



**PENGARUH LARVA BLACK SOLDIER FLY (*Hermetia illucens*)
TERHADAP EKSPRESI GEN TGF- β PADA IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI
*Edwardsiella tarda***

LAPORAN SKRIPSI

Oleh:

**IZA ZULFIYAH AKMIL
NIM. 175080501111010**



**BUDIDAYA PERAIRAN
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG
2021**



**PENGARUH LARVA BLACK SOLDIER FLY (*Hermetia illucens*)
TERHADAP EKSPRESI GEN TGF- β PADA IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI
*Edwardsiella tarda***

LAPORAN SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya

Oleh:

IZA ZULFIYAH AKMIL
NIM. 175080501111010



**BUDIDAYA PERAIRAN
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2021**



LAPORAN SKRIPSI

PENGARUH LARVA BLACK SOLDIER FLY (*Hermetia illucens*) TERHADAP EKSPRESI GEN TGF- β PADA IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Edwardsiella tarda*

Oleh:

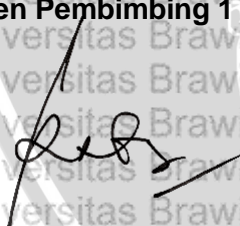
IZA ZULFIYAH AKMIL

NIM. 175080501111010

Telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal


Dosen Pembimbing 1

Menyetujui,
Dosen Pembimbing 2


Prof. Dr. Ir. Maftuch, M.Si.
NIP. 19660825 199203 1 001
Tanggal: 21 / 01 / 2022


Rani Yuwanita, S.Pi., MP
NIK. 201506 860612 2 001
Tanggal: 21 / 01 / 2022

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP


Dr. Ir. M. Firdaus, MP
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal: 21 / 01 / 2022



**HALAMAN IDENTITAS TIM PENGUJI**

Judul : Pengaruh Larva *Black Soldier Fly* (*Hermetia illucens*) Terhadap Ekspresi Gen TGF- β pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*.

Nama Mahasiswa : Iza Zulfiyah Akmil

NIM : 175080501111010

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING

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

Pembimbing 2 : Rani Yuwanita, S.Pi., M.P.

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Dosen Penguji 1 :

Dosen Penguji 2 : Dr. Yunita Maimunah, S.Pi, M.Sc

Tanggal Ujian : 28 Desember 2021

RINGKASAN

Iza Zulfiyah Akmil. Pengaruh Larva *Black Soldier Fly* (*Hermetia illucens*) Terhadap Ekspresi Gen TGF- β pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda* (dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Maftuch, M. Si.** dan **Rani Yuwanita, S. Pi, MP.**)

Budidaya ikan nila dalam beberapa tahun terakhir ini mengalami kerugian, salah satunya akibat serangan *Edwardsiella tarda*. Salah satu yang dilakukan para pembudidaya ikan untuk mengatasi serangan patogen yaitu penggunaan imunostimulan dari bahan alami berupa larva *Hermetia illucens*. Serangga ini dapat meningkatkan sistem kekebalan pada tubuh lewat sel sitokin yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh non spesifik. Salah satu sitokin yang berperan dalam pertahanan sel yaitu TGF- β . Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian larva *Hermetia illucens* terhadap ekspresi gen TGF- β pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*.

Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan A : 30% (300 gr pakan *Hermetia illucens* dan 700 gr pakan komersial), Perlakuan B : 40% (400 gr pakan *Hermetia illucens* dan 600 gr pakan komersial), Perlakuan C : 50% (500 gr pakan *Hermetia illucens* dan 500 gr pakan komersial), Perlakuan D : K+ (Ikan diinfeksi *Edwardsiella tarda* dan diberi pakan komersial), Perlakuan E : K- (Ikan tidak diinfeksi *Edwardsiella tarda* dan diberi pakan komersial). Parameter utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekspresi gen TGF- β , sedangkan parameter penunjang yaitu hematologi, *survival rate*, pH, suhu dan oksigen terlarut (DO).

Hasil uji RT PCR untuk ekspresi gen TGF- β memberikan hasil nilai pada perlakuan lebih rendah dibandingkan ikan normal, hal ini karena infeksi dari bakteri *Edwardsiella tarda* sehingga menyebabkan pengeluaran TGF- β terhambat. Hasil pengamatan darah pada penelitian ini terlihat bahwa semua parameter hematologi (eritrosit, leukosit, hemoglobin, diferensial leukosit) pada semua perlakuan dengan pakan campuran larva *H. Illucens* memiliki hasil yang cukup baik dibandingkan ikan kontrol. Perlakuan A memiliki nilai yang terbaik dari semua perlakuan. Pada hasil SR pada perlakuan A juga memiliki nilai yang baik sebesar 80%. Parameter kualitas air yang diamati selama penelitian meliputi suhu, pH dan DO memiliki nilai yang cukup baik untuk kelangsungan hidup budidaya ikan nila.

Imunostimulan merupakan senyawa biologis, sintesis atau senyawa lainnya yang dapat meningkatkan sistem imun tubuh. Salah satu bahan alami alternatif yang dapat digunakan adalah larva *H. illucens*. Pada parameter hematologi menunjukkan penggunaan pakan larva *H. Illucens* memiliki hasil yang cukup baik dibandingkan kontrol ketika dilakukan penginfeksi dengan bakteri *E. tarda*. Nilai ekspresi gen TGF- β pada perlakuan memiliki nilai rendah hal ini disebabkan adanya infeksi bakteri *E. tarda* dan organ hati yang rentan terhadap toksin bakteri. Berdasarkan penelitian mengenai pengaruh pemberian pakan larva *H. Illucens* pada ikan nila disarankan untuk menggunakan dosis 30% sebagai pakan ikan dan perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian larva *H. Illucens* terhadap ekspresi gen TGF- β pada ikan nila yang diinfeksi *E. Tarda*.

SUMMARY

Iza Zulfiyah Akmil. Effect of *Black Soldier Fly* (*Hermetia illucens*) Larva on TGF- β Gene Expression in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Infected with *Edwardsiella tarda* Bacteria (under the guidance of **Prof. Dr. Ir. Maftuch, M. Si. and Rani Yu Wanita, S. Pi, MP.**)

Tilapia cultivation in recent years has suffered losses, one of which is due to the infection of *Edwardsiella tarda*. One thing that fish cultivators do to overcome pathogen infection is the use of immunostimulants from natural ingredients in the form of *Hermetia illucens* larvae. These insects can increase the immune system in the body through cytokine cells that play a role in the non-specific immune system. One of the cytokines that play a role in cell defense is TGF- β . This study aimed to determine the effect of giving *Hermetia illucens* larvae to the expression of the TGF- β gene in tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected with *Edwardsiella tarda* bacteria.

The research method used was Completely Randomized Design (CRD) with 5 treatments and 3 replications. Treatment A : 30% (300 g of *Hermetia illucens* and 700 g of commercial feed), Treatment B : 40% (400 g of *Hermetia illucens* and 600 g of commercial feed), Treatment C : 50% (500 g of *Hermetia illucens* and 500 g of feed) commercial feed), Treatment D : K+ (Fish were infected with *Edwardsiella tarda* and given commercial feed), Treatment E : K- (Fish were not infected with *Edwardsiella tarda* and fed commercial feed). The main parameter measure in this study was the expression of the TGF- β gene, while the supporting parameters were hematology, survival rate, pH, temperature and dissolved oxygen (DO).

The results of the RT PCR test for the expression of the TGF- gene gave a lower value in the treatment compared to normal fish, this was due to infection with the bacterium *Edwardsiella tarda*, causing the production of TGF- β to be inhibited. The results of blood observations in this study showed that all hematological parameters (erythrocytes, leukocytes, hemoglobin, leukocyte differential) in all treatments with mixed feed of *H. Illucens* larvae had quite good results compared to control fish. Treatment A has the best value of all treatments. In the results of the SR in treatment A also has a good value of 80%. The water quality parameters observed during the study including temperature, pH and DO have a value that is quite good for the survival of tilapia aquaculture.

Immunostimulants are biological compounds, synthesis or other compounds that can increase the body's immune system. One alternative natural material that can be used is *H. illucens* larvae. The hematological parameters showed that the use of *H. illucens* larvae feed had quite good results compared to controls when infected with *E. tarda* bacteria. The value of TGF- β gene expression in the treatment had a low value, this was due to the presence of *E. tarda* bacterial infection and the liver which was susceptible to bacterial toxins. Based on research on the effect of feeding *H. Illucens* larvae on tilapia, it is recommended to use a dose of 30% as fish feed and further research is needed on the effect of feeding *H. Illucens* larvae on TGF- β gene expression in tilapia infected with *E. tarda*.

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas berkah, karunia serta ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan Judul: “Pengaruh Larva *Black Soldier Fly* (*Hermetia illucens*) Terhadap Ekspresi Gen TGF- β pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*”.

Penulis juga berterima kasih kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Maftuch, M.Si. dan Bu Rani Yuwanita, S.Pi., MP selaku dosen pembimbing dan semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan laporan skripsi ini.

Saya menyadari bahwa masih banyak kekurangan yang mendasar pada laporan skripsi ini, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun saya. Kritik konstruktif dari pembaca sangat diharapkan untuk penyempurnaan laporan selanjutnya, agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Demikian penulis sampaikan terimakasih.

Malang, Januari 2021



Penulis





DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN IDENTITAS TIM PENGUJI	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
RINGKASAN	vi
SUMMARY	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis.....	3
1.5 Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	5
2.1.2 Kebiasaan Makan.....	6
2.1.3 Habitat.....	6
2.2 <i>Hermetia illucens</i>	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	7
2.2.2 Habitat.....	8
2.2.3 Siklus Hidup.....	8
2.2.4 Potensi <i>Hermetia illucens</i>	9
2.3 <i>Edwardsiella tarda</i>	10
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	10
2.3.2 Organ Target.....	10
2.3.3 Gejala Klinis.....	11
2.3.4 Gen TGF- β	12
2.4 Hematologi.....	14
2.4.1 Hemoglobin (Hb).....	14
2.4.2 Eritrosit (Sel Darah Merah).....	14
2.4.3 Leukosit (Sel Darah Putih).....	15
2.4.4 Diferensial Leukosit.....	15
BAB III. METODE PENELITIAN	18
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	18



3.2	Metode Penelitian	18
3.2.1	Persiapan Alat dan Bahan.....	18
3.2.2	Rancangan Penelitian	20
3.2.3	Metode Pengambilan Data.....	21
3.2.4	Sterilisasi Alat	22
3.2.5	Pakan Uji	22
3.2.6	Pembuatan Media TSA dan TSB	23
3.2.7	Peremajaan Bakteri.....	23
3.2.8	Kultur Bakteri	24
3.2.9	Uji Tantang.....	24
3.2.10	PCR.....	24
3.2.11	Ekspresi Gen TGF- β	25
3.2.12	Hematologi.....	26
3.2.13	Parameter Uji	27
3.3	Analisis data	28
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		29
4.1	Uji Biokimia	29
4.2	Uji Proksimat.....	29
4.3	Gejala Klinis.....	30
4.4	Hematologi.....	31
4.5	Ekspresi Gen TGF- β	43
4.6	Kualitas Air.....	45
4.7	Survival Rate (SR)	47
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN		49
5.1	Kesimpulan	49
5.2	Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA.....		50
LAMPIRAN.....		63

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	5
Gambar 2. Morfologi Larva <i>H. illucens</i>	7
Gambar 3. <i>Edwardsiella tarda</i>	10
Gambar 4. Kantung Empedu dan Hepatopankreas Ikan Nila yang Terinfeksi <i>Edwardsiella tarda</i>	11
Gambar 5. Hemoragi Pada Ikan Nila yang Terinfeksi <i>Edwardsiella tarda</i>	12
Gambar 6. Mekanisme Kerja TGF- β	13
Gambar 7. Morfologi Sel Eritrosit	15
Gambar 8. Morfologi Sel Limfosit	16
Gambar 9. Morfologi Sel Monosit	16
Gambar 10. Morfologi Sel Neutrofil	17
Gambar 11. Layout Percobaan	21
Gambar 12. Urutan Basa Nukleotida β -Actin dan Primer TGF- β	25
Gambar 13. Ikan Nila yang Terinfeksi Bakteri <i>Edwardsiella Tarda</i>	31
Gambar 14. Grafik Hasil Hemoglobin	32
Gambar 15. Grafik Hasil Eritrosit	33
Gambar 16. Hasil Pengamatan Eritrosit	34
Gambar 17. Grafik Hasil Leukosit	35
Gambar 18. Hasil Pengamatan Leukosit	37
Gambar 19. Grafik Hasil Diferensial Leukosit Sebelum Infeksi	38
Gambar 20. Grafik Hasil Diferensial Leukosit Setelah Infeksi	38
Gambar 21. Hasil Pengamatan Limfosit	40
Gambar 22. Hasil Pengamatan Monosit	41
Gambar 23. Hasil Pengamatan Neutrofil	43



Gambar 24. Hasil Ekspresi Gen TGF- β	43
Gambar 25. Hasil Pengukuran Suhu.....	45
Gambar 26. Hasil Pengukuran pH.....	46
Gambar 27. Hasil Pengukuran DO.....	47
Gambar 28. Nilai Tingkat Kelangsungan Hidup (SR).....	47



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Alat Penelitian.....	18
Tabel 2. Bahan Penelitian	19
Tabel 3. Komposisi Pakan Perlakuan.....	22
Tabel 4. Kadar Hemoglobin.....	31
Tabel 5. Kadar Eritrosit.....	33
Tabel 6. Kadar Leukosit.....	35
Tabel 7. Kadar Diferensial Leukosit Sebelum Infeksi.....	37
Tabel 8. Kadar Diferensial Leukosit Setelah Infeksi.....	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Peta Lokasi Penelitian.....	63
Lampiran 2. Alat dan Bahan	64
Lampiran 3. Hasil Uji Proksimat Larva lalat hitam (<i>Hermetia illucens</i>).....	67
Lampiran 4. Hasil Uji FTIR.....	71
Lampiran 5. Hasil Uji Fitokimia Larva Lalat Hitam (<i>Hermetia illucens</i>).....	67
Lampiran 6. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>Edwardsiella tarda</i>	69
Lampiran 7. Hasil Ekspresi Gen TGF- β	73
Lampiran 8. Hasil Uji Anova	74
Lampiran 9. Survival Rate (SR)	87
Lampiran 10. Kualitas Air.....	88

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan nila merupakan salah satu komoditi ikan air tawar yang banyak disukai di kalangan masyarakat Indonesia. Ikan nila memiliki cita rasa dan tekstur daging yang lembut. Budidaya ikan nila memiliki prospek usaha yang cukup menjanjikan.

Hal ini karena budidaya ikan nila sangat mudah, umur panen cepat, laju pertumbuhan cepat dan tingkat produktivitas yang cukup tinggi (Aliyas, *et al.*, 2016).

Usaha budidaya ikan dalam beberapa tahun terakhir ini mengalami kerugian. Masalah utama yang sering dihadapi oleh pembudidaya ikan adalah penyakit, baik yang disebabkan oleh bakteri, virus maupun jamur. Hal ini disebabkan karena faktor internal dan faktor eksternal (Payung dan Manopo, 2015). Salah satu dari bakteri berbahaya yang menyerang dalam budidaya ikan nila adalah *Edwardsiella tarda*. Bakteri ini merupakan bakteri patogen yang dapat mengganggu kelangsungan hidup ikan nila. Penyakit ini dapat menyebabkan tingkat kematian lebih dari 60% dalam waktu 7 hari (Suwarno, *et al.*, 2014). Menurut Setyowati *et al.* (2014), telah ditemukan sebanyak 250 kasus penyakit yang disebabkan oleh bakteri *E. tarda* yang menyerang ikan di tambak budidaya dan menimbulkan beberapa gejala seperti gastroenteritis dan septicemia. Penyakit ini bahkan menyebabkan kematian secara massal pada ikan air tawar dan ikan laut.

Salah satu cara yang dilakukan para pembudidaya ikan untuk mengatasi serangan patogen yang menyerang ikan budidaya adalah penggunaan imunostimulan (Fajri, *et al.*, 2016). Imunostimulan adalah merupakan suatu senyawa baik itu buatan atau alami yang dapat meningkatkan sistem imun tubuh spesifik dan non-spesifik (Hernawati, *et al.*, 2013). Penggunaan imunostimulan

dalam budidaya ikan telah banyak dilakukan dan memiliki kelebihan yaitu tidak meninggalkan residu dalam tubuh ikan maupun lingkungan serta tidak berbahaya bagi kesehatan manusia yang mengkonsumsinya (Razak, *et al.*, 2017). Salah satu bahan alami alternatif yang ramah lingkungan dan dapat digunakan adalah larva *Hermetia illucens*.

Larva *Hermetia illucens* merupakan salah satu serangga yang dapat digunakan sebagai pakan alternatif dan memiliki kandungan protein tinggi sekitar 30-45%. Larva *Hermetia illucens* mengandung asam laurat yang berperan sebagai antimikroba sehingga apabila dikonsumsi ikan akan meningkatkan mekanisme sistem imun dalam tubuh ikan dalam melawan patogen masuk ke dalam tubuh ikan (Amandanisa dan Suryadarma, 2020).

Sistem imun tubuh pada ikan terdapat 2 yaitu spesifik dan non spesifik. Pertahanan tubuh secara spesifik dilakukan oleh antibodi, sedangkan sistem pertahanan non spesifik atau dikenal imunitas bawaan dilakukan oleh sitokin (Aripin, 2019). Sitokin merupakan protein yang dihasilkan oleh tubuh dan berperan dalam sistem imun tubuh untuk mengatur interaksi antar sel dan memacu sistem imun tubuh, baik pada imunitas bawaan maupun adaptif. Sitokin berperan dalam merangsang sel T, sel B, monosit, makrofag, inflamasi, Salah satu jenis sitokin yaitu TGF- β berperan dalam respon imun, kekebalan seluler, diferensiasi, proliferasi, penyembuhan luka dan pertumbuhan (Warnasih, *et al.*, 2014)

Transforming Growth Factor- β (TGF- β) adalah salah satu sitokin yang multifungsi. TGF- β terlibat dalam banyak proses yaitu proliferasi sel, diferensiasi, kelangsungan hidup, inflamasi dan penyembuhan luka atau terjadi peradangan.

TGF- β awalnya dilepaskan dari makrofag, fibroblas, dan trombosit (Qi, *et al.*, 2016). Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh larva *black soldier fly* (*Hermetia illucens*) terhadap ekspresi gen TGF- β pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*.



1.2 Perumusan Masalah

Salah satu bakteri yang berbahaya dalam budidaya ikan nila adalah *Edwardsiella tarda*. Bakteri ini menyerang organ dalam seperti insang, hati, ginjal dan kulit. Penggunaan imunostimulan sangat dianjurkan dalam budidaya karena lebih aman penggunaannya. Salah satu imunostimulan dari bahan alami yang dapat digunakan adalah larva *Hermetia illucens* yang memiliki protein hewani tinggi dan kandungan antimikroba yang dapat meningkatkan sistem imun ikan. Salah satu sitokin yang berperan penting dalam respon imun adalah TGF- β , oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui bagaimana pengaruh larva *black soldier fly* (*Hermetia illucens*) terhadap ekspresi gen TGF- β pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*.

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan penjelasan dari rumusan masalah di atas, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian larva *black soldier fly* (*Hermetia illucens*) terhadap ekspresi gen TGF- β pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

H0: Diduga pemberian larva *black soldier fly* (*Hermetia illucens*) tidak berpengaruh terhadap ekspresi gen TGF- β pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*.

H1: Diduga pemberian larva *black soldier fly* (*Hermetia illucens*) berpengaruh terhadap ekspresi gen TGF- β pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*.



1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah memberi dan memperoleh informasi mengenai pengaruh pemberian larva *black soldier fly* (*Hermetia illucens*) terhadap ekspresi gen TGF- β pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*. Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan informasi sebagai perkembangan ilmu untuk penelitian selanjutnya.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Adapun klasifikasi ikan nila menurut Lukman *et al.* (2014) yaitu sebagai

berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Sub Filum : Vertebrata

Kelas : Pisces

Sub Kelas : Acanthopterygii

Ordo : Perciformes

Familia : Cichlidae

Genus : *Oreochromis*

Spesies : *Oreochromis niloticus*



Gambar 1. Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) (Andriani, 2018)

Secara umum morfologi ikan nila yaitu memiliki bentuk tubuh pipih, ramping, memanjang, mata agak menonjol dan tubuh berwarna kehitaman-hitaman. Pada bagian sirip ekor, tubuh dan ekor ditemukan garis lurus (vertikal) berwarna gelap sebanyak 6, 10, dan 8 buah. Sirip pada ikan nila memiliki 5 yaitu

pada punggung, perut, dada dan dubur. Posisi mulutnya adalah terminal. Sisik ikan nila besar dan cukup kasar, pada garis rusuknya memiliki sisik sebanyak 34 buah. Morfologi Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) disajikan pada Gambar 1 (Arifin, 2016).

2.1.2 Kebiasaan Makan

Ikan nila sangat aktif dan selektif dalam mencari sumber makanan yang tersedia di perairan. Berdasarkan jenis pakan yang dimakan, ikan nila memiliki sifat herbivora cenderung karnivora (Sitepu, *et al.*, 2011). Hal ini dapat terlihat pada saluran pencernaannya banyak ditemukan *fitoplankton*, *zooplankton* dan serasah (daun-daunan dan tumbuhan air). *Fitoplankton* didominasi oleh kelompok *Chlorophyta*, *Myxophyta* dan *Desmid* sedangkan *zooplankton* didominasi oleh *Rotifera*, *Crustacea* dan *Protozoa* (Setiawati dan Pangaribuan, 2017). Selain itu juga terdapat makanan yang disukai ikan nila yang berasal dari kelas *Cyanophyceae*, *Bacillariophyceae*, *Xanthophyceae*, *Rhodophyceae* dan *zooplankton*.

2.1.3 Habitat

Ikan nila memiliki kemampuan beradaptasi yang cukup baik dan tinggi terhadap lingkungan hidupnya. Ikan nila dapat hidup di perairan seperti air tawar yaitu sungai, danau, waduk dan rawa-rawa. Ikan nila juga dapat hidup di air payau dan air laut. Hal ini karena ikan nila memiliki sifat *euryhaline*. Kisaran salinitas untuk kelangsungan hidup ikan nila adalah 0 - 35 ppt (Mujalifah, *et al.*, 2018). Ikan nila juga yang banyak ditemukan hidup di saluran air yang dangkal dan memiliki intensitas cahaya yang tinggi (Sukardi, *et al.*, 2017). Ikan nila dapat bertahan hidup di kondisi lingkungan dengan suhu antara 8 - 42 °C, pH 7- 8 dan oksigen terlarut rendah 0,1 ppm (Iqbal, *et al.*, 2012).

