu demi satu dari satu jaringan sehingga dalam waktu yang tidak lama akan mengalami kematian, nekrosis secara histologi ditandai dengan terlihatnya batas-batas sel dan inti sel tidak jelas atau bahkan menghilang.

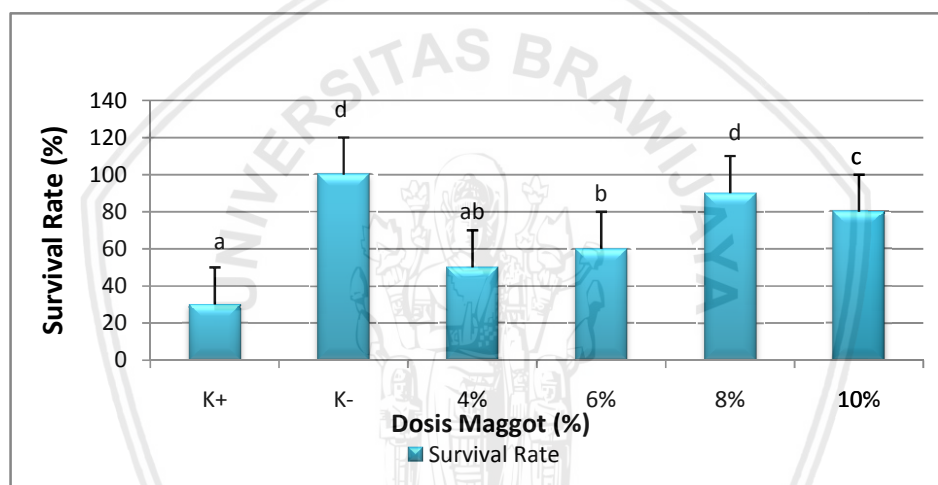
Pada Gambar 26 didapatkan hasil nilai skoring kerusakan paling rendah dan yang paling mendekati nilai skoring kerusakan pada ikan kontrol negatif yakni pada perlakuan C (8%) dengan rerata nilai skoring yakni 1,4. Pada perlakuan C (8%) yang memiliki notasi a tidak berbeda nyata dengan perlakuan D (10%) yang memiliki notasi ab, namun perlakuan D tidak berbeda nyata dengan perlakuan A (4%) dan B (6%) dengan masing-masing notasi bc. Dosis imunostimulan yang tinggi dapat menekan mekanisme pertahanan dan dosis yang rendah bisa tidak efektif atau tidak cukup untuk memberikan respon imun (Jasmanidar, 2009)

5.9 Survival Rate (SR)

Kelulushidupan (SR) pada waktu penelitian di semua perlakuan didapatkan hasil sebagai berikut (Tabel 14).

Tabel 14. Survival Rate Ikan Mas Selama Penelitian

Perlakuan	Jumlah Ikan Awal (N_0)	Jumlah Ikan Akhir (N_t)	SR (%)
A	10 ekor	5 ekor	50%±5.77 ^{ab}
B	10 ekor	6 ekor	60%±5.77 ^b
C	10 ekor	9 ekor	90%±5.77 ^d
D	10 ekor	8 ekor	80%±5.77 ^c
K+	10 ekor	3 ekor	30%±5.77 ^a
K-	10 ekor	10 ekor	100%±0.00 ^d



Gambar 27. Survival Rate Ikan Mas

Hasil kelulushidupan (SR) selama penelitian yakni pada perlakuan C (8%) dan D (10%) memiliki presentase kelulushidupan tertinggi dengan nilai 90% dan paling mendekati presentase kontrol negatif dengan nilai 100%, perlakuan C dan D memiliki nilai yang tidak berbeda nyata yang ditandai dengan notasi c (data SPSS pada Lampiran 12). Hal ini diduga penggunaan bahan imunostimulan dalam pakan dengan dosis tinggi dapat meningkatkan sistem imun pada ikan mas sehingga presentase kelulushidupannya tinggi, hal ini diduga karena bakteri *A. hydrophila* yang merupakan bakteri gram negatif yang menyerang ikan mas

