

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN MENGKUDU
(*Morinda citrifolia*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

SKRIPSI

PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Oleh :

YORA UTAMI PUTRI PERTIWI

NIM. 115080500111001



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN MENKUDU
(*Morinda citrifolia*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

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

Oleh :

**YORA UTAMI PUTRI PERTIWI
NIM. 115080500111001**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
MALANG
2015**

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN MENKUDU
(*Morinda citrifolia*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Oleh :

YORA UTAMI PUTRI PERTIWI
NIM. 115080500111001

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal 21 April 2015
Dan dinyatakan memenuhi syarat

DOSEN PENGUJI I

MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING I

Dr. Ir. Maftuch, MSi
NIP. 19660825 199203 1 001
Tanggal :

Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS
NIP. 19550213 198403 1 001
Tanggal :

DOSEN PENGUJI II

DOSEN PEMBIMBING II

Ir. Ellana Sanoesi, MP
NIP. 19630924 199803 2 002
Tanggal :

Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, M.Si
NIP. 19671010 199702 1 001
Tanggal :

MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal :

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, Maret 2015
Mahasiswa

Yora Utami Putri Pertiwi



UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan atas terselesainya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT atas limpahan rahmat serta karunia-Nya.
2. Mama dan Ayah tercinta atas segala dukungan, motivasi, bimbingan dan do'anya, serta kedua adikku yang tersayang.
3. Untuk partner terbaikku yang selalu memberikan semangat yang tiada henti-hentinya kepada penulis.
4. Seluruh rekan-rekan tim parasiters yang telah banyak membantu penulis dan selalu memberikan dukungan dan motivasi untuk terselesainya laporan skripsi ini.
5. Teman-teman Aquatic Spartans BP 2011 yang telah ikut serta mendukung penyelesaian skripsi ini.
6. Seluruh pihak yang sudah membantu penulis selama penelitian.

Malang, Maret 2015

Penulis

RINGKASAN

YORA UTAMI PUTRI PERTIWI. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Dibawah bimbingan Prof. Dr. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS dan Dr. Ir. ABD. RAHEM FAQIH, M.Si.

Salah satu jenis ikan air tawar yang cukup banyak dibudidayakan adalah ikan nila (*Oreochromis sp.*) karena ikan nila sangat cocok dibudidayakan di Indonesia. Salah satu kendala dalam usaha peningkatan pengembangan perikanan adalah masalah penyakit yang sering menyerang ikan. Salah satu bakteri yang sering menyerang ikan nila adalah *Aeromonas hydrophila*. Penanggulangan penyakit pada sistem budidaya umumnya menggunakan antibiotik. Akan tetapi, penggunaan antibiotik saat ini dilarang karena dapat menimbulkan efek resisten pada bakteri patogen serta mengakibatkan pencemaran pada lingkungan. Oleh sebab itu, dibutuhkan adanya antibakteri alternatif yang dapat digunakan untuk menghambat atau membunuh bakteri, salah satunya adalah dengan penggunaan daun mengkudu (*Morinda citrifolia*).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. hydrophila*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Februari 2015. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan dan 3 ulangan yaitu dengan menggunakan dosis A (200 ppm), B (400 ppm), C (600 ppm) dan D (800 ppm). Parameter utama dalam penelitian ini adalah perhitungan sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan diferensial leukosit (limfosit, monosit dan neutrofil), sedangkan untuk parameter penunjang dalam penelitian ini adalah gejala klinis dan kualitas air (pH, suhu dan DO).

Hasil yang diperoleh pada parameter utama dari penelitian ini adalah sebagai berikut: perhitungan sel darah merah (eritrosit) pada perlakuan D (800 ppm) memiliki rata-rata jumlah eritrosit tertinggi yaitu $54,48 \times 10^6$ sel/mm³, hubungan antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total eritrosit memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R² mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,952 dengan persamaan $y = 0,0467x + 14,602$.

Pada perhitungan sel darah putih (leukosit) pada perlakuan D (800 ppm) memiliki rata-rata jumlah leukosit terendah yaitu $38,59 \times 10^3$ sel/mm³, hubungan antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total leukosit memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R² mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,9262 dengan persamaan $y = -0,0689x + 98,45$.

Pada perhitungan diferensial leukosit adalah sebagai berikut: limfosit pada perlakuan D (800 ppm) memiliki rata-rata jumlah limfosit tertinggi yaitu 73,67%, hubungan antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total limfosit memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R² mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,9416 dengan persamaan $y = 0,0252 + 52$. Monosit pada perlakuan D (800 ppm) memiliki rata-rata jumlah monosit terendah yaitu 21%, hubungan bahwa antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total monosit memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R² mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,9081 dengan persamaan $y = -0,015x + 34,167$. Neutrofil pada perlakuan D (800 ppm) memiliki rata-rata jumlah neutrofil terendah yaitu

5,33%, hubungan antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan persentase total neutrofil memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,9754 dengan persamaan $y = -0,0102x + 13,833$.

Hasil yang diperoleh pada parameter penunjang dari penelitian ini adalah sebagai berikut: gejala klinis yang terlihat adalah pada perlakuan A (200 ppm) adanya mata rusak, badan bengkak dan juga mengalami kematian, sedangkan untuk perlakuan D (800 ppm) mendekati kondisi ikan yang sehat.

Kualitas air yang didapat pada penelitian ini adalah suhu sebesar 25-26,62°C, pH 7,96-8,04 dan oksigen terlarut (DO) sebesar 4,1-5,06. Kualitas air pada penelitian ini masih dalam kisaran normal untuk kelangsungan hidup ikan nila.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, yang mana telah memberikan limpahan rahmat dan karuniaNya. Tak lupa shalawat serta salam tetap tercurahkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*” Laporan skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang

Pada kesempatan ini penulis juga mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku pembimbing I, yang selalu sabar dalam membimbing dan memberi motivasi kepada penulis,
2. Bapak Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, M.Si selaku pembimbing II, yang senantiasa selalu memberi saran, motivasi dan dukungan kepada penulis,
3. Bapak Dr. Ir. Mafuch, M.Si selaku penguji I, yang telah banyak memberikan saran dan dukungan kepada penulis.
4. Ibu Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku penguji II, yang telah banyak memberikan saran, semangat dan dukungan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan laporan ini masih banyak kekurangan oleh karena itu penulis menerima segala bentuk saran dan kritik demi kesempurnaan laporan ini. Semoga laporan ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya untuk pengetahuan mengenai kesehatan ikan.

Malang, Maret 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Tempat dan Waktu.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Biologi Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	4
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	4
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	5
2.1.3 Kebiasaan Makan Ikan Nila	6
2.1.4 Luka pada Ikan Nila	7
2.2 Bakteri <i>A. hydrophila</i>	8
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	8
2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan.....	9
2.2.3 Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	10
2.3 Daun Mengkudu (<i>M. citrifolia</i>).....	11
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	11
2.3.2 Bahan Aktif Daun Mengkudu (<i>M. citrifolia</i>).....	12
2.4 Mekanisme Pertahanan Tubuh	13
2.5 Mekanisme Kerja Antimikroba	15
2.6 Hematologi.....	17
2.6.1 Sel Darah Merah (Eritrosit)	18
2.6.2 Sel Darah Putih (Leukosit).....	18
2.6.3 Limfosit	19
2.6.4 Monosit	20
2.6.5 Neutrofil	21
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	23

3.1.1 Alat Penelitian	23
3.1.2 Bahan Penelitian	24
3.2 Media Penelitian.....	25
3.3 Metode Penelitian.....	25
3.4 Pengambilan Data.....	25
3.5 Rancangan Penelitian	26
3.6 Prosedur Penelitian	28
3.6.1 Persiapan penelitian	28
a. Persiapan perendaman (maserasi)	28
b. Persiapan Alat.....	28
c. Persiapan Hewan Uji.....	29
3.6.2 Pelaksanaan Penelitian	29
a. Penginfeksian bakteri <i>A. hydrophila</i>	29
b. Perendaman Ikan Uji.....	30
c. Pengambilan Sampel Darah Ikan Nila.....	30
d. Uji Hematologi.....	30
3.7 Parameter Uji	33
3.7.1 Parameter Utama	33
3.7.2 Parameter Penunjang.....	33
3.8 Analisa Data.....	33
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Analisis Hematologi.....	34
4.1.1 Jumlah Eritrosit	34
4.1.2 Jumlah Leukosit.....	38
4.1.3 Diferensial Leukosit	42
a. Limfosit	42
b. Monosit.....	45
c. Neutrofil	48
4.2 Patologi Klinis Ikan Nila.....	52
4.3 Kualitas Air.....	54
4.3.1 Suhu	54
4.3.2 Derajat Keasaman (pH).....	54
4.3.3 Oksigen Terlarut (DO)	55
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	56
5.2 Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	62

DAFTAR GAMBAR

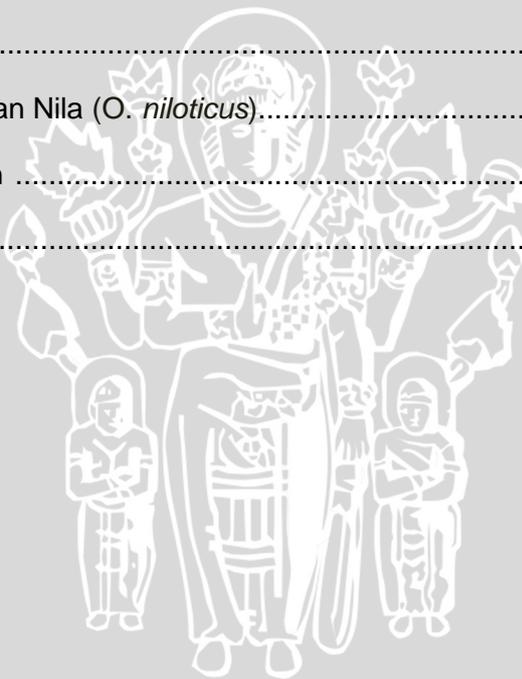
Gambar	Halaman
1. Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	5
2. Bakteri <i>A. hydrophila</i>	9
3. Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) yang terinfeksi <i>A. hydrophila</i>	11
4. Daun Mengkudu (<i>M. citrifolia</i>)	12
5. Mekanisme Sistem Kekebalan Tubuh Ikan	15
6. Senyawa Flavonoid	17
7. Eritrosit	18
8. Limfosit	20
9. Monosit	21
10. Neutrofil	22
11. Denah Penelitian	28
12. Grafik Regresi Total Eritrosit	36
13. Grafik Regresi Total Leukosit	40
14. Grafik Regresi Total Limfosit	43
15. Grafik Regresi Total Monosit	47
16. Grafik Regresi Total Neutrofil	50
17. Mata Rusak (a) dan Badan Bengkak (b)	53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perlakuan Penelitian	27
2. Rataan Jumlah Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	34
3. Analisis Sidik Ragam Jumlah Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	34
4. Uji BNT Jumlah Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	35
5. Rataan Jumlah Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	38
6. Analisis Sidik Ragam Jumlah Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	39
7. Uji BNT Jumlah Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	39
8. Rataan Jumlah Limfosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	42
9. Analisis Sidik Ragam Jumlah Limfosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	42
10. Uji BNT Jumlah Limfosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	43
11. Rataan Jumlah Monosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	45
12. Analisis Sidik Ragam Jumlah Monosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	46
13. Uji BNT Jumlah Monosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	46
14. Rataan Jumlah Neutrofil Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	49
15. Analisis Sidik Ragam Jumlah Neutrofil Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	49
16. Uji BNT Jumlah Neutrofil Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian	62
2. Bahan Penelitian.....	64
3. Perhitungan Dosis Ekstrak Kasar Daun Mengkudu (<i>M. citrifolia</i>)	65
4. Perhitungan Jumlah Eritrosit.....	66
5. Jumlah Leukosit	67
6. Jumlah Limfosit.....	68
7. Jumlah Monosit	69
8. Jumlah Neutrofil.....	70
9. Gambaran Darah Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	71
10. Kegiatan Penelitian	72
11. Kualitas Air	73



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia, yang memiliki 13.667 pulau terbentang membentuk daratan yang sangat luas, dengan total panjang garis pantai lebih dari 81.000 km. Gambaran geografis ini menunjukkan suatu potensi yang sangat besar bagi sumber daya kelautan dan pantainya. Namun, juga memiliki tantangan yang besar dalam pengelolaannya, untuk dapat memperoleh manfaat ekonomi yang optimal (Murtidjo, 2002).

Salah satu cara untuk memenuhi kebutuhan permintaan ikan sebagai menu makanan sehari-hari adalah dengan melakukan budidaya. Budidaya merupakan salah satu kegiatan untuk memproduksi biota (organisme) akuatik di lingkungan terkontrol dalam rangka untuk mendapatkan keuntungan atau profit.

Salah satu jenis ikan air tawar yang cukup banyak dibudidayakan adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*), karena ikan nila (*O. niloticus*) sangat cocok dibudidayakan di wilayah Indonesia. Ikan nila didatangkan dari Taiwan pada tahun 1969. Salah satu kendala dalam usaha peningkatan pengembangan perikanan adalah masalah penyakit yang sering menyerang ikan. Diantara penyakit-penyakit tersebut adalah penyakit infeksi yang diakibatkan oleh parasit, virus, bakteri dan jamur. Salah satu bakteri yang sering menyerang ikan nila adalah *Aeromonas hydrophila* (Rukmana, 1997).

Penanggulangan penyakit pada sistem budidaya umumnya menggunakan antibiotik. Akan tetapi, penggunaan antibiotik saat ini sudah dilarang karena dapat menimbulkan efek resisten pada bakteri patogen serta mengakibatkan pencemaran pada lingkungan. Penggunaan antibiotik pada ikan konsumsi dapat meninggalkan residu pada tubuh inangnya, sehingga tidak aman apabila dikonsumsi oleh manusia, karena dapat menyebabkan efek resistensi pada

bakteri yang bersifat *infectious* bagi manusia. Oleh karena itu diperlukan alternatif pengobatan lain yang lebih ramah lingkungan dan tidak menimbulkan efek resisten terhadap bakteri. Alternatif lainnya yang dapat digunakan adalah dengan memanfaatkan obat-obatan herbal (Kamaludin, 2011).

Salah satu bahan alami yang dapat digunakan dalam pengobatan ikan yang terserang oleh bakteri adalah daun mengkudu (*M. citrifolia*). Pada daun mengkudu memiliki bahan aktif antharakinon dan proxeronin. Antharakinon berfungsi sebagai anti mikroba dan anti jamur, sedangkan proxeronin bermanfaat dalam peremajaan sel. Selain itu daun mengkudu juga mengandung catechin, serat kasar, protein, zat kapur, karoten, asam amino utuh dan vitamin A. Bahan aktif yang ada pada daun mengkudu juga dapat berfungsi sebagai anti alergi juga anti bakteri (Nuraini, 2014).

1.2 Perumusan Masalah

Aeromonas hydrophila yang patogen, diduga memproduksi faktor-faktor eksotoksin dan endotoksin, yang sangat berpengaruh pada patogenitas bakteri ini. Menurut Angka (2001) toksin yang dihasilkan oleh bakteri *A. hydrophila* adalah eksotoksin dan endotoksin. Endotoksin dapat menyebabkan radang, demam dan kejutan (*shock*) pada hewan inang. Endotoksin dilepaskan hanya bila sel dari bakteri tersebut hancur karena lisis. Karena itu, umumnya endotoksin hanya memegang peranan membantu dalam menyebarkan penyakit.