2.2 *Hermetia illucens*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Jayanthi *et al.* (2017), klasifikasi *Hermetia illucens* sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Arthropoda
Class : Insecta
Ordo : Diptera
Famili : Stratiomyidae
Genus : *Hermetia*
Spesies : *Hermetia illucens*



Gambar 2. Morfologi Larva *H. illucens* (Mokolensang, *et al.*, 2018)

H. illucens memiliki tubuh berwarna coklat kehitam-hitaman dengan tubuh agak pipih dan memanjang. Bagian segmen basal abdomennya berwarna transparan dan memanjang. Panjang lalat berkisar 1 - 20 mm dan memiliki waktu hidup sekitar 5 - 8 hari. Pada saat fase pupa kondisi sayap masih tertutup dan akan terbuka lebar ketika memasuki fase dewasa. Pada lalat betina memiliki jangka hidup lebih pendek dibandingkan dengan lalat jantan. Morfologi *H. illucens* disajikan pada Gambar 2 (Wardhana, 2016). Morfologi tubuh pada betina berwarna biru kehitaman, sedangkan pada jantan berwarna coklat kehitam-hitaman. Pada kedua jenis kelamin, ujung-ujung kaki berwarna putih dan sayap berwarna hitam kelabu, dilipat datar pada punggung saat istirahat (Wangko, 2014)



2.2.2 Habitat

H. illucens dapat beradaptasi dan mentolerir dengan baik pada lingkungan hidup yang cukup ekstrim seperti sampah, lingkungan bersuhu hangat dan dingin bahkan pada perairan. *H. illucens* menyukai aroma media yang khas untuk tempat berkembang biak dan bertelur. Hal ini karena kelangsungan hidupnya dipengaruhi oleh nutrisi dari media. Jika kondisi lingkungan menjadi dingin atau nutrisi sedikit, maka *H. illucens* akan menjadi tidak aktif dan menunggu sampai kondisi lingkungan bersuhu hangat kembali atau makanan sudah kembali tersedia (Suciati dan Faruq, 2017).

Kelangsungan hidup lalat ini sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, media dan nutrisi yang tersedia. *H. illucens* dapat dibudidayakan di media dengan suhu berkisar antara 30 – 35 °C. Pada suhu 27°C dapat hidup tetapi pertumbuhannya tidak optimal, tetapi jika suhu mencapai 36°C lalat *H.illucens* tidak ada yang dapat bertahan hidup. *H. illucens* adalah serangga yang sering dijadikan biokonversi sampah organik (Mudeng, *et al.*, 2018).

2.2.3 Siklus Hidup

H. illucens mengalami lima tahapan selama siklus hidupnya yaitu fase dewasa, fase telur, fase larva, fase prepupa, dan fase pupa. Siklus hidup *H. illucens* dimulai dari mengalami metamorfosis. Pada fase dewasa *H. illucens* memiliki panjang berkisar 15 - 20 mm dengan bentuk badan yang pipih dan warna abdomen yang coklat kehitam-hitaman. Bentuk abdomen memanjang dengan memiliki 2 segmen pertama yaitu bagian daerah translusen. Serangga ini memiliki manfaat sebagai pakan ternak dan pengurai sampah organik (Cahyani, *et al.*, 2020).

H. illucens adalah salah satu jenis serangga yang dapat dimanfaatkan mengolah sampah organik untuk berkembangbiak. Fase pada siklus hidup *H.*

illucens terhadap 5 tahapan yaitu larva, prepupa, pupa dan serangga dewasa. Rentang waktu siklus hidupnya dipengaruhi oleh media tumbuh dan kondisi lingkungan tempat hidupnya. Siklus hidup berlangsung sekitar 40 - 43 hari dan dapat tumbuh hingga mencapai 20 mm. Lalat dewasa meletakkan telurnya di dekat sumber makanan. Pada fase pupa lalat ini bermigrasi menuju ke tempat yang lebih lembab yang kemudian berkembang menjadi lalat dewasa (Fauzi dan Sari, 2018).

2.2.4 Potensi *Hermetia illucens*

Kandungan protein serangga ini memiliki kandungan protein yang tinggi yaitu 40-50%, lemak 29-32%, protein kasar 42,1%, kalsium 7,56%, mineral kalsium 88% dan 3 jenis asam amino yang berperan dalam sistem imun tubuh yaitu arginin (4,26%), histidin (2,37%), dan glutamin (5,36%). Ekstrak metanol larva BSF dapat menghambat proliferasi bakteri gram-negatif yang merugikan sehingga pemanfaatannya tidak hanya sebagai sumber pakan ikan tetapi untuk imunostimulan (Siagian, 2020). Larva *H. illucens* memiliki kalsium tinggi berkisar 5 - 8% dan fosfor 0,6 -1,5% (Pasotto, *et al.*, 2020).

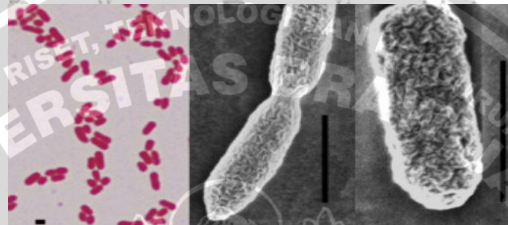
Larva *H. illucens* mengandung asam laurat yang berperan sebagai antibakteri. Serangga ini menghasilkan zat antimikroba yang diproduksi di eksoskeleton sebagai zat penghambat yang efektif terhadap berbagai patogen. Pada penelitian yang telah dilakukan kandungan asam laurat didalam *H. illucens* sebesar 49,18% (Harlystiarini, *et al.*, 2019). Pada larva *H. illucens* selain efek antimikrobanya, peptida antimikroba (PAM) dapat mempengaruhi respons imun dan peningkatan laju pertumbuhan ikan. Peptida antimikroba (PAM) juga aman bagi lingkungan dan tubuh (Hwang, *et al.*, 2021).

2.3 *Edwardsiella tarda*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Reichley *et al.* (2017), Klasifikasi *Edwardsiella tarda* sebagai berikut:

- Kingdom : Bacteria
- Filum : Proteobacteria
- Family : Enterobacteriaceae
- Genus : Edwardsiella
- Species : *Edwardsiella tarda*



Gambar 3. *Edwardsiella tarda* (Wang, *et al.*, 2020)

Edwardsiella tarda termasuk dalam family *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri golongan gram-negatif. Morfologi bakteri ini berbentuk batang, berwarna merah muda, berukuran sekitar $1\mu\text{m} \times 2-3\mu\text{m}$, tidak berspora, tidak memiliki berkapsul, bersifat fermentatif dan motil karena memiliki alat gerak yaitu *peritrichous flagella*. Kultur pada media umumnya pada suhu $26 - 30^{\circ}\text{C}$ selama 24 - 48 jam dapat menghasilkan koloni bulat dengan permukaan rata atau halus, sedikit cembung, tepi entire, transparan dengan ukuran sekitar 0,5 mm. Bakteri ini yang menyebabkan penyakit *Edwardsiellosis* pada ikan air tawar. Morfologi *E. tarda* disajikan pada Gambar 3 (Diniarti, *et al.*, 2019).

2.3.2 Organ Target

Organ yang pertama kali terserang akibat infeksi *E. tarda* adalah insang dan kulit, hal ini karena organ tersebut bersentuhan langsung dengan air. Organ dalam seperti hati, usus, limpa, dan ginjal juga dapat terinfeksi *E. Tarda*

(Ratnawati, *et al.*, 2013). *E. tarda* merupakan agen penyebab *Edwardsiellosis* pada beberapa ikan air tawar. Ikan yang mati akan menunjukkan gejala seperti hemoragi di sekitar kepala, operkulum, dan organ dalam (Gambar 3). Bakteri ini akan menyebabkan *septicemia* dengan luka serius pada kulit dan menyerang organ. Bakteri ini menyerang mekanisme pertahanan tubuh inang, karena itu proses proliferasi bakteri ini sangat cepat di dalam inang dan menyebabkan kematian. *Edwardsiellosis* dapat ditularkan secara horizontal antara ikan sakit dan ikan sehat (Narwiyani dan Kurniasih, 2011). *E. tarda* mempunyai patogenitas berkisar antara $10^5 - 10^7$ sel/mL (Tamba, *et al.*, 2021). Menurut Suwarno *et al.* (2014) menambahkan penyakit ini dapat menyebabkan tingkat kematian lebih dari 60% dalam kurun waktu 7 hari.



Gambar 4. Kantung Empedu dan Hepatopankreas Ikan Nila yang Terinfeksi *Edwardsiella tarda* (Nagy, *et al.*, 2018)

2.3.3 Gejala Klinis

Ikan yang terkena penyakit *Edwardsiellosis* akan menunjukkan suatu gejala tubuh menghitam dan pucat, hemoragi, produksi lendir yang berlebih, ekor dan sirip berwarna kemerahan, luka bernanah, timbulnya luka, perut menggebung.

Organ yang terinfeksi *E. tarda* disajikan pada Gambar 4. (Prastiti, *et al.*, 2015). *E. tarda* menghasilkan dua eksotoksin yang menyebabkan terjadinya berbagai kerusakan pada ikan yang terinfeksi yaitu endotoksin dan eksotoksin (Arsal, *et al.*, 2018). Hemolisin yang dihasilkan oleh *E. tarda* mampu memecah sel eritrosit yang akan mengakibatkan sel darah akan keluar dari pembuluh darah dan menimbulkan

warna kemerahan pada permukaan kulit. Ikan yang terinfeksi *E. Tarda* juga akan menunjukkan gejala depigmentasi kulit, hal ini karena bakteri ini menyerang bagian epidermis kulit ikan yang di dalamnya terdapat sel pigmen *chromatophore* dan kolagen yang kemudian akan menembus bagian dalam struktur kulit ikan sehingga menyebabkan kulit kehilangan pigmen warna (Meidiza, *et al.*, 2017)



Gambar 5. Hemoragi Pada Ikan Nila yang Terinfeksi *Edwardsiella tarda* (Moustafa, *et al.*, 2016)

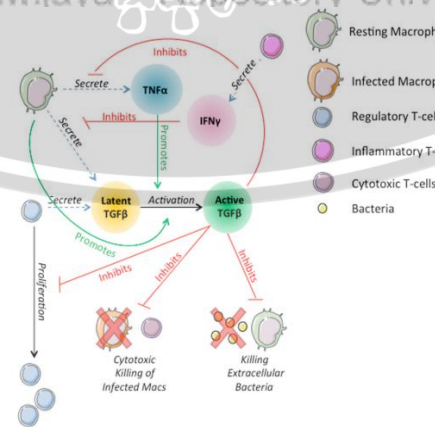
2.3.4 Gen TGF- β

Sitokin adalah protein yang diproduksi tubuh agar merangsang sel sitokin lainnya untuk bekerja sama. Sitokin memiliki banyak fungsi yaitu berperan dalam kekebalan, mediator, inflamasi, hematopoiesis. Sitokin Th1 disebut sebagai sitokin proinflamasi yang berperan untuk meningkatkan respons imun seluler, mengaktifkan makrofag dan mengontrol pada awal infeksi. Sel tipe Th2 disebut sitokin anti inflamasi sebagai respons antibodi, pembentukan antibodi, menghambat fungsi makrofag dan menghancurkan patogen (Setiawan, *et al.*, 2016).

TGF- β adalah sitokin multifungsi yang berperan dalam kekebalan, respon imun, memodulasi proliferasi, pertumbuhan, diferensiasi, kelangsungan hidup sel dan produksi protein matriks ekstraselular (Hermendy dan Pawarti, 2017). TGF- β dihasilkan hampir seluruh sel tubuh salah satunya yaitu sel platelet, makrofag, neutrofil (Suharto dan Etika, 2019). TGF- β terlibat dalam jalur pensinyalan untuk respon imun. TGF- β berperan dalam penyembuhan luka dengan memproduksi fibrosis dan matriks ekstraseluler (Zhi, *et al.*, 2018). TGF- β selama fase inflamasi

penyembuhan akan meningkatkan kemotaksis monosit, memodulasi diferensiasi, aktivasi limfosit dan memodulasi makrofag (Hanna dan Frangoggianis, 2019).

Penyembuhan luka adalah suatu proses dalam tubuh untuk memperbaiki sel tubuh yang rusak akibat adanya infeksi atau suatu penyakit. Prosesnya melalui 4 tahap yaitu yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling (Ismiarto, *et al.*, 2018). Setelah terjadinya peradangan akan memulai fase inflamasi yang berlangsung sekitar 4 - 6 hari. Langkah awal dalam proses penyembuhan yaitu terjadinya homeostasis dengan mengaktifkan platelet yang kemudian akan merangsang terjadinya pelepasan berbagai sitokin faktor pertumbuhan seperti TGF- β yang berperan dalam memulai proses penyembuhan peradangan. Sitokin seperti TGF- β akan diproduksi oleh sel platelet, leukosit dan fibroblast serta bertanggung jawab terhadap penarikan dan aktivasi neutrophil, monosit pada daerah luka yang akan memulai terjadinya angiogenesis dan reepitelisasi. TGF- β yang dikeluarkan oleh fibroblast dan leukosit akan merangsang sitokin lainnya seperti TNF- α , IL-1 β dan PDGF yang selanjutnya akan mempotensiasi terjadinya respon inflamasi. PDGF akan mengaktifkan faktor transkripsi *Neutrophyl Factor kB* (NF- κ B) dan *macrophage chemoattractant protein-1* dalam merangsang timbulnya respon inflamasi (Arief dan Widodo, 2020)



Gambar 6. Mekanisme Kerja TGF- β (Warshinske, *et al.*, 2017)



2.4 Hematologi

Hematologi merupakan suatu metode pengamatan struktur darah dan abnormalitas. Pada umumnya banyak peneliti melakukan pengamatan hematologi untuk mendeteksi perubahan fisiologis pada tubuh ikan yang disebabkan oleh kondisi lingkungan dan status kesehatan ikan. Parameter struktur darah yang dapat digunakan yaitu nilai hematokrit, hemoglobin, jumlah eritrosit dan serta jumlah diferensial leukosit (neutrofil, monosit dan limfosit) (Riantono, *et al.*, 2016).

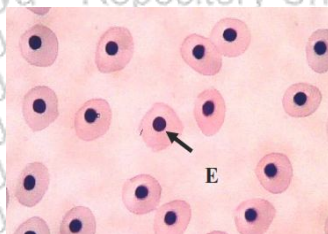
2.4.1 Hemoglobin (Hb)

Hemoglobin merupakan bagian dari eritrosit yang berfungsi sebagai pengangkut oksigen dan karbondioksida. Kadar hemoglobin normal pada ikan nila sekitar 5,05-8,33 G% (Sukandar, *et al.*, 2018). Kadar hemoglobin berkaitan erat dengan kadar eritrosit. Jumlah hemoglobin yang rendah pada ikan menyebabkan ikan mengalami anemia dan proses metabolisme ikan menurun sehingga energi yang diproduksi rendah. Dampak pada ikan akan menyebabkan menurunnya nafsu makan, lelah, sering terlihat diam di dasar dan di bawah permukaan air (Sari, *et al.*, 2017).

2.4.2 Eritrosit (Sel Darah Merah)

Eritrosit adalah komponen penting yang diperlukan dalam tubuh. Fungsi utama dari eritrosit adalah mengangkut hemoglobin dan oksigen ke seluruh jaringan tubuh. Penghitungan eritrosit dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu menggunakan *hemocytometer*, mikroskop, dan mesin *hematology analyzer* (Anamisa, 2015). Eritrosit merupakan indikator pengaruh stress. Jika nilai eritrosit tinggi, maka menunjukkan suatu organisme tersebut dapat beradaptasi dengan baik dan bertahan pada kondisi lingkungan yang rendah oksigen (Puteri, *et al.*, 2016). Eritrosit adalah sel yang jumlahnya sangat banyak dalam tubuh. Pada ikan nila eritrosit memiliki ciri yaitu berukuran dengan panjang 13-16 μm dan lebar 7-10

um, berbentuk oval dengan kedua ujungnya membulat dan berinti. Inti sel eritrosit terletak ditengah dengan sitoplasma bewarna kebiruan jika dengan pewarnaan giemsa (Preanger, *et al.*, 2016).



Gambar 7. Morfologi Sel Eritrosit (Preanger, *et al.*, 2016)

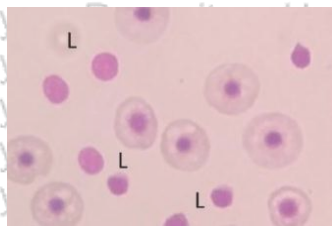
2.4.3 Leukosit (Sel Darah Putih)

Leukosit merupakan sel yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh ikan dan sel yang peka terhadap adanya rangsangan infeksi penyakit. Leukosit berfungsi melindungi tubuh dari patogen dengan cara memfagositosis dan menghasilkan antibodi. Jika kadar leukosit didalam tubuh ikan sedikit, maka ikan tersebut rentan terhadap serangan infeksi bakteri patogen. Jumlah leukosit normal pada ikan nila berkisar antara 20.000 - 150.000 sel/mm³. Sel leukosit dapat dibedakan yaitu sel limfosit, monosit dan neutrofil (Putranto, *et al.*, 2019).

2.4.4 Diferensial Leukosit

A. Limfosit

Limfosit adalah sel yang berperan dalam peningkatan respon imun dari serangan patogen dan pembentukan antibodi (Hartika, *et al.*, 2014). Pada ikan nila sel limfosit memiliki ciri yaitu berukuran sekitar 10µm dan berinti gelap yang berbentuk bulat dan agak berlekuk dengan kelompok kromatin kasar. Sitoplasmanya berwarna biru-langit. Sel limfosit yang beredar sekitar 10% merupakan jenis sel limfosit besar yang berukuran 12-16 µm dengan sitoplasma yang banyak yang mengandung sedikit granula azurofilik. Bentuk yang seperti ini diduga telah dirangsang oleh antigen, misalnya virus atau protein asing (Wulandari, *et al.*, 2018).

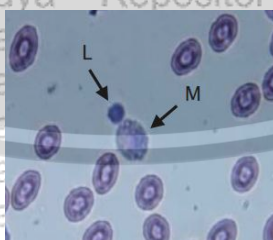


Gambar 8. Morfologi Sel Limfosit (Kurniawan, *et al.*, 2020)

B. Monosit

Monosit adalah sel yang berperan untuk memakan partikel atau zat asing yang masuk ke dalam tubuh dan memberikan informasi tentang adanya suatu serangan penyakit kepada sel leukosit (Utami, *et al.*, 2013). Tubuh yang mengalami infeksi oleh partikel atau zat asing yang masuk akan merangsang sel monosit untuk menuju langsung dengan cepat meninggalkan pembuluh darah menuju daerah yang terinfeksi untuk melakukan fagositosis. Kemudian, sel monosit akan menembus dinding pembuluh darah kapiler yang selanjutnya akan masuk ke jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag (Rustikawati, *et al.*, 2012). Sel monosit memiliki ciri - ciri yaitu berukuran 16 - 20 μm , bentuknya bervariasi, berinti besar di tengah oval dengan berlekuk kromatin mengelompok.

Sitoplasma memiliki warna biru pucat yang melimpah dan mengandung banyak vakuola halus sehingga memberi bentuk rupa seperti kaca. Granula sitoplasma juga sering ada (Wulandari, *et al.*, 2018).



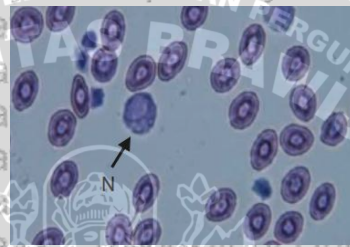
Gambar 9. Morfologi Sel Monosit (Lusiastuti, *et al.*, 2013)

C. Neutrofil

Neutrofil merupakan sel fagosit yang akan aktif ketika ada benda asing yang masuk kedalam tubuh sebagai pertahanan non-spesifik (Sukenda, *et al.*,

2015). Neutrofil adalah jenis leukosit yang termasuk fagosit kuat. Mekanisme sel neutrofil dalam memfagosit dilakukan dengan mendekati partikel asing untuk difagositosis dan mengeluarkan pseudopodi kesegala arah sekitar partikel, kemudian pseudopodi satu sama lain saling bersatu untuk melakukan fagositosis.

Satu neutrofil dapat memfagosit 5 - 20 bakteri (Sani, *et al.*, 2014). Sel neutrofil pada ikan nila memiliki ciri yaitu berukuran 12 - 15 μm , berinti padat yang terdiri atas sitoplasma pucat di antara 2 - 5 lobus dengan rangka tidak teratur dan mengandung banyak granula merah jambu (azurofilik) atau merah lembayung (Wulandari, *et al.*, 2018).