dapat dihambat pertumbuhannya karena salah satu senyawa yang terkandung pada maggot yakni flavonoid, sesuai dengan pernyataan Nugraha, Agung, dan Sri (2017) bahwa flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak dinding sel, menonaktifkan kerja enzim, dan merusak membran sel. Radji (2011), menyatakan dinding sel bakteri Gram positif terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikat, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif terdiri atas satu atau lebih 20 lapisan peptidoglikan yang tipis dan membran di bagian luar lapisan peptidoglikan. Dinding sel bakteri Gram negatif lebih rentan terhadap guncangan fisik, seperti pemberian antibiotik atau bahan antibakteri lainnya karena hanya mengandung sedikit lapisan peptidoglikan dan tidak mengandung asam teikat.

5.10 Kualitas Air

Kualitas air merupakan aspek yang sangat penting bagi kelangsungan hidup ikan sehingga harus diperhatikan dalam pemeliharaan ikan tersebut. Beberapa parameter yang diamati dalam penentuan kualitas air selama penelitian adalah suhu, derajat keasaman (pH) dan oksigen terlarut (DO). Pengukurannya dilakukan pada setiap pagi dan sore.

5.10.1 Suhu

Suhu sangat berpengaruh terhadap kesehatan dan pertumbuhan ikan. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu, dan dapat menimbulkan penyakit pada ikan bahkan menyebabkan kematian bila peningkatan suhu sampai ekstrim (drastis) karena terjadi perubahan daya angkut darah. Bila suhu rendah ikan akan kehilangan nafsu makan, sehingga pertumbuhannya terhambat, dan akan lebih mudah terserang penyakit,

sebaliknya bila suhu terlalu tinggi ikan akan stress bahkan mati kekurangan oksigen.

Berdasarkan hasil pengukuran, kisaran suhu selama pemeliharaan berkisar antara 24-26,8°C. Nilai tersebut masih dalam kisaran normal. Karena menurut Fachmijany, Tjandra. C, dan Endang. M (2014), kisaran suhu selama pengamatan berkisar antara 23–30 °C.

5.10.2 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman atau pH air menunjukkan aktivitas ion hydrogen dalam larutan tersebut dan dinyatakan sebagai konsentrasi ion hidrogen (dalam mol/liter) pada suhu tertentu atau dapat ditulis $\text{pH} = -\log (\text{H}^+)$. Air murni mempunyai pH netral 7 karena berasosiasi sempurna dan memiliki ion H^+ dan ion OH^- dalam konsentrasi yang sama. Semakin tinggi konsentrasi ion H^+ , maka semakin rendah konsentrasi ion OH^- dan $\text{pH} < 7$, perairan semacam ini bersifat asam dan sebaliknya jika konsentrasi ion OH^- yang tinggi maka $\text{pH} > 7$ dan bersifat basa.

Hasil pengukuran derajat keasaman (pH) selama pemeliharaan berkisar antara 6,82-7,85. Nilai tersebut masih termasuk dalam kisaran normal, sesuai dengan pernyataan Fachmijany, Tjandra. C, dan Endang. M, (2014), kandungan pH masih berada pada kisaran normal untuk budidaya ikan mas yaitu antara 6,81 – 7,87

5.10.3 Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut adalah satu jenis gas terlarut dalam air dengan jumlah yang sangat banyak. Ikan membutuhkan oksigen guna pembakaran makanan untuk menghasilkan aktivitas, seperti berenang, pertumbuhan, reproduksi dan sebagainya. Kelarutan oksigen dalam air sangat berkaitan dengan suhu.