Pengobatan tradisional dengan fitofarmaka dan pemanfaatan bahan obat alamiah lainnya mulai menjadi perhatian dunia sekarang. Hal ini disebabkan karena obat kemoterapi serta obat kimia lainnya mempunyai efek samping yang mengganggu keseimbangan kesehatan dan lingkungan (Simanungkalit, 2000). Beberapa bahan fitofarmaka bisa digunakan untuk menanggulangi bakteri *A. hydrophila* salah satunya adalah daun mengkudu (*M. citrifolia*) yang

mengandung minyak esensial yang bersifat antibakteri. Selain minyak esensial, daun mengkudu (*M. citrifolia*) juga mengandung flavonoid yang bersifat antibakteri.

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

- Apakah pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) dengan cara perendaman berpengaruh terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.4 Hipotesis

- H₀ : Diduga pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) dengan dosis yang berbeda tidak mempengaruhi gambaran hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.
- H₁ : Diduga pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) dengan dosis yang berbeda dapat mempengaruhi gambaran hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Januari - Februari 2015.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Nila (*O. niloticus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi ikan nila (*O. niloticus*) menurut Hardi (2011) adalah sebagai berikut :

Phylum	: Vertebrata
Kelas	: Pisces
Sub Kelas	: Teleostei
Ordo	: Percomorphi
Sub ordo	: Percoidea
Famili	: Cichlidae
Genus	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>O. niloticus</i>

Menurut Setyo (2006), benih ikan nila jantan lebih cepat pertumbuhannya dari jenis betina. Ciri khas ikan nila memiliki garis-garis vertikal di badannya hingga ekor, dengan jumlah semakin banyak sesuai menurut umur dan ukuran ikan. Morfologi ikan nila dapat dibedakan dengan jenis ikan tilapia lainnya, dari bentuk tubuh, sisik, mata dan sirip.

Menurut Akbar, Devi dan Kusuma (2010), ikan nila yang berukuran sedang, panjang total (moncong hingga ujung ekor) mencapai sekitar 30 cm. Sirip punggung dengan 16-17 duri tajam dan 11-15 duri lunak, sirip anal dengan 3 duri tajam dan 8-11 duri lunak. Tubuh berwarna kehitaman atau keabuan, dengan beberapa pita gelap melintang yang makin mengabur pada ikan dewasa. Ekor bergaris-garis tegak, 7-12 buah. Tenggorokan, sirip dada, sirip perut, sirip ekor dan ujung sirip punggung dengan warna merah atau kemerahan atau kekuningan ketika musim berbiak. Ikan nila yang masih kecil belum tampak

perbedaan alat kelaminnya. Setelah berat badannya mencapai 50 gram, dapat diketahui perbedaan antara jantan dan betina. Perbedaan antara ikan jantan dan betina dapat dilihat pada lubang genitalnya dan juga ciri-ciri kelamin sekundernya. Pada ikan jantan, di samping lubang anus terdapat lubang genital yang berupa tonjolan kecil meruncing sebagai saluran pengeluaran kencing dan sperma. Tubuh ikan jantan juga berwarna lebih gelap, dengan tulang rahang melebar ke belakang yang memberi kesan kokoh. Morfologi ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Gambar 1 berikut ini:



Gambar 1. Ikan Nila (*O. niloticus*) (Farouq, 2011)

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Ikan nila (*O. niloticus*) memiliki toleransi yang tinggi terhadap lingkungan hidupnya, sehingga bisa dipelihara di dataran rendah yang berair payau hingga di dataran tinggi yang berair tawar. Habitat hidup ikan ini cukup beragam, bisa di sungai, danau, waduk, rawa, sawah, kolam, atau tambak. Ikan nila dapat tumbuh secara normal pada kisaran suhu 14°C - 38°C dan dapat memijah secara alami pada suhu dengan kisaran 22°C - 37°C. Suhu optimum bagi ikan ini untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan adalah berkisar antara 25°C - 30°C. Tingkat pertumbuhan ikan nila biasanya akan terganggu jika nilai suhu habitatnya lebih rendah dari 14°C atau pada tingkat suhu di atas 38°C. Pada

suhu 6°C atau 42°C ikan nila akan mengalami kematian. Ikan nila bisa tumbuh dan berkembang biak di perairan dengan salinitas 0‰ - 29‰. Ikan nila masih bisa tumbuh, tapi tidak bisa berproduksi di perairan dengan salinitas tinggi atau berkisar 29‰ - 35‰. Ikan nila yang masih kecil atau benih biasanya lebih cepat menyesuaikan diri terhadap kenaikan salinitas dibandingkan dengan ikan nila yang berukuran lebih besar (Akbar *et.al.* , 2010).

Ikan nila termasuk jenis Tilapia, merupakan ikan yang eurihalin dengan beberapa keunggulan, yaitu tahan terhadap kondisi lingkungan yang kurang baik, seperti kadar oksigen rendah dan mempunyai pertumbuhan yang baik. Selain itu nilai komersialnya tinggi karena digunakan sebagai pengganti kakap yang penyediaannya saat ini belum kontinu (Sitasiwi, 1998).

Habitat ikan nila secara umum sama dengan jenis tilapia lainnya, habitat adalah suatu lingkungan hidup tertentu sebagai tempat suatu organisme hidup dan berkembang biak. Ikan nila umumnya hidup di perairan tawar, seperti sungai, danau, waduk, rawa, sawah dan saluran irigasi, tetapi toleransi yang luas terhadap salinitas sehingga ikan nila dapat hidup dan berkembang biak pada perairan payau dengan salinitas yang disukai antara 0‰ - 35‰. Ikan nila gift air tawar dapat dipindahkan ke air payau, dengan proses adaptasi yang bertahap ikan nila yang masih kecil 2-5 cm, lebih tahan terhadap perubahan lingkungan dari pada ikan yang sudah besar. Pemindahan secara mendadak dapat menyebabkan ikan tersebut stress bahkan mati (Kordi, 2000).

2.1.3 Kebiasaan Makan Ikan Nila

Ikan nila di perairan alami memakan plankton, perifiton, atau tumbuhan air yang lunak, bahkan cacing pun dimakannya pula. Dari pemeriksaan secara laboratoris, pada perut ikan nila ditemukan berbagai macam jasad seperti *Soelastrum*, *Scenedesmus*, *Detritus*, *Alga benang*, *Ratotoria anabaena*, *Arcella*,

Copepoda, *Diffflugiae*, *Oligochaeta*, larva *Chironomous* dan sebagainya (Susanto, 1991).

Kebiasaan unik ikan ini adalah kemampuan ikan-ikan dewasa yang telah berukuran besar untuk mengumpulkan makanan (plankton) dari perairan dan dengan bantuan lendir (mukus) dalam mulut, maka plankton akan bergumpal atau membentuk partikel sehingga tidak mudah keluar kembali melalui jaringan insang (Susanto, 1991).

Ikan Nila tergolong ikan pemakan segala atau omnivora, karena itulah, ikan ini sangat mudah dibudidayakan. Ketika masih benih, makanan yang disukai ikan Nila adalah *zooplankton* (plankton hewani), seperti *Rotifera* sp., *Monia* sp., atau *Daphnia* sp., selain itu, juga memakan alga atau lumut yang menempel pada benda-benda di habitat hidupnya (Rukmana, 1997).

Menurut Amri dan Khairuman (2003), ikan nila tergolong ikan pemakan segala (omnivora), sehingga bisa mengkonsumsi makanan, berupa hewan dan tumbuhan. Makanan larva ikan nila adalah zooplankton seperti *Rotifera* sp., *Daphnia* sp., serta alga atau lumut yang menempel pada benda-benda di habitat hidupnya, Apabila telah dewasa ikan nila dapat diberi makanan tambahan berupa, dedak halus, bungkil kelapa, pellet, ampas tahu dan lain-lain.

2.1.4 Luka pada Ikan Nila (*O. niloticus*)

Menurut Prajitno (2007), infeksi bakteri *Aeromonas* spp. pada ikan nila (*O. niloticus*) bersifat sekunder yaitu bakteri akan masuk dalam tubuh ikan jika ada kerusakan jaringan yang disebabkan oleh oleh kerusakan fisik atau karena serangna virus atau mikroorganisme lainnya. *A. hydrophila* merupakan penyerang sekunder yang memperparah keadaan. Selain itu ikan nila (*O. niloticus*) yang terserang bakteri *A. hydrophila*, biasanya akan memperlihatkan tanda-tanda berikut ini:

- Warna tubuhnya berubah menjadi agak gelap.
- Kulitnya menjadi kasar dan timbul pendarahan yang selanjutnya akan menjadi borok (*haemorrhagic*).
- Kemampuan berenang akan menurun dan sering mengambang di permukaan air karena insangnya rusak sehingga sulit bernafas.
- Sering terjadi pendarahan pada organ bagian dalam seperti hati, ginjal maupun limpa. Sering juga terlihat perutnya agak kembung (*dropsy*) seluruh siripnya rusak dan insangnya menjadi berwarna keputih-putihan, mata rusak dan agak menonjol (*exophthalmia*).

Menurut Alex (2011), beberapa ciri fisik ikan nila (*O. niloticus*) yang terkena *A. hydrophila* antara lain: mulut dan sirip ikan nampak seperti geripis atau biasa dikenal dengan mulut busuk, bintik merah pada sisik yang lama-kelamaan menjadi lubang besar, mata menonjol, bakteri bisa menyerang pada organ dalam ikan hingga menjadi borok, dalam kondisi yang sudah parah bau kolam akan busuk seperti bau telur busuk.

2.2 Bakteri *A. hydrophila*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Holt, Kreig, Sneath, Staley dan Williams (1998), berikut adalah klasifikasi *A. hydrophila*:

Divisio	: Protophyta
Class	: Schyzomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Sub Ordo	: Pseudomonadineae
Family	: Vibrionaceae
Genus	: Aeromonas
Species	: <i>A. hydrophila</i>

A. hydrophila merupakan bakteri *heterotrophic unicellular*, tergolong protista prokariot yang dicirikan dengan adanya membran yang memisahkan inti dengan sitoplasma. Bakteri ini biasanya berukuran $0,7-1,8 \times 1,0-1,5 \mu\text{m}$ dan bergerak menggunakan sebuah polar flagel. *A. hydrophila* bersifat motil dengan flagela tunggal di salah satu ujungnya. Bakteri ini berbentuk batang sampai dengan kokus dengan ujung membulat, fakultatif anaerob, dan bersifat mesofilik dengan suhu optimum $20^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}$ (Kabata 1985).

A. hydrophila bersifat gram negatif, oksidasi positif dan katalase positif. Bakteri ini juga mampu memfermentasikan beberapa gula seperti glukosa, fruktosa, maltosa, dan trehalosa. Hasil fermentasi dapat berupa senyawa asam atau senyawa asam dengan gas. Pada nutrient agar, setelah 24 jam dapat diamati koloni bakteri dengan diameter 1-3 mm yang berbentuk cembung, halus dan terang (Isohood dan Drake 2002). Morfologi *A. hydrophila* disajikan pada Gambar 2 berikut ini:



Gambar 2. Bakteri *A. hydrophila* (Jamal, 2008)

2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri fakultatif anaerob, yaitu bakteri yang dapat berkembang dalam keadaan dengan atau tanpa oksigen, meskipun perkembangannya lebih cepat pada lingkungan yang ada oksigen. Bakteri

fakultatif anaerob (tanpa ada oksigen) akan tersebar di seluruh medium jika diinokulasikan pada medium cair, bersifat heterotropik, yaitu mampu mengoksidasi bermacam-macam persenyawaan organik sebagai sumber karbon (Prajitno, 2007).

Bakteri *A. hydrophila* termasuk kelompok bakteri gram negatif. Yang dapat tumbuh maksimal pada kisaran suhu 38°C - 41°C dan pertumbuhan minimal pada suhu 0°C - 5°C dengan kisaran pH 5,5-9 (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

Perkembangbiakan bakteri *A. hydrophila* secara aseksual dengan pemanjangan sel yang diikuti pembelahan inti yang disebut pembelahan biner. Waktu yang diperlukan untuk pembelahan satu sel menjadi dua sel lebih kurang 10 menit (Volk dan Wheeler, 1988).

2.2.3 Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* umumnya dapat menyebabkan infeksi pada seluruh tubuh disertai dengan pendarahan pada organ dalam tubuh ikan. Penyakit yang dapat ditimbulkan oleh bakteri *A. hydrophila* antara lain: timbulnya bercak merah pada permukaan tubuh, kulit beradang yang akhirnya terjadi ulkus-ulkus seperti bisul, pendarahan pada hati, pendarahan sirip, pendarahan otot, lendir berdarah pada rektum dan pembentukan cairan-cairan berdarah. Ikan yang terserang bakteri *A. hydrophila* biasanya dapat mati dalam waktu satu minggu. Bakteri *A. hydrophila* ternyata sangat patogenik bagi ikan air tawar (Prajitno, 2007).

Infeksi bakteri *A. hydrophila* dapat terjadi melalui permukaan tubuh yang luka, saluran pencernaan makanan atau masuk melalui insang, kemudian masuk ke pembuluh darah dan akan menyebar pada organ dalam lainnya. Infeksinya bakteri gram negatif ini bersifat laten (berkepanjangan), jadi tidak memperlihatkan gejala penyakit meskipun telah dijumpai pada tubuh ikan. Organ yang dapat

diserang antara lain insang, ginjal, pankreas bahkan otot tulang (Kabata, 1985). Ikan Nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Gambar 3 berikut ini:



Gambar 3. Ikan Nila (*O. niloticus*) yang Terinfeksi Bakteri *A. hydrophila* (Jamal, 2008)

2.3 Daun Mengkudu (*M. citrifolia*)

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Wijayakusuma (2002), klasifikasi daun mengkudu (*M. citrifolia*) adalah sebagai berikut :

Devisi : Antophyta

Sub Devisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Anak kelas : Sympetalae

Bangsa : Rubiales

Suku : Rubiaceae

Genus : Morinda

Spesies : *M. citrifolia*

Menurut Pranata (2013), secara umum daun mengkudu (*M. citrifolia*) memiliki ciri-ciri sebagai berikut: tumbuh di dataran rendah pada ketinggian di

bawah 1600 di atas permukaan laut (dpl), tinggi pohon mengkudu berkisar 3-8 m, daunnya tersusun berhadapan dengan panjang 20-40 cm dan dengan lebar 7-16 cm, bunganya berwarna putih dan daunnya berwarna hijau tua.