Gambar 10. Morfologi Sel Neutrofil (Lusiastuti, *et al.*, 2013)

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Kegiatan penelitian dilaksanakan pada bulan Februari - Mei 2021 di Laboratorium Reproduksi Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Persiapan Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini pada Lampiran 2a, berikut rincian alat yang digunakan dapat dilihat di tabel 1 adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Alat Penelitian

No.	Alat Penelitian	Kegunaan
1.	Aerator	Untuk menyuplai oksigen ke dalam bak pemeliharaan
2.	Autoklaf	Untuk sterilisasi alat dan Bahan
3.	Kolam pemeliharaan	Untuk media hidup ikan
4.	Blender	Untuk menghancurkan pakan
5.	Bunsen	Untuk pengkondisian aseptis pada saat berada di <i>Laminary Air Flow</i> (LAF)
6.	Cawan Petri	Untuk wadah dari penanaman bakteri
7.	Cover glass	Untuk penutup preparat yang akan diamati
8.	Erlenmeyer	Untuk wadah memanaskan
9.	Gelas ukur	Untuk mengukur larutan
10.	Gunting	Untuk memotong bahan yang digunakan
11.	Hot plate	Untuk memanaskan media
12.	Haemometer	Mengukur kadar hemoglobin
13.	Haemocytometer	Mengukur kadar eritrosit
14.	Inkubator	Untuk menyimpan bakteri yang akan digunakan
15.	Jarum ose	Untuk mengambil bakteri yang berada pada Media
16.	Kabel Olor	Untuk mengalirkan sumber listrik
17.	Kamera digital	Untuk mendokumentasikan
18.	<i>Laminary Air Flow</i>	Untuk tempat preparasi bahan dan tempat saat menanam bakteri
19.	Loyang	Untuk menjemur pakan



No.	Alat Penelitian	Kegunaan
20.	Mesin Penggiling	Untuk mencetak pakan
21.	Mikropipet	Untuk mengambil larutan
22.	Mikroskop	Untuk mengamati objek yang diteliti
23.	Nampan	Untuk meletakkan alat dan bahan
24.	Rak tabung reaksi	Untuk tempat meletakkan tabung reaksi
25.	pH paper	Untuk mengukur Ph
26.	Pinset	Untuk mengambil organ
27.	Pipet sahli	Untuk menghisap darah pada pengukuran hemoglobin
28.	Saringan	Untuk menyaring pakan hingga menjadi butiran halus
29.	Sectio set	Untuk membedah ikan nila
30.	Selang Aerator	Untuk mengalirkan oksigen kedalam bak pemeliharaan
31.	Sentrifuge	Untuk menghomogenkan sampel
32.	Seser	Untuk mengambil ikan nila
33.	Spatula	Untuk menghomogenkan larutan
34.	Tabung reaksi	Untuk wadah peremajaan bakteri
35.	Timbangan analitik	Untuk menimbang media dan pakan
36.	Thermometer	Untuk mengukur suhu
37.	Toples 10L	Untuk tempat sementara pakan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini pada Lampiran 2b, berikut rincian alat yang digunakan dapat dilihat di tabel 2 adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Bahan Penelitian

No.	Bahan Penelitian	Fungsi
1.	Air Tawar	Sebagai media hidup ikan
2.	Akuades	Sebagai pelarut media
3.	Alkohol	Sebagai pengkondisian aseptis
4.	Alumunium foil	Sebagai penutup erlenmeyer dan tabung reaksi saat dilakukan sterilisasi
5.	Bakteri <i>Edwardsiella tarda</i>	Sebagai bakteri uji
6.	Giemsa	Sebagai pemberi warna ungu pada darah
7.	HCl 0,1 N	Sebagai pengukuran hemoglobin
8.	Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Sebagai ikan uji
9.	Kantong Plastik	Sebagai wadah pakan
10.	Kapas	Sebagai penutup erlenmeyer dan tabung reaksi
11.	Kertas Label	Sebagai pemberi tanda alat dan bahan
12.	Larva <i>H. illucens</i>	Sebagai pakan uji
13.	Larutan Hayem	Sebagai larutan pengencer darah pada uji eritrosit

No.	Bahan Penelitian	Kegunaan
14.	Larutan Turk	Sebagai larutan pengencer darah pada uji leukosit
15.	Lateks	Sebagai pelindung tangan
16.	Masker	Sebagai pelindung mulut dan hidung
17.	Methanol	Sebagai larutan untuk memfiksasi darah
18.	Pakan Komersial CP Prima 781-1	Sebagai pakan komersial ikan
19.	Plastik wrap	Sebagai bahan pembungkus
20.	Spiritus	Sebagai bahan bakar Bunsen
21.	Tisu	Sebagai bahan membersihkan alat
22.	<i>Tryptitone Soy Agar</i> (TSA)	Sebagai media padat sebagai tempat pertumbuhan bakteri
23.	<i>Tryptitone Soy Broth</i> (TSB)	Sebagai media cair sebagai tempat pertumbuhan bakteri

3.2.2 Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan. Dosis *Hermetia illucens* yang diberikan pada masing-masing perlakuan antara lain:

Perlakuan A : 30% (300 gr pakan *Hermetia illucens* dan 700 gr pakan komersial)

Perlakuan B : 40% (400 gr pakan *Hermetia illucens* dan 600 gr pakan komersial)

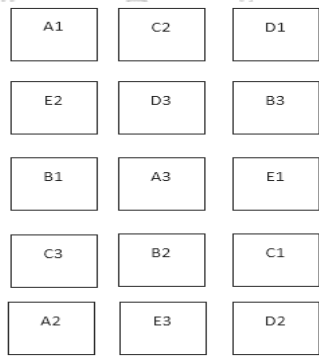
Perlakuan C : 50% (500 gr pakan *Hermetia illucens* dan 500 gr pakan komersial)

Perlakuan D : K+ (Ikan diinfeksi *Edwardsiella tarda* dan diberi pakan komersial)

Perlakuan E : K- (Ikan tidak diinfeksi *Edwardsiella tarda* dan diberi pakan komersial). Ikan uji yang digunakan adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*).

Masing-masing kolam berisi 30 ekor ikan nila yang berukuran panjang rata-rata

5-7 cm. Kolam ikan letaknya saling berjejer. Selama pemeliharaan, ikan diberi pakan sesuai perlakuan secara *at satiation* dengan frekuensi dua kali sehari yaitu pagi dan sore. Parameter kualitas air diukur setiap hari yang meliputi pH, suhu dan oksigen terlarut (DO). Setiap dua hari sekali air disipon untuk membuang kotoran di dasar kolam. Unit percobaan ditempatkan secara acak dan *layout* percobaan pada Gambar 7.



Gambar 11. Layout Percobaan

Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan penelitian faktor tunggal dengan desain yang paling sederhana dan mudah di antara rancangan percobaan yang lain. RAL dapat dilakukan pada penelitian skala laboratorium dan beberapa jenis bahan percobaan tertentu yang mempunyai sifat relatif homogen (sama). Pada percobaan terdiri paling sedikitnya terdapat dua perlakuan. RAL disebut juga desain acak sempurna karena selain perlakuan semua variabel yang berpengaruh dapat dikendalikan. Penempatan perlakuan ke dalam unit percobaan dilakukan secara acak lengkap artinya setiap unit percobaan memiliki peluang yang sama untuk memperoleh perlakuan (Rachmawati dan Erina, 2020).

3.2.3 Metode Pengambilan Data

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis penelitian eksperimental, sedangkan untuk metode pengumpulan data dengan cara metode deskriptif. Menurut Payadnya dan Jayanthika (2018), metode eksperimen adalah metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendalikan dan melihat apakah menimbulkan suatu gejala. Pada penelitian eksperimental ini biasanya dipilih dua tipe kelompok, yaitu kelompok eksperimen yang merupakan kelompok yang diberikan perlakuan (*treatment*) dan kelompok kontrol yang tidak diberikan perlakuan.



Metode deskriptif adalah pencarian fakta dengan interpretasi yang tepat. Metode deskriptif ini dilakukan dengan cara menganalisis dan mengumpulkan data terhadap penelitian yang dilakukan. Metode deskriptif ditujukan untuk mendeskripsikan fenomena-fenomena yang ada bisa berupa bentuk, aktivitas, karakteristik, perubahan, hubungan, kesamaan, dan perbedaan antara fenomena yang satu dengan fenomena lainnya (Linarwati, *et al.*, 2016).

3.2.4 Sterilisasi Alat

Sterilisasi adalah suatu cara untuk membebaskan atau memusnahkan alat dan bahan dari jasad hidup penyebab patogen. Sterilisasi dibagi 2 macam yaitu, basah dan kering. Pemanasan kering umumnya menggunakan oven yang dilakukan dengan meletakkan wadah atau alat gelas dalam oven bersuhu tinggi selama waktu tertentu. Pemanasan basah lazimnya dilakukan menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atmosfer (atm) dengan suhu dan waktu tertentu, tergantung tingginya suhu. Pada pemanasan basah menggunakan autoklaf umumnya dilakukan pada suhu 121°C selama 15 menit atau 115°C selama 30 menit. Wadah atau alat gelas juga dapat disterilkan dengan cara ini (Achmad, *et al.*, 2011).

3.2.5 Pakan Uji

Pakan yang digunakan dalam penelitian ini berupa pellet dengan bahan kombinasi yang berasal dari larva *H. illucens* yang dicampur dengan pakan komersial dari CP Prima 781-1 sesuai dengan jumlah yang dibutuhkan setiap perlakuan. Komposisi pakan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Pakan Perlakuan

No	Bahan (gr)	Ransum (gr)		
		A	B	C
1	Maggot	300 gr	400 gr	500gr
2	Pakan komersial	700 gr	600 gr	500 gr
3	Tepung tapioka	30 gr	30 gr	30 gr

Proses pembuatan pakan diawali dengan penghalusan bahan menggunakan blender sampai semua bahan terasa halus. Setelah itu, bahan diayak menggunakan saringan untuk mendapatkan ukuran partikel yang sama. Setelah pengayakan, dilakukan pencampuran semua bahan dan ditambahkan sedikit demi sedikit air panas sampai semua bahan tercampur secara merata dan menjadi rekat. Selanjutnya, bahan dicetak menggunakan mesin pencetak pellet, kemudian pakan dijemur sampai kering. Setelah kering, pakan disimpan dalam wadah dan diletakkan ditempat yang tidak lembab agar tidak jamur. Hasil uji fitokimia *H. Illucens* disajikan pada lampiran 5 sedangkan hasil uji proksimatnya disajikan pada lampiran 3.

3.2.6 Pembuatan Media TSA dan TSB

Media merupakan suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi yang digunakan mengembangbiakkan suatu mikroba (Juriah dan Sari, 2018). Media yang umum digunakan untuk menumbuhkan bakteri adalah *Tryptic Soy Agar* (TSA) dan *Tryptic Soy Broth* (TSB). Kandungan dari TSA terdiri atas agar, *tryptone*, *soytone* dan *sodium chloride* (Dwinanti dan Tanbiyaskur, 2014). Media TSB mengandung kasein dan pepton kedelai yang menyediakan asam amino dan substansi nitrogen. (Setiaji, *et al.*, 2015).

3.2.7 Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri adalah suatu proses untuk merawat dan mendapatkan bakteri. Peremajaan bakteri yang sering dilakukan dengan menggunakan metode gores. Langkah pertama yang dilakukan yaitu biakan murni bakteri diambil dengan satu jarum ose kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada media secara aseptik, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil uji biokimia bakteri *E. tarda* disajikan pada lampiran 6 (Yanti dan Mitika, 2017).



3.2.8 Kultur Bakteri

Kultur bakteri adalah proses pengembangbiakan atau memperbanyak bakteri pada media kultur yang bertujuan agar memperoleh biakan murni dari suatu jenis bakteri tunggal (Perkasa, *et al.*, 2019). Biakan bakteri *E. tarda* sebanyak satu ose diinokulasi ke dalam medium agar miring TSA secara terpisah dan aseptis dengan meletakkan jarum ose yang mengandung biakan pada dasar kemiringan agar dan ditarik dengan gerakan zig-zag. Bakteri *E. tarda* sebanyak dua ose diinokulasikan ke dalam medium TSB yang terpisah. Selanjutnya masing-masing diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Peremajaan dilakukan setiap minggu (Purwanti dan Susanti, 2016).

3.2.9 Uji Tantang

Ikan nila diinfeksi dengan bakteri *E. Tarda* dengan kepadatan bakteri 1×10^6 cfu/ml berdasarkan *Lethal concentration* (LC_{50}) penelitian (Sherif, *et al.*, 2021). Kemudian, ditunggu selama 96 jam, setelah itu diambil sampel darah ikan menggunakan spuit yang didalamnya telah diisi EDTA.

3.2.10 PCR

Jenis PCR yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Real-time* PCR. Proses pengujian dilakukan di *Bioscience*. Menurut Hewajuli dan Dharmayanti (2014), *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah salah satu teknik biologi molekuler yang digunakan untuk memperbanyak sekuen DNA. Umumnya penggunaan PCR-*real time* sering digunakan untuk deteksi RNA, DNA dan *cDNA*. Kelebihan dari PCR-*real time* adalah hasil keakuratan dan sensitivitas lebih baik dan tinggi, risiko kontaminasi rendah dan pengaplikasian penggunaannya lebih banyak. PCR-*real time* dapat digunakan untuk ekspresi gen, deteksi virus, deteksi bakteri, mutasi genetik pada organisme, sedangkan kelemahannya yaitu alat dan bahan yang

digunakan mahal, memerlukan peralatan canggih dan memerlukan pemahaman teknik yang benar dan tepat.

3.2.11 Ekspresi Gen TGF- β

Pada penelitian ini dilakukan analisis ekspresi gen TGF- β pada ikan nila yang diinfeksi *E. tarda* yang telah diberi pakan *H. illucens*. Analisis ekspresi gen ini menggunakan alat RT-PCR yang diambil pada organ hati ikan nila. Perlakuan yang digunakan adalah perlakuan A, K+ dan K-. Analisis ekspresi gen dilakukan untuk mengetahui tingkat ekspresi gen TGF- β pada organ tersebut. Hasil ekspresi gen akan berupa grafik yang akan menunjukkan tingkat ekspresi gen disetiap perlakuan. Analisis ekspresi mRNA menggunakan SsoFast™ EvaGreen Supermix Biorad. Amplifikasi kontrol positif menggunakan β -Actin dan gen target menggunakan primer TGF- β yang ditunjukkan pada Gambar 12.

TGF- β	GTTTGAACCTTCGGCGGTA CTG TCCTGCTCATAGTCCCAGAGA
β -Actin	F: TGACCTCAGACTACCTCATG R: TGATGTCACGCACGATTTC

Gambar 12. Urutan Basa Nukleotida β -Actin dan Primer TGF- β

Tingkat ekspresi gen sitokin dilakukan dengan menggunakan RT-PCR (*Applied Biosystems*) sesuai pedoman yang digunakan. Sebelum itu, RNA hasil ekstraksi dari sel MDM dilakukan transkripsi balik yang kemudian hasil cDNA yang didapat digunakan sebagai template pada pengukuran RT-PCR. Bahan yang digunakan adalah SYBR Green select reaction mix dan sepasang primer masing-masing gen sitokin, yaitu primer *forward* dan primer *reverse*. Gen *housekeeping* yang digunakan adalah *beta-actin* sebagai gen normalisasi pada saat proses RT-PCR. Pada tahap pertama memiliki kondisi reaksi yaitu 50 °C selama 2 menit, tahap kedua 95 °C selama 2 menit, dan tahap ketiga yaitu 95 °C selama 15 detik

dan 60 °C selama 1 menit sebanyak 35 siklus. Pengukuran dilakukan 2 kali ulangan dengan menyertakan kontrol tanpa cetakan cDNA (Warnasih, *et al.*, 2014).

3.2.12 Hematologi

A. Eritrosit

Sampel darah ikan diambil dengan pipet eritrosit, lalu ditambahkan antikoagulan sebanyak 0,5 µl. Kemudian, diencerkan dengan larutan hayem hingga 101 µl dan dihomogenkan agar merata. Setelah itu, dua tetes pertama dari hasil campuran tersebut dibuang dan tetesan ketiga diletakkan pada kotak haemocytometer. Selanjutnya, ditutup dengan *cover glass* dan diamati dengan mikroskop dan dihitung jumlah eritrosit. Rumus perhitungan eritrosit menurut Arlanda *et al.*, (2018) sebagai berikut:

$$\text{Eritrosit} : \sum \text{Eritrosit terhitung} \times 10^4 \text{ Sel/mm}^3$$

B. Leukosit

Sampel darah ikan diambil menggunakan pipet leukosit, kemudian ditambahkan antikoagulan sebanyak 0,5 µl. Kemudian, diencerkan dengan larutan turk dalam pipet leukosit hingga 101 µl. Setelah itu, dihomogenkan agar tercampur secara merata. Dua tetes pertama dari hasil campuran tersebut dibuang dan tetesan ketiga diletakkan pada kotak haemocytometer. Selanjutnya, ditutup dengan *cover glass* dan diamati dengan dibawah mikroskop. Rumus perhitungan leukosit menurut Utami *et al.* (2013), Sebagai berikut :

$$\text{Leukosit} : \text{Jumlah sel leukosit terhitung} \times 50 \text{ sel/mm}^3$$

C. Diferensial Leukosit

Sampel darah ikan diambil dengan pipet kapiler, lalu diberi antikoagulan. Kemudian, ditetaskan pada ujung objek glass untuk membuat hapusan darah

dengan membentuk sudut 30 - 40 derajat. Setelah itu, didorong dengan sudut yang sama untuk membentuk lapisan tipis pada objek glass lalu dikeringkan. Setelah itu difiksasi objek glass dengan menggunakan methanol selama 1-2 menit. Selanjutnya dilakukan pengecatan dengan larutan giemsa pada hapusan darah yang telah difiksasi dan ditunggu selama \pm 15 menit. Setelah itu, dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Selanjutnya, diamati hasilnya dengan menggunakan mikroskop dan dihitung jumlah limfosit, monosit, serta neutrofilnya.

D. Hemoglobin

Menurut Royan *et al.* (2014), tabung sahnometer diisi terlebih dahulu dengan larutan HCl 0,1 N hingga mencapai angka 10. Kemudian, diletakan tabung tersebut diantara 2 tabung dengan warna standar dan diambil darah ikan dari tabung effendorf dengan pipet sahli sebanyak 0,02 ml. Selanjutnya, ujung pipet dibersihkan terlebih dahulu dan darah dimasukkan ke dalam tabung sahli lalu didiamkan selama 3 menit. Setelah itu, ditambahkan aquades dengan pipet tetes sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan gelas pengaduk sampai warnanya sama dengan warna standar. Dinyatakan kadar hemoglobin dalam G%.

3.2.13 Parameter Uji

Parameter utama dalam penelitian ini adalah ekspresi gen TGF- β , sedangkan pada parameter penunjang yaitu hematologi, *survival rate* dan kualitas air yang meliputi suhu, pH dan DO.

A. *Survival Rate*

Survival Rate adalah tingkat kelangsungan hidup suatu organisme atau populasi dalam jangka waktu tertentu. Menurut Mulyani *et al.* (2014) rumus yang digunakan untuk mengetahui persentase (%) tingkat kelangsungan hidup ikan uji sebagai berikut:



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

Keterangan:

SR: *Survival Rate* (%)

Nt: Jumlah ikan akhir pemeliharaan

No: Jumlah ikan awal pemeliharaan

B. Kualitas Air

Pengukuran parameter kualitas air setiap hari perlu dilakukan untuk mengetahui kondisi media pemeliharaan ikan selama penelitian. Parameter kualitas air yang diukur yaitu pH, oksigen terlarut (DO) dan suhu. Oksigen terlarut (DO), pH dan suhu diukur setiap hari. Pengukuran dilakukan pada pagi dan sore.

Pengukuran suhu diukur menggunakan thermometer, oksigen terlarut (DO) menggunakan DO-meter, sedangkan pH diukur menggunakan pH-meter.

3.3 Analisis data

Data yang diperoleh dari hasil ekspresi gen menggunakan *real time*-PCR akan dilakukan analisis menggunakan program excel dan dilanjutkan dengan program GraphPad. Data hematologi akan dianalisis menggunakan microsoft excel 2013 yang dilanjutkan dengan program SPSS. Pengaruh perlakuan terhadap parameter pengamatan akan dianalisis menggunakan uji ANOVA.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Biokimia

Pada uji biokimia yang tertera pada lampiran 6, dimana hasil uji biokimia menunjukkan bahwa bakteri *E. tarda* berwarna merah muda, tergolong gram-negatif, berbentuk batang dan bersifat motil. Hal ini sesuai pernyataan Menurut Budiyanto *et al.* (2020), pada pengamatan morfologi menunjukkan bakteri *E. tarda* berwarna merah muda, berbentuk batang, bergerak dengan flagella yaitu *peritrochous flagela*. Hal ini merupakan ciri - ciri dari bakteri gram negatif,. Pada uji katalase digunakan untuk mengetahui sifat bakteri dalam menghasilkan enzim katalase, jika ada gelembung oksigen, maka bakteri positif tersebut mengandung enzim katalase. Pada bakteri *E. tarda* uji katalase adalah positif. Uji oksidase digunakan untuk mengetahui ada tidaknya enzim oksidase. Hasil uji positif ditandai dengan koloni bakteri awalnya bewarna merah muda yang akhirnya warna hitam.

Pada *E. tarda* dari uji oksidase adalah positif. Uji O/F bertujuan untuk membedakan sifat bakteri oksidatif atau bakteri fermentatif. Bakteri fermentatif apabila tabung terbuka dan tertutup berwarna kuning. Pada *E. tarda* dari uji O/F termasuk bakteri fermentatif. Uji TSIA berfungsi untuk mengetahui apakah bakteri tersebut menghasilkan gas H₂S atau tidak. Jika terdapat warna kehitaman pada bekas goresan menunjukkan adanya H₂S. Hasil menunjukkan *E. tarda* dari uji TSIA terdapat H₂S.

4.2 Uji Proksimat

Pada hasil uji proksimat larva *H. Illucens* yang tertera pada lampiran 3 menunjukkan bahwa protein dari larva *H. Illucens* masih menunjukkan nilai yang cukup untuk memenuhi kebutuhan protein ikan nila. Hal ini sesuai dengan pernyataan Iskandar dan Elfirandah (2015), pakan yang harus diberikan

mengandung protein minimal 25%. Ikan nila dapat tumbuh dan berkembang meski hanya diberi pakan yang mengandung protein sekitar 20% - 25%.

Kandungan serat kasar yang dianjurkan dalam pakan ikan berkisar 3% - 5%. Pakan yang mengandung serat kasar berkisar 8% - 12% masih dapat ditolerir oleh ikan nila. Kandungan serat kasar yang tinggi dapat menurunkan daya cerna protein, pertumbuhan, menghambat konsumsi pakan dan meningkatkan produksi feses (Kardana, *et al.*, 2012). Kandungan serat kasar pada hasil uji proksimat menunjukkan memiliki nilai 7,79% yang dihasilkan sehingga masih dapat ditolerir oleh ikan nila.

Kandungan lemak kasar pada hasil uji proksimat larva *H. illucens* sebesar 34,03 %. Menurut Cahyani, *et al.*, (2020), kandungan lemak dipengaruhi oleh kandungan air yang terkandung pada bahan pakan tersebut. Kadar air berbanding terbalik dengan kadar lemak yaitu semakin tinggi kadar air yang terkandung maka kadar lemaknya akan semakin rendah.

Kadar abu pada suatu bahan pakan menunjukkan adanya kandungan garam, mineral atau senyawa anorganik dalam bentuk oksida. Tingginya kadar abu dan serat kasar pada larva *H. illucens* yang dihasilkan sesuai dengan tingginya kadar abu dari media pertumbuhannya. Tingginya kadar abu akan berbanding lurus dengan tingginya serat kasar sehingga daya cerna akan lebih rendah (Purnamasari, *et al.*, 2019). Hasil dari kadar abu pada larva *H. illucens* berkisar 14,93 %.

4.3 Gejala Klinis

Pada semua perlakuan yang diinfeksi oleh *E. Tarda* menunjukkan tingkah laku dan gejala yang sama. Pada ikan yang terinfeksi menunjukkan tingkah laku berkurangnya nafsu makan, berenang tidak teratur, suka didasar dan bergerak lamban. Pada pengamatan morfologi menunjukkan warna tubuh memucat dan

menghitam, berlendir yang berlebih dan tubuh berwarna kemerahan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Prastiti *et al.* (2015), perubahan morfologi ikan yang terinfeksi *E. Tarda* yaitu warna tubuh ikan menghitam dan pucat, timbulnya luka, hemoragi, produksi lendir yang berlebih, ekor berwarna kemerahan, *dropsy* dan terjadi kematian. Perut yang menggembung (*dropsy*) adalah suatu gejala yang ditandai dengan perut ikan tampak menggembung yang diakibatkan pelepasan *Aerolysin Cytotoxic Enterotoxyn* (ACT-gene) oleh bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan.