Hasil pengukuran oksigen terlarut (DO) selama pemeliharaan berkisar antara 5,02-7,52 mg/l. Nilai tersebut masih dalam kisaran normal, karena

menurut Fachmijany, Tjandra. C, dan Endang. M, (2014), kandungan DO masih berada pada kisaran optimal yaitu 4,5-8,1 mg/l.



6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

- Pemberian maggot sebagai imunostimulan memberikan pengaruh pada respon imun ikan mas dilihat dari uji total leukosit, diferensial leukosit, dan aktivitas fagositosis dimana pada perlakuan C (8%) memiliki hasil yang paling mendekati hasil uji total leukosit, diferensial leukosit, dan aktivitas fagositosis kontrol negatif (kontrol normal). Kelulushidupan ikan mas selama penelitian didapatkan hasil presentase yang paling tinggi yakni pada perlakuan C.
- Pada uji histopatologi otot dan insang ikan mas didapatkan jenis kerusakan pada otot yakni edema, vakuolisasi, dan nekrosis. Sementara pada insang yakni edema, hipertropi, dan nekrosis. Pemberian maggot sebagai imunostimulan yang disubsitusikan pada pakan komersil memberikan pengaruh pada gambaran jaringan ikan mas setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Dimana pada nilai skoring kerusakan otot dan insang ikan mas yang paling rendah yakni pada perlakuan C (8%).

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, disarankan pada pembudidaya ikan mas agar dilakukan pencegahan timbulnya penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian imunostimulan maggot yang dicampurkan pada pakan komersil dengan dosis 8% dari banyaknya pakan yang diberikan (perhari), dan saran untuk peneliti lain perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang pemberian maggot dengan parameter respon imun dan histopatologi lain yang lebih mendalam.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K. and A. H. Lichtman. 2005. Cellular and Molecular Immunology, fifth edition, updated edition. Elsevier saunders, Pennsylvania.
- Aberoum, A and Jooyandeh, H. 2010. A Review On Occurence and Characterization Of The *Aeromonas* Species From Marine Fishes. World Journal of Fish and Marine Science. 2(6):519-523.
- Affandi R, Tang U.M. 2002. Fisiologi Hewan Air. Riau. Uni Press.
- Alexander, C. P., C.J.W. Kirubakaran, R.D. Michael, 2010. Water Soluble fraction of *Tinospora cordifolia* leaves enhanced the non spesific immune mechanism and disease resistance in *Oreochromis mossambicus*. *Fish & shellfish immunology* XXX. P. 1-8
- Alifia, Frida. 2013. Histopatologi Insang Ikan Bandeng (*Chanos chanos Forskall*) yang Tercemar Logam Timbal (Pb). Jurnal Balik Diwa. Volume 4 (1): 38-45.
- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulasi pada hewan akuatik. Jurnal Akuakultur Indonesia. 1(2): 87-92.
- Agung, M. 2007. Penelusuran Efektifitas Beberapa Bahan Sebagai Kandidat Antibakteri Dalam Mengatasi Penyakit Vibriosis Pada Udang Windu. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Padjadjaran. Jatinangor. 36 hlm.
- Anam, Sirojudin, dan K. S. Firdausi. 2007. Analisis Gugus Fungsi pada Sampel Uji, Bensin dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi Ftir. Berkala Fisika. Vol 10 (1): 79-85.
- Aydin, Seyit and Ciltas, Abdulkadir. 2004. Systemic infections of *Aeromonas hydrophila* in Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss walbaum*) : Gross Pathology, Bacteriology, Clinical Pathology, Histopathology And Chemoterapy. Journal of Animal and Veterinary Advances. 3(12):810-819.
- Bijanti, R. 2005. Hematologi Ikan Teknik Pengambilan Darah dan Pemeriksaan Hematologi Ikan. Bagian Ilmu Kedokteran Dasar Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Bikrisirna, S.H.L., L.D. Mahfudz, dan N. Suthama. 2013. Ketahanan tubuh ayam broiler pada kondisi tropis yang diberi jambu biji merah (*Psidium guajava*) sebagai sumber antioksidan. Agromedia 31 (2):46-57.
- Choi, W. Hyung., MeiHua Jiang. 2014. Evaluation of antibacterial activity of hexanedioic acid isolated from *Hermetia illucens larvae*. Journal applied biomedicine. 11 hlm.
- Dotta, G., J. I. A. D. Andrade, E. L.T.Goncalves, A. Brum, J. J. Mattos, M. Maraschin and Martins. 2014. Leukocyte phagocytosis and lysozyme