Menurut Nuraini (2014), pohon mengkudu hidup pada ketinggian 4-6 m. Pohon ini berbatang bengkok, berkulit cokelat keabu-abuan atau cokelat kekuning-kuningan dan berbelah dangkal. Berdaun tunggal, besar, berbentuk jorong-lanset dengan ukuran 15-50 X 5-17 cm, tebal dan berwarna hijau mengkilap tanpa bulu. Ujung lancip pendek, pangkal juga pendek yaitu berbentuk pasak berukuran 0,5-2,5 cm, tepinya rata dan urat daunnya menyirip. Daun mengkudu terletak berhadap-hadapan, mempunyai daun penumpu berbentuk segitiga lebar dengan ukuran bervariasi. Daun mengkudu (*M. citrifolia*) disajikan pada Gambar 4 berikut ini:



Gambar 4. Daun Mengkudu (*M. citrifolia*) (Munandi, 2013)

2.3.2 Bahan Aktif Daun Mengkudu (*M. citrifolia*)

Menurut Nuraini (2014), daun mengkudu (*M. citrifolia*) mengandung antharakinon dan proxeronin. Antharakinon berfungsi sebagai anti mikroba dan anti jamur, sedangkan proxeronin bermanfaat dalam peremajaan sel. Selain itu daun mengkudu juga mengandung catechin, serat kasar, protein, zat kapur,

karoten, asam amino utuh dan vitamin A. Bahan aktif yang ada pada daun mengkudu juga dapat berfungsi sebagai anti alergi juga anti bakteri.

Dalam daun mengkudu (*M. citrifolia*) ada 58 jenis, zat-zat tersebut adalah xeronon, plant steroid, alizarin, lycine, sositum, caprylic acid, arginine, proxeronine, antra quinones, trace elemens, phenylalanine, magnesium, saranjidiol, cafactors, glutamate, nordamnachantal, caproic acid, multi reseptor activators, scopoletin, Mm MaR Glucob, bioflavonoids, cysteine, serotonin, prolin, caratenoids, sitrosterols, iecine, rubiadin, phospate, sitosterol, alkaloids, damnachantal, ursolic acid, alkaloid, histadine, morindone, asperuloside, aspartate, proxeronase glocopyronase, serotonin precursors, rubiadin Mme, carbonate, tryptophane, clororubin, tyrosine dan serine, terpenes, enzymes, threonine, protein, acetin glucob, alanine, morindine, glycosides, methionine, morindadiol, iron, dan vitamin (Bangun dan Sarwono, 2002).

Beberapa tumbuhan yang tergolong sebagai pestisida nabati diketahui mengandung senyawa yang bersifat sabagai antimikroba, baik sebagai antijamur maupun antibakteri. Salah satu tanaman yang diketahui bersifat antibakteri adalah tanaman mengkudu (*M. citrifolia*). Tanaman mengkudu dapat digunakan sebagai antibakteri mulai dari biji, buah dan juga daunnya. Beberapa macam kandungan senyawa aktif yang dapat berfungsi sebagai zat antibakteri adalah acubin, alizarin, antaraquinon dan flavonoid (Waha, 2001).

2.4 Mekanisme Pertahanan Tubuh

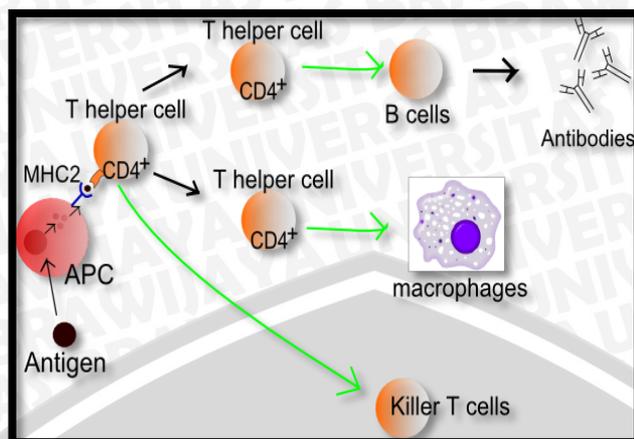
Imunitas diartikan sebagai daya tahan relatif terhadap infeksi mikroba tertentu. Sejumlah faktor yang memodifikasi mekanisme kekebalan yaitu genetik, umur, lingkungan, anatomik dan fisiologik. Dalam kaitannya dengan sistem kekebalan tubuh, imunitas adalah suatu keadaan sangat resisten terhadap organisme patogen tertentu (Bellanti, 1993).

Ikan memiliki sistem kekebalan tubuh untuk melawan berbagai macam penyakit, yaitu sistem pertahanan seluler dan sistem pertahanan humoral. Sistem pertahanan seluler bersifat non spesifik sedangkan sistem pertahanan humoral bersifat spesifik (Anderson, 1974).

Respon humoral merupakan respon yang bersifat spesifik dilakukan oleh suatu substansi yang dikenal sebagai antibodi atau immunoglobulin. Antibodi merupakan suatu senyawa protein yang terbentuk sebagai respon pertahanan terhadap masuknya benda asing kedalam tubuh yang dapat bereaksi dengan antigen khusus. Antigen merupakan benda asing bagi tubuh yang dapat memproduksi antibodi spesifik, antibodi akan terbentuk apabila limfosit telah berfungsi dengan baik (Tizard, 1988).

Menurut Sindermann (1966), resistensi terhadap penyakit ikan melibatkan banyak faktor, termasuk kondisi individu, karakteristik individu, pengaruh musim dan juga asupan gizi. Imunitas memiliki aspek seluler dan humoral dan memanjang dari fagositosis dan aktivitas tubuh. Mekanisme pertahanan tubuh ini dapat dilakukan secara alami apabila ikan terkena penyakit.

Mekanisme sistem kekebalan tubuh ikan disajikan pada Gambar 5, antigen akan terbentuk ketika ada benda asing, antigen basil yang telah diproses dapat juga dipresentasikan ke sel T helper, disebut CD_4 melalui molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC). Sel CD_4 sendiri terdiri dari dua subpopulasi yaitu sel T helper 1 (Th 1) dan sel T helper 2 (Th 2) masing-masing menghasilkan beberapa sitokin yang berperan dalam regulasi sistim imun. Sel Th 1 menghasilkan Interleukin (IL-4) yang dapat menghambat makrofag dan IL-6 yang berperan dalam pematangan sel B dan juga pembentukan antibody (Lawson, 2011).



Gambar 5. Mekanisme Sistem Kekebalan Tubuh Ikan (Lawson, 2011)

Sistem pertahanan seluler merupakan sistem pertahanan yang bersifat non spesifik, respon ini meliputi barier mekanik dan kimiawi (mucus, kulit, sisik dan insang) dan pertahanan seluler (sel makrofag, leukosit seperti : monosit, neutrofil, eosinofil dan basofil). Mucus ikan yang menyelimuti permukaan tubuh, insang dan terdapat lapisan mukosa usus berperan sebagai pemerangkap pathogen secara mekanik dan eliminasi pathogen secara kimiawi dengan lizozim dan enzim proteolitik lainnya (Anderson, 1974).

2.5 Mekanisme Kerja Antimikroba

Menurut Laili (2007), cara kerja zat antimikroba dalam melakukan efeknya terhadap mikroorganisme adalah sebagai berikut:

1. Merusak Dinding Sel

Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai dibentuk. Tersusun atas peptidoglikan, asam terkonat, protein, lipoprotein dan polisakarida.

2. Mengubah Permeabilitas Membran

Membran sitoplasma tersusun atas protein dan fosfolipid, bersifat permeable, berfungsi mengatur lewatnya substansi keluar-masuk sel, kerusakan

membran mengakibatkan nukleotida dan enzim merembes keluar dan bahan-bahan yang dibutuhkan untuk kelangsungan hidupnya terhambat masuk.

3. Merusak Sitoplasma

Sitoplasma terdiri atas 80% air, asam nukleat, protein, karbohidrat, lipid, ion organik dan sebagai senyawa dengan berat molekul rendah. Adanya konsentrasi beberapa zat kimia dapat menyebabkan koagulasi komponen-komponen seluler yang vital.

4. Menghambat Kerja Enzim

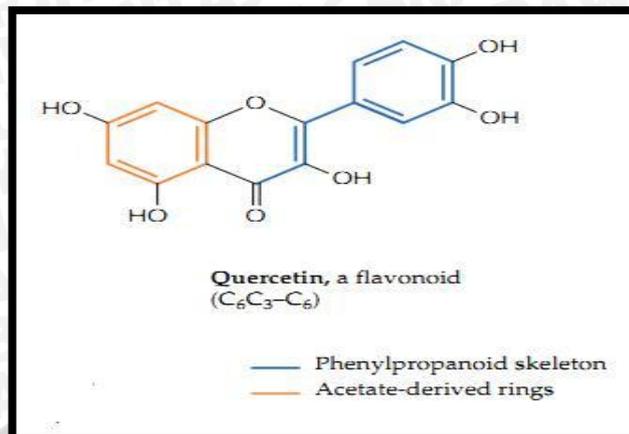
Penghambat kerja enzim untuk beberapa zat kimia akan merugikan gugus enzim sulfaridrin sehingga mengganggu proses metabolisme.

5. Menghambat Sintesis Nukleat dan Protein

DNA, RNA dan protein memegang peranan penting di dalam proses kehidupan normal sel, sehingga mengganggu pada pembentukan fungsi fungsi zat-zat tersebut yang menyebabkan kerusakan sel.

Antimikroba adalah suatu zat yang mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba. Apabila zat tersebut mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri maka zat tersebut dapat disebut sebagai antibakteri. Mekanisme antimikroba antara lain dengan jalan merusak dinding sel, merusak membran sitoplasma, mendenaturasi protein dan menghambat kerja enzim dalam sel (Prajitno, 2007).

Tanaman mengkudu dapat digunakan sebagai antibakteri mulai dari biji, buah dan juga daunnya. Beberapa macam kandungan senyawa aktif yang dapat berfungsi sebagai zat antibakteri adalah acubin, alizarin, antaraquinon dan flavonoid (Waha, 2001). Senyawa flavonoid disajikan pada Gambar 6 berikut ini:



Gambar 6. Senyawa flavonoid (Safitri *et al.*, 2012)

2.6 Hematologi

Menurut Sacher dan Richard (2004), hematologi adalah ilmu tentang darah dan jaringan pembentuk darah yang merupakan salah satu organ terbesar didalam tubuh. Darah membentuk 6 sampai 8% dari berat tubuh total dan terdiri dari sel-sel darah yang tersuspensi didalam suatu cairan yang disebut plasma. Tiga jenis sel darah utama adalah sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan trombosit.

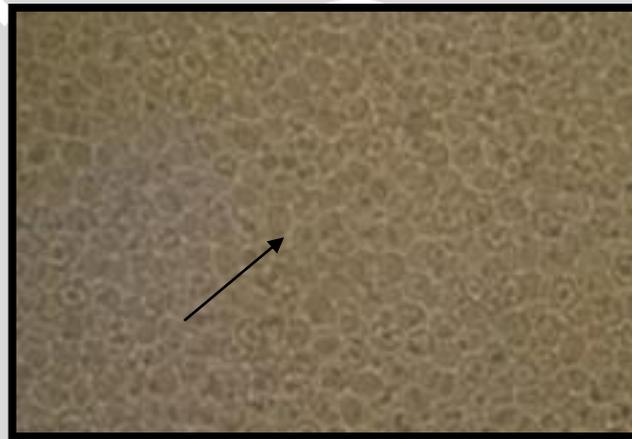
Menurut Parker (2000), hematologi adalah ilmu yang berhubungan dengan darah. Hematologi membahas hal-hal seperti sel-sel darah merah sebagai pengangkut oksigen, sel-sel darah putih untuk memerangi kuman, trombosit untuk penggumpalan darah dan banyak unsur lainnya. Ada ratusan pemeriksaan mikroskopik dan tes kimiawi terhadap darah, tergantung pada penyakit yang dicurigai. Hemoglobin terdapat didalam sel-sel darah merah, membuat sel-sel darah tersebut berwarna merah dan mengangkut darah ke seluruh tubuh.

Darah ikan tersusun atas cairan plasma dan sel-sel darah yang terdiri dari sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah (trombosit). Didalam plasma darah terkandung garam-garam anorganik (natrium

klorida, natrium bikarbonat dan natrium fosfat), protein (dalam bentuk albumin, globulin dan fibrinogen), lemak (dalam bentuk lesitin dan kolesterol) serta zat-zat lainnya misalnya hormon, vitamin, enzim dan nutrient (Vonti 2008).

2.6.1 Sel Darah Merah (Eritrosit)

Eritrosit adalah sel darah yang sangat berlimpah pada vertebrata dengan pengecualian pada mamalia, tetap ternukleasi sepanjang siklus hidup. Fungsi utama yang terkait dengan sel darah merah ini adalah pertukaran gas (pernafasan) dan sebagai kekebalan tubuh (Monera dan Simon, 2008). Penampang eritrosit ikan disajikan pada Gambar 7 berikut ini:



Gambar 7. Eritrosit (Hafidz, 2011)

Jumlah eritrosit ikan normal berkisar antara $1,05-3,0 \times 10^6$ sel/mm³. Berkurangnya jumlah eritrosit, hemoglobin dan hematokrit juga disebabkan terjadinya anemia pada ikan. Anemia berdampak pada terhambatnya pertumbuhan ikan, karena rendahnya jumlah eritrosit menyebabkan suplai makanan ke sel, jaringan dan organ akan berkurang sehingga proses metabolisme ikan menjadi terhambat (Farouq, 2011).

2.6.2 Sel Darah Putih (Leukosit)

Leukosit merupakan komponen penting, mempunyai peran dalam sistem kekebalan tubuh ikan. Peningkatan jumlah sel darah putih ini merupakan respon

dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel asing termasuk adanya infeksi bakteri yang masuk ke tubuh ikan. Hasil produksi leukosit akan diarahkan menuju daerah terinfeksi sebagai pertahanan ikan. Naiknya jumlah leukosit merupakan indikator adanya infeksi yang mengakibatkan terjadinya inflamasi (Suhermanto, Andayani dan Maftuch, 2011).

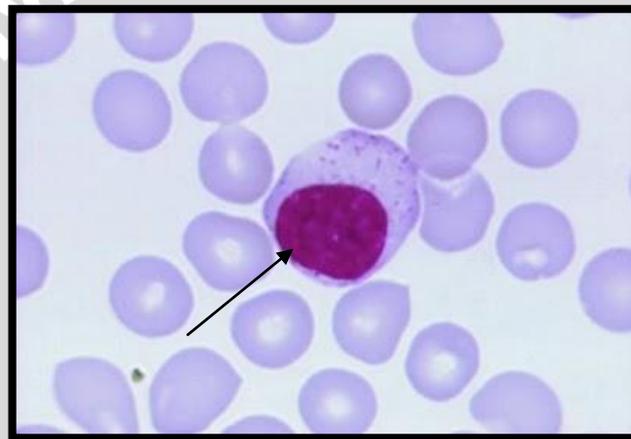
Leukosit merupakan salah satu komponen darah yang berfungsi sebagai pertahanan non-spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminir patogen melalui proses fagositosis. Leukosit berfungsi sebagai pertahanan dalam tubuh, yang bereaksi dengan cepat terhadap masuknya antigen ke dalam tubuh ikan (Sukenda, Jamal, Wahyuningrum dan Hasan, 2008).

Leukosit dikerahkan untuk menghadang benda asing yang masuk ke dalam tubuhnya melalui aliran darah. Apabila ada benda asing masuk ke dalam tubuh maka leukosit akan memberikan respon dengan meningkatnya jumlahnya sebagai bentuk pertahanan tubuh. Respon imun akan meningkat dengan cara mengaktifkan leukosit, sehingga peran leukosit sangat penting dalam sistem kekebalan tubuh (Mas'ud, 2013).