Gambar 13. Ikan Nila yang Terinfeksi Bakteri *Edwardsiella Tarda*

4.4 Hematologi

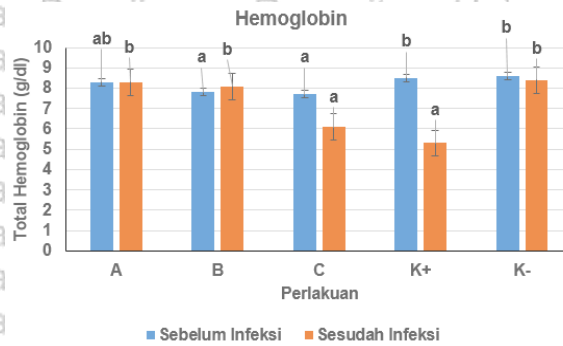
4.4.1 Hemoglobin (Hb)

Hemoglobin adalah protein dalam sel darah merah yang berfungsi mengikat oksigen. Kadar hemoglobin dan eritrosit berbanding lurus, semakin tinggi kadar hemoglobin maka semakin tinggi jumlah eritrosit (Purwanti, *et al.*, 2014).

Hasil perhitungan nilai hemoglobin ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sebelum dan sesudah infeksi dapat dilihat pada Tabel 4. dan Gambar 14.

Tabel 4. Kadar Hemoglobin

Perlakuan	Sebelum Infeksi	Sesudah Infeksi
A	8,3 ± 0.37 ^{ab}	8,3 ± 0.30 ^b
B	7,8 ± 0.40 ^a	8,1 ± 0.49 ^b
C	7,7 ± 0.20 ^a	6,1 ± 0.70 ^a
K+	8,5 ± 0.15 ^b	5,3 ± 0.55 ^a
K-	8,6 ± 0.26 ^b	8,4 ± 0.44 ^b



Gambar 14. Grafik Hasil Hemoglobin

Pada grafik hasil hemoglobin (Gambar 14) menunjukkan semua perlakuan setelah penginfeksi oleh bakteri *E. Tarda* dibandingkan ikan normal cenderung memiliki nilai hemoglobin yang rendah. Menurut Alipin dan Sari (2020), nilai hemoglobin yang rendah menunjukkan bahwa ikan sedang mengalami infeksi oleh suatu bakteri. Minaka *et al.* (2012) menambahkan menurunnya nilai hemoglobin dalam darah akibat ikan sedang mengalami lisis di dalam darah yang disebabkan adanya toksin bakteri yaitu haemolisin. Menurut Zuhrawati (2014), nilai hemoglobin ikan normal berkisar antara 5,05 - 8,33 G%.

Hemoglobin merupakan bagian dari eritrosit dimana fungsi hemoglobin sebagai pengangkut oksigen dan karbondioksida. Rendahnya kadar hemoglobin akan berdampak pada jumlah oksigen yang rendah didalam jaringan tubuh. Kadar hemoglobin yang rendah disebabkan karena terjadinya penurunan jumlah eritrosit, hal ini karena hemoglobin berbanding lurus dengan jumlah eritrosit dalam tubuh (Novita, *et al.*, 2020).

Pada ikan perlakuan dibandingkan ikan kontrol memiliki nilai hemoglobin yang cukup baik setelah penginfeksi. Hal ini diduga bahwa pemberian pakan larva *H. Illucens* dapat meningkatkan sistem imun ikan. Menurut Harlystiarini *et al.* (2020), larva *H. Illucens* mengandung peptida antimikroba (AMP), asam laurat yang dikenal luas sebagai agen antimikroba alami. Pada notasi menunjukkan

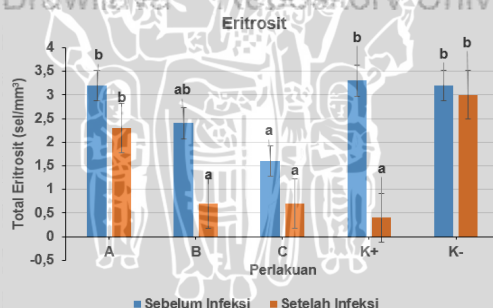
sebelum infeksi perlakuan B tidak berbeda nyata dengan C, sedangkan setelah penginfeksi perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B dan K-

4.4.2 Eritrosit (Sel Darah Merah)

Eritrosit adalah sel darah yang berperan dalam pengikatan oksigen yang dibutuhkan oleh tubuh. Kekurangan eritrosit dalam tubuh ikan akan mengakibatkan ketidakseimbangan dan mengalami anemia, lelah dan nafsu makan menurun (Arifin, *et al.*, 2020). Hasil perhitungan nilai hemoglobin ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sebelum dan sesudah infeksi dapat dilihat pada Tabel 5. dan Gambar 15.

Tabel 5. Kadar Eritrosit

Perlakuan	Sebelum Infeksi	Setelah Infeksi
A	3,2 ± 0.36	2,3 ± 2.30
B	2,4 ± 0.66	0,7 ± 0.45
C	1,6 ± 0.58	0,7 ± 0.3
K+	3,3 ± 0.37	0,4 ± 0.15
K-	3,2 ± 0.50	3 ± 0.55



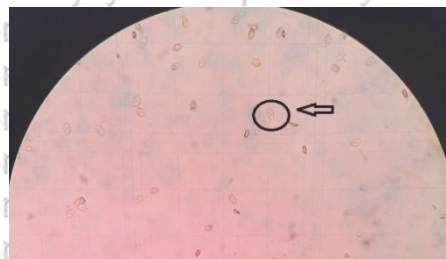
Gambar 15. Grafik Hasil Eritrosit

Pada grafik hasil nilai eritrosit (Gambar 15) menunjukkan semua perlakuan dibandingkan ikan normal mengalami penurunan kadar eritrosit hal ini karena adanya infeksi dari bakteri *E.tarda* yang menyerang tubuh ikan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Nursatia *et al.* (2017), nilai eritrosit yang rendah dapat disebabkan sel eritrosit sedang mengalami lisis yang disebabkan oleh toksin dari bakteri yang masuk ke tubuh ikan. Menurut Dianti *et al.* (2013), Ikan yang normal jumlah eritrositnya berkisar $1,05 - 3 \times 10^6$ sel/mm³.



Penurunan kadar eritrosit rendah pada perlakuan B dan C diduga ketika pemeliharaan ikan mengalami stress karena pakan dan kandungan kitin dari pakan larva *H. illucens* yang sulit dicerna oleh tubuh. Menurut Syahrial *et al.* (2013), kurangnya suplai nutrient ke sel, jaringan, dan organ dapat mempengaruhi total eritrosit. Sepang *et al.* (2021) menambahkan bahwa larva *H. illucens* memiliki kandungan nutrisi yang baik tetapi terdapat kitin sehingga penggunaannya sebagai pengganti pakan buatan pada ikan digunakan dalam jumlah terbatas.

Pada perlakuan A memiliki kadar eritrosit tertinggi, hal ini diduga pada larva *H. illucens* terdapat kandungan asam amino yang berperan dalam meningkatkan eritrosit dalam tubuh, hal ini sesuai dengan penelitian Irawan *et al.* (2020), 3 asam amino dalam *H. illucens* yaitu arginin (4,26%), histidin (2.37%), dan glutamin (5,36%) berperan dalam sistem imun tubuh. Glutamin ini berasal dari sintesis amino asam glutamat yang berperan dalam sel imun. Widianingrum *et al.* (2021) menambahkan profil asam amino dari magot tergolong lengkap. Kandungan asam amino pada maggot diantaranya glutamat (7,685.84 mg/kg), aspartat (5,864.19 mg/kg), dan leusin (5,034.31 mg/kg). Menurut Sunarno *et al.* (2017) menambahkan beberapa asam amino dan protein seperti protein albumin, glutamin, sistein, dan glisin memberi pengaruh terhadap proses pembentukan eritrosit. Pada notasi menunjukkan sebelum infeksi perlakuan A dengan perlakuan K+ dan K- tidak berbeda nyata, sedangkan setelah penginfeksian B, C dan K+ tidak berbeda nyata. Hasil pengamatan eritrosit pada ikan nila ditunjukkan pada Gambar 16.



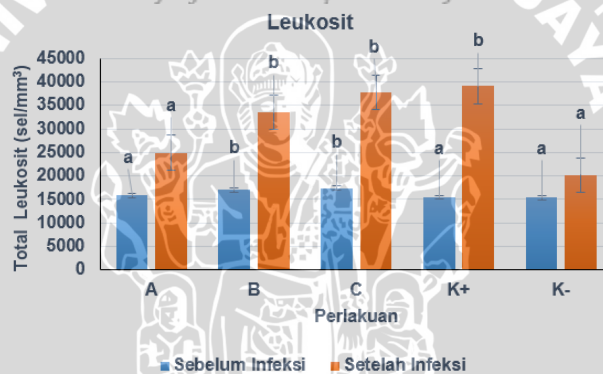
Gambar 16. Hasil Pengamatan Eritrosit

4.4.3 Leukosit

Leukosit adalah sel darah yang berperan dalam proses pembekuan darah dan membersihkan tubuh dari partikel asing yang dapat mengganggu sistem imun tubuh (Fitria, *et al.*, 2019). Hasil perhitungan nilai leukosit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sebelum dan sesudah infeksi dapat dilihat pada Tabel 6. dan Gambar 17.

Tabel 6. Kadar Leukosit

Perlakuan	Sebelum Infeksi	Setelah Infeksi
A	15839 ± 417.6 ^a	24915 ± 4.15 ^a
B	17015 ± 785.1 ^b	33529 ± 3.35 ^b
C	17427 ± 207.2 ^b	37786 ± 1.69 ^b
K+	15412 ± 464.8 ^a	39068 ± 3.46 ^b
K-	15386 ± 510.8 ^a	20146 ± 886.8 ^a



Gambar 17. Grafik Hasil Leukosit

Pada Gambar 17. grafik hasil nilai leukosit menunjukkan semua perlakuan nilai leukosit pada ikan perlakuan setelah penginfeksi oleh bakteri *E. tarda* memiliki kadar yang tinggi dibandingkan ikan normal, hal ini diduga akibat sedang melakukan pertahanan terhadap serangan bakteri *E. tarda* yang menyerang tubuh ikan nila. Menurut Saparuddin (2019), jumlah leukosit yang diproduksi akan tinggi jika terdapat infeksi yang menyerang pada tubuh ikan dan terdapat upaya dari tubuh ikan tersebut untuk melawan. Menurut Sonida *et al.* (2014), peningkatan kadar leukosit karena adanya respon perlawanan tubuh terhadap patogen, berupa meningkatnya aktifitas sel-sel fagosit yang berfungsi untuk menghancurkan

patogen yang masuk ke dalam tubuh ikan. Fagositosis merupakan tahap awal dalam mekanisme pertahanan tubuh untuk menghancurkan patogen.

Nilai leukosit sebelum infeksi menunjukkan memiliki nilai yang rendah hal ini diduga karena tidak ada infeksi dari bakteri *E.tarda* yang masuk ke dalam tubuh.

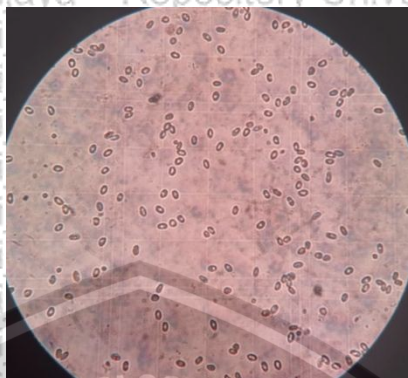
Menurut Purnomo *et al.* (2015), rendahnya kadar leukosit menunjukkan tidak adanya infeksi dari patogen yang menyerang tubuh ikan sehingga produksi sel leukosit menurun. Sunarno *et al.* (2017) menambahkan bahwa total leukosit ikan nila normal berkisar antara 20.000 - 150.000 sel/mm³ darah. Menurut Maftuch, (2018), Jumlah leukosit dalam ikan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis, spesies, umur dan kondisi lingkungan. Hasil pengamatan leukosit dapat dilihat pada Gambar 18.

Nilai leukosit yang tinggi pada perlakuan larva *H. Illucens* diduga pemberian pakan larva *H. Illucens* diduga dapat meningkatkan sistem kekebalan ikan sehingga dapat memodulasi produksi leukosit untuk melawan patogen. Menurut Irawan *et al.* (2019) menambahkan kandungan peptida-antimikroba (PAM) dan asam laurat dalam larva *H.illucens* dapat meningkatkan sistem imunitas tubuh ikan. Halystiarini *et al.* (2020) menambahkan mekanisme kerja asam laurat dalam larva *H.illucens* yaitu dengan mempengaruhi membran sel bakteri sehingga sifat fluiditas membran berubah. Perubahan sifat fluiditas tersebut meningkatkan daya penetrasi asam laurat ke dalam sel sehingga menyebabkan kematian bakteri.

Kandungan antimikroba pada larva *H. illucens* dapat meningkatkan aktivitas lisozim yang berperan dalam kekebalan tubuh ikan melawan patogen.

Aktivitas lisozim bertindak sebagai molekul non-spesifik yang melindungi ikan dari patogen melalui pemecahan 1,4 ikatan glikosidik pada peptidoglikan dinding sel bakteri gram-negatif. Peningkatan aktivitas lisozim akan membantu dalam meningkatkan respon imun ikan untuk melawan patogen yang masuk kedalam

tubuh ikan (Tippayadara, *et al.*, 2021). Pada notasi menunjukkan sebelum infeksi perlakuan A tidak berbeda nyata dengan K+ dan K-, sedangkan setelah penginfeksi perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan C dan K-.



Gambar 18. Hasil Pengamatan Leukosit

4.4.4 Diferensial Leukosit

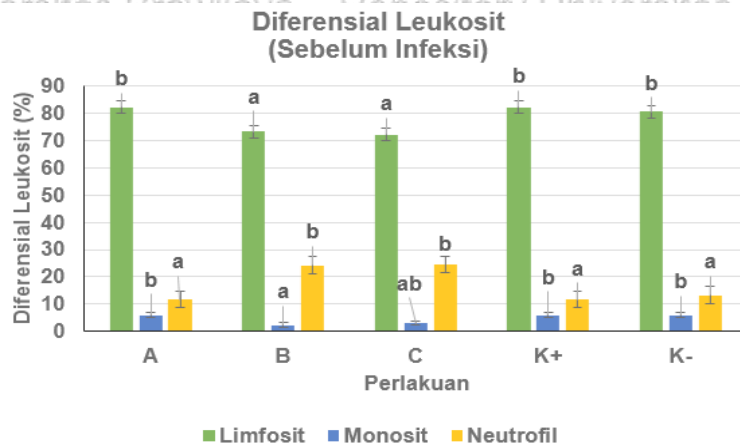
Hasil perhitungan nilai diferensial leukosit (limfosit, monosit dan neutrofil) pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sebelum dan sesudah infeksi dapat dilihat pada Tabel 7 dan Tabel 8.

Tabel 7. Kadar Diferensial Leukosit Sebelum Infeksi

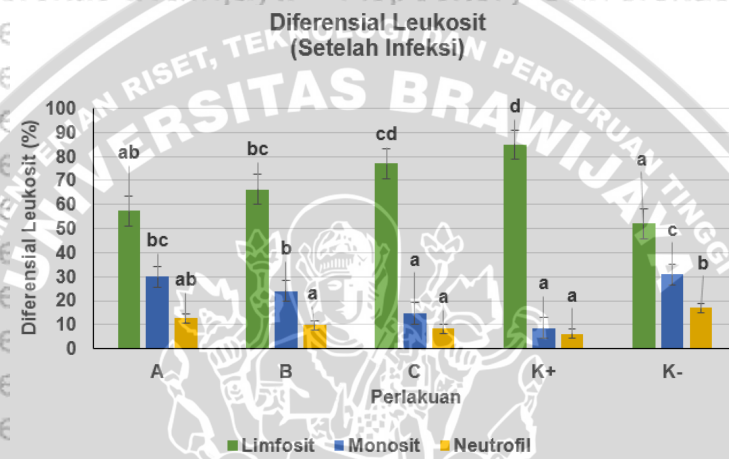
Perlakuan	Sebelum Infeksi		
	Limfosit	Monosit	Neutrofil
A	82,3 ± 2.51 ^b	6 ± 2.00 ^b	11,7 ± 2.00 ^a
B	73,3 ± 2.51 ^a	2,3 ± 1.52 ^a	24,3 ± 2.08 ^b
C	72,3 ± 2.51 ^a	3 ± 1.00 ^{ab}	24,7 ± 2.08 ^b
K+	82,3 ± 2.51 ^b	6 ± 2.00 ^b	11,7 ± 0.57 ^a
K-	80,7 ± 3.05 ^b	6 ± 2.00 ^b	13,3 ± 3.51 ^a

Tabel 8. Kadar Diferensial Leukosit Setelah Infeksi

Perlakuan	Setelah Infeksi		
	Limfosit	Monosit	Neutrofil
A	57,3 ± 4.16 ^{ab}	30 ± 2.00 ^{bc}	12,6 ± 3.05 ^{ab}
B	66,3 ± 7.37 ^{bc}	24 ± 5.56 ^b	9,7 ± 2.08 ^a
C	77 ± 6.00 ^{cd}	14,7 ± 2.08 ^a	8,3 ± 4.04 ^a
K+	85 ± 3.60 ^d	8,7 ± 2.08 ^a	6,3 ± 2.08 ^a
K-	52 ± 7.55 ^a	31 ± 3.60 ^c	17 ± 4.35 ^b



Gambar 19. Grafik Hasil Diferensial Leukosit Sebelum Infeksi



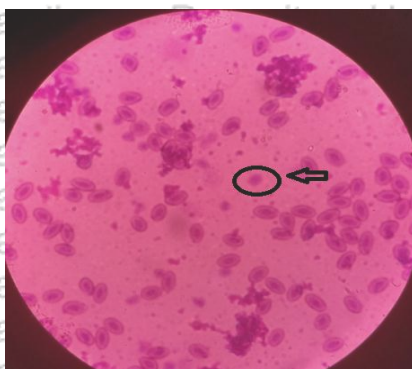
Gambar 20. Grafik Hasil Diferensial Leukosit Setelah Infeksi

Limfosit adalah sel yang berperan dalam sistem imunitas spesifik tubuh karena berperan dalam respons imun tubuh dari mikroorganisme dan benda asing lainnya. Limfosit juga merupakan bagian dari respon imun adaptif (Prakoewa, 2020). Pada Gambar 19 dan 20 grafik hasil limfosit menunjukkan semua perlakuan sebelum infeksi memiliki nilai limfosit yang tinggi. Menurut Novita *et al.* (2020), peningkatan jumlah limfosit dalam jumlah yang tinggi pada tubuh ikan menunjukkan bahwa sistem imun tubuh semakin meningkat. Pada pakan perlakuan larva *H. Illucens* diduga dapat meningkatkan sistem imun ikan. Menurut Weththasinghe *et al.* (2021) menambahkan larva *H. Illucens* mengandung asam laurat yang dapat meningkatkan kekebalan tubuh ikan dan sebagai antimikroba alami.



Pada semua perlakuan setelah penginfeksi cenderung mengalami penurunan kadar limfosit hal ini diduga adanya infeksi dari bakteri *E. tarda* yang menyerang tubuh ikan. Menurut Rustikawati (2012), penurunan kadar limfosit dalam darah disebabkan antibodi yang diproduksi digunakan untuk menyerang bakteri yang akan menetralkan endotoksin dan eksotoksin dari bakteri. Sebagian besar sel limfosit akan menuju ke suatu daerah yang terdapat peradangan. Menurut Purbomartono *et al.* (2020) menambahkan limfosit akan memproduksi antibodi untuk melawan patogen yang masuk ke dalam tubuh. Limfosit akan membentuk sel limfosit B dan T. Limfosit B berdiferensiasi menjadi sel plasma dan sel memori yang berfungsi untuk membentuk antibodi spesifik sedangkan limfosit T berperan untuk merangsang makrofag agar melakukan mekanisme fagositosis terhadap patogen yang masuk ke dalam tubuh. Menurut Fajriyani *et al.* (2017), nilai limfosit normal pada ikan berkisar antara 60,20 - 81,00%. Hasil pengamatan limfosit dapat disajikan pada Gambar 21.

Pada ikan perlakuan larva *H. Illucens* cenderung memiliki nilai limfosit yang rendah setelah penginfeksi dibandingkan kontrol hal ini akibat pakan yang diberikan sulit dicerna oleh tubuh ikan sehingga nutrisi yang masuk ke dalam tubuh ikan berkurang. Menurut Sugito *et al.* (2014), penambahan suatu bahan ke dalam pakan yang kemudian kurang disukai oleh ikan akan menyebabkan kebutuhan nutrisinya terganggu. Kurangnya nutrisi ini akan menyebabkan ikan stres dan berdampak terhadap pembentukan limfosit. Preanger *et al.* (2016) menambahkan stres dan lingkungan yang kurang baik juga dapat menurunkan jumlah limfosit di dalam sirkulasi darah. Pada notasi menunjukkan sebelum infeksi perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan K+ dan K-, sedangkan setelah penginfeksi pada semua perlakuan berbeda nyata.



Gambar 21. Hasil Pengamatan Limfosit

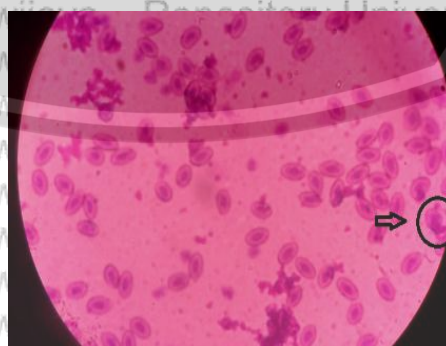
Monosit adalah sel makrofag bagian dari sistem imun yang berperan dalam memfagosit partikel asing yang masuk ke dalam tubuh yang dapat menyebabkan infeksi (Salim, *et al.*, 2016). Pada Gambar 19 dan 20 grafik hasil monosit menunjukkan peningkatan kadar monosit pada perlakuan setelah infeksi dibandingkan ikan normal diduga karena adanya infeksi dari bakteri *E. tarda*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lestari *et al.* (2017), jumlah monosit yang tinggi dalam waktu singkat disebabkan karena adanya infeksi pada ikan. Muntasiroh *et al.* (2020) menambahkan meningkatnya jumlah monosit mengindikasikan bahwa monosit sedang diproduksi untuk melakukan perannya sebagai makrofag dan banyak dijumpai pada daerah yang mengalami kerusakan jaringan atau infeksi.

Monosit merupakan leukosit terbesar yang biasa disebut juga dengan makrofag. Monosit ini sendiri berfungsi sebagai penanda patogen kepada sel T sehingga patogen tersebut dapat dikenali untuk dibunuh atau dapat membuat antibodi. Monosit atau meningkatnya persentase monosit dapat terjadi akibat terlalu banyaknya patogen yang harus disingkirkan seperti infeksi bakteri, virus dan jamur (Preanger, *et al.*, 2016). Menurut Fajriyani *et al.* (2017), nilai monosit ikan dalam kondisi normal adalah 7,75 - 29,20%. Hasil pengamatan monosit ditunjukkan pada Gambar 22.