activity in Nile tilapia fed supplemented diet with natural extracts of propolis and Aloe barbadensis. *Journal Fish & Shellfish Immunology* 39: 280-284

Dugenci SK, Arda N, dan Candan A, 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *J.of Ethnopharmacology* 88: 99–106.

Fachmijany. S, Tjandra. C, dan Endang. M. 2014. Laju Pertumbuhan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) dengan Pemberian Pakan Lemna (*Lemna Perpusilla* Torr.) Segar pada Kolam Sistem Aliran Tertutup. *Limnotek* 21 (2) : 177-184

Fahmi, Hem. S dan Subamia. 2009. Potensi maggot untuk peningkatan pertumbuhan dan status kesehatan ikan. *Jurnal Riset Akuakultur* 4 (2): 221-232.

Fahmi,M. 2015. Optimalisasi proses biokonversi dengan menggunakan mini-larva *Hermetia illucens* untuk memenuhi kebutuhan pakan ikan. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon* 1 (1): 139-144.

Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan. Dasar Pengembangan Teknik Perikanan. Rineka Cipta. Jakarta. 179 hlm

Gardenia, L., Isti, K., Hambali, S., dan Tatik, M.2010. Aplikasi Deteksi *Aeromonas hydrophila* Penghasil Aerolysin Dengan Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*. 877-883.

Gusman, E (2010). Ekspresi Molekul Sel Interferon γ dan NF- κ B Pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang Dipapar Protein Immunogenik Virus VNN (*Viral Nervous Necrosis*). Tesis. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Malang.

Harikrishnan, R., C. Balasundaram, M.S. Heo, 2010. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology* 28. P: 354-361.

Hibiya T dan Fumio T. 1995. *An Atlas of Fish Histology: Normal and Pathological Features*. Edisi kedua. Japan. Kodansha Ltd. Tokyo

Isonhood dan M. Drake. 2002. *Aeromonas* Species in Foods. *Journal of Food Protection*, Vol. 65, (3): 575–582

Irianto, A., Hernayanti dan Budiyono. 2004. Pengaruh Suplementasi Probiotik AS-51 dalam Pakan terhadap Makrofag Ginjal Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) dalam Prosiding Pengendalian Penyakit pada Ikan dan Udang Berbasis Imunisasi dan Biosecurity. *Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang Purwokerto*. 151–154.

Irianto. 2005. *Patologi Ikan Teleostei*. Gadjah Mada University Press.