2.6.3 Limfosit

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

Menurut Mundriyanto, Taufik dan Taukhid (2002), mekanisme kerja limfosit dalam peranannya untuk system kekebalan tubuh berfungsi menyediakan zat kebal untuk pertahanan tubuh dengan cara mengenali antigen melalui reseptor spesifik pada membran sel. Pada limfosit T, ketika tubuh atau jaringan terpapar oleh antigen, maka limfosit T tidak mampu mengenal antigen tersebut sendirian tanpa melalui reseptor spesifik. Dengan adanya sel reseptor spesifik ini memungkinkan sel T lebih cepat mengenali antigen yang ada sehingga langsung memberikan reaksi kekebalan dan menstimulasi sel B untuk mengeluarkan antibodi. Limfosit ikan disajikan pada Gambar 8 berikut ini:



Gambar 8. Limfosit (Hafidz, 2011)

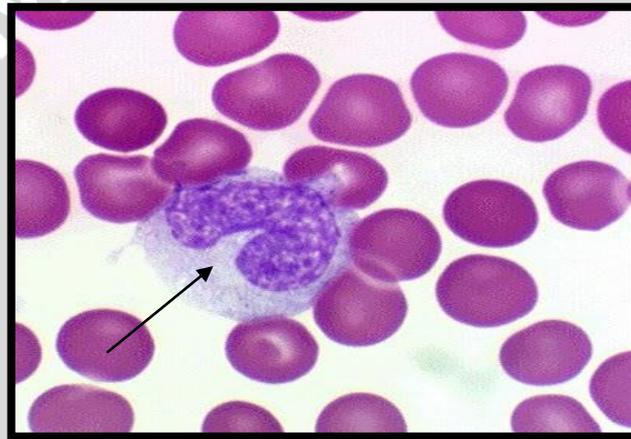
2.6.4 Monosit

Monosit ikan berasal dari jaringan hemopoietik ginjal. Secara morfologi bentuk monosit ikan serupa dengan monosit mamalia. Persentase monosit pada ikan sebanyak 0.1 % dari populasi leukosit total yang bersirkulasi. Namun demikian, jumlahnya akan bertambah dalam waktu singkat (\pm 48 jam) setelah disuntik dengan benda asing seperti karbon (Roberts, 2001).

Menurut Hardi (2011), persentase monosit ikan nila normal sebesar 3,9-5,9%. Fungsi monosit itu sendiri yaitu sebagai makrofag, dimana monosit tidak terlalu banyak dibutuhkan untuk memfagositosis, dikarenakan belum ada infeksi

yang masuk ke dalam tubuh yang merangsang produksi monosit. Selain itu, fungsi lain dari monosit adalah sebagai agen makrofag yang memfagosit benda asing yang masuk ke dalam tubuh.

Menurut Affandi dan Tang (2002), pada saat terjadi infeksi oleh benda asing, maka monosit akan bergerak cepat meninggalkan pembuluh darah menuju daerah yang terinfeksi untuk melakukan fagositosis. Monosit memiliki kemampuan menembus dinding pembuluh kapiler, kemudian masuk ke jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag. Monosit disajikan pada Gambar 9 berikut ini:



Gambar 9. Monosit (Hafidz, 2011)

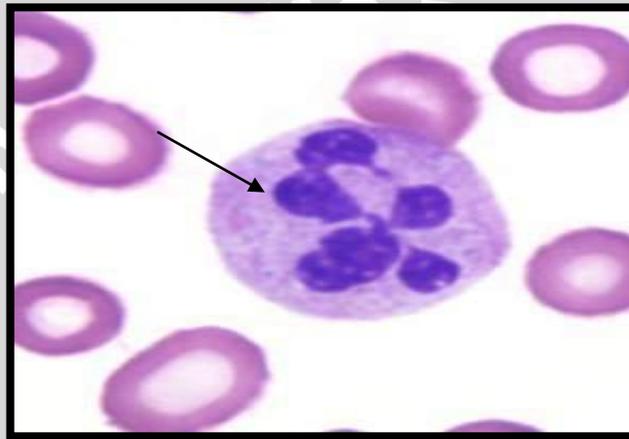
2.6.5 Neutrofil

Neutrofil berperan dalam respon kekebalan terhadap serangan organisme patogen dan mempunyai sifat fagositik. Neutrofil dalam darah akan meningkat bila terjadi infeksi dan berperan sebagai pertahanan pertama dalam tubuh (Alamanda, 2006).

Menurut Hardi (2011), persentase neutrofil ikan nila normal sebesar 10-18,1%. Peningkatan jumlah neutrofil merupakan akibat dari mekanisme kekebalan tubuh yang bekerja sebagai respon adanya infeksi dalam tubuh. Fungsi utama neutrofil yaitu menghancurkan bahan asing melalui proses

fagositosis yaitu kemotaktis dimana sel akan bermigrasi menuju partikel, pelekatan partikel pada sel, penelanan partikel oleh sel dan penghancuran partikel oleh enzim lisosim didalam fagolisosom.

Menurut Jain (1993), setelah proses infeksi 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. Neutrofil disajikan pada Gambar 10 berikut ini:



Gambar 10. Neutrofil (Hafidz, 2011)

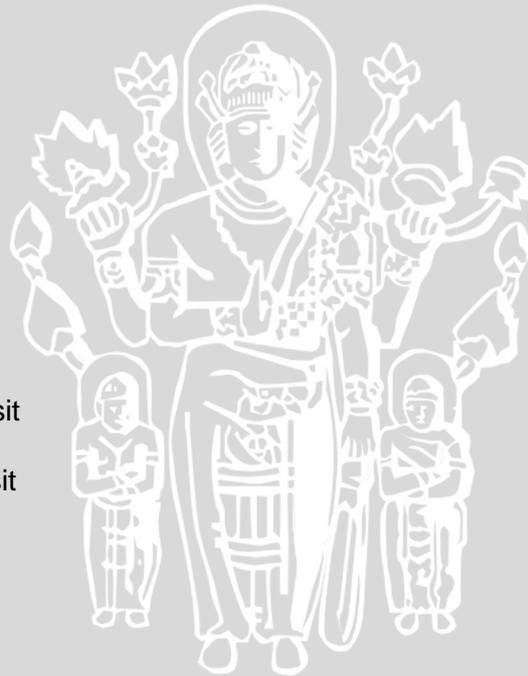
3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk penelitian tentang “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mengkudu (*M. citrifolia*) terhadap Hematologi Ikan Nila (*O. niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*” antara lain:

- Akuarium 40x40x40 cm
- Timbangan Digital
- Aerator
- Selang Aerasi
- Batu Aerasi
- Selang Air
- Nampan
- Pipet tetes
- Pipet thoma leukosit
- Pipet thoma eritrosit
- Handtally counter
- Mikroskop cahaya
- Serok (jaring) Ikan
- Ember plastik
- Filter
- Heater akuarium
- Thermometer
- DO meter
- pH meter



- haemocytometer
- Objek glass
- Cover glass

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Ikan Nila (*O. niloticus*)
- Daun Mengkudu (*M. citrifolia*)
- Kertas label
- Bakteri *A. hydrophila*
- Kertas label
- Methanol
- Larutan Giemsa
- Larutan Turk
- Alkohol 70%
- Kapas
- Tissue
- Etanol 96%
- Kertas Saring
- Akuades
- Larutan Hayem
- Anti Koagulan (Na-sitrat 3.8%)
- Sampel Darah Ikan Nila
- Alumunium Foil
- HCl 0,1 N



3.2 Media Penelitian

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah air tawar di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Air diperoleh dari sumur kemudian dialirkan lewat pipa menuju akuarium berukuran 40x40x40 cm sebanyak 14 buah dan diberi aerasi sebagai suplai oksigen.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimen. Pada dasarnya metode eksperimen yang dilakukan untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat dua variabel atau lebih, dengan mengendalikan pengaruh variabel yang lain. Metode eksperimen dilaksanakan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja (bersifat induce) kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya di dalam variabel terikat (Zulnaidi, 2007).

3.4 Pengambilan Data

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung. Menurut Chariri (2009), observasi partisipasi dilakukan dengan cara mengamati secara langsung perilaku individu dan interaksi yang ada dalam setting penelitian. Oleh karena itu, Peneliti harus terlibat langsung dalam kehidupan sehari-hari subyek yang dipelajari. Dengan cara ini peneliti dapat memperoleh data khusus di luar struktur dan prosedur formal organisasi. Dalam *participant observation*, peneliti melakukan kegiatan sebagai berikut :

- Melibatkan diri dalam aktivitas sehari-hari. Mencatat kejadian, perilaku dan setting social secara sistematis (apa yang terjadi, kapan, dimana, siapa, bagaimana). Adapun data yang dikumpulkan selama observasi adalah: deskripsi program, perilaku, perasaan, dan pengetahuan.

- Wujud data adalah catatan (*field note*): Apa yang terjadi, bagaimana terjadinya, siapa yang ada di sana.
- Catatan semua kejadian atau perilaku yang dianggap penting oleh peneliti (Bisa berupa *checklist* atau deskripsi rinci tentang peristiwa atau perilaku tertentu).

3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap) karena media yang digunakan bersifat homogen, artinya keragaman antara satuan percobaan tersebut kecil, sehingga yang mempengaruhi hasil penelitian hanya faktor kebetulan.

$$Y = \mu + T + \varepsilon$$

Keterangan :

μ = nilai rerata harapan (mean)

τ = pengaruh faktor perlakuan

ε = pengaruh galat

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) dengan dosis 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 800 ppm. Pada penelitian ini digunakan 2 kontrol pembanding yaitu kontrol negatif dan kontrol positif, kontrol negatif sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksian bakteri dan tanpa pemberian ekstrak kasar daun mengkudu, sedangkan kontrol positif sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksian bakteri *A. hydrophila* dan tanpa pemberian ekstrak kasar daun mengkudu. Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sedangkan kontrol negatif dan positif hanya sebagai pembanding. Dari perlakuan tersebut diperoleh total sampel sebanyak 14 sampel.

Penentuan untuk dosis yang diberikan didapat dari hasil penelitian pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya. Perhitungan dosis yang digunakan disajikan pada Lampiran 3. Perlakuan penelitian disajikan pada tabel 1 berikut ini:

Tabel 1. Perlakuan Penelitian

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A ₁	A ₂	A ₃
B	B ₁	B ₂	B ₃
C	C ₁	C ₂	C ₃
D	D ₁	D ₂	D ₃

Keterangan:

A : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman ekstrak kasar daun mengkudu dengan dosis 200 ppm

B : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman ekstrak kasar daun mengkudu dengan dosis 400 ppm

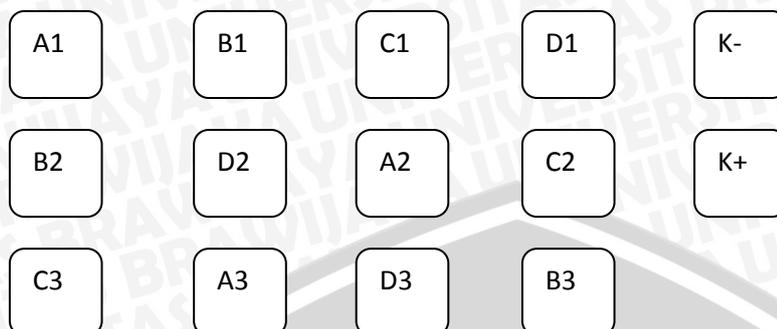
C : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman ekstrak kasar daun mengkudu dengan dosis 600 ppm

D : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman ekstrak kasar daun mengkudu dengan dosis 800 ppm

K(-) : Perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan tanpa pemberian ekstrak kasar daun mengkudu

K(+) : Perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan tanpa perendaman ekstrak kasar daun mengkudu

Denah penelitian disajikan pada Gambar 11 berikut ini :



Gambar 11. Denah Penelitian

Keterangan:

A-B-C-D : perlakuan

K(-) : kontrol negatif

K(+) : kontrol positif

1,2,3 : ulangan

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Persiapan Penelitian

a. Persiapan perendaman (maserasi)

Serbuk daun mengkudu sebanyak 200 gram direndam (maserasi) dalam etanol 96% selama 2 x 24 jam dalam suhu kamar. Larutan yang didapat kemudian disaring dengan kertas saring lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak kasar daun mengkudu dalam bentuk serbuk sebanyak 18,17 gr.

b. Persiapan Alat

- Pencucian Akuarium
- Persiapan alat-alat pendukung (aerasi, pH meter, DO meter)
- Pengisian air pada akuarium

c. Persiapan Hewan Uji

Hewan Uji yang digunakan yaitu ikan nila sebanyak 140 ekor dengan panjang 7-12 cm. Masing-masing akuarium diisi dengan 10 ekor ikan uji. Wu, Liu, Chang dan Hsiesh (2010) menyatakan kepadatan ikan untuk uji in vivo eksperimen dapat dilakukan dengan jumlah 10 ekor/akuarium. Sehingga dalam uji in vivo dalam penelitian ini akuarium diisi dengan 10 ekor ikan uji.

3.6.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Penginfeksian Bakteri *A. hydrophila*

- Persiapan bakteri

Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Jepara, Jawa tengah. Bakteri *A. hydrophila* yang diperoleh adalah bakteri dengan kepadatan 6×10^8 sel/ml, untuk mendapatkan kepadatan 10^7 sel/ml dilakukan pengenceran dengan menggunakan rumus :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan :

N1 : Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)

N2 : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)

V1 : Volume suspense bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V2 : Volume yang diinginkan

Dilakukan infeksi bakteri *A. hydrophila*, kemudian dihitung total eritrosit, total leukosit dan diferensial leukosit ikan nila sesudah diinfeksi.

- Dipindahkan ke dalam akuarium yang berisi air tawar
- Diamati gejala klinis ikan yang sudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*
- Dipelihara selama 1 minggu
- Dilakukan pengukuran suhu, pH dan DO setiap hari pada pagi dan sore hari (pukul 08.00 dan 16.00 WIB)

b. Perendaman Ikan Uji

- Akuarium diisi air sebanyak 15 liter dan ditambahkan ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) sesuai dengan dosis (200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 800 ppm).
- Akuarium diberi aerasi untuk meningkatkan kandungan oksigen terlarut.
- Diambil sampel darah ikan nila terinfeksi sebelum perendaman, dihitung total eritrosit, total leukosit dan difensial leukosit.
- Diredam ikan nila masing-masing 10 ekor/akuarium selama 20 jam
- Dipindahkan ke akuarium yang berisi air tawar dan dipelihara selama 1 minggu, kemudian diamati total eritrosit, total leukosit dan deferensial leukosit pada ikan selama 2 hari satu kali.

c. Pengambilan Sampel Darah Ikan Nila

Ikan Nila diambil sampel darahnya dengan spuit *disposable* yang telah berisi Na Citrat 3,8% sebagai anti koagulan di *caudal peduncle*. Disuntik dengan posisi jarum 45° dan tarik perlahan-lahan sampai darah masuk kedalam spuit.

d. Uji Hematologi

- Penghitungan Jumlah Eritrosit

Menurut Mones (2008), penghitungan jumlah sel darah merah dilakukan dengan menggunakan haemositometer. Sel darah merah dihitung dengan menggunakan rumus :

$$SDM = (a/n) \times (1/v) \times Fp$$

Keterangan :

SDM = jumlah sel darah merah

A = jumlah sel darah merah yang terhitung

N = jumlah kotak hemositometer yang diamati

V = volume hemositometer

Fp = faktor pengenceran

Jumlah sel darah merah dihitung dengan cara pertama-tama sampel darah yang telah bercampur antikoagulan dihisap menggunakan pipet thoma eritroit sampai skala 0,5, kemudian larutan Hayem juga dihisap sampai skala menunjukkan pada angka 101. Pengenceran (1:200). Pipet bulir digoyang-goyangkan agar darah dan larutan hayem bercampur rata, setelah bercampur rata empat tetesan pertama dibuang dan tetesan selanjutnya diteteskan ke haemositometer, hal ini dilakukan karena diperkirakan pada tetesan ke lima, darah dan larutan hayem telah tercampur rata. Kemudian haemositometer ditutup dengan cover glass, lalu diamati di bawah mikroskop dengan cara lensa kondensor diturunkan atau diafragma diturunkan secara perlahan.