Pada pakan perlakuan larva *H. Illucens* juga diduga kandungan antimikroba yang terkandung mampu meningkatkan nilai monosit untuk

memfagositosis bakteri yang menyerang. Menurut Chaklader *et al.* (2019), kandungan peptida antimikroba (PAM) berpotensi untuk menghambat adanya aktivitas bakteri gram negatif dan mengendalikan patogen resisten antibiotik. Gunawan dan Effendi, (2018) menambahkan kelompok peptida antimikroba (PAM) berperan dalam respon imun bawaan, sebagai pertahanan lini pertama dalam melawan infeksi dengan cara membunuh langsung bakteri. Mekanismenya yaitu dengan cara berikatan dengan membran sel mikroba dan membentuk sebuah pore (celah), sehingga terjadi perubahan permeabilitas membran sel bakteri, yang akhirnya menyebabkan sel mengalami lisis.

Menurut Marusich *et al.* (2020), pada bakteri gram-negatif memiliki dinding lapisan peptidoglikan yang tipis sehingga interaksi bakteri dan kandungan antimikroba pada *H. illucens* dapat menyebabkan kerentanan membunuh bakteri gram-negatif. Widianingrum *et al.* (2019) menambahkan peningkatan aktivitas fagositosis makrofag dipengaruhi oleh kandungan dari asam laurat pada larva *H. Illucens*. Asam laurat dapat mengakselerasi masuknya senyawa antimikroba ke dalam sitoplasma, sehingga menyebabkan kerusakan bakteri. Pada notasi perlakuan menunjukkan perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan K+ dan K-, sedangkan setelah penginfeksi perlakuan B tidak berbeda nyata dengan K- dan perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan K+.



Gambar 22. Hasil Pengamatan Monosit



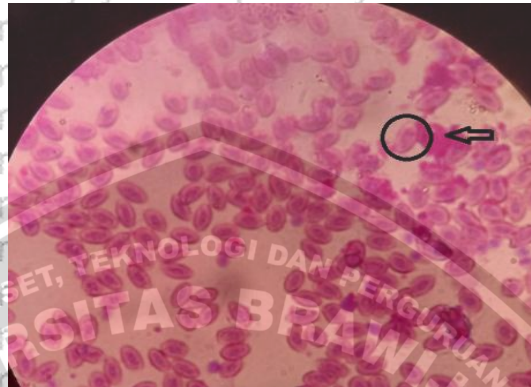
Neutrofil adalah sel yang berperan dalam penghancuran bahan asing yang masuk ke dalam tubuh dengan cara fagositosis. Sel neutrofil akan bermigrasi menuju partikel dan melakukan penghancuran partikel oleh enzim lisosim di dalam fagolisosom (Rahma, *et al.*, 2015). Menurut Utami *et al.* (2013), persentase neutrofil ikan nila normal sebesar 10-18,1%.

Pada Gambar 19 dan 20 grafik hasil neutrofil menunjukkan semua perlakuan pakan setelah dilakukan penginfeksi memiliki nilai neutrofil yang cenderung rendah dibandingkan ikan normal. Menurut Widyaningrum *et al.* (2017) menambahkan rendahnya persentase neutrofil yang didapatkan karena sel neutrofil berumur pendek sehingga jumlahnya dalam darah berfluktuasi. Sonida *et al.* (2014) menambahkan jumlah neutrofil yang rendah di dalam sirkulasi darah akan diimbangi dengan jumlah limfosit dan monosit yang tinggi. Neutrofil di dalam darah memiliki jumlah yang memang sedikit dan sangat jarang dijumpai pada ikan karena sulit menyerap zat warna yang biasa digunakan. Hasil pengamatan neutrofil dapat disajikan pada Gambar 23.

Pada akhir uji tantang jumlah sel neutrofil dapat ditekan, sel-sel mati dan jaringan nekrotik yang salah satunya mengandung neutrofil yang telah mati secara bertahap akan mengalami lisis dalam beberapa hari (Utami, *et al.*, 2013). Neutrofil merupakan sel yang bekerja cepat dalam melakukan fagosit tetapi memiliki umur hidup pendek dan akan mati dalam kurun waktu 24 jam. Sel ini merupakan fagosit kuat, fagositosis dilakukan dengan cara mendekati partikel asing dan mengeluarkan pseudopodi kesegala arah sekitar (Suhermanto, *et al.*, 2013).

Pada perlakuan A, B dan C sebelum infeksi memiliki nilai neutrofil yang tinggi, hal ini diduga kandungan larva *H. illucens* menyebabkan kenaikan nilai neutrofil. Naiknya nilai neutrofil menunjukkan adanya pengaruh pemberian larva *H. illucens* sehingga meningkatkan respon imun alami dalam tubuh ikan melalui peningkatan sel neutrofil. Pei MT *et al.* (2019) menambahkan lisozim adalah enzim

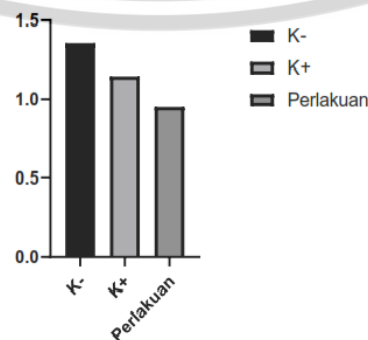
antimikroba yang diproduksi oleh serangga dan merupakan komponen dari sistem kekebalan non-spesifik pada ikan. Lisozim dapat merusak integritas struktural dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan lisis bakteri. Pada penelitian ini menunjukkan penambahan larva *H. illucens* ke dalam pakan secara signifikan meningkatkan aktivitas lisozim.



Gambar 23. Hasil Pengamatan Neutrofil

4.5 Ekspresi Gen TGF- β

Hasil pengamatan darah pada penelitian ini terlihat bahwa semua parameter hematologi (eritrosit, leukosit, hemoglobin, diferensial leukosit) pada perlakuan A memiliki nilai yang cukup baik dari semua perlakuan. Maka sampel yang digunakan untuk ekspresi gen TGF- β pada RT PCR digunakan 3 sampel yang digunakan untuk RT PCR : sampel perlakuan A, perlakuan kontrol (+) dan perlakuan kontrol (-). Organ yang digunakan adalah pada hati ikan nila. Hasil ekspresi gen TGF- β pada organ hati ikan nila disajikan pada Gambar 24.



Gambar 24. Hasil Ekspresi Gen TGF- β



Ekspresi gen adalah suatu metode dasar dari ilmu genetika yang digunakan untuk memberikan wawasan tambahan tentang bagaimana suatu suplemen pakan dapat memberikan efek yang menguntungkan atau merugikan (Furukawa, *et al.*, 2017). TGF- β merupakan salah satu sitokin yang memiliki peran multifungsi dan dikenal sebagai anti-inflamasi yang berfungsi dalam pertahanan seluler dan penyembuhan luka (Kutluyer, *et al.*, 2017).

Pada hasil grafik menunjukkan ekspresi gen TGF- β pada ikan perlakuan memiliki kadar yang rendah dibandingkan ikan normal (Gambar 24.). Hal ini diduga akibat dari serangan bakteri *E. tarda*. Menurut Wulandari & Hapsari (2017), penurunan TGF- β bisa terjadi karena adanya nekrosis pada suatu jaringan tubuh. Ratnawati *et al.* (2013) menambahkan *E. tarda* dapat menyebabkan peradangan dan nekrosis pada hati hal ini karena toksin yang dihasilkan oleh bakteri gram-negatif berupa endotoksin atau eksotoksin yang dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai organ dalam tubuh ikan.

Hati adalah organ yang berperan penting dalam proses metabolisme tubuh dan sebagai alat sekresi dalam proses detoksifikasi zat atau bahan asing yang masuk ke organ hati, sehingga organ hati rentan terhadap toksin yang dihasilkan oleh bakteri, ketika organ hati terinfeksi oleh bakteri maka proses metabolisme tubuh ikan akan terganggu (Indriasari, *et al.*, 2016). Menurut Fritzgerald *et al.* (2017), karena adanya peradangan oleh infeksi bakteri pada jaringan tubuh maka akan menyebabkan pengeluaran dari gen TGF- β terhambat. Sehingga perannya sebagai anti-inflamasi atau mencegah peradangan menjadi tidak optimal.

Gen TGF- β adalah sitokin anti inflamasi yang berperan dalam proses penyembuhan pada saat terjadinya peradangan. Secara fisiologis, pada fase awal inflamasi ini sebenarnya tubuh ikan telah memproduksi salah satu faktor pertumbuhan, yaitu TGF- β yang berkontribusi terhadap proliferasi jaringan.

Pembentukan TGF- β berlangsung secara positif terhadap jumlah platelet, monosit,

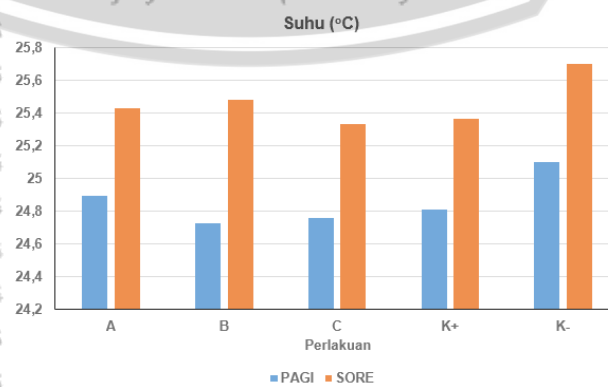
dan fibroblas, artinya jika suatu jaringan mengalami kerusakan maka akan diproduksi secara besar-besaran platelet, monosit dan fibroblas. Kemudian sinyal tersebut dilanjutkan terhadap TGF- β untuk mengambil sel-sel inflamasi sehingga diproduksi secara berlebih TGF- β . Ekspresi gen TGF- β pada tubuh dipengaruhi oleh plasmin, matriks metalloproteinase, trombospondin-1, pH, dan ROS (Aisyah dan Jatmiko, 2019).

Sel Th-1 menghasilkan sitokin pro-inflamasi sementara Th-2 berfungsi menghasilkan sitokin anti-inflamasi. Sitokin yang dihasilkan Th-1 berperan dalam pengendalian infeksi, ketika sitokin Th-1 ekspresinya tinggi akan merangsang sel limfosit untuk menghasilkan sitokin Th-2 yang berperan sebagai anti-inflamasi salah satunya yaitu TGF- β . Peningkatan ekspresi sitokin Th-2 biasanya dikaitkan dengan ekspresi tinggi dari regulasi sitokin T yang meningkat yang berfungsi untuk menghilangkan parasit. (Rahmah, *et al.*, 2021).

4.6 Kualitas Air

Kondisi kualitas air mempunyai peran yang sangat penting bagi keberhasilan budidaya ikan. Air berfungsi sebagai media hidup bagi ikan. Oleh karena itu, perlu dilakukan pemantauan dan pengelolaan kualitas air (Eshmat dan Manan, 2013). Pada penelitian ini parameter kualitas air yang dipantau adalah pH, suhu dan *dissolved oxygen* (DO).

A. Suhu

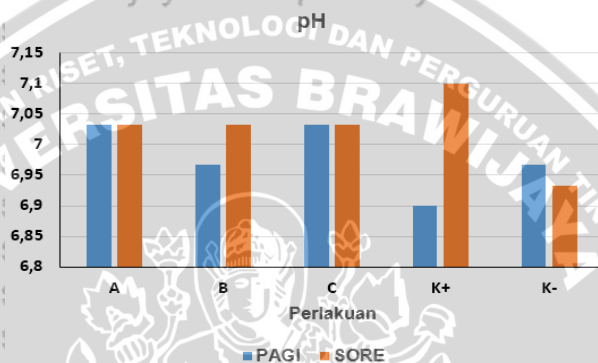


Gambar 25. Hasil Pengukuran Suhu

Suhu adalah ukuran derajat panas atau dingin suatu perairan (Supu, *et al.*, 2016). Pada penelitian ini suhu berkisar antara dari 24 - 27 °C (Gambar 25).

Kisaran suhu selama penelitian masih tergolong kisaran normal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Andria dan Rahmaningsih (2018), Kisaran suhu yang dapat ditoleransi oleh ikan nila berkisar 25 - 30°C, namun untuk suhu optimal bagi pertumbuhan ikan nila berkisar 27 - 33°C. Data pengukuran suhu selama pemeliharaan dapat dilihat di lampiran 10a.

B. Derajat keasaman (pH)



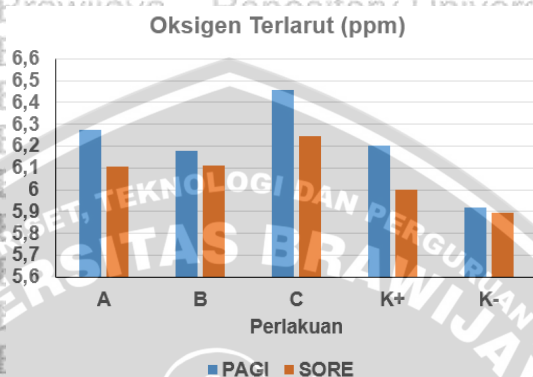
Gambar 26. Hasil Pengukuran pH

pH merupakan parameter kimia yang menunjukkan konsentrasi ion-ion hidrogen perairan dan menjadi indikator baik buruknya suatu perairan (Hamuna, *et al.*, 2018). Pada penelitian ini pH selama pemeliharaan berkisar dari 6 - 8 (Gambar 26). pH selama penelitian masih tergolong normal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wijayanti *et al.* (2019), pH yang sesuai untuk pemeliharaan ikan nila adalah 6 - 8,5, namun untuk pertumbuhan optimalnya pada pH 7 - 8. Data pengukuran pH dapat dilihat di lampiran 10b.

C. Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut (DO) merupakan jumlah oksigen yang terlarut dalam suatu perairan. Semakin besar nilai DO pada perairan maka kualitas air tersebut baik dan sebaliknya jika rendah menandakan suatu perairan tersebut kekurangan

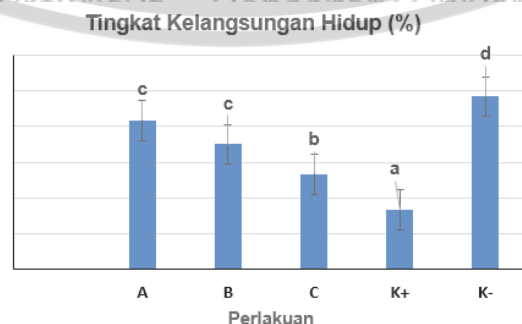
oksigen (Aruan dan Siahaan, 2017). Kadar DO pada penelitian ini berkisar 5,1 - 8,1 ppm (Gambar 27). Kisaran DO selama penelitian menunjukkan kadar normal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Siegers *et al.* (2019), Oksigen terlarut untuk ikan nila 5 - 7 ppm untuk budidaya perikanan. Jika oksigen terlarut rendah dalam perairan akan menyebabkan stress pada ikan karena kurangnya suplai oksigen darah.



Gambar 27. Hasil Pengukuran DO

4.7 Survival Rate (SR)

Nilai SR Menunjukkan pada ikan perlakuan dibandingkan ikan normal cenderung mengalami penurunan (Gambar 28). Hal ini diduga akibat adanya infeksi dari bakteri *E. Tarda*. Walaupun begitu perlakuan pakan larva *H. lilucens* masih memiliki nilai SR yang cukup baik. Menurut Mulyani *et al.* (2014) menyatakan bahwa nilai *survival rate* sebesar 50% tergolong baik, 30-50% = sedang dan $\leq 30\%$ = tidak baik.



Gambar 28. Nilai Tingkat Kelangsungan Hidup (SR)



Ikan nila yang tanpa diberi perlakuan atau pakan tanpa campuran larva *H. Illucens* lebih rentan terhadap serangan bakteri *E. tarda* dan lebih cepat mati. Hal itu berbeda dengan ikan nila yang diberi pakan dengan campuran larva *H. Illucens*. Hal ini menunjukkan bahwa pakan larva *H. Illucens* yang diberikan dapat menekan angka kematian pada ikan nila dan kandungan dari larva *H. Illucens* sebagai imunostimulan dapat meningkatkan daya tahan ikan sehingga mampu menurunkan aktivitas bakteri *E.tarda*. Menurut Chacklader *et al.* (2021), tingkat kelangsungan hidup pada ikan dengan pemberian pakan larva *H. Illucens* memiliki hasil yang cukup baik karena adanya komponen imunomodulasi yaitu peptida antimikroba (PAM) pada larva *H. Illucens*.

Pada perlakuan B dan C memiliki nilai SR yang relatif lebih rendah dibandingkan perlakuan A. Nilai SR semakin menurun seiring dengan bertambahnya dosis larva *H. illucens* yang diberikan, hal ini diduga ikan kitin yang terdapat pada larva *H. illucens* sulit dicerna dan mengakibatkan kurangnya asupan nutrisi pada ikan tersebut. Hal ini sesuai dengan pernyataan Murni *et al.* (2013), semakin tinggi jumlah maggot yang diberikan maka ikan akan susah mencerna karena maggot memiliki kandungan kitin pada bagian eksoskeleton sehingga sangat sulit untuk dicerna oleh ikan yang menyebabkan ikan membutuhkan lebih banyak energi untuk pencernaannya sehingga nutrisi untuk perkembangannya kurang optimal. Hidayat *et al.* (2013) menambahkan rendahnya tingkat kelangsungan hidup suatu organisme dipengaruhi beberapa faktor salah satunya nutrisi pakan yang tidak sesuai.

Menurut Cahyoko *et al.* (2011) menambahkan kesesuaian jenis pakan sangat mempengaruhi suatu organisme agar dapat bertahan hidup karena pakan diperlukan untuk nutrisi dalam proses metabolisme seperti pertumbuhan dan berkembang biak. SR digunakan sebagai parameter bagi suatu organisme kaitannya dengan sintasan, penyakit serta daya adaptasi.



BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pada penelitian ini penggunaan pakan dengan campuran larva *H. Illucens* dapat meningkatkan sistem imun ikan nila, hal ini dapat terlihat pada hasil semua parameter hematologi memiliki hasil yang cukup baik dibandingkan ikan kontrol.

Nilai ekspresi gen TGF- β pada perlakuan memiliki nilai rendah hal ini disebabkan adanya infeksi bakteri *E. tarda* mengakibatkan produksi gen TGF- β terhambat dan organ hati yang rentan terhadap adanya toksin bakteri.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian mengenai pengaruh pemberian pakan larva *H. Illucens* pada ikan nila disarankan untuk menggunakan dosis 30% sebagai pakan ikan dan perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai efek pemberian larva *H. Illucens* terhadap ekspresi gen TGF- β pada ikan nila yang diinfeksi *E. Tarda*.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Mugiono, Arlianti, T., & Azmi, C. (2011). *Panduan lengkap jamur*. Jakarta: Penebar Swadaya. 252 hlm.
- Ahmad, F. A. M., & Sri, R. (2018). Kajian teknis faktor abiotik pada embung bekas galian tanah liat PT. Semen Indonesia Tbk. untuk pemanfaatan budidaya ikan dengan teknologi KJA. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **10**(2):95-105. <http://doi.org/10.20473/jipk.v10i2.9825>
- Ali, M. F. Z., Ido, I., Miura, C., & Miura, T. (2019). The dipterose of *black soldier fly* (*Hermetia illucens*) induces innate immune response through toll-like receptor pathway in mouse macrophage RAW264.7 Cells. *Biomolecules*. **9**(677), 1-15. doi:10.3390/biom9110677
- Andriani, Y. (2018). *Budidaya ikan nila*. Yogyakarta: Deepublish. 80 hlm.
- Aliyas, Ndobe, S., & Ya'la, Z. R. (2016). Pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan nila (*Oreochromis sp.*) yang dipelihara pada media bersalinitas. *Jurnal Sains dan Teknologi Tadulako*. **5**(1),19-27.
- Alipin, K., & Sari, T. A. (2020). Indikator kesehatan ikan kerapu cantik (*Epinephelus sp.*) yang terdapat pada budidaya keramba pantai timur pangandaran. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*. **7**(2), 285-292. DOI: 10.24843/metamorfosa.2020.v07.i02.p18
- Amandanisa, A. & Suryadarma, P. (2020). Kajian nutrisi dan budi daya maggot (*Hermentia illuciens L.*) sebagai alternatif pakan ikan di RT 02 Desa Purwasari, Kecamatan Dramaga, Kabupaten Bogor. *Jurnal Pusat Inovasi Masyarakat*. **2**(5), 796-804.
- Anamisa, D. R. (2015). Rancang bangun metode OTSU untuk deteksi hemoglobin. *Jurnal Ilmu Komputer dan Sains Terapan*. **10**(10), 106 - 110.
- Arifin, M. Y. (2016). Pertumbuhan dan *survival rate* ikan nila (*Oreochromis. Sp*) strain merah dan strain hitam yang dipelihara pada media bersalinitas. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*. **16**(1), 159-166.
- Arifin, M.Z., Widodo, A., Fauziah, A., Aonullah, A. A., Halim, A. M. & Cahyanurani, A. B. (2020). Pengaruh substitusi tepung maggot (*Hermetia illucens*) terhadap pertumbuhan dan status kesehatan ikan (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Chanos chanos*. **18**(2), 83-9.
- Aripin, I. (2019). Pendidikan nilai pada materi konsep sistem imun. *Jurnal Bio Educatio*. **4**(1), 1-11.
- Arlanda, R., Tarsim & Utomo, D. S. C. (2018). Pengaruh pemberian ekstrak tembakau (*Nicotiana tobacum*) sebagai bahan anestesi terhadap kondisi hematologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Sains Teknologi Akuakultur*. **2**(2), 32-40.



Armiyanti, Y., Amanullah, A. D. R., Hermansyah, B., Helianti, D., & Nurdian, Y. (2021). Peningkatan interleukin-4 pada pekebun dengan askariasis di wilayah rural jember. *Jurnal Ilmu Dasar*. **22**(1), 25-30.

Arsal, Hasanuddin, A., & Rizal, A. (2018). Patogenitas *Edwardsiella tarda* pada ikan sidat (*Anguilla marmorata*) selama penyimpanan beku -25°C. *Jurnal Mitra Sains*. **6**(2), 111-118.

Aruan, D. G. R. & Siahaan, M. A. (2017). Penentuan kadar *dissolved oxygen* (DO) pada air sungai sidoras di daerah Butar Kecamatan Pagaran Kabupaten Tapanuli Utara. *Jurnal Analis Laboratorium Medik*. **2**(1), 1-5.

Astuti, A. P. K., Hastuti, S. & Haditomo, A. H. C. (2017). Pengaruh ekstrak temulawak pada pakan sebagai imunostimulan pada ikan tawes (*Puntius javanicus*) dengan ujiantang bakteri. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **6**(3), 10-19.