- Isroli, S. Susanti, E. Widiastuti, T. Yudiarti, dan Sugiharto. 2009. Observasi beberapa variable hematologis ayam kedu pada pemeliharaan intensif. Seminar Nasional Kebangkitan Peternakan, Semarang.. 548-557.
- Iwama, G dan Nakanishi, T. 2001. The Fish Immune System : Organism, Pathogen, and Environment. Academic Press. 395 Pages.
- Jasmanidar, Y. 2009. Penggunaan Ekstrak Gracilaria Verrucosa untuk Meningkatkan Sistem Ketahanan Udang Vaname *Litopenaeus vannamei*. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Kakkilaya, B.S. 2002. Peripheral smear examination for malaria parasite. Dr. B.S. Kakkilaya's Malaria Web Site
- Khairuman, D.S. dan Gunadi, B. (2002), Budi Daya Ikan Mas Secara Intensif, Agromedia Pustaka, Jakarta
- Kordi, M.G.H. 2004. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. PT Rineka Cipta dan PT Bina Adiaksara. Jakarta. 194 hlm.
- Kumari, J and P.K. Sahoo, 2006. Dietary levimasole modulates the immune response and disease resistance of Asian catfish *Clarias batrachus* (Linn). Journal Aquaculture Research (37): 9-50.
- Lestari, S.H.A., Ismoyowati, dan M. Indradji. 2013. Kajian jumlah leukosit dan diferensial leukosit pada berbagai jenis itik lokal betina yang pakannya di suplementasi probiotik. J. Ilmiah Peternakan 1 (2): 699-709
- Lukistiyowati, I dan Kurniasih. 2011. Efektivitas Bawang Putih (*Allium sativum*) Untuk Meningkatkan Ketahanan Tubuh Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Terhadap Penyakit *Aeromonas septicemia*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari dan E. Riani. 2010. Uji patogenitas dan virulensi *Aeromonas hydrophila* Stanier pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) melalui postulat koch. Jurnal Ristek Akuakultur. 5(2): 245-255.
- Mantau, Z. dan Sudarty. 2011. Buku Terlengkap Pembenihan Ikan Mas yang Efektif dan Efisien. Pustaka Mina. Jakarta. 63 hlm.
- Ilmayati. M. M. Henni. S, Adelina. 2015. Differentiation of Leukocytes of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) With Feed Consist of Noni Fruit Flour (*Morinda citrifolia* L). Aquaculture, Faculty of Fisheries and Marine Science University of Riau Pekanbaru, Riau Province. 14 hlm.
- Isonhood, Jamie H dan M. Drake. 2002. *Aeromonas* Species In Foods. Journal of Food Protection, Vol. 65, No. 3: 575-582.
- Isroli, S. Susanti, E. Widiastuti, T. Yudiarti, dan Sugiharto. 2009. Observasi beberapa variable hematologis ayam kedu pada pemeliharaan intensif. Seminar Nasional Kebangkitan Peternakan, Semarang. Hal. 548-557.

- Miyazaki, T., T. Kageyama., M. Miura., T. Yoshida. 2001. Histopathology Of Viremia-Associated In Combination With *Aeromonas hydrophila* Incolor Carp *Cyprinus carpio* In Japan. Journal Of Diseases Of Aquatic Organism. 44(1):109-120.
- Mulia, D, S., R. Pratiwi, dan Triyanto. 2006. Pengaruh Cara *Booster* Terhadap Efikasi Vaksinasi Oral dengan Debris Sel *Aeromonas hydrophila* Pada Lele Dumbo (*Clarias* sp.). Jurnal Perikanan (J. Fish. Sci) VIII (1): 36-43.
- Munasir, Zakiudin. 2001. Respons Imun Terhadap Infeksi Bakteri. Sari Pediatri, Vol. 2, No. 4: 193 – 197.
- Mones RA. 2008. Gambaran darah pada ikan mas *Cyprinus carpio* strain majalaya yang berasal dari daerah Ciampea Bogor [Mini Thesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Nabib R. dan F.H. Pasaribu. 1989. Patologi dan Penyakit Ikan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Bogor. Bogor. 158 hlm.
- Napirah, A., Supadmo dan Zuprizal. 2013. Pengaruh penambahan tepung kunyit (*Curcuma domestica* Valet) dalam pakan terhadap parameter hematologi darah puyuh (*Coturnixcoturnix japonica*) pedaging. Bul. Peternakan 37 (2): 114-119.
- Nugraha, Agung, dan Sri. 2017. Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri dari Daun Mangga. Indonesian Journal of Chemical Science . J. Chem. Sci. 6 (2): 91-96.
- Ode, Inem. 2013. Kajian Sistem Imunitas untuk Pengendalian Penyakit pada Ikan dan Udang. Jurnal Ilmiah Agribisnis dan Perikanan (Agrikan Ummu-Ternate) Volume 6 (2): 41-43
- Pane EA. 2013. Uji aktivitas senyawa antioksidan dari ekstrak metanol kulit pisang raja *Musa paradisiaca* sapientum. Jurnal Valensi 3: 76– 81
- Park,Soon-Ik., Jong-Wan Kim., Sung Moon Yoe. 2015. Purification and characterization of a novel antibacterial peptide from black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. Developmental and Comparative Immunology 52: 98–106
- Panigoro, N., I. Astuti., M. Bahnan., P. D. C. Salfira dan K. Wakita. 2007. Teknik Dasar Histologi dan Atlas Dasar-Dasar Histopatologi Ikan. Balai Budidaya Air Tawar Jambi dan Japan International Coperation Agency.
- Pratiwi dan A. Manan. 2015. Teknik Dasar Histologi pada Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*). Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan Vol. 7 (2). 153-158.
- Rachmawati., D. Buchori., P. Hidayati., S. Hem., M. R. Fahmi. 2010. Perkembangan dan Kandungan Nutrisi Larva *Hermetica illucens* (Linnaeus) (Diptera: *Statiomyidae*) pada Bungkil Kelapa Sawit. Jurnal Entimologi Indonesia. 7(1): 28-41