- Penghitungan Jumlah Leukosit

Jumlah sel darah putih dihitung dengan cara pertama-tama sampel darah yang telah bercampur antikoagulan dihisap menggunakan pipet thoma leukosit sampai skala 0,5, kemudian larutan Turk juga dihisap sampai skala menunjukkan pada angka 11. Pengenceran (1:20). Pipet bulir digoyang-goyangkan agar darah dan larutan Turk bercampur rata. Empat tetesan pertama dibuang dan tetesan selanjutnya diteteskan ke haemositometer, hal ini dilakukan karena diperkirakan pada tetesan ke lima, darah dan larutan turk telah tercampur rata, sehingga memudahkan kita pada saat perhitungan sel darah putih pada mikroskop. Kemudian haemositometer ditutup dengan cover glass, lalu diamati di bawah mikroskop dengan cara lensa kondensor diturunkan atau diafragma diturunkan secara perlahan.

Menurut Mones (2008), penghitungan jumlah sel darah putih dilakukan dengan menggunakan Haemositometer. Jumlah sel darah putih dihitung dengan menggunakan rumus :

$$SDP = (a/n) \times (1/v) \times Fp$$

Keterangan :

SDP = jumlah sel darah putih

A = jumlah sel darah putih yang terhitung

N = jumlah kotak hemositometer yang diamati

V = volume hemositometer

Fp = faktor pengenceran

Leukosit dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu agranulosit dan granulosit berdasarkan ada-tidaknya granula pada sitoplasma. Agranulosit terdiri atas limfosit dan monosit. Granulosit terdiri atas neutrofil, eosinofil dan basofil.

- Penghitungan Jumlah Diferensial Leukosit

Pengamatan diferensial leukosit dilakukan untuk menentukan persentase tiap jenis leukosit yang ada di dalam darah. Pengamatan ini dilakukan dengan mengamati preparat ulas darah di bawah mikroskop. Pembuatan preparat ulas darah dilakukan dengan menempatkan setetes darah pada gelas obyek. Gelas obyek kedua diletakkan dengan sudut 45° di atas gelas obyek pertama, lalu digeser ke belakang menyentuh darah sehingga darah menyebar. Gelas obyek kedua kemudian digeser ke arah yang berlawanan sehingga membentuk suatu lapisan tipis darah. Preparat ulas darah dibiarkan kering di udara, kemudian difiksasi dengan cara merendam preparat ulas darah di dalam methanol selama 5 menit dan dikeringkan. Setelah itu preparat diwarnai dengan cara dimasukkan ke dalam larutan Giemsa 10% selama 30 menit, dicuci, kemudian dikeringkan. Preparat ulas darah yang telah diwarnai kemudian diamati dan dihitung di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000 x hingga mencapai jumlah 100 sel leukosit (Blaxhall, 1972 dalam Dopongtonung, 2008).

Menurut Sukenda *et al*, (2008), rumus presentase Diferensial leukosit adalah sebagai berikut:

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

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

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

Keterangan : L = Limfosit
M = Monosit
N = Neutrofil

3.7 Parameter Uji

3.7.1 Parameter Utama

Parameter utama yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengamatan terhadap sel darah yang terdapat pada ikan nila yang meliputi :

- Penghitungan sel darah merah (erotsit)
- Penghitungan sel darah putih (leukosit)
- Diferensial leukosit (Limfosit, Neutrofil dan Monosit)

3.7.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah gejala klinis dan kualitas air (suhu, DO dan pH).

3.8 Analisa Data

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) terhadap hematologi ikan nila, maka data yang diperoleh dari hasil penelitian akan diuji normalitasnya untuk mengetahui kenormalan dari sebuah data, kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan rancangan acak lengkap (RAL). Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*) ($F_{hitung} > F_{tabel}$), maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata terkecil (BNT) dan polynomial orthogonal untuk mengetahui uji responnya.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Hematologi

4.1.1 Jumlah Eritrosit

Berdasarkan hasil penelitian didapat rata-rata jumlah eritrosit pada ikan nila (*O. niloticus*) adalah sebagai berikut: pada perlakuan A (200 ppm) sebesar $25,47 \times 10^6$ sel/mm³, perlakuan B (400 ppm) sebesar $32,74 \times 10^6$ sel/mm³, perlakuan C (600 ppm) sebesar $39,02 \times 10^6$ sel/mm³ dan perlakuan D (800 ppm) sebesar $54,48 \times 10^6$ sel/mm³. Rataan jumlah eritrosit pada ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 2 berikut ini:

Tabel 2. Rataan Jumlah Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan	SD
	1	2	3			
A	31.28	19.8	25.34	76.42	25.47	5.74
B	28.91	43.96	25.34	98.21	32.74	9.88
C	36.93	45.19	34.95	117.07	39.02	5.43
D	51.28	53.26	58.9	163.44	54.48	3.95
Total				455.14		

Kemudian untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) berpengaruh terhadap jumlah eritrosit ikan nila (*O. niloticus*), maka perlu dilakukan analisis sidik ragam. Analisis sidik ragam jumlah eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 3 berikut ini:

Tabel 3. Analisis Sidik Ragam Jumlah Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1371.71	457.23	10.40**	4.07	7.59
Acak	8	351.50	43.93			
Total	11					

Keterangan: ** = Berbeda Sangat Nyata

Perhitungan analisis sidik ragam (Tabel 3) menunjukkan nilai F hitung (10,40) lebih besar dari F tabel 1%. Hal ini berarti pemberian perlakuan yang

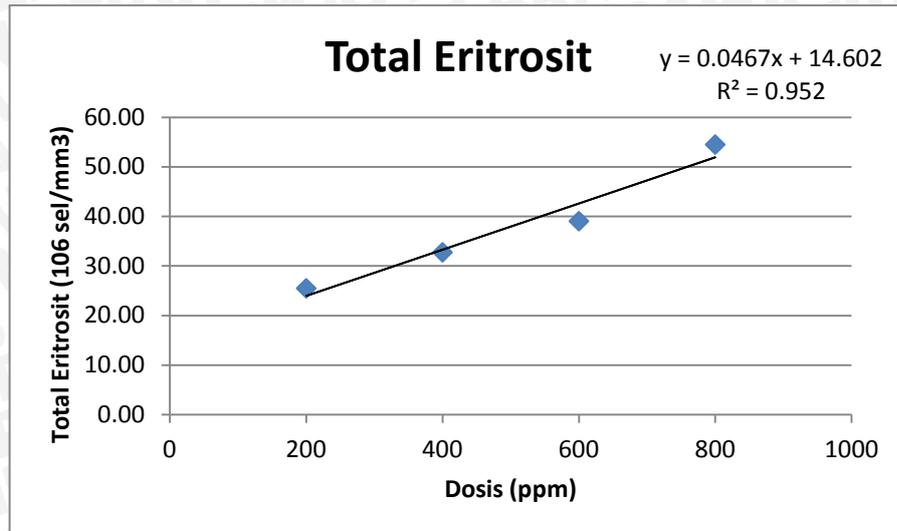
berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap jumlah eritrosit ikan nila. Selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jumlah eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 4 berikut ini:

Tabel 4. Uji BNT Jumlah Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rataan	A	B	C	D	Notasi
		25.47	32.74	39.02	54.48	
A	25.47	—				a
B	32.74	7.26 ^{ns}	—			a
C	39.02	13.55*	6.29 ^{ns}	—		b
D	54.48	29.01**	21.74**	15.46*	—	c

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan A (200 ppm) berbeda sangat nyata terhadap perlakuan B (400 ppm) dan C (600 ppm) sehingga notasinya a, sedangkan perlakuan C (600 ppm) tidak berbeda nyata terhadap perlakuan B (400 ppm) dan perlakuan D (800 ppm) berbeda nyata terhadap perlakuan C (600 ppm) sehingga notasinya c. pada perlakuan A (200 ppm), B (400 ppm) dan C (600 ppm) diduga berbeda nyata dengan perlakuan D (800 ppm) dikarenakan ekstrak kasar daun mengkudu pada perlakuan tersebut masih belum mampu mengobati ikan yang diinfeksi bakteri *A. hydrophyla*.

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polinomial orthogonal. Uji polynomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak kasar daun mengkudu terhadap jumlah eritrosit ikan nila (Lampiran 4), grafik regresi disajikan pada Gambar 12 berikut ini:



Gambar 12. Grafik Regresi Total Eritrosit

Grafik pada gambar 12 menunjukkan bahwa pada dosis A (200 ppm) memiliki jumlah eritrosit terendah yaitu sebesar $25,47 \times 10^6$ sel/mm³, perlakuan B (400 ppm) sebesar $32,74 \times 10^6$ sel/mm³, perlakuan C (600 ppm) sebesar $39,02 \times 10^6$ sel/mm³ dan perlakuan D (800 ppm) memiliki jumlah eritrosit tertinggi yaitu sebesar $54,48 \times 10^6$ sel/mm³. Ikan yang normal memiliki jumlah eritrosit yang tinggi, pada grafik di atas pada perlakuan D (800 ppm) memiliki jumlah eritrosit tertinggi sehingga perlakuan D (800 ppm) mendekati kondisi ikan yang normal atau sehat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Putri, Basuki dan Hastuti (2013), eritrosit ikan normal berkisar $40,76 \times 10^6$ sel/mm³ - $94,37 \times 10^6$ sel/mm³.

Grafik pada gambar 12 menunjukkan bahwa antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total eritrosit memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu (karena nilai kolerasi yang didapat dapat dikatakan memiliki hubungan yang kuat karena mendekati 100%) yaitu sebesar 0,952 dengan persamaan $y = 0,0467x + 14,602$.

Berdasarkan hasil rata-rata jumlah eritrosit ikan nila dalam penelitian ini didapat total eritrosit pada perlakuan D (800 ppm) yaitu $54,48 \times 10^6$ sel/mm³ termasuk dalam ikan yang sehat atau normal. Pada perlakuan D (800 ppm)

memiliki nilai eritrosit tertinggi diduga karena pada dosis tersebut ekstrak kasar daun mengkudu dapat mengobati ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Putri *et al*, (2013), eritrosit ikan normal berkisar $40,76 \times 10^6$ sel/mm³ - $94,37 \times 10^6$ sel/mm³. Penurunan eritrosit mengindikasikan adanya anemia pada ikan yang disebabkan oleh ikan terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Pada perlakuan D (800 ppm) terjadi peningkatan total eritrosit hal ini menandakan adanya upaya homeostatis pada tubuh ikan (infeksi patogen) tubuh memproduksi sel darah lebih banyak untuk menggantikan eritrosit yang mengalami lisis akibat adanya infeksi. Peningkatan jumlah eritrosit pada tiap perlakuan menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun mengkudu yang diberikan pada dosis yang berbeda mampu mengobati ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, didukung pula dengan kondisi lingkungan yang sesuai untuk kehidupan ikan dan tidak adanya faktor stress.

Pada perlakuan D (800 ppm) jumlah eritrosit pada ikan nila memiliki jumlah eritrosit tertinggi hal ini diduga karena adanya pengaruh pemberian ekstrak kasar daun mengkudu. Daun mengkudu dapat digunakan sebagai antibakteri karena pada daun mengkudu memiliki zat aktif salah satunya flavonoid. Ekstrak kasar daun mengkudu dalam proses pengobatan penyakit bakterial menyebabkan kematian pada bakteri *A. hydrophila* karena kandungan zat aktif yang dimiliki oleh daun mengkudu, zat aktif yang berperan sebagai antibakteri dalam daun mengkudu adalah flavonoid. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ayu, Zaenal dan Suhendi (2008), flavonoid yang menghasilkan enzim sulfonase akan dimanfaatkan kembali oleh bakteri sebagai bahan dasar pembentukan dan penebalan dari membran luar sel menjadi fosfolipida yang merupakan salah satu bahan dasar dari membran luar sel bakteri.

Selain itu, enzim hemolisin yang merupakan salah satu eksotoksin dari *A. hydrophila* memiliki kemampuan melisis sel darah merah, sehingga jumlah sel

darah merah pada pembuluh darah menjadi berkurang. Sesuai dengan pernyataan Jamal (2008), penurunan jumlah eritrosit terjadi karena *A. hydrophila* mampu menghasilkan eksotoksin seperti lesitinase dan hemolisin yang mampu melisis sel eritrosit. Tetapi pada perlakuan D (800 ppm) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dikarenakan ekstrak kasar daun mengkudu tersebut dapat mengobati ikan yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Sehingga dengan penambahan dosis dari ekstrak kasar daun mengkudu tersebut dapat meningkatkan total eritrosit dalam pembuluh darah, karena produksi enzim hemolisin didalam bakteri dapat dihambat oleh ekstrak tersebut. Selain itu ditunjukkan pula dengan pergerakan ikan yang aktif dan nafsu makan ikan sudah membaik. Sesuai dengan pernyataan Sandford (1989) dalam Rahman (2008), bahwa flavonoid dapat menghambat bakteri dalam memproduksi toksin dan mempercepat penyembuhan luka pada ikan.