Cahyani, Maretha, D. E., & Asnilawati. (2020). Uji kandungan protein, karbohidrat dan lemak pada larva maggot (*Hermetia illucens*) yang diproduksi di Kalidoni Kota Palembang dan sumbangsihnya pada materi insecta di kelas X SMA/MA. *Bioilmi*. **6**(2), 120-128.

Cahyoko, Y., Rezi, D. G. & Mukti, A. T. (2011). Pengaruh pemberian tepung magot (*Hermetia illucens*) dalam pakan buatan terhadap pertumbuhan, efisiensi pakan dan kelangsungan hidup ikan mas (*Cyprinus carpio* L.). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **3**(2), 145-150.

Chaklader, M. R., Siddik, M. A. B., Fotedar, R., & Howieson, J (2019). Insect larvae, *Hermetia illucens* in poultry by-product meal for barramundi, *Lates calcarifer* modulates histomorphology, immunity and resistance to *Vibrio harveyi*. *9*(16703), 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53018-3>

Darmawiyanti, V. & Baidhowi. (2015). Teknik produksi pakan buatan di Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Situbondo Jawa Timur. *JSAPI*. **6**(2), 118-124.

Dianti, L., Prayitno, S. B. & Ariyati, R. W. (2013). Ketahanan nonspesifik ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang direndam ekstrak daun jeruju B (*Acanthus ilicifolius*) Terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2**(4), 63-71.

Diniarti, E., Triyanto, & Murwantoko. (2019). Isolasi, identifikasi dan uji patogenitas *Edwardsiella tarda* penyebab penyakit pada ikan air tawar di Yogyakarta. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*. **21**(1), 41-45. DOI: 10.22146/jfs.39920.

Dwinanti, S. H. & Tanbiyaskur. (2014). Rekayasa media padat nonselektif untuk bakteri akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **13**(2), 163-166.

Elabd, H., Soror, E., El-Asely, A., Abd El-Gawad, E., & Abbass, E. (2019). Dietary supplementation of moringa leaf meal for Nile tilapia *Oreochromis*

niloticus: Effect on growth and stress indices. *Egyptian Journal of Aquatic Research*. **45**, 265 - 271. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.05.009>

Eshmat N, M. E. & Manan, A. (2013). Analisis kondisi kualitas air pada budidaya ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) di Situbondo. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **5**(1), 1-4.

Fahrizal, A. & Nasir, M. (2017). Pengaruh penambahan probiotik dengan dosis berbeda pada pakan terhadap pertumbuhan dan rasio konversi pakan (Fcr) ikan nila (*Oreochromis Niloticus*). *Median*. **IX**(1), 69-80.

Fajri, N., Ayuzar, E., & Ezraneti, R. (2016). Efektivitas serbuk daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap bakteri *Edwardsiella Tarda*. *Acta Aquatica*. **3**(1), 23-25.

Fajriyani, A., Hastuti, S., Sarjito. (2017). Pengaruh serbuk jahe pada pakan terhadap profil darah pertumbuhan dan kelulushidupan ikan patin (*Pangasius sp.*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **6**(4), 39-48

Fauzi, R. U. A. & Sari, E. R. N. (2018). Analisis usaha budidaya maggot sebagai alternatif pakan lele. *Industria: Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*. **7**(1), 39-46.

Fitria, N., Tjong, D. H., Zakaria, I. J. (2019). Fisiologis Darah Ikan Baung (*Hemibagrus nemurus* Blkr.). *JURNAL METAMORFOSA*. **6**(1), 33-38. DOI : 10.24843/metamorfosa.v06.i01.p06

Fitriatin, E & Manan, A. (2015). Pemeriksaan *viral nervous necrosis* (VNN) ikan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **7**(2), 149-152.

Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Shimomura, I., (2017). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J. Clin. Investig.* **114**, 1752-1761.

Fritzgerald, R., Lunardi, C., Effendy, R., & Yuanita, T. (2017). Ekspresi *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α) dan *Transforming growth factors beta* (TGF- β) pada periodontitis apikal kronis akibat induksi *Enterococcus faecalis* pada tikus wistar. *Conservative Dentistry Journal*. **7**(2), 66-73.

Hamuna, B., Tanjung, R. H. R., Suwito, Maury, H. K. & Alianto. (2018). Kajian Kualitas Air Laut dan Indeks Pencemaran Berdasarkan Parameter Fisika-Kimia di Perairan Distrik Depapre, Jayapura. *JURNAL ILMU LINGKUNGAN*. **16**(1), 35-43.

Hanna A & Frangogiannis NG. (2019). The role of the TGF- β perfamily in Myocardial infarction. *Front. Cardiovasc. Med*. **6**(140), 1-15. doi: 10.3389/fcvm.2019.00140

Harlystiarini, Mutia, R., Wibawan, I. W. T., & Astuti, D. A. (2019). In vitro antibacterial activity of black soldier fly (*Hermetia Illucens*) larva extracts

against gram-negative bacteria. *Buletin Peternakan*. **43**(2), 125-129. Doi: 10.21059/buletinpeternak.v43i2.42833

Harlystiarini, Mutia, R., Wibawan, I. W. T., & Astuti, D. A. (2020). Immune Responses and Egg Productions of Quails Fed Rations Supplemented with Larvae Meal of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*). *Tropical Animal Science Journal*. **43**(1), 43-49. DOI: <https://doi.org/10.5398/tasj.2020.43.1.43>

Hartika, R., Mustahal, & Putra, A. N. (2014). Gambaran darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan penambahan dosis probiotik yang berbeda dalam pakan. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **4**(4), 259-267.

Hermendy, B. E & Pawarti, D. R. (2017). Peran transforming growth factor beta (TGF-B) pada rinitis alergi. *Jurnal THT – KL*. **10**(1), 27 – 36.

Hernawati, R. D., Triyanto, & Murwantoko. (2013). Studi pengaruh karboksimetil kitosan terhadap sistem pertahanan tubuh non-spesifik pada ikan mas (*Cyprinus Carpio*). *Jurnal Sain Veteriner*. **31**(1), 66-78.

Hewajuli, D. A. & Dharmayanti. (2014). Perkembangan teknologi reverse transcriptase *polymerase chain reaction* dalam mengidentifikasi genom avian influenza dan newcastle diseases. *WARTAZOA*. **24**(1), 16-29.

Hidayat, D., Sasanti, A. D., & Yulisman. (2013). Kelangsungan hidup, pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan gabus (*Channa striata*) yang diberi pakan berbahan baku teoung keong mas (*Pomacea* sp). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. **1**(2), 161-172.

Indriasari, Dewantoro, E., & Prasetyo, E. (2020). Identifikasi bakteri *Edwardsiella tarda* yang menginfeksi ikan lele (*Clarias batrachus*) pada ada beberapa pembudidaya ikan di Kecamatan Sungai Raya Kabupaten Kubu Raya. *Borneo Akuatika*. **2**(1), 30-38.

Iqbal, K. J., Qureshi, N.A., Ashraf, M., Rehman, M. H. U., Khan, N., Javid, A., Abbas, F., Mushtaq, M. M. H., Rasool, F. & Majeed, H. (2012). Effect of different salinity levels on growth and survival of Nile tilapia. *The Journal of Animal & Plant Sciences*. **22**(4), 919-922.

Irawan A. C, Rahmawati N., Astuti D. A, & Wibawan I. W. T. (2019). Supplementation of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) on Activity and Capacity Phagocytic Macrophage of Laying Hens. *JITV*. **24**(4), 182-187.

Irawan, A. C., Astuti, D. A., Wibawan, I. W. T., & Hermana, W. (2020). Supplementation of black soldier fly (*Hermetia illucens*) on productivity and blood hematology. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. **30**(1), 50-68. DOI: 10.21776/ub.jiip.2020.030.01.06

Iskandar, R. & Elrifadah. (2015). Pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi pakan buatan berbasis kiambang. *ZIRAA'AH*. **40**(1), 18-24.



Jayanthi, S., Khairani, R., Herika, Muhammad A., & Rafiqah. (2017). Teknik budidaya *black soldier fly* (*Hermetia illucens*). *Jurnal Jeumpa*. **4**(1), 58-66.

Kurniawan, R., Syawal, H., & Effendi, I. (2020). Pengaruh penambahan suplemen herbal pada pakan terhadap differensiasi leukosit ikan dan sintasan ikan patin (*Pangasionodon hypophthalmus*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. **8**(2), 150-163.

Kutluyer, F., Sirkecioglu, A. N., Aksakal, E., Aksakal, F. I., Tunc, A. & Gunaydin, E. (2017). Effect of dietary fish oil replacement with plant oils on growth performance and gene expression in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ann. Anim. Sci.* **17**(4), 1135-1153. DOI: 10.1515/aoas-2017-0010

Lantah, P. L., Montolalu, L. A., & Reo, A. R. (2017). Kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak metanol rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, **5**(3), 73-79.

Latritiani, R., Desrina, & Sarjito. (2017). Keberadaan *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) di pertambakan Kota Pekalongan. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **6**(3), 276-283.

Lestari, E., Setyawati, T. R. & Yanti, A. H. (2017). Profil Hematologi Ikan Gabus (*Channa striata* Bloch, 1793). *Protobiont*. **6**(3), 283 – 289 283.

Linarwati, M., Fathoni, A., & Minarsih, M. M. (2016). Studi deskriptif pelatihan dan pengembangan sumberdaya manusia serta penggunaan metode behavioral event interview dalam merekrut karyawan baru di bank mega cabang kodus. *Journal of Management*. **2**(2), 1-8.

Lukman, Mulyana, & Mumpuni, F. S. (2014). Efektivitas pemberian akar tuba (*Derris elliptica*) terhadap lama waktu kematian ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Pertanian*. **5**(1), 22-31.

Lusiasuti, A. M., Maryanti, S. D., & Purwaningsih, U. (2013). Probiotik *Bacillus cereus* untuk pengendalian penyakit *Streptococcosis* pada ikan nila, *Oreochromis niloticus* J. *Ris. Akuakultur*. **8**(1), 109-119.

Marusich, E., Mohamed, H., Afanasev, Y. & Leonov, S. 2020. Fatty acids from *Hermetia illucens* Larvae fat inhibit the proliferation and growth of actual phytopathogens. *Microorganisms*. **8**(1423), 1-21. DOI:10.3390/microorganisms8091423

Maryani, M., & Rosdiana, R. (2020). Peranan imunostimulan akar kuning *Arcangelisia flava* Merr pada gambaran aktivasi sistem imun ikan mas (*Cyprinus carpio* L). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. **8**(1), 22-36.

Minaka, A., Sarjito & Hastuti, S. (2012). Identifikasi Agenia Penyebab dan Profil Darah Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*) yang Terserang Penyakit Bakteri. *Journal Of Aquaculture Management and Technology*. **1**(1), 249-263



Mokolensang, J. F., Hariawan, M. G. V., & Manu, L. (2018). Maggot (*Hermetia illunces*) sebagai pakan alternatif pada budidaya ikan. *Budidaya Perairan*. **6**(3), 32–37.

Moustafa, E. M., Omar, A. A. E. D., & Abdo, W. S. 2016. Insight into the virulence-related genes of *Edwardsiella Tarda* isolated from cultured freshwater fish in Egypt. *World's Veterinary Journal*. **6**(3), 101-109.

Mudeng, N. E. G., Mokolensang, J. F., Kalesaran, O. J., Pangkey, H., & Lantu, S. (2018). Budidaya Maggot (*Hermetia illuens*) dengan menggunakan beberapa media. *Budidaya Perairan*. **6**(3), 1-6.

Mujalifah, Santoso, H., & Laili, S. (2018). Kajian morfologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dalam habitat air tawar dan air payau. *BIOSAIN TROPIS*. **3**(3), 10-17.

Mulyani, Y. S., Yulisman & Fitriani, M. (2014). Pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dipuaskan secara periodik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. **2**(1), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.mpoth.2014.12.002>

Muntasiroh, S., Purbomartono, C. & Mulia, D. S. (2020). Kombinasi ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) dan vitamin C melalui pakan terhadap imun non-spesifik lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *SAINTEKS*. **17**(1), 7-17.

Murni. (2013). Optimasi pemberian kombinasi maggot dengan pakan buatan terhadap pertumbuhan dan sintasan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Octopus : Jurnal Ilmu Perikanan*. **2**(2), 192-196.

Nagy, E., Fadel, A., Abd Al-Moghny, F., & Ibrahim, M. S. (2018). Isolation, identification and pathogenicity characterization of *Edwardsiella tarda* isolated from *Oreochromis niloticus* fish farms in Kafr-Elshiekh, Egypt. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*. **57**(1), 171-179. DOI: 10.5455/ajvs.294237

Narwiyani, S. & Kurniasih. (2011). Perbandingan patogenitas, *Edwardsiella tarda* pada ikan mas koki (*Charassius auratus*) dan ikan celebes rainbow (*Telmatherina celebensis*). *J. Ris. Akuakultur*. **6**(2) : 291-301.

Novita, Setyowati, D. N. & Astriana, B. H. (2020). Profil darah ikan kakap putih yang diinfeksi bakteri *Vibrio* sp. dengan pemberian lidah buaya (*Aloe Vera*). *Jurnal Perikanan*. **10**(1), 55-69. DOI : <https://doi.org/10.29303/jp.v10i1.175>

Nursatia, Sarjito & Haditomo, A. H. C. (2017). Pemberian ekstrak bawang putih dalam pakan sebagai imunostimulan terhadap kelulushidupan dan profil darah ikan patin (*Pangasius* sp.). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **6**(3), 234-241.

Payadnya, I. P. A. A & Jayantika, I. G. A. N. T. (2018). *Buku panduan penelitian eksperimen beserta analisis statistik dengan SPSS*. Denpasar: Deepublish. 175 hlm.

Payung, C. N. & Manoppo, H. (2015). Peningkatan respon kebal non-spesifik dan pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) melalui pemberian jahe, *Zingiber officinale*. *Jurnal Budidaya Perairan*. **3**(1), 11-18.

Pei MT, Yang C, Yang DQ & Yi TL. (2019). Effects of Housefly Maggot Meal and Earthworms on Growth and Immunity of the Asian Swamp Eel *Monopterus albus* (Zuiew). *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*. **71**(1601), 1-8.

Perkasa, G. S.B, Nainggolan, A. & Dhewantara, Y. L. (2019). Uji sesnsitivitas antibiotik terhadap bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan *Edwardsiella tarda* skala laboratorium (invitro). *Jurnal Satya Minabahari*. **5**(1), 10-17.

Pratiwi, R.I., Nugraha, J., & Tambunan, B. A. (2018). Respons sitokin TNF-A dan Il-4 pasca stimulasi antigen fusi resat-6-CFP-10. *Buletin Penelitian Kesehatan*. **46**(1), 53-60. <https://doi.org/10.22435/bpk.v46i1.57>

Prastiti, L. A., Sarjito, & Prayitno, S. B. (2015). Pengaruh penambahan ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) pada media pemeliharaan terhadap kelulushidupan dan pertumbuhan ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **4**(3), 31-37.

Preanger, C., Utama, I. H. & Kardena, I M. (2016). Gambaran ulas darah ikan lele di Denpasar Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*. **5**(2), 96-103.

Purbomartono, C., Aditya, Y., Mulia D. S., Wuliandari, J. R., & Husin, A. (2020). Respon imun non-spesifik ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) yang diberi β -Glukan melalui diet pakan. *SAINTEKS*. **17**(2), 115-124.

Purnamasari, L., Sucipto, I., Muhlison, W., & Pratiwi, N. (2019). Komposisi Nutrien Larva Black Soldier Fly (*Hermetia illucent*) Dengan Media Tumbuh, Suhu dan Waktu Pengeringan yang Berbeda. *In Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. 687- 692. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/Pros.Semnas.TPV-2019-p.675-680>

Purnomo, D., Sugiharto & Isroli. (2015). Total leukosit dan diferensial leukosit darah ayam broiler akibat penggunaan tepung onggok fermentasi *rhizopus oryzae* pada ransum. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. **25**(3): 59 - 68

Purwaningsih, U., Novita, H., Sugiani, D., & Andriyanto, S. (2019). Identifikasi dan karakterisasi bakteri *Edwardsiella ictaluri* penyebab penyakit *enteric septicemia of catfish* (ESC) pada ikan patin (*Pangasius* sp.). *Jurnal Riset Akuakultur*. **14**(1), 47–57.

Purwanti, N. W & Susanti, R. (2016). Uji aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak etanol rimpang *Acorus* sp. *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa*. **2**(1), 256-268.

Purwanti, S.C., Suminto, Sudaryono, S. (2014). Gambaran profil darah ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diberi pakan dengan kombinasi pakan buatan dan cacing tanah (*Lumbricus rubellus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3**(2), 53 – 60.



Puteri, A. T. E. D., Jusadi, D., Nuryati, S. (2016). Respons pertumbuhan dan fisiologis ikan bawal *Colossoma macropomum* yang diberi pakan mengandung minyak cengkeh dosis tinggi. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **15** (1), 70–79. DOI: 10.19027/jai.15.70.79

Putranto, W. D., Syaputra, D., & Prasetyono, E. (2019). Gambaran darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi pakan terfortifikasi ekstrak cair daun salam (*Syzygium polyanthum*). *Jurusan Akuakultur*. **4**(2),

Prajayati, V. T. F., Hasan, O. D. S. & Mugi Mulyono. (2020). Kinerja tepung magot dalam meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan formula dan pertumbuhan nila ras nirwana (*Oreochromis* sp.). *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*. **22**(1), 27-36. DOI 10.22146/jfs.55428

Prakoewa, F. R. S. (2020). Peranan Sel Limfosit Dalam Imunologi: Artikel Review. *J. Sains Kes*. **2**(4), 525-537.

Qi, P., Xie, C., Guo, B & Wu, C. (2016). Dissecting the role of transforming growth factor- β 1 in topmouth culter immunobiological activity: a fundamental functional analysis. *Scientific RepoRts*. **6**(27179), 1-9. DOI: 10.1038/srep27179

Qulubi, M. H. (2019). Restocking untuk pelestarian ikan nila (*Oreochromis Niloticus*) di Danau Kemuning Bandar Sribhawono Lampung Timur. *Jurnal Soeropati*. **2**(1), 20-26.

Rahma, f. W., Mahasri, G., & Surmartiwi, L. (2015). Pengaruh pemberian ekstrak *Sargassum* sp. Dengan pelarut metanol pada pakan terhadap jumlah eritrosit dan diferensial leukosit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **7**(2).

Rahmah, Z. (2021). Efek Ekstrak Daun Azadirachta indica terhadap Kadar Transforming Growth Factor- β dan Tumor Necrosis Factor- α pada Mencit Terinfeksi Plasmodium berghei. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. **7**(1), 42-48.

Rahmawati & Erina, R. (2020). Rancangan acak lengkap (RAL) dengan uji anova dua jalur. *OPTIKA: Jurnal Pendidikan Fisika*. **4**(1), 54-62.

Ratnawati, A., Purwaningsih, U. & Kurniasih. (2013). Histopatologis dugaan *Edwardsiella tarda* sebagai penyebab kematian ikan maskoki (*Crassius auratus*): postulat koch. *Jurnal Sain Veteriner*. **31**(1), 55-65.

Rawung, M. E. & Manoppo, H. (2014). Penggunaan ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) secara in situ untuk meningkatkan respon kebal non-spesifik ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Budidaya Perairan*. **2**(2), 7-14.

Razak, A. P., Kreckhoff, R. L. & Watung, J. C. (2017). Administrasi oral imunostimulan ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) untuk meningkatkan pertumbuhan ikan mas (*Cyprinus Carpio* L.). *Budidaya Perairan*. **5**(2), 27 – 36.



Reichley, S. R., García, J. C., Stine, C. B., Welch, T. J., Wise, D. J., Ware, C., LaFrentz, B. R., Bujan, N., Cipriano, R. C., Lawrence, M. L., Steadman, J., Thachil, A., Arias, C. R., Gaunt, P. S., Waldbieser, G. C., T. Loch, Greenway, T. E., Griffin, M. J., & Khoo, L. H. (2017). Comparative phenotypic and genotypic analysis of *Edwardsiella* isolates from different hosts and geographic origins, with emphasis on isolates formerly classified as *E. tarda*, and evaluation of diagnostic methods. *Journal of Clinical Microbiology*. **55**(12), 3466-3491. <https://doi.org/10.1128/JCM.00970-17>

Riantono, F., Kismiyati & Sulmartiwi, L. (2015). Perubahan hematologi ikan mas komet (*Carassius auratus*) akibat infestasi *Argulus japonicus* jantan dan *Argulus japonicus* betina. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. **5**(2), 28-35.

Riauwaty, O., & Syawal, H. (2016). Gambaran darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di kolam budidaya di Kecamatan Marpoyan Damai Kota Pekanbaru. *Jurnal perikanan dan kelautan* . **21**(1), 1-6

Royan, F., Rejeki, S. & Haditomo, A. H. C. (2014). Pengaruh salinitas yang berbeda terhadap profil darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3**(2), 109-117.

Rustikawati, I. (2011). Peningkatan imunitas ikan nila terhadap serangan *Streptococcus* menggunakan ekstrak *Sargassum* sp. *Ind.J.Appl.Sci*. **1**(1), 18-30.

Rustikawati, I. (2012). Efektifitas ekstrak *Sargassum* sp. terhadap differensiasi leukosit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi *Streptococcus iniae*. *Jurnal Akuatika*. **3**(2), 125-134.

Salim, M. A., Nur, I., & Idris, M. (2016). Pengaruh peningkatan salinitas secara bertahap terhadap diferensial leukosit pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Media Akuatika*. **4**, 152-158.

Sani, A., Dahlia, Amrullah & Yuliadi. (2014). Pengaruh penambahan fukoidan pada pakan terhadap respon imun non spesifik induk ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Galung Tropika*, **3**(3), 159-170.

Saparuddin. (2019). Respon hematologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada suhu pemeliharaan yang berbeda. *SAINTIFIK (Jurnal Matematika, Sains, dan Pembelajarannya)*. **5**(2), 121-126. DOI: 10.31605/saintifik.v5i2.224

Sari, C. N., Zuhrawati NA, & Asmilia, N. (2017). Profil hematologi ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*) yang terpapar merkuri klorida ($HgCl_2$). *JIMVET*. **1**(3), 439-447.

Sari, D. J., Tarawifa, S., & Suzan, R. (2021). Perbandingan ekspresi gen BCL 2 pada preeklampsia ringan/berat dan kehamilan normal di kota Jambi. *JOMS*. **1**(1), 1-11.



Sarkiah, Rimalia, A., & Iskandar, R. (2016). Kesehatan ikan nila GIFT (*Oreochromis niloticus*) pada usaha keramba di Desa Masta, Tapin, Kalimantan Selatan. *ZIRAA'AH*. **41**(3), 341-345.