- Radji, M. 2011. Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran. Jakarta: EGC.
- Rahman, T. Haniastuti, dan T. W. Utami. 2017. Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Majalah Kedokteran Gigi Indonesia Vol 3 (1): 1-7.
- Raza'I, T. S. 2008. Analisis Histopatologi Organ Insang dan Usus Ikan Kerapu Lumpur (*Epinephelus coloides*) yang diberi Khamir Laut (Marine Yeast) Sebagai Immunostimulan. Tesis. 95 hlm.
- Reverter, M., N. Bontemps, D. Lecchini, B. Banaigs and P. Sasal. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aquaculture* 433: 50-61
- Roberts R, J. 2001. *Fish Pathology*. Edisi III. W.B.Saunders, London, Edinburgh, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto. 472 hlm.
- Rochdianto A. 2005. Analisis Finansial Usaha Pembenihan Ikan Karper (*Cyprinus carpio*. Linn) di Kecamatan Penebel, Kabupaten Tabanan, Bali.
- Roohi dan M. Reza, I. 2015. The Efficacy Of The Oils Of Spearmint and Methyl Salicylate as New Anesthetics and Their Effect on Glucose Levels in Common Carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) Juveniles. *Aquaculture* 437: 327-332.
- Pane E.A. 2013. Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Metanol Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca Sapiantum*). *Jurnal Valensi*. 3(2) : 76-81.
- Saanin H. 1984. Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan. Jilid I dan II. Bandung: Binacipta
- Sakai M, 1999. Current research status of fish immunostimulants. *J. Aquaculture*. 172: 63-92.
- Sari, Wardiyanto, A. Setyawan. 2014. Profil Histopatologi Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang Distimulasi Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dan Diinfeksi Viral Nervous Necrosis (VNN). *Aquasains (Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan)*. 207-212.
- Setiaji, J., T. I. Johan dan M. Widantari. 2015. Pengaruh Gliserol pada Media *Tryptic Soy Broth* (TSB) Terhadap Viabilitas Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Effect of Glycerol at The Tryptic Soy Broth (TSB) Media on *Aeromonas Hydrophila* Bacteria Viability. *Jurnal Dinamika Pertanian* Volume XXX (1): 83 – 91.
- Setyawan, Sukenda dan S. Nuryati. 2015. STATUS Kesehatan Ikan Sidat (*Anguilla* sp.) Pada Perairan Umum dan Wadah Pemeliharaan Sementara. *Jurnal Riset Akuakultur* Volume 10 (1): 69-77.
- Setyowati, A., D. H. Awik dan Nurlita. 2012. Studi Histopatologi Hati Ikan Belanak (*Mugil cephalus*) Di Muara Sungai Aloo Sidoarjo. *Jurnal Ristek*

Akuakultur. 2(1):22-29.