4.1.2 Jumlah Leukosit

Berdasarkan hasil penelitian didapat rata-rata jumlah leukosit pada ikan nila (*O. niloticus*) adalah sebagai berikut: pada perlakuan A (200 ppm) sebesar $81,18 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$, perlakuan B (400 ppm) sebesar $73,14 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$, perlakuan C (600 ppm) sebesar $63,11 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$ dan perlakuan D (800 ppm) sebesar $38,59 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$. Rataan jumlah leukosit pada ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 5 berikut ini:

Tabel 5. Rataan Jumlah Leukosit Pada Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan	SD
	1	2	3			
A	82.89	71.97	88.67	243.53	81.18	8.48
B	72.87	78.28	68.26	219.41	73.14	5.02
C	58.65	73.34	57.33	189.32	63.11	8.89
D	48.96	30.47	36.34	115.77	38.59	9.45
Total				768.03		

Kemudian untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) berpengaruh terhadap jumlah leukosit ikan nila (*O. niloticus*), maka perlu dilakukan analisis sidik ragam. Analisis sidik ragam jumlah leukosit ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 6 berikut ini:

Tabel 6. Analisis Sidik Ragam Jumlah Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	3074.94	1024.98	15.45**	4.07	7.59
Acak	8	530.64	66.33			
Total	11					

Keterangan: ** = Berbeda Sangat Nyata

Hasil perhitungan analisis sidik ragam (Tabel 6) menunjukkan nilai F hitung (15,45) lebih besar dari F tabel 1%. Hal ini berarti pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap jumlah leukosit ikan nila (*O. niloticus*). Selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jumlah leukosit ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 7 berikut ini:

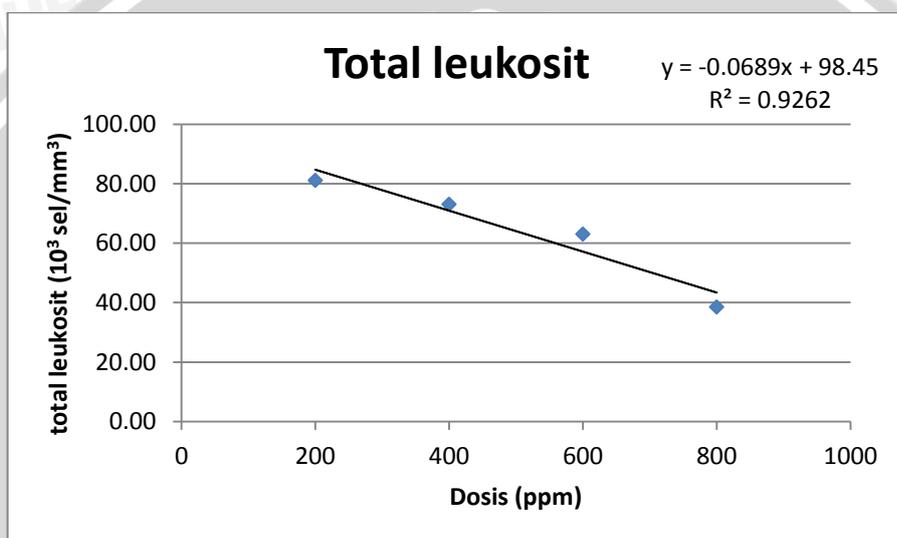
Tabel 7. Uji BNT Jumlah Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rataan	D	C	B	A	Notasi
		38.59	63.11	73.14	81.18	
D	38.59	–				a
C	63.11	24.52**	–			b
B	73.14	34.55**	10.03 ^{ns}	–		bc
A	81.18	42.59**	18.07*	8.04 ^{ns}	–	d

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan D (800 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan C (600 ppm), B (400 ppm) dan A (200 ppm) maka notasinya a, sedangkan pada perlakuan C (600 ppm) memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan B (400 ppm) dan A (200

ppm). Perlakuan A (200 ppm) tidak berbeda nyata terhadap perlakuan B (400 ppm).

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polinomial orthogonal. Uji polynomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak kasar daun mengkudu terhadap jumlah leukosit ikan nila (Lampiran 5), grafik regresi disajikan pada Gambar 13 berikut ini:



Gambar 13. Grafik Regresi Total Leukosit

Grafik pada gambar 13 menunjukkan bahwa perlakuan A (200 ppm) memiliki jumlah leukosit tertinggi yaitu sebesar $81,18 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$, perlakuan B (400 ppm) sebesar $73,14 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$, perlakuan C (600 ppm) sebesar $63,11 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$ dan perlakuan D (800 ppm) memiliki jumlah leukosit terendah yaitu sebesar $38,59 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$. Pada ikan normal jumlah leukosit rendah, pada grafik di atas perlakuan D (800 ppm) memiliki jumlah leukosit terendah sehingga perlakuan D (800 ppm) mendekati kondisi ikan yang normal atau sehat.

Grafik pada gambar 13 menunjukkan bahwa antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total leukosit memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu (karena nilai kolerasi yang

didapat dapat dikatakan memiliki hubungan yang kuat karena mendekati 100%) yaitu sebesar 0,9262 dengan persamaan $y = -0,0689x + 98,45$.

Berdasarkan hasil rata-rata jumlah leukosit pada penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan A (200 ppm) memiliki nilai rata-rata leukosit yang tertinggi yaitu sebesar $81,18 \times 10^3$ sel/mm³. Hal ini sesuai dengan pernyataan Utami, Prayitno, Hastuti dan Santika (2013) peningkatan total leukosit disebabkan karena adanya infeksi dari bakteri *A. hydrophila*. Hal ini berkaitan dengan fungsi sel darah putih sebagai alat pertahanan. Sedangkan pada perlakuan D (800 ppm) memiliki nilai leukosit yang paling rendah yaitu sebesar $38,59 \times 10^3$ sel/mm³. Total leukosit pada perlakuan D adalah yang paling rendah diduga karena ekstrak kasar daun mengkudu dapat menghambat dan membunuh patogen (*A. hydrophila*) karena diduga zat aktif yang berperan sebagai antibakteri dalam daun mengkudu berupa flavonoid. Sesuai dengan pernyataan Pratiwi (2008), flavonoid bersifat sebagai antibakteri, flavonoid merupakan komponen aktif tumbuhan yang bertindak sebagai antimikroba dan antivirus sebagai penampung yang baik bagi radikal hidroksil dan superoksida.

Pada perlakuan A (200 ppm) total leukositnya paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan B (400 ppm), C (600 ppm) dan D (800 ppm), hal tersebut dikarenakan pada perlakuan A (200 ppm) ikan nila masih belum mampu diobati dari infeksi bakteri *A. hydrophila*. Sehingga leukosit pada perlakuan A (200 ppm) menyediakan pertahanan yang lebih kuat serta cepat untuk sistem tanggap kebal tubuh. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Moyle dan Cech (2004), leukosit merupakan sel darah yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh. Leukosit membantu membersihkan tubuh dari benda asing, termasuk invasi patogen melalui sistem imun dan respon lainnya. Ikan yang sakit akan menghasilkan banyak leukosit untuk mensintesa antibodi dan memfagosit bakteri.

4.1.3 Diferensial Leukosit

a. Limfosit

Berdasarkan hasil penelitian didapat rata-rata jumlah limfosit pada ikan nila (*O. niloticus*) adalah sebagai berikut: perlakuan A (200 ppm) sebesar 58,00% , perlakuan B (400 ppm) sebesar 61,67%, perlakuan C (600 ppm) sebesar 65,00% dan perlakuan D (800 ppm) sebesar 73,67%. Rata-rata jumlah limfosit pada ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 8 berikut ini:

Tabel 8. Rataan Jumlah Limfosit Pada Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan	SD
	1	2	3			
A	57	58	59	174	58.00	1.00
B	62	61	62	185	61.67	0.58
C	65	61	69	195	65.00	4.00
D	75	70	76	221	73.67	3.21
Total				775		

Kemudian untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) berpengaruh terhadap jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*), maka perlu dilakukan analisis sidik ragam. Analisis sidik ragam jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 9 berikut ini:

Tabel 9. Analisis Sidik Ragam Jumlah Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	403.58	134.52	19.44**	4.07	7.59
Acak	8	55.33	6.91			
Total	11					

Keterangan: ** = Berbeda Sangat Nyata

Hasil perhitungan analisis sidik ragam (Tabel 9) menunjukkan nilai F hitung (19,44) lebih besar dari F tabel 1%. Hal ini berarti pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*). Selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Uji Beda Nyata

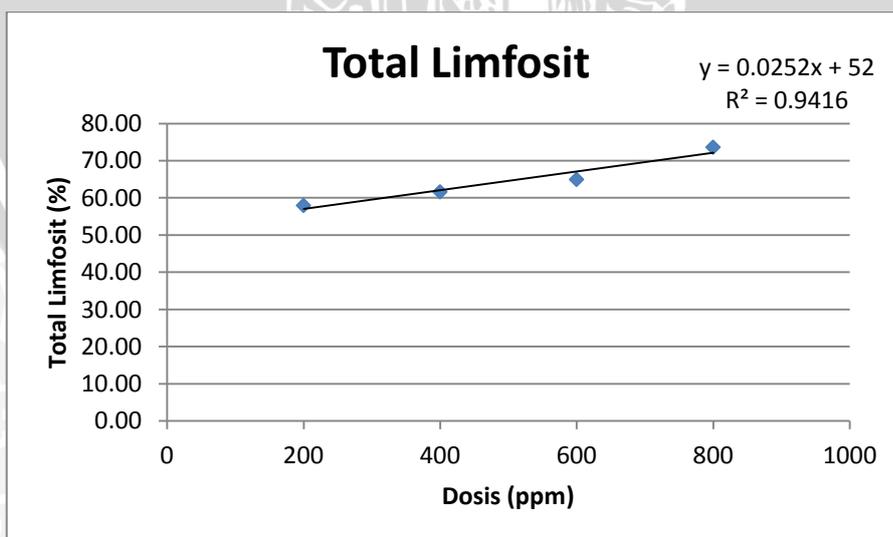
Terkecil (BNT) jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 10 berikut ini:

Tabel 10. Uji BNT Jumlah Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		73.67	65.00	61.67	58.00	
D	73.67	—				A
C	65.00	8.67*	—			B
B	61.67	12.00**	3.33 ^{ns}	—		C
A	58.00	15.67**	7.00**	3.67 ^{ns}	—	C

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan D (800 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan C (600 ppm). Perlakuan C (600 ppm) berbeda nyata terhadap perlakuan B (400 ppm) dan A (200 ppm). Sedangkan perlakuan B (400 ppm) tidak berbeda nyata terhadap perlakuan A (200 ppm).

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polinomial orthogonal. Uji polynomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak kasar daun mengkudu terhadap jumlah limfosit ikan nila (Lampiran 6), grafik regresi disajikan pada Gambar 14 berikut ini:



Gambar 14. Grafik Regresi Total Limfosit

Grafik pada gambar 14 menunjukkan bahwa perlakuan A (200 ppm) memiliki jumlah limfosit terendah yaitu sebesar 58,00% , perlakuan B (400 ppm)

sebesar 61,67% , perlakuan C (600 ppm) sebesar 65,00% dan perlakuan D (800 ppm) memiliki jumlah limfosit tertinggi yaitu sebesar 73,67%. Pada ikan normal jumlah limfosit berkisar antara 68-86%, pada grafik di atas perlakuan D (800 ppm) memiliki jumlah limfosit tertinggi sehingga perlakuan D (800 ppm) mendekati kondisi ikan yang normal atau sehat.

Grafik pada gambar 14 menunjukkan bahwa antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total limfosit memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu (karena nilai kolerasi yang didapat dapat dikatakan memiliki hubungan yang kuat karena mendekati 100%) yaitu sebesar 0,9416 dengan persamaan $y = 0,0252x + 52$.

Berdasarkan penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan D (800 ppm) memiliki rata-rata persentase limfosit tertinggi yaitu 73,67%. Hal tersebut dikarenakan sel limfosit yang semakin aktif berperan untuk memerangi antigen sebagai pertahanan tubuh untuk ikan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mundriyanto *et al.* (2002), mekanisme kerja limfosit dalam peranannya untuk sistem kekebalan tubuh berfungsi menyediakan zat kebal (glikoprotein) untuk pertahanan tubuh dengan cara mengenali antigen melalui reseptor spesifik pada membran sel. Sedangkan pada perlakuan A (200 ppm) memiliki rata-rata persentase limfosit terendah yaitu 58,00%. Penurunan jumlah limfosit yang terjadi pada perlakuan A (200 ppm) diduga karena ekstrak daun mengkudu belum dapat menghambat dan membunuh bakteri *A. hydrophyla*. Selain itu hal ini sesuai dengan pernyataan Utami *et al.* (2013), penurunan jumlah limfosit disebabkan karena antibodi yang terbentuk digunakan untuk menyerang bakteri *A. hydrophyla*. Peningkatan aktivitas perlawanan tersebut menyebabkan pengurangan jumlah sel limfosit. Peningkatan intensitas infeksi patogen tertentu akan memicu kebutuhan sel darah putih (limfosit) dan peningkatan kebutuhan

tersebut akan mengakibatkan terjadinya pengurangan sel agen penyedia zat kebal tubuh yaitu limfosit.

Persentase jumlah limfosit yang paling tinggi adalah pada perlakuan D (800 ppm), sehingga diduga pada dosis tersebut bakteri *A. hydrophila* dapat diobati oleh ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*). Hal ini sesuai dengan pernyataan Hardi (2011), persentase limfosit ikan nila normal berkisar antara 68-86%. Peningkatan aktivitas perlawanan terhadap benda asing yang bersifat patogen menyebabkan pengurangan sel limfosit. Peningkatan intensitas infeksi oleh patogen tertentu akan memicu kebutuhan sel darah putih (limfosit) dan peningkatan kebutuhan tersebut akan mengakibatkan terjadinya pengurangan sel agen penyedia zat kebal tubuh yaitu limfosit.

b. Monosit

Berdasarkan hasil penelitian didapat rata-rata jumlah monosit pada ikan nila (*O. niloticus*) adalah sebagai berikut: perlakuan A (200 ppm) adalah 30,33% , perlakuan B (400 ppm) adalah 28,67%, perlakuan C (600 ppm) adalah 26,67% dan perlakuan D (800 ppm) adalah 21%. Rataan jumlah monosit pada ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 11 berikut ini:

Tabel 11. Rataan Jumlah Monosit Pada Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan	SD
	1	2	3			
A	32	30	29	91	30.33	1.53
B	29	30	27	86	28.67	1.53
C	26	29	25	80	26.67	2.08
D	18	25	20	63	21.00	3.61
Total				320		

Kemudian untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) berpengaruh terhadap jumlah monosit ikan nila

(*O. niloticus*), maka perlu dilakukan analisis sidik ragam. Analisis sidik ragam jumlah monosit ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 12 berikut ini:

Tabel 12. Analisis Sidik Ragam Jumlah Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	148.66	49.55	9.01**	4.07	7.59
Acak	8	44.00	5.5			
Total	11					

Keterangan: ** = Berbeda Sangat Nyata

Hasil perhitungan analisis sidik ragam (Tabel 12) menunjukkan nilai F hitung (9,01) lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%. Hal ini berarti pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap jumlah monosit ikan nila. Selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jumlah monosit ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 13 berikut ini:

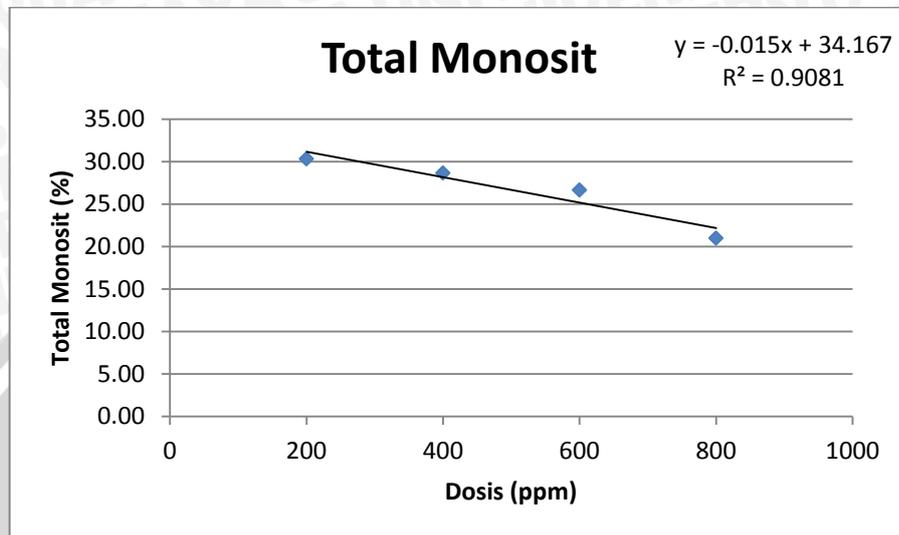
Tabel 13. Uji BNT Jumlah Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rataan	D	C	B	A	Notasi
		21.00	26.67	28.67	30.33	
D	21.00	—				A
C	26.67	5.67**	—			B
B	28.67	7.67**	2.00 ^{ns}	—		B
A	30.33	9.33**	3.67*	1.67 ^{ns}	—	C

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan D (800 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan C (600 ppm), B (400 ppm) dan A (200 ppm) maka notasinya a, sedangkan pada perlakuan A (200 ppm) berbeda sangat nyata terhadap perlakuan C (600 ppm), perlakuan C (600 ppm) berbeda sangat nyata terhadap perlakuan B (400 ppm) dan A (200 ppm). Perlakuan A (200 ppm) tidak berbeda nyata terhadap perlakuan B (400 ppm).