Sepang, D A., Mudeng, J. D., Monijung, R. D., Sambali, H., & Mokolensang, J. F. (2021). Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberikan pakan kombinasi pelet dan maggot (*Hermetia illucens*) kering dengan presentasi berbeda. *Budidaya Perairan*. **9**(1), 33 - 44 33

Setiaji, J., Johan, T. I., & Widantari, M. (2015). Pengaruh gliserol pada media tryptic soy broth (TSB) terhadap viabilitas bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Dinamika Pertanian*. **30**(1), 83–91.

Setiawati, S. D. & Pangaribuan, R. D. (2017). Studi makanan dan pertumbuhan ikan nila. *Jurnal Fisherina*. **1**(1), 1-10.

Siagian, G. (2020). Pengaruh pemberian larva black soldier fly (*Hermetia Illucens*) terhadap pertumbuhan ikan lele dumbo (*Clarias Gariepinus*). *International Journal of Natural Sciences and Engineering*. **4**(2), 83-91. <http://dx.doi.org/10.23887/ijnse.v4i2.29369>

Siegers, W. H., Prayitno, Y. & Sari, A. (2019). Pengaruh kualitas air terhadap pertumbuhan ikan nila nirwana (*Oreochromis sp.*) pada tambak payau. *The Journal of Fisheries Development*. **3**(2), 95-104.

Sitepu, M. C., Yustiati, A., & Herawati, T. (2011). Kebiasaan makanan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di Bendungan Jatiluhur propinsi Jawa Barat. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **2**(3), 15-18.

Sonida, A., Harpeni, E., & Tarsim. (2014). Deskripsi respon imun non spesifik kakap putih (*Lates calcarifer*) yang diberi jintin hitam (*Nigella sativa*) dan uji tantang dengan *Viral Nervous Necrosis*. *AQUASAINS : (Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan)*. 188 -192

Subrayana, N., Wardiyanto & Susanti, O. (2020). Penggunaan ekstrak daun kelor *Moringa oleifera* (Lam, 1785) untuk meningkatkan imunitas non spesifik benih ikan nila *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. **9**(3). DOI : 10.20473/jafh.v9i3.16321Subryana

Suciati, R. & Faruq, H. (2017). Efektifitas media pertumbuhan maggots *Hermetia illucens* (lalat tentara hitam) sebagai solusi pemanfaatan sampah organik. *BIOSFER, J.Bio. & Pend.Bio*. **2**(1), 8-13.

Sugito, Nurliana, Aliza, D. & Samadi. (2014). Diferensial leukosit dan ketahanan hidup pada uji tantang *Aeromonas hydrophila* ikan nila yang diberi stres panas dan suplementasi tepung daun jalloh dalam pakan. *Jurnal Kedokteran Hewan*. **8**(2), 158-163.

Suharto, S & Etika, A. N. (2019). Ekstrak Jahe (*Zingiber Officinale Roscoe*) berpengaruh terhadap kepadatan serabut kolagen luka insisi. *Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*. **7**(1), 27-36.



Suhermanto, A., Andayani, S., & Maftuch. (2013). Pengaruh total fenol teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap respon imun non spesifik ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Bumi Lestari*. **13**(2), 225-233

Sukandar, A. F., Mulyana, & Mumpuni, F. S. (2018). Gambaran darah ikan nilem (*Osteochilus hasselti* CV) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Pertanian*, **9**(2), 76-83.

Sukardi, Yanto, S., & Kadirman. (2017). Pengaruh warna chaya lampu dan intensitas cahaya berbeda terhadap respon benih ikan bandeng (*Chanos – Chanos forskal*) dan benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*. **3**, 242-250.

Sukenda, Rusli, Nuryati, S., & Hidayatullah, D. (2015). Durasi proteksi vaksin *Streptococcus agalactiae* untuk pencegahan streptococcosis pada ikan nila. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **14**(2), 192-201.

Sunarno, Mardiaty, S. M. & Nawarikita, E. (2017). Potensi daging ikan gabus (*Channa striata*) sebagai suplemen pakan dan peranannya dalam pemulihan status hematologis tikus wistar yang diberi stres. *Bioma*. **6**(1), 1-15.

Supu, I., Usman, B., Basri, S. & Sunami. (2016). Pengaruh suhu terhadap perpindahan panas material yang berbeda. *Jurnal Dinamika*. **7**(1), 62- 73.

Susandi, F., Mulyana, & Rosmawati. (2017). Peningkatan Imunitas Benih Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy* Lac). *Jurnal Mina Sains*. **3**(2): 1-12.

Suwarno, Y. F., Sarjito & Prayitno, S. B. (2014). Sensitivitas bakteri yang berasosiasi dengan penyakit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) terhadap berbagai macam obat ikan yang beredar di Kabupaten Pati. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3**(4), 134 -141.

Sherif, A. H., Gouda, M. Y., Al-Sokary, E. T., & Elseify, M. M. (2020). Lactobacillus plantarum enhances immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* challenged with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture Research*. 1–12. DOI: 10.1111/are.14955

Stejskal, V., Tran, H. Q., Prokesova, M., Gebauer, T., Giang, P. T., Gai, F., & Gasco, L. (2020). Partially Defatted Hermetia illucens Larva Meal in Diet of Eurasian Perch (*Perca fluviatilis*) Juveniles. *Animals*. **10**(1876), 1-17 doi:10.3390/ani10101876

Stocchi, V., Wang, T., Randelli, Mazzini, M., Gerdol, M., Pallavicini, A., Secombes, C. J., Scapigliati, G., & Buonocore, F. (2017). Evolution of th2 responses: characterization of IL-4/13 in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and studies of expression and biological activity. *Scientific RepoRts*. **7**(2240), 1-15. DOI:10.1038/s41598-017-02472-y

Syahrial, A., T.R. Setyawati, dan S. Khotimah. (2013). Tingkat kerusakan jaringan darah ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang dipaparkan pada media Zn-Sulfat ($ZnSO_4$). *Protobiont*. **2**(3): 181 – 185.



Tamba, J. M., Syawal, H. & Lukistyowati, H. (2021). Identifikasi bakteri patogen pada ikan jambal siam (*Pangasionodon hypophthalmus*) yang dipelihara di kolam budidaya. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **26**(1), 40-46.

Tan, H. Y., Chen, S. W., & Hu, S., Y. (2019). Improvements in the growth performance, immunity, disease resistance, and gut microbiota by the probiotic *Rummeliibacillus stabekisii* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology*. **92**, 265–275. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.06.027>

Utami, D. T., Prayitno, S. B., Hastuti, S., & Santika, A. (2013). Gambaran parameter hematologis pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi vaksin DNA *Streptococcus iniae* dengan dosis yang berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2**(4), 7-20.

Wahyuni, Ranti Selvina, Ridha Fauziah, Haryo Tejo Prakoso, Priyono, Siswanto. (2020). Optimasi suhu dan waktu deasetilasi kitin berbasis selongsong maggot (*Hermetia illucens*) menjadi kitosan. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. **25**(3), 373-381. DOI: 10.18343/jipi.25.3.373

Wang, Y., Wang, S., Luo, H., & Yancheng L. V. (2018). Transforming Growth Factor β 1 Gene Play a Novel Role in Innate Immune Response in *Pelteobagrus fulvidraco*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **18**, 539 - 546. DOI: 10.4194/1303-2712-v18_4_05

Wang, X., Wang, F., Chen, G., Yang, B., Chen, J., Fang, Y., Wang K., & Hou, Y. (2020). *Edwardsiella tarda* induces enteritis in farmed seahorses (*Hippocampus erectus*): An experimental model and its evaluation. *Fish & Shellfish Immunology*. **98**, 391-400.

Wangko, S. (2014). *Hermetia Illucens* : Aspek forensik, kesehatan dan ekonomi. *Jurnal Biomedik (JBM)*. **6**(1), 23-29.

Wardhana, A. H. (2016). *Black soldier fly (Hermetia illucens)* sebagai sumber protein alternatif untuk pakan ternak. *WARTAZOA*. **26**(2), 69-78. <http://dx.doi.org/10.14334/wartazoa.v26i2.1218>

Warnasih, S., Yulia, W., Yohan B., Artika, I. M. & Sasmono, R.T. (2014). Induksi ekspresi gen sitokin/kemokin pada sel makrofag manusia yang dipapar virus *dengue* isolat indonesia. *Current Biochemistry*. **1**(3), 146-157.

Warsinske H. C, Pienaar E, Linderman J. J, Mattila J. T & Kirschner D. E. (2017) Deletion of TGF- β 1 increases bacterial clearance by cytotoxic T cells in a tuberculosis granuloma model. *Front. Immunol*. **8**(1843), 1-16. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01843

Weththasinghe, P., Overland, M. & Lagos, L., Corte, M., Hansen, J. O. (2021). Dietary inclusion of black soldier fly (*Hermetia Illucens*) larvae meal and paste improved gut health but had minor effects on skin mucus proteome and immune response in *Atlantic Salmon (Salmo Salar)*. *Front. Immunol*. **12**(599530), 1-16. DOI: 10.3389/fimmu.2021.599530.



Widyaningrum, H., Simanjuntak, S. B. I. & Susatyo, P. (2017). Diferensial leukosit ikan gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.) dengan perbedaan level suplementasi *Spirulina platensis* dalam pakan. *SCRIPTA BIOLOGICA*. 4(1), 3740. [HTTP://DOI.ORG/10.20884/1.SB.2017.4.1.383](http://doi.org/10.20884/1.SB.2017.4.1.383)

Widyaningrum, D. C., Krismaputri, M. E., & Purnamasari, L. (2020). Potensi maggot black soldier fly (*Hermetia illucens*) sebagai alternatif pakan sumber protein, agen antibakteri, dan immunomodulator secara In vitro in vitro test of black soldier magot fly (*Hermetia illucens*) as alternative feed source of protein, antibacterial, and immunomodulator agent. *Jurnal Sain Veteriner*. 39(2), 112-120. DOI: 10.22146/jsv.53347

Wijayanti, M., Khotimah, H., Sasanti, A. D., Dwinanti, S. H., & Rarassari, M. A. (2019). Pemeliharaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan sistem akuaponik di Desa Karang Endah, Kecamatan Gelumbang, Kabupaten Muara Enim Sumatra Selatan. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. 8(3), 159-148.

Wulandari, E., & Hapsari, R. A. F. (2017). The Effects of *Jatropha Curcas* L Seed Extract in Regulation Expression Tumor Marker of Tgf- β 1 Gene. *Majalah Obat Tradisional*, 22(1), 25-30.

Wulandari, S., Jumadi, R., & Rahmawati, F. F. (2018). Efektivitas serbuk daun tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap difrensial leukosit dan aktivitas fagositosis ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. *Jurnal Perikanan Pantura*. 1(1), 40-49.

Yanti, Y. N. & Mitika, S. (2017). Uji efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 2(1), 158-168.

Yanto, H., Hasan, H., & Sunarto. (2015). Studi hematologi untuk diagnosa penyakit ikan secara dini di Sentra Produksi Budidaya Ikan Air Tawar Sungai Kapuas Kota Pontianak. *Jurnal Akuatika*. 6(1), 11-20.

Zhi, T., Xu, X., Chen, J., Zheng, Y., Zhang, S., Brown, C. L., Yang, T. & Peng, J. (2018). Expression of immune-related genes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after *Gyrodactylus cichlidarum* and *Cichlidogyrus sclerosus* infections demonstrating immunosuppression in coinfection. *Fish and Shellfish Immunology*. 80, 397-404. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.05.060>

Zissalwa, F., Syawal, H. & Lukistyowati, L. (2020). Profil eritrosit ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang diberi pakan mengandung ekstrak daun mangrove (*Rhizophora apiculata*) dan di pelihara dalam keramba. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 25(1), 70-78.

Zuhrawati, N. A. (2014). Pengaruh peningkatan suhu terhadap kadar hemoglobin dan nilai hematokrit ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 8(1), 84-86.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Lokasi Penelitian



Lampiran 2. Alat dan Bahan

A. Alat



Pencetak pakan



Saringan



Toples



Timbangan Digital



Blue Tip



Vortex



Autoclave



Blender



Haemocytometer



Pipet Toma



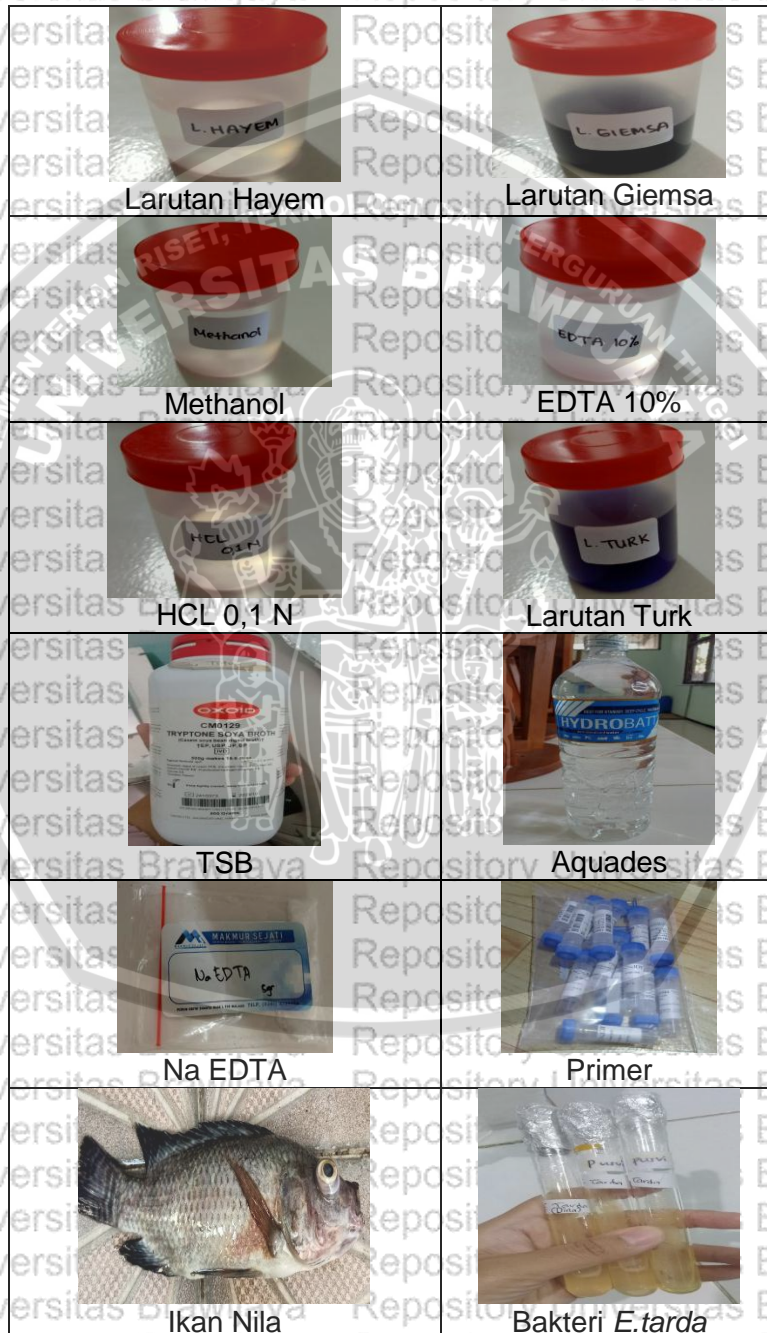
Mikrotube



Jarum suntik



B. Bahan





Alkohol



Sarung Tangan



Masker



Tisu



Pakan Komersial

Lampiran 3. Hasil Uji Fitokimia



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA
 Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 12 / 102.7-D / 2021
 Sifat : Biasa
 Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif



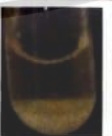

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon
 Nama : Elisabeth Tirani
 NIM : 175080500111033
 Instansi : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
 Alamat : Malang
2. Identitas Sampel
 Nama sampel : Maggot
 Nama latin : *Hermetia illucens larvae*
 Bentuk sampel : Serbuk
 Tanggal penerimaan : 18 Januari 2021
 Tanggal pemeriksaan : 19 Januari 2021

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Jingga, Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	(-) Negatif
	Alkaloid		
2.	Meyer	Endapan Putih	(+) Positif
	Dragendrof	Endapan Jingga	(+) Positif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	(+) Positif
3.	Tanin	Cokelat Kehitaman, Biru Kehitaman	(+) Positif
4.	Terpenoid		
	Steroid	Hijau Kebiruan	(-) Negatif
	Triterpenoid	Orange, Jingga Kecokelatan	(+) Positif
5.	Saponin	Busa Permanen	(+) Positif

4. Lampiran




Nama Sampel	Flavonoid	Alkaloid		
		Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Serbuk Maggot				



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA

Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

Nama Sampel	Tanin	Terpenoid	Saponin
Serbuk Maggot			

5. Pustaka

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1978. "Materia Medika Indonesia", Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 21 Januari 2021

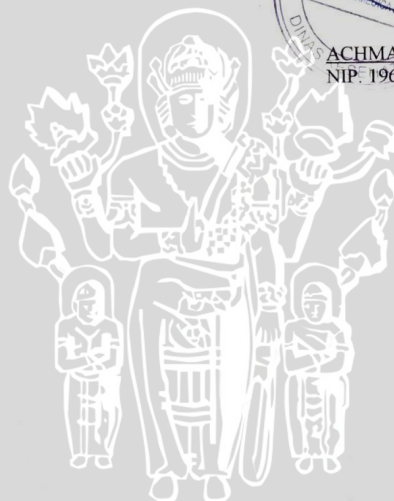
Kepala UPT Laboratorium Herbal

Materia Medica Batu



ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes
NIP. 19680203 199203 1 004

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN BUDAYA
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 4. Hasil Uji Biokimia

KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
BADAN KARANTINA IKAN, PENGENDALIAN MUTU, DAN KEAMANAN HASIL PERIKANAN
**BALAI UJI STANDAR KARANTINA IKAN, PENGENDALIAN MUTU,
DAN KEAMANAN HASIL PERIKANAN**
JALAN RAYA SETU NO. 1. SETU CIPAYUNG, JAKARTA TIMUR 13680
TELP : (021) 8451378, 84599367, 8448506 FAKSIMILE (021) 8448523, 8448679
LAMAM www.buskipm blkipm.id POS ELEKTRONIK buskipm@kpp.go.id, buski_jkt@yahoo.com, buskipm@gmail.com

SERTIFIKAT ANALISIS

Strain Bakteri : *Edwardsiella tarda*

Pasase 2 dari biakan stok Kultur

- Kode sampel : 180A/BUSKIPM/2019
- Asal isolat : NCIMB 2056
- Kondisi Tumbuh : Media Tumbuh TSA 0%; Temperatur : 27°C
- Pengawetan : Kering Beku
- Kemurnian : Berdasarkan hasil inokulasi pada media selektif dan non selektif menunjukkan morfologi sesuai dengan *Edwardsiella tarda*
- Pengujian : Dilakukan dengan pewarnaan gram, uji biokimia
- Cara Pemeliharaan : Biakan dari kering beku dibuat stock dalam medium cair kemudian di simpaan dalam freezer/suhu beku
- Karakteristik Bakteri : Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt, et al.1996)

Gambar Pengecatan Gram



Karakterisasi Bakteri

1. Gram	-
2. Bentuk	Batang
3. Motility	+
4. Catalase	+
5. Oxidase	-
6. Glucose	+ / G
7. O/F	F
8. H ₂ S from TSIA	+
9. Ornithin	+
10. Indole	+
11. Urease	-
12. Lysine decarboxilase	+
13. Gelatin	-
14. Arginin	-
15. Citrate	-
16. MR	+
17. VP	-
18. Nitrate	+
19. Laktose	-
20. Arabinose	+
21. Trehalose	-
22. Maltose	+
23. Xylose	-
24. Inositol	-
25. Mannitol	+
26. Sorbitol	-
27. Salicin	-
28. Gliserol	-
29. Melibiose	-
30. Esculin	-

Ka. Sie. Pengujian HPIK
Mutu dan Keamanan
Hasil Perikanan,

Slamet Andriyanto, S.Si
NIP. 19821012 200904 1 001

Lampiran 5. Hasil Uji Proksimat



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PETERNAKAN
LABORATORIUM MINAT NUTRISI DAN MAKANAN TERNAK
Jalan Veteran Malang 65145 Telp (0341) 575853
E-mail : bagnmtfapet@ub.ac.id

Nomor : 05/UN.10.5.52./Lab.-1/2021
Perihal : Hasil Analisa

Yth. : Sdr. Dina Qurootul Fuad
Mhs FPIK Universitas Brawijaya
Malang

Hasil analisis Laboratorium

Tanggal Terima Sampel	No	Kode Bahan	Kandungan Zat Makanan				
			Bahan Kering (%)	Abu* (%)	Protein Kasar* (%)	Serat Kasar* (%)	Lemak Kasar* (%)
18-01-2021	1.	Maggot	91,89	14,93	30,52	7,79	34,03

*) Berdasarkan 100% Bahan Kering.