- Shao, Z.J., Liu, J. and L.X. Xiang. 2004. *Aeromonas Hydrophila* induces apoptosis in *Carassius auratus* Lymphocytes in Vitro. J.Aquaculture, 229: 11–23.
- Singkoh, M. F. O. 2012. Tingkat Kesukaan Parasit pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*.L) yang Dipelihara dalam Wadah Jaring Apung di Desa Eris, Kabupaten Minahasa, Provinsi Sulawesi Utara. Jurnal Biologos 2 (2)
- Siswandari, W. 2005. Nilai Diagnosis Pemeriksaan Imunositokimia Limfosit Sediaan Apus Darah Tepi Dibandingkan Analisis Kromosom Pada Penderita Dengan Dugaan Sindroma Fragile X. Tesis. 74 hlm.
- Skoog, Douglas A., F. James Holler, Timothy A. Nieman. 1998. Principles of Instrumental Analysis 5th ed. Books. Australia. 163 page.
- Sukenda, Jamal L, Wahjuningrum D, Hasan A. 2008. Use of chitosan to prevent *Aeromonas hydrophila* infection on catfish *Clarias* sp. Jurnal Akuakultur Indonesia 7: 159–169.
- Susanto, H. 2007. Budidaya Ikan di Pekarangan (Edisi Revisi). Penebar Swadaya. Jakarta.
- Svobodova, Z., Vykusova, B. 1991. Diagnostics, prevention and therapy of fish diseases and intoxications. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology Vodnany, Czechoslovakia. 270 page.
- Tomberlin, Sheppard, dan Joyce. 2002. Selected life-history traits of black soldier flies (Diptera: *Stratiomyidae*) reared on three artificial diets. Ann Entomol Soc Am 95: 379-386.
- Ukhrowi U. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa*) terhadap Fagositosis Makrofag dan Produksi Nitrit Oksida (NO) Makrofag. 2011. Univeristas Diponegoro. Tesis.
- Wahjuningrum, D., R. Astrini, M. Setiawati. 2013. Pencegahan *Aeromonas hydrophila* pada benih ikan lele menggunakan bawang putih dan meniran. Jurnal Akuakultur Indonesia 12 (1): 86–94.
- Wang, Y., Y. Gao, H. Ding, S. Liu, X. Han, J. Gui and D. Liu. 2016. Subcritical ethanol extraction of flavonoids from *Moringa oleifera* leaf and evaluation of antioxidant activity. Journal Food Chemistry 218 : 152–158
- Wangko, S. 2014. *Hermetia Illucens* Aspek Forensik, Kesehatan, Dan Ekonomi. Jurnal Biomedik (JBM), 6 (1): 23-29.
- Wikiandy, N., Rosidah dan T. Herawati. 2013. Dampak Pencemaran Limbah Industri Tekstil Terhadap Kerusakan Struktur Organ Ikan yang Hidup di Daerah Aliran Sungai (DAS) Citarum Bagian Hulu. Jurnal Perikana dan Kelautan. 4(3):215-225.

- Williams, P. E. 2008. Evaluation Of a Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) Exlusion And Trapping Device For Use in Aquatic Plant Founder Colony Establishment. Thesis. 58 hlm.
- Wu, C.C., Liu C.H., Chang Y. P., Hsieh S.L., 2010. Effect Of Hot Water Extract Of *Toona Sinensis* On Immune Response And Resistance To *Aeromonas hydrophila* In *Oreochromis mossambicus*. Fish and Shellfish Immunology 29, p. 258-263
- Yuhana, S,A. R, Kusdarwati., Dewa,K,M. 2011. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*. L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus iniae* Scara In Vitro. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. Surabaya. 7 hlm.