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polinomial

orthogonal. Uji polynomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak kasar daun mengkudu terhadap jumlah monosit ikan nila (Lampiran 7), grafik regresi disajikan pada Gambar 15 berikut ini:



Gambar 15. Grafik Regresi Total Monosit

Grafik pada gambar 15 menunjukkan bahwa perlakuan A (200 ppm) memiliki jumlah monosit terendah yaitu sebesar 30,33% , perlakuan B (400 ppm) sebesar 28,67% , perlakuan C (600 ppm) sebesar 26,67% dan perlakuan D (800 ppm) memiliki jumlah monosit terendah yaitu sebesar 21%. Pada ikan normal jumlah monosit rendah, pada grafik di atas perlakuan D (800 ppm) memiliki jumlah monosit terendah sehingga perlakuan D (800 ppm) mendekati kondisi ikan yang normal atau sehat.

Grafik pada gambar 15 menunjukkan bahwa antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total monosit memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu (karena nilai kolerasi yang didapat dapat dikatakan memiliki hubungan yang kuat karena mendekati 100%) yaitu sebesar 0,9081 dengan persamaan $y = -0,015x + 34,167$.

Berdasarkan penelitian ini menunjukkan bahwa pada perlakuan A (200 ppm) memiliki jumlah monosit tertinggi yaitu sebesar 30,33%, sedangkan pada perlakuan D (800 ppm) memiliki jumlah monosit terendah yaitu sebesar 21%.

Tingginya persentase monosit pada ikan pengamatan diduga karena ikan mengalami infeksi oleh agen patogen. Hal ini sesuai dengan pernyataan Utami *et al*, (2013), meningkatnya persentase monosit ini disebabkan karena ikan mengalami infeksi bakteri *A. hydrophila*. Infeksi yang masuk ke dalam tubuh akan merangsang sel darah putih untuk memproduksi monosit lebih banyak. Selain itu, monosit juga berfungsi sebagai agen makrofag yang memfagositosis benda asing yang masuk ke dalam tubuh.

Pada perlakuan A (200 ppm) total monositnya paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan B (400 ppm), C (600 ppm) dan D (800 ppm), hal tersebut dikarenakan pada perlakuan A (200 ppm) ikan nila masih belum mampu diobati dari infeksi bakteri *A. hydrophila*. Sedangkan pada perlakuan B (200 ppm), C (600 ppm) dan D (800 ppm) persentase jumlah monositnya berangsur-angsur menurun. Hal tersebut diduga karena ekstrak kasar daun mengkudu yang diberikan dengan dosis tersebut mampu menghambat dan membunuh bakteri *A. hydrophyla*, karena diduga dalam daun mengkudu terdapat zat aktif yang berupa flavonoid yang dapat membunuh bakteri. Sesuai dengan pernyataan Wahjuningrum *et al*, (2008), flavonoid merupakan perubah respon yang alami, seperti dari hasil beberapa penelitian yang menunjukkan kemampuan flavonoid dalam merubah reaksi tubuh terhadap penyebab alergi, virus, dan penyebab kanker. Zat ini juga memiliki aktivitas anti-alergi, antiradang, antimikroba, dan antikanker.

c. Neutrofil

Berdasarkan hasil penelitian diketahui rata-rata persentase neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) adalah sebagai berikut: pada perlakuan A (200 ppm) yaitu 11,67%, B (400 ppm) yaitu 9,67%, C (600 ppm) yaitu 8,33 dan D (800 ppm) yaitu 5,33%. Rataan persentase neutrofil tersebut disajikan pada Tabel 14 berikut ini:

Tabel 14. Rataan Persentase Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan	SD
	1	2	3			
A	11	12	12	35	11.67	0.58
B	9	9	11	29	9.67	1.15
C	9	10	6	25	8.33	2.08
D	7	5	4	16	5.33	1.53
Total				105		

Kemudian untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) berpengaruh terhadap jumlah monosit ikan nila (*O. niloticus*), maka perlu dilakukan analisis sidik ragam. Analisis sidik ragam jumlah neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 15 berikut ini:

Tabel 15. Analisis Sidik Ragam Jumlah Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	63.58	21.19	10.17**	4.07	7.59
Acak	8	16.66	2.08			
Total	11					

Keterangan: ** = Berbeda Sangat Nyata

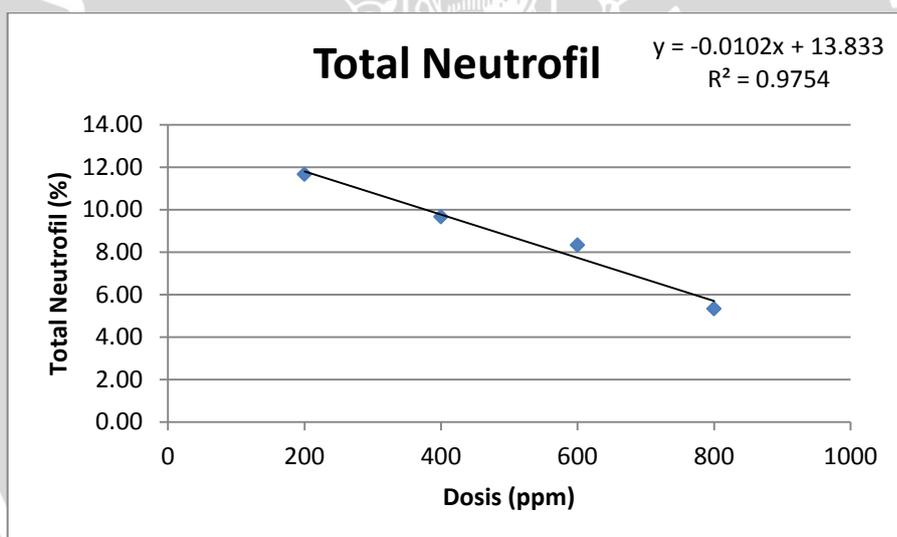
Hasil perhitungan analisis sidik ragam (Tabel 15) menunjukkan nilai F hitung (10,17) lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%. Hal ini berarti pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap jumlah neutrofil ikan nila. Selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jumlah neutrofil ikan nila disajikan pada Tabel 16 berikut ini:

Tabel 16. Uji BNT Jumlah Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rataan	D	C	B	A	Notasi
		5.33	8.33	9.67	11.67	
D	5.33	—				A
C	8.33	3.00*	—			B
B	9.67	4.33**	1.33 ^{ns}	—		C
A	11.67	6.33**	3.33*	2.00 ^{ns}	—	D

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan D (800 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan C (600 ppm), B (400 ppm) dan A (200 ppm) maka notasinya a, sedangkan pada perlakuan C (600 ppm) berbeda nyata dengan perlakuan B (400 ppm) dan A (200 ppm) maka notasinya b. Pada perlakuan A (200 ppm) berbeda nyata dengan perlakuan B (400 ppm) maka notasinya d.

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polinomial orthogonal. Uji polynomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak kasar daun mengkudu terhadap jumlah neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) (Lampiran 8), grafik regresi disajikan pada Gambar 16 berikut ini:



Gambar 16. Grafik Regresi Persentase Neutrofil

Grafik pada gambar 16 menunjukkan bahwa pada perlakuan A (200 ppm) memiliki persentase neutrofil tertinggi yaitu sebesar 11,67%, perlakuan B (400 ppm) sebesar 9,67%, perlakuan C (600 ppm) sebesar 8,33 dan perlakuan D (800 ppm) memiliki persentase terendah yaitu sebesar 5,33%. Pada ikan normal persentase neutrofil rendah, pada grafik di atas perlakuan D (800 ppm) memiliki

persentase neutrofil terendah sehingga perlakuan D (800 ppm) mendekati kondisi ikan yang normal atau sehat.

Grafik pada Gambar 16. menunjukkan bahwa antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan persentase total neutrofil memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu (karena nilai kolerasi yang didapat dapat dikatakan memiliki hubungan yang kuat karena mendekati 100%) yaitu sebesar 0,9754 dengan persamaan $y = -0,0102x + 13,833$.

Berdasarkan penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan A (200 ppm) persentase neutrofil yaitu 11,67% yang menunjukkan nilai paling tinggi, karena pada perlakuan tersebut ikan telah terinfeksi dan mengalami stress. Peningkatan jumlah neutrofil merupakan akibat dari mekanisme kekebalan tubuh yang bekerja sebagai respon adanya infeksi dalam tubuh. Hal ini sesuai dengan pendapat Fujaya (2004) bahwa keluarnya sel neutrofil dari pembuluh darah pada saat terjadinya infeksi disebabkan oleh adanya pengaruh rangsangan kimiawi eksternal atau kemotaksis diantaranya distimulasi oleh bahan vaksin. Sedangkan persentase neutrofil terendah pada perlakuan D (800 ppm) yaitu 5,33%, nilai tersebut dapat dikatakan dalam kisaran normal karena sesuai dengan pernyataan Nabib dan Pasaribu (1989) proporsi neutrofil dalam darah ikan nila normal adalah berkisar 6-8%. Penurunan jumlah neutrofil mendekati kisaran normal dalam pembuluh darah ikan nila diduga karena ekstrak daun mengkudu mampu mengobati dan membunuh bakteri *A. hydrophyla*.

Pada perlakuan A (200 ppm) memiliki jumlah neutrofil yang paling tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan B (400 ppm), C (600 ppm) dan D (800 ppm), hal tersebut dikarenakan pada perlakuan A (200 ppm) ikan nila masih belum mampu diobati dari infeksi bakteri *A. hydrophyla*. Sedangkan pada perlakuan B (200 ppm), C 9600 ppm) dan D (800 ppm) persentase jumlah neutrofilnya berangsur-angsur menurun. Hal ini sesuai dengan pernyataan Utami *et al*,

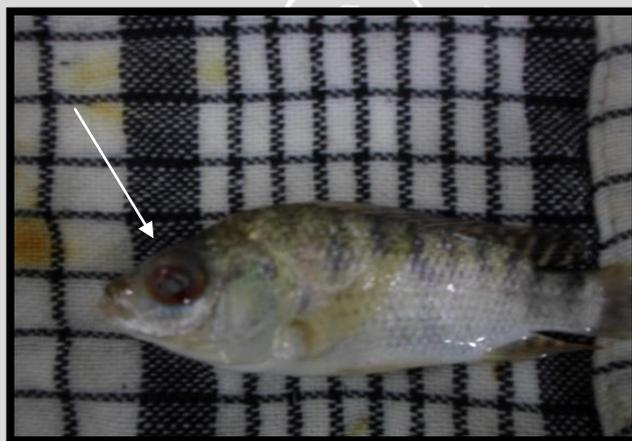
(2013), peningkatan jumlah neutrofil merupakan akibat dari mekanisme kekebalan tubuh yang bekerja sebagai respon adanya infeksi dalam tubuh. Hal ini berkaitan dengan fungsi utama neutrofil yaitu penghancuran bahan asing melalui proses fagositosis yaitu kemotaksis dimana sel akan bermigrasi menuju partikel, pelekatan partikel pada sel, penelanan partikel oleh sel dan penghancuran partikel oleh enzim lisosim didalam fagolisosom.

4.2 Patologi Klinis Ikan Nila

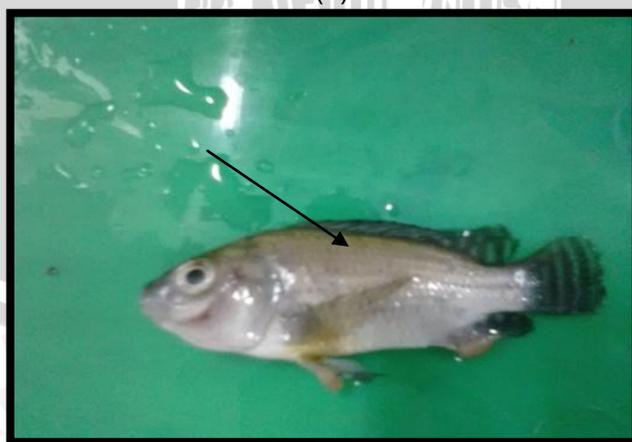
Selama masa pemeliharaan satu minggu, gejala klinis yang terlihat dari ikan yang dipelihara diantaranya adalah pada kontrol negatif K (-) ikan masih terlihat sehat dan tidak terlihat gejala klinis yang nyata, tetapi pada kontrol positif K (+) terlihat mata pucat dan menonjol, sisik mengelupas, insang terlihat pucat, pergerakan lamban, nafsu makan menurun, berenang di permukaan, adanya kematian pada ikan nila, terjadi pembengkakan pada bagian perut. Pada perlakuan A (200 ppm) insang terlihat pucat, mata terlihat pucat dan menonjol, berenang di permukaan, terjadi penurunan nafsu makan, pergerakan lamban, adanya kematian pada ikan nila. Pada perlakuan B (400 ppm) insang terlihat pucat, mata terlihat pucat, nafsu makan menurun, berenang di permukaan, adanya kematian pada ikan nila. Perlakuan C (600 ppm) ikan lebih aktif dibandingkan dengan perlakuan A (200 ppm) dan B (400 ppm), nafsu makan menurun. Pada perlakuan D (800 ppm) ikan lebih aktif dibandingkan perlakuan A (200 ppm), B (400 ppm) dan C (600 ppm), ikan terlihat lebih sehat dan respon terhadap makanan baik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Prajitno (2005), ikan yang terserang *Aeromonas hydrophila* biasanya akan memperlihatkan tanda-tanda sebagai berikut: warna tubuhnya berubah menjadi agak gelap, kulitnya menjadi kasar dan timbul pendarahan yang selanjutnya akan menjadi borok (*haemorrhagic*), sering terjadi pendarahan pada organ bagian dalam seperti hati,

ginjal, maupun limfa. Sering juga terlihat perutnya gak kembang (*dropsy*), seluruh siripnya rusak dan insangnya menjadi berwarna keputih-putihan serta mata rusak dan agak menonjol (*exophthalmia*).