Malang, 20 Januari 2021

Mengetahui,
Koordinator Minat NMT

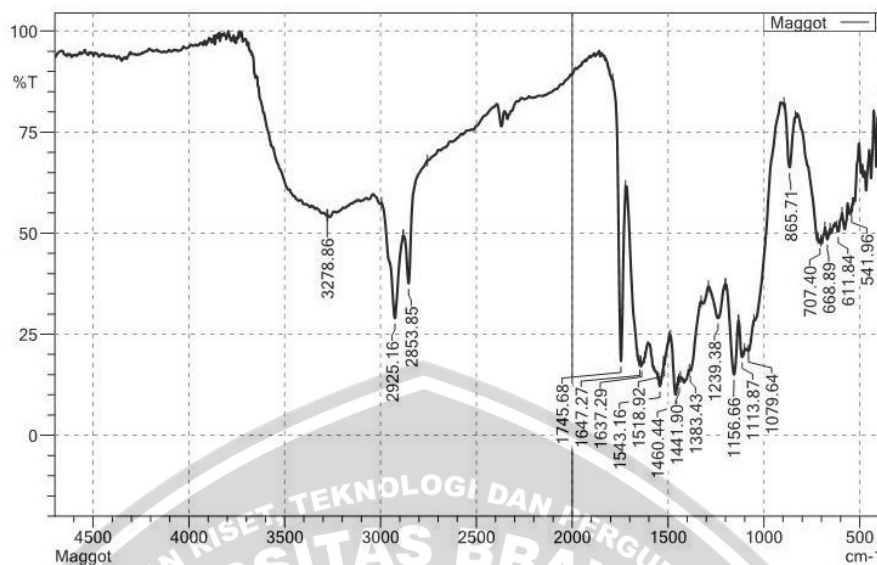
Dr. Ir. Marjuki, M.Sc
NIP. 19630604 198903 1 001

Kapala Lab. NMT

Prof. Dr. Ir. Siti Chuzhaemi, MS.,
SEAN Eng
NIP. 19530514 198002 2 001

NMT 02

Lampiran 6. Hasil Uji FTIR



No.	Panjang Geombang	Gugus Fungsi	Tipe Senyawa
1.	541.96	Gugus C-H	Fenol
2.	611.84	Gugus C-H	Alkena
3.	668.89	Gugus C-H	Alkena
4.	707.40	Gugus C-H	Alkena
5.	865.71	Gugus C-H	Alkena
6.	1079.64	Gugus C-O	Ester
7.	1113.87	Gugus C-O	Ester
8.	1156.66	Gugus C-O	Ester
9.	1239.38	Gugus C-O	Ester
10.	1383.43	Gugus C-H	Alkana
11.	1441.90	Gugus C-H	Alkana
12.	1460.44	Gugus C-H	Alkana
13.	1518.92	Gugus C=C	Cincin Aromatik
14.	1543.16	Gugus C=C	Cincin Aromatik
15.	1637.29	Gugus C=C	Alkena
16.	1647.27	Gugus C=C	Alkena
17.	1745.68	Gugus C=O	Ester
18.	2853.85	Gugus ≡C-H	Alkana
19.	2925.16	Gugus ≡C-H	Alkana
20.	3278.86	Gugus O-H	Fenol

Lampiran 7. Hasil Ekspresi Gen TGF- β

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Biological Set Name	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev
A05	SYBR	TGF-b	Unkn	K-(2)		24,20	24,20	0,000
B05	SYBR	TGF-b	Unkn	TGFb(1)		23,05	23,05	0,000
C05	SYBR	TGF-b	Unkn	b(2)		23,92	23,92	0,000
D05	SYBR	TGF-b	Unkn	K+(1)		23,96	23,96	0,000
E05	SYBR	TGF-b	Unkn	K+(2)		23,61	23,61	0,000
H04	SYBR	TGF-b	Unkn	K-(1)		23,59	23,59	0,000

Kelompok	Gen	Rata-rata	DCt	ddCt	Fold Change
	TGF- β	TGF- β	TGF- β	TGF- β	TGF- β
K+(1)	23,959782	23,785706	0,3866819	-0,067896	1,1444794
K+(2)	23,61163				
K-(1)	23,58878	23,89213	0,2968064	-0,02198	1,3527884
K-(2)	24,19548				
Perlakuan	23,047385	23,44906	-0,086432	-0,405218	0,9498009
Perlakuan	23,922428				

Lampiran 8. Hasil Uji Anova

A. Hemoglobin

Descriptives

Hemoglobin Sebelum

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	8.267	.3786	.2186	7.326	9.207	8.0	8.7
B	3	7.833	.4041	.2333	6.829	8.837	7.4	8.2
C	3	7.733	.2082	.1202	7.216	8.250	7.5	7.9
K+	3	8.533	.1528	.0882	8.154	8.913	8.4	8.7
K-	3	8.600	.2646	.1528	7.943	9.257	8.3	8.8

Test of Homogeneity of Variances

Hemoglobin (Sebelum Infeksi)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.213	4	10	.364

ANOVA

Hemoglobin (Sebelum Infeksi)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.883	4	.471	5.308	.015
Within Groups	.887	10	.089		
Total	2.769	14			

Hemoglobin (Sebelum Infeksi)

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
C	3	7.733	
B	3	7.833	
A	3	8.267	8.267
K+	3		8.533
K-	3		8.600
Sig.		.062	.220

Descriptives

Hemoglobin Setelah

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	8.267	.3055	.1764	7.508	9.026	8.0	8.6
B	3	8.067	.4933	.2848	6.841	9.292	7.5	8.4
C	3	6.067	.7095	.4096	4.304	7.829	5.3	6.7
K+	3	5.267	.5508	.3180	3.899	6.635	4.7	5.8
K-	3	8.400	.3606	.2082	7.504	9.296	8.1	8.8

Test of Homogeneity of Variances

Hemoglobin (Setelah Infeksi)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.698	4	10	.610

ANOVA

Hemoglobin (Setelah Infeksi)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	25.051	4	6.263	24.592	.000
Within Groups	2.547	10	.255		
Total	27.597	14			

Hemoglobin (Setelah Infeksi)

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
4	3	5.267	
3	3	6.067	
2	3		8.067
1	3		8.267
5	3		8.400
Sig.		.081	.458

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

B. Eritrosit

Descriptives

Eritrosit Sebelum

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
					A	3		
B	3	2.433	.6658	.3844	.779	4.087	1.7	3.0
C	3	1.633	.5859	.3383	.178	3.089	1.2	2.3
K+	3	3.333	.3786	.2186	2.393	4.274	2.9	3.6
K-	3	3.267	.5033	.2906	2.016	4.517	2.8	3.8

Test of Homogeneity of Variances

Eritrosit (Sebelum Infeksi)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.588	4	10	.679

ANOVA

Eritrosit (Sebelum Infeksi)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.463E12	4	1.616E12	6.151	.009
Within Groups	2.627E12	10	2.627E11		
Total	9.089E12	14			

Eritrosit (Sebelum Infeksi)

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3	3	1.63E6	
2	3	2.43E6	2.43E6
1	3		3.20E6
5	3		3.27E6
4	3		3.33E6
Sig.		.085	.073

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Descriptives

Eritrosit Setelah

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	3.200	2.300	.2646	1.162	3.438	1.9	2.8
B	3	.733	.4509	.2603	.2603	1.853	.3	1.2
C	3	.667	.3055	.1764	-.092	-.092	.4	1.0
K+	3	.367	.1528	.0882	-.013	.746	.2	.5
K-	3	3.033	.5508	.3180	1.665	4.401	2.5	3.6

Test of Homogeneity of Variances

Eritrosit (Setelah Infeksi)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.783	4	10	.562

ANOVA

Eritrosit (Setelah Infeksi)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.658E13	4	4.144E12	24.866	.000
Within Groups	1.667E12	10	1.667E11		
Total	1.824E13	14			

Eritrosit Setelah Infeksi

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K+	3	.367	
C	3	.667	
B	3	.733	
A	3		2.300
K-	3		3.033
Sig.		.318	.052

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

C. Leukosit

Descriptives

Leukosit Sebelum

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
					A	3		
B	3	17015.333	785.1320	453.2962	15064.957	18965.709	16347.0	17880.0
C	3	17427.667	207.0177	119.5217	16913.406	17941.927	17250.0	17655.0
K+	3	15412.667	464.8939	268.4066	14257.806	16567.527	14917.0	15839.0
K-	3	15386.000	510.8884	294.9616	14116.883	16655.117	14928.0	15937.0

Test of Homogeneity of Variances

Leukosit (Sebelum Infeksi)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.288	4	10	.338

ANOVA

Leukosit (Sebelum Infeksi)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.075E7	4	2687393.933	10.251	.001
Within Groups	2621688.667	10	262168.867		
Total	1.337E7	14			

Leukosit (Sebelum Infeksi)

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
5	3	15386.00	
4	3	15412.67	
1	3	15839.33	
2	3		17015.33
3	3		17427.67
Sig.		.325	.347

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Descriptives

Leukosit Setelah

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	2.49E4	4.158E3	2400.334	1.46E4	3.52E4	21947	29667
B	3	3.35E4	3.356E3	1937.734	2.52E4	4.19E4	31247	37383
C	3	3.78E4	1.695E3	978.346	3.36E4	4.20E4	35928	39246
K+	3	3.91E4	3.460E3	1997.634	3.05E4	4.77E4	35246	41986
K-	3	2.01E4	886.871	512.035	1.79E4	2.23E4	19165	20891

ANOVA

Leukosit (Setelah Infeksi)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.170E8	4	2.043E8	23.117	.000
Within Groups	8.836E7	10	8835778.667		
Total	9.054E8	14			

Test of Homogeneity of Variances

Leukosit (Setelah Infeksi)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.507	4	10	.109

Leukosit (Setelah Infeksi)

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
5	3	20146.00	
1	3	24915.33	
2	3		33529.33
3	3		37786.33
4	3		39068.67
Sig.		.078	.054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

D. Limfosit

Descriptives

Limfosit Sebelum

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	82.33	2.517	1.453	76.08	88.58	80	85
B	3	73.33	2.517	1.453	67.08	79.58	71	76
C	3	72.33	2.517	1.453	66.08	78.58	70	75
K+	3	82.33	2.517	1.453	76.08	88.58	80	85
K-	3	80.67	3.055	1.764	73.08	88.26	78	84

Test of Homogeneity of Variances

Limfosit (Sebelum Infeksi)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.071	4	10	.989

ANOVA

Limfosit (Sebelum Infeksi)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	295.067	4	73.767	10.639	.001
Within Groups	69.333	10	6.933		
Total	364.400	14			

Limfosit (Sebelum Infeksi)

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3	3	72.33	
2	3	73.33	
5	3		80.67
1	3		82.33
4	3		82.33
Sig.		.652	.476

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Descriptives

Limfosit Setelah

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
					A	3		
B	3	66.33	7.371	4.256	48.02	84.64	58	72
C	3	77.00	6.000	3.464	62.10	91.90	71	83
K+	3	85.00	3.606	2.082	76.04	93.96	81	88
K-	3	52.00	7.550	4.359	33.25	70.75	45	60

Test of Homogeneity of Variances

Limfosit (Setelah Infeksi)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.634	4	10	.650

ANOVA

Limfosit (Setelah Infeksi)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2224.400	4	556.100	15.650	.000
Within Groups	355.333	10	35.533		
Total	2579.733	14			

Limfosit (Setelah Infeksi)

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
5	3	52.00			
1	3	57.33	57.33		
2	3		66.33	66.33	
3	3			77.00	77.00
4	3				85.00
Sig.		.299	.094	.053	.131

E. Monosit

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	6.000	2.0000	1.1547	1.032	10.968	4.0	8.0
B	3	2.333	1.5275	.8819	-1.461	6.128	1.0	4.0
C	3	3.000	1.0000	.5774	.516	5.484	2.0	4.0
K+	3	6.000	2.0000	1.1547	1.032	10.968	4.0	8.0
K-	3	6.000	2.0000	1.1547	1.032	10.968	4.0	8.0

Test of Homogeneity of Variances

Monosit (Sebelum Infeksi)			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.262	4	10	.896

ANOVA

Monosit (Sebelum Infeksi)					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	40.667	4	10.167	3.315	.050
Within Groups	30.667	10	3.067		
Total	71.333	14			

Monosit (Sebelum Infeksi)

Duncan			
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
2	3	2.33	
3	3	3.00	3.00
1	3		6.00
4	3		6.00
5	3		6.00
Sig.		.651	.079

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Descriptives

Monosit Setelah

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
					A	3		
B	3	24.00	5.568	3.215	10.17	37.83	19	30
C	3	14.67	2.082	1.202	9.50	19.84	13	17
K+	3	8.67	2.082	1.202	3.50	13.84	7	11
K-	3	31.00	3.606	2.082	22.04	39.96	28	35

Test of Homogeneity of Variances

Monosit (Setelah Infeksi)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.564	4	10	.257

ANOVA

Monosit (Setelah Infeksi)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1140.000	4	285.000	25.147	.000
Within Groups	113.333	10	11.333		
Total	1253.333	14			

Monosit (Setelah Infeksi)

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4	3	8.67		
3	3	14.67		
2	3		24.00	
1	3		30.00	30.00
5	3			31.00
Sig.		.054	.054	.724

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

F. Neutrofil

Descriptives

Neutrofil Sebelum

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	12.000	2.0000	1.1547	7.032	16.968	10.0	14.0
B	3	24.333	2.0817	1.2019	19.162	29.504	22.0	26.0
C	3	24.667	2.0817	1.2019	19.496	29.838	23.0	27.0
K+	3	12.333	.5774	.3333	10.899	13.768	12.0	13.0
K-	3	13.667	3.5119	2.0276	4.943	22.391	10.0	17.0

Test of Homogeneity of Variances

Neutrofil (Sebelum Infeksi)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.509	4	10	.272

ANOVA

Neutrofil (Sebelum Infeksi)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	548.400	4	137.100	30.243	.000
Within Groups	45.333	10	4.533		
Total	593.733	14			

Neutrofil (Sebelum Infeksi)

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1	3	11.67	
4	3	11.67	
5	3	13.33	
2	3		24.33
3	3		24.67
Sig.		.382	.852

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Descriptives

Neutrofil Setelah

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	12.67	3.055	1.764	5.08	20.26	10	16
B	3	9.67	2.082	1.202	4.50	14.84	8	12
C	3	8.33	4.041	2.333	-1.71	18.37	4	12
K+	3	6.33	2.082	1.202	1.16	11.50	4	8
K-	3	17.00	4.359	2.517	6.17	27.83	12	20

Test of Homogeneity of Variances

Neutrofil (Setelah Infeksi)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.000	4	10	.452

ANOVA

Neutrofil (Setelah Infeksi)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	207.733	4	51.933	4.869	.019
Within Groups	106.667	10	10.667		
Total	314.400	14			

Neutrofil (Setelah Infeksi)

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
4	3	6.33	
3	3	8.33	
2	3	9.67	
1	3	12.67	12.67
5	3		17.00
Sig.		.051	.135

**Lampiran 9. Survival Rate (SR)**

Perlakuan	Jumlah Ikan Awal (No)	Jumlah Ikan Akhir	Rata-Rata	SR (%)
A	30	25	83,3	80%
B	30	21	70	70%
C	30	16	53,3	50%
D	30	10	33,3	30%
E	30	29	96,67	97%

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

Keterangan:

SR: *Survival Rate* (%)

Nt: Jumlah ikan akhir pemeliharaan

No: Jumlah ikan awal pemeliharaan

Perlakuan A

$$SR = \frac{25}{30} \times 100\% \\ = 83,3\%$$

Perlakuan B

$$SR = \frac{21}{30} \times 100\% \\ = 70\%$$

Perlakuan C

$$SR = \frac{16}{30} \times 100\% \\ = 53,3\%$$

Perlakuan D

$$SR = \frac{10}{30} \times 100\% \\ = 33,3\%$$

Perlakuan E

$$SR = \frac{29}{30} \times 100\% \\ = 96,67\%$$

Lampiran 10. Kualitas Air

A. Suhu

Tanggal	Waktu	Suhu				
		A	B	C	K+	K-
12/02/2021	Pagi	26	25	25	25	25
	Sore	25	26	24,5	25,5	26
13/02/2021	Pagi	24,5	24,5	24,5	24,5	24
	Sore	25,5	26	25	26	24
14/02/2021	Pagi	25,5	25	25	25	25
	Sore	25,5	25,5	25	25,5	25
15/02/2021	Pagi	25	24,5	25	25	26
	Sore	25	25	25,5	25	25,5
16/02/2021	Pagi	24	24,5	25	24,5	26,5
	Sore	25,5	25	25	25	25
17/02/2021	Pagi	25	24,5	25	25	25
	Sore	25,5	25	25	25	25,5
18/02/2021	Pagi	24	24	23,5	24,5	26
	Sore	25,5	24,5	25	25	24,5
19/02/2021	Pagi	25	24	24	24	24,5
	Sore	25	26	26	25	24
20/02/2021	Pagi	24	24,5	25	25	25
	Sore	25	26	25,5	26	25
21/02/2021	Pagi	24,8	24,9	25,1	25,3	25
	Sore	25	25	25	25,5	26
22/02/2021	Pagi	24,5	25	24,7	24	26
	Sore	25	26	25,5	26	25,5
23/02/2021	Pagi	25	25	24,5	25	25,5
	Sore	26,5	26	25	25	24
24/02/2021	Pagi	24,5	24,5	25	25	25
	Sore	25	25	25,5	25	27
25/02/2021	Pagi	25	25	25	25	25
	Sore	25,5	25,5	25,5	25,5	26,5
26/02/2021	Pagi	25	24,5	24,5	24,5	24
	Sore	26	26	26	26	27
27/02/2021	Pagi	25,5	25	25	25	26
	Sore	25	25,5	25,5	25	26,5
28/02/2021	Pagi	24,5	24,5	24,5	24,5	24,5
	Sore	25,5	26	25,5	25	26
01/03/2021	Pagi	25,5	25	24,5	25	25
	Sore	25	25,5	25	25,5	26
02/03/2021	Pagi	25	25	25	25	25



	Sore	26	25	25	25	26
03/03/2021	Pagi	24,5	24,5	24,5	24,5	24,5
	Sore	25	25,5	25	25	26
04/03/2021	Pagi	25	25	25,5	25	25,5
	Sore	25	25	25	25	26
05/03/2021	Pagi	25	24,5	24	24	24
	Sore	26	26	26	26	27
06/03/2021	Pagi	25	25,5	25	25,5	25
	Sore	26	26	26	26	26,5
07/03/2021	Pagi	26	25	25	24,5	25,5
	Sore	25,5	26	25	25	25,5
08/03/2021	Pagi	25	24,5	25	25	25
	Sore	25	24,5	24,5	24,5	24,5
09/03/2021	Pagi	25	24,5	25	25	25
	Sore	26	25,5	25,5	25	26,5
10/03/2021	Pagi	25	25	25	25	25
	Sore	25,5	25	25,5	25	25
11/03/2021	Pagi	25	24,5	24,5	25	24,5
	Sore	25	25	25	25	25,5
12/03/2021	Pagi	24	24	24	24	24,5
	Sore	26	26	26	26	26,5
13/03/2021	Pagi	25	26	25,5	26	26,5
	Sore	26	25,5	26,5	27	27

B. pH

Tanggal	Waktu	pH				
		A	B	C	K+	K-
12/02/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
13/02/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
14/02/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	6	7	7
15/02/2021	Pagi	6	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	6
16/02/2021	Pagi	8	7	7	6	7
	Sore	7	7	7	7	7
17/02/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	6	7	7
18/02/2021	Pagi	7	6	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
19/02/2021	Pagi	7	7	7	7	8
	Sore	7	7	7	7	7



20/02/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
21/02/2021	Pagi	6	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
22/02/2021	Pagi	7	6	6	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
23/02/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
24/02/2021	Pagi	8	8	8	7	7
	Sore	7	7	7	8	7
25/02/2021	Pagi	7	7	7	6	6
	Sore	7	7	8	8	8
26/02/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
27/02/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
28/02/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
01/03/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
02/03/2021	Pagi	8	8	8	8	7
	Sore	7	7	7	7	6
03/03/2021	Pagi	7	6	7	6	7
	Sore	7	7	7	7	7
04/03/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	8	8	7
05/03/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
06/03/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
07/03/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
08/03/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
09/03/2021	Pagi	8	8	8	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
10/03/2021	Pagi	6	6	6	6	6
	Sore	7	7	7	7	7
11/03/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	8	8	8	7	7
12/03/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7
13/03/2021	Pagi	7	7	7	7	7
	Sore	7	7	7	7	7

C. Dissolved Oxygen (DO)

Tanggal	Waktu	DO				
		A	B	C	K+	K-
12/02/2021	Pagi	5,99	5,75	5,45	5,65	5,56
	Sore	5,45	5,88	5,78	5,54	5,12
13/02/2021	Pagi	6,35	6,7	6,24	6,67	5,46
	Sore	5,66	6,61	7,05	7,13	5,35
14/02/2021	Pagi	6,65	5,82	7,21	6,36	6,99
	Sore	6,24	8,2	6,6	5,25	5,89
15/02/2021	Pagi	5,73	7,13	5,51	7,11	7,15
	Sore	6,32	5,76	5,65	6,88	6,51
16/02/2021	Pagi	5,78	5,5	7,4	7,93	5,56
	Sore	6,45	6,32	5,56	6,85	5,64
17/02/2021	Pagi	6,23	5,78	6,36	5,69	5,51
	Sore	5,52	5,32	5,77	5,67	5,32
18/02/2021	Pagi	5,66	6,1	5,15	6,25	6,32
	Sore	5,58	5,25	6,25	5,89	6,34
19/02/2021	Pagi	5,11	5,78	7,25	6,36	6,45
	Sore	6,86	7,1	5,99	6,71	6,54
20/02/2021	Pagi	7,42	6,12	5,71	5,78	5,61
	Sore	7,21	8,1	5,17	6,12	5,14
21/02/2021	Pagi	5,56	6,62	6,13	6,41	5,14
	Sore	5,25	5,78	7,14	5,71	5,16
22/02/2021	Pagi	6,15	5,67	6,88	5,34	5,14
	Sore	6,51	5,78	7,17	5,77	5,14
23/02/2021	Pagi	5,75	6,98	5,81	5,49	6,14
	Sore	5,41	5,76	5,55	6,33	6,71
24/02/2021	Pagi	6,62	6,89	5,56	7,27	6,13
	Sore	5,12	5,77	5,51	5,4	5,53
25/02/2021	Pagi	6,38	5,91	6,98	5,76	5,95
	Sore	7,14	5,88	7,1	5,3	6,31
26/02/2021	Pagi	6,12	7,3	8,1	5,32	6,11
	Sore	5,28	6,5	7,12	5,41	5,85
27/02/2021	Pagi	5,92	5,66	5,15	6,1	7,13
	Sore	5,68	5,42	6,15	5,87	5,67
28/02/2021	Pagi	8,12	6,23	6,66	6,11	6,98
	Sore	5,19	4,1	7,21	5,74	5,89
01/03/2021	Pagi	6,62	5,81	6,13	6,73	5,4
	Sore	7,11	6,6	6,14	5,75	6,12
02/03/2021	Pagi	5,11	7,6	5,51	6,72	5,67
	Sore	5,45	5,6	6,78	5,67	6,12
03/03/2021	Pagi	5,87	5,36	5,58	7,1	5,12
	Sore	8,11	5,65	5,54	5,61	5,78
04/03/2021	Pagi	7,21	6,34	7,6	6,5	5,89
	Sore	6,91	5,45	5,88	6,12	6,87
05/03/2021	Pagi	7,14	6,41	7,12	5,2	5,1
	Sore	6,71	5,56	5,87	5,29	6,12
06/03/2021	Pagi	6,76	6,22	6,34	6,23	6,12
	Sore	5,91	6,65	5,61	7,12	6,75
07/03/2021	Pagi	6,44	6,34	7,45	5,12	6,54



	Sore	5,81	6,71	6,44	7,11	6,22
08/03/2021	Pagi	5,44	6,15	5,44	5,88	5,54
	Sore	5,75	6,34	5,45	6,72	5,83
09/03/2021	Pagi	5,55	5,78	6,33	6,59	6,81
	Sore	6,25	7,2	7,12	5,14	5,77
10/03/2021	Pagi	7,65	5,48	6,84	6,7	5,56
	Sore	5,47	6,43	5,13	6,78	5,18
11/03/2021	Pagi	5,81	5,69	6,74	5,73	5,18
	Sore	6,51	5,55	6,34	5,32	5,31
12/03/2021	Pagi	6,4	6,57	6,99	5,6	6,11
	Sore	5,45	5,34	7,11	5,29	5,78
13/03/2021	Pagi	6,66	5,6	8,12	6,31	5,16
	Sore	6,88	6,71	7,2	6,54	6,81