Berdasarkan gejala klinis di atas, dapat diduga bahwa ikan yang sudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* kemudian diberi pengobatan dengan ekstrak kasar daun mengkudu menunjukkan respon yang berbeda. Pada dosis A (200 ppm) ikan masih belum sembuh dari infeksi bakteri *A. hydrophila*, tetapi pada dosis yang lebih tinggi yaitu dosis D (800 ppm) ikan mampu diobati dari infeksi *A. hydrophila*. Gejala klinis yang terlihat pada ikan nila dari penelitian ini disajikan pada Gambar 17 berikut ini:



(a)



(b)

Gambar 17. Mata Rusak (a) dan Badan Bengkak (b)

4.3 Kualitas Air

Kualitas air memegang peranan yang sangat penting dan harus diperhatikan dalam pemeliharaan ikan, karena sangat berpengaruh bagi kelangsungan hidup ikan tersebut. Beberapa parameter yang diamati dalam penentuan kualitas air selama penelitian adalah suhu, derajat keasaman (pH) dan oksigen terlarut (DO). Pengukuran kualitas air dilakukan pada setiap pagi dan sore. Data pengukuran parameter kualitas air ditunjukkan pada tabel dalam lampiran 11.

4.3.1 Suhu

Suhu merupakan faktor pembatas dalam lingkungan air. Suhu air adalah variable lingkungan yang paling penting. Suhu mempengaruhi aktivitas metabolisme, pertumbuhan, makan, reproduksi, distribusi dan perilaku migrasi organisme air. Suhu juga mempengaruhi kelarutan gas, kelarutan gas menurun dengan adanya peningkatan suhu (Lawson, 2011).

Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air, kisaran suhu selama pemeliharaan berkisar antara 25^oC -26,62^oC. Nilai tersebut masih dalam kisaran normal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Safitri, Sugito dan Sumarti (2012), suhu optimal untuk peetumbuhan ikan nila antara 25^oC -30^oC. Tingkat pertumbuhan ikan nial biasanya akan terganggu jika nilai suhu habitatnya lebih rendah dari 14^oC atau pada tingkat suhu di atas 38^oC. pada suhu 6^oC atau 42^oC ikan nila akan mengalami kematian.

4.3.2 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) air dapat mempengaruhi pertumbuhan ikan. Derajat keasaman air yang sangat rendah atau sangat asam dapat menyebabkan kematian ikan dengan gejala gerakannya tidak teratur, tutup insang bergerak sangat aktif dan berenang sangat cepat dipermukaan air. Keadaan air

yang sangat basa juga dapat menyebabkan pertumbuhan ikan terhambat (Cahyono, 2000).

Hasil pengukuran derajat keasaman (pH) selama pemeliharaan berkisar antara 7,96-8,04. Nilai tersebut masih dalam kisaran normal, sesuai pernyataan Safitri *et al*, (2012), pH yang optimal untuk pertumbuhan ikan nila adalah berkisar 7-8.

4.3.3 Oksigen terlarut

Oksigen sangat penting untuk kehidupan ikan dan hewan air lainnya. Karena kalau oksigen terlarut di suatu perairan sangat sedikit maka perairan tersebut tidak baik bagi ikan dan hewan air lainnya. Tetapi kalau oksigen terlarut dalam jumlah banyak, ikan memang jarang sekali mati, tetapi dalam keadaan tertentu dapat mematikan ikan (Suhaili, 1984).

Hasil pengukuran oksigen terlarut (DO) selama pemeliharaan berkisar antara 4,1-5,06 mg/l. nilai tersebut masih dalam kisarana normal, karena sesuai dengan pernyataan Mantau dan Sumarty (2011) bahwa ikan nila dapat hidup pada kandungan oksigen terlarut berkisar antara 4,00-5,50 mg/l.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian tentang “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mengkudu (*M. citrifolia*) terhadap Hematologi Ikan Nila (*O. niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*” diperoleh kesimpulan bahwa pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh terhadap gambaran hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Dosis optimal pada penelitian ini adalah pada perlakuan D (800 ppm) karena dilihat dari jumlah eritrosit (sel darah merah), jumlah leukosit (sel darah putih) dan diferensial leukosit (limfosit, monosit dan neutrofil) memiliki nilai yang mendekati ikan yang normal atau sehat.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian ini adalah pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) dapat digunakan untuk mengobati ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui dosis optimal dari pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) untuk pengobatan ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, R dan U.M. Tang. 2002. Fisiologi Hewan Air. Universitas Riau Press. Riau. 217 hlm.
- Afrianto dan Liviawaty. 1992. Fisiologi Hewan. Gramedia. Jakarta. 97 hlm.
- Akbar, M. Y., H.L.N.A. Devi dan I.M. Kusuma. 2010. Pengaruh Jahe Terhadap Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dan Ikan Lele (*Clarias bathracus*) pada Polikultur dengan Sistem Resirkulasi Tertutup. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Alamanda. A. 2006. Penggunaan Metode Hematologi dan Pengamatan Endoparasit Darah untuk Penetapan Kesehatan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) di Kolam Budidaya Desa Mangkubumen Boyolali. Biodiversitas 8 (1): 34-38.
- Alex. 2011. Budidaya Ikan Koi Ikan Eksotis yang Menguntungkan. Pustaka Baru Press. Yogyakarta. 205 hlm.
- Amri dan Khairuman. 2002. Budi Daya Ikan Nila Secara Intensif. Agromedia Pustaka. Jakarta. 86 hlm.
- Anderson, D.P. 1974. Fish Immunology. TFH Publication, Ltd. Hongkong.
- Angka, S.L., 2001. Studi karakterisasi dan patologi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Makalah Falsafah Sains. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ayu, W., A. Zaenal, dan Suhendi. 2008. Pemanfaatan Kombinasi Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia cattapa*) dan Bawang Putih (*Allium sativum*) Sebagai Antibiotik Alami Untuk Pencegahan dan Pengobatan Serangan *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Patin (*Pangasionodon hypophthalmus*). PKM. Institut Pertanian Bogor. 11 hlm.
- Bangun, A.P. dan B. Sarwono. 2002. Khasiat dan Manfaat Mengkudu. Agro Media Pustaka. Jakarta. 87 hlm.
- Bellanti, J.A. 1993. Immunology III, Teknis Budidaya Ikan Kerapu (Ikan Kerapu Bebek dan Kerapu Macan). Universitas Gajah Mada Press. Yogyakarta.
- Cahyono, B. 2000. Budidaya Ikan Air Tawar Ikan Gurami, Ikan Nila, Ikan Mas. Kanisius. Yogyakarta. 207 hlm.
- Chariri, A. 2009. Landasan Filsafat dan Metode Penelitian Kualitatif, *Paper disajikan pada Workshop Metodologi Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif*, Laboratorium Pengembangan Akuntansi (LPA), Fakultas Ekonomi Universitas Diponegoro Semarang. 13-14.
- Dopongtonung, A. 2008. Gambaran Darah Ikan Lele (*Clarias spp*) yang Berasal dari Daerah Laladon-Bogor. Skripsi. IPB. 36 hal.

- Farouq, A. 2011. Aplikasi Probiotik dan Simbiotok dalam Pakan untuk meningkatkan Respon Imun dan Kelangsungan Hidup Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. Skripsi. IPB. Bogor.
- Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan Dasar Pengembangan Teknologi Perikanan. Rineka Cipta. Jakarta. 153 hlm.
- Hafidz, Q. 2011. Sistem Kekebalan Tubuh. <http://biologimediacycenter.com/sistem-kekebalan-tubuh>. Diakses pada 22 April 2015.
- Hardi, E.H. 2011. Kandidat Vaksin Potensial *Streptococcus agalactiae* untuk Pencegahan Penyakit Streptococcosis pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Disertasi. Insitut Pertanian Bogor. Bogor.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Williams and Wilkins. A Waverly Company. London. 992 hlm.
- Isohood dan Drake. 2002. Identifikasi Ektoparasit pada Udang Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Univ. Borneo: Tarakan.
- Jain, N. C. 1993. Essential of Veterinary Hematology. Lea and Febiger Publishing. Philadelphia. 417 hlm.
- Jamal,L. 2008. Penggunaan Kitosan untuk Pencegahan Penyakit *Motile Aeromonas Septicaemia* (MAS) yang Disebabkan Oleh *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. Skripsi. IPB. 62 hlm.
- Kabata, M. 1985. Zat-zat Toksik yang Secara Alamiah Ada pada Bahan Makanan Nabati. Cermin Dunia Kedokteran. Jurnal Biologi Vol. 2 No. 3: 24-30.
- Kamaludin, I. 2011. Efektivitas Ekstrak Lidah Buaya Aloe vera untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. Melalui Pakan. Skripsi. IPB. Bogor.
- Kordi, M.G.H. 2000 . *Budidaya Ikan Nila*. Dahara Prize. Jakarta.
- Lawson, E. O. 2011. Advances in Biological Research. Psisio-chemical parameters and heavy metal contents of Water from The Mangrove Swapmps of Lagoon, Lagos, Nigeria. Vol 5 (1): 08-21.
- Mas'ud, F. 2013. Efektifitas *Candida* sp. sebagai imunostimulan pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) terhadap Infeksi *A. hydrophila*. Jurnal Ilmu Eksakta. Vol 1 (2): 27-38.
- Monera, D. and A. Simon. 2011. The Impact of Toxic Heavy Metals on The Hematological Parameters in Common Carp (*Cyprinus carpio*). Journal Environment. 6 (1): 23-28.
- Mones, R. A. 2008. Gambaran Darah pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Strain Majalaya yang Berasal dari Daerah Ciampea. Skripsi. IPB. Bogor.

- Moyle, P. B and J.J Cech. 2004. Fishes. An Introduction to Ichthyology. 5th ed. USA: Prentice Hall, Inc. 246 hlm.
- Munandi, A. 2013. Manfaat Daun Mengkudu Untuk Burung dan Unggas Lainnya. <http://omkicau.com>. Diakses pada 22 April 2015.
- Mundriyanto, H., P. Taufik dan Tauhid. 2002. Respon Histologis Tubuh Kodok (*Rana catesbeiana*) terhadap Infeksi Bakteri Patogen dan Potensi *Saccharomyces cerevisiae* sebagai Immunostimulan. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. Vol 8 (3): 55-63
- Murtidjo, B.A. 2002. Budidaya Kerapu dalam Tambak. Kanisius. Yogyakarta. 80 hlm.
- Nabib, R. dan Pasaribu, F.H., 1989. Patologi dan Penyakit Ikan. Pusat Antar Media Informasi LSI-IPB. 158 hlm.
- Nuraini, D. N. 2014. Aneka Daun Berkhasiat Obat. Gava Media. Yogyakarta. 258 hlm.
- Parker, S. 2000. Jendela Iptek Seri 16 Ilmu Kedokteran. Balai Pustaka. Jakarta. 75 hlm.
- Prajitno, A. 2005. Parasit dan Penyakit Ikan. Diktat Kuliah: Univ. Brawijaya. Malang. 105 hlm.
- . 2007. Penyakit Ikan-Udang Bakteri. UM Press. Malang. 115 hlm.
- Pranata, S. T. 2013. Herbal TOGA (Tanaman Obat Keluarga). Aksara Sukses. Yogyakarta. 125 hlm.
- Pratiwi, V.A. 2008. Toleransi Larva dan Benih Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) pada Salinitas yang Berbeda. Jurnal Perikanan dan Kelautan. Vol 16 (1): 28-35.
- Putri, R., F. Basuki dan S. Hastuti. 2013. Profil Darah Dan Kelulushidupan Ikan Nila PAndu F5 (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Streptococcus agalactiae* Dengan Kepadatan Berbeda. Journal of Aquaculture Management and Technology. Vol 2 (2): 47-56.
- Rahman, F.M. 2008. Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya pada Ikan Gurami yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Skripsi. IPB. 62 hlm.
- Roberts, R. J. 2001. Fish Pathology. Ballier Tindall. London. 108 hlm.
- Rukmana. 1997. *Ikan Nila Budi daya dan Prospek Agribisnis*. Kanisius. Yogyakarta. 87 hlm.
- Sacher, R.A. dan A.M. Richard. 2004. Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta. 705 hal.

- Safitri, D., Sugito dan S. Suryaningsih. 2012. Kadar hemoglobin Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diberi Cekaman Panas dan Pakan yang Disuplementasikan Tepung Daun jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb). Jurnal Medika Veterinaria: 39.41.
- Setyo, B. P. 2006. Efek Konsentrasi Kromium (Cr+3) dan Salinitas Berbeda terhadap Efisiensi Pemanfaatan Pakan untuk Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Universitas Diponegoro. Semarang.
- Simanungkalit, S., 2000. Thailand dan masa depan fitofarmaka. Kompas Press. Jakarta.
- Sindermann, C.J. 1966. Disease of Marine Fish. Academic Press Inc. London. 89 hlm.
- Sitasiwi. A.J. 1998. Reproduksi Performans Ikan Nila (*Oreochromis* sp.) pada Beberapa Salinitas. Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam. Jurusan Biologi. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Suhermanto, A., S. Andayani dan Maftuch. 2011. Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) untuk Meningkatkan Leukosit dan Differensial Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Kelautan. Vol 4 (2): 49-56.
- Sukenda, L. Jamal., D. Wahjuningrum dan A. Hasan. 2008. Penggunaan Kitosan untuk Pencegahan Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. Jurnal Akuakultur Indonesia. 7(2): 159–169.
- Susanto, H. 1996. Budidaya Ikan di Pekarangan. Penebar Swadaya. Jakarta. 152 hlm.
- Tizard, I. 1988. An Introduction to Veterinary Immunology. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Utami, D.T., S.B. Prayitno, S. Hastuti dan A. Santika. 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. Vol 2 (4): 7-20.
- Vonti, O. 2008. Gambaran darah Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Strain Sinyonya yang Berasal dari Daerah Ciampea. Skripsi. IPB. Bogor.
- Waha. 2001. Sehat dengan Mengkudu (*M. citrifolia*). MSF Group. Jakarta. 75 hlm.
- Wahjuningrum, D., N. Ashry dan S. Nuryati. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Daun Ketapang *Terminalia cattapa* untuk Pencegahan Pengobatan Ikan Patin *Pangasionodon hydrophila* yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Akuakultur Indonesia. 7 (1): 79-94
- Wijayakusuma, M.H. 2002. Penyembuhan Mengkudu Morinda Citrifolia L. Penerbit Milenia Populer, Jakarta.

Wu, C.C., C.H. Liu., Y.P. Chang and S.L. Hsieh. 2010. Effect of Hot Water Extract of *Toona Sinensis* on Immune Response and Resistance to *Aeromonas hydrophila* In *Oreochromis niloticus*. *Fish and Shellfish Immunology*. 29 (1): 258-263.

Zulnaidi. 2007. *Metode Penelitian*. Universitas Sumatera Utara (USU). 20 hlm.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat Penelitian



Rotary Evaporator



Akuarium



Objek Glass



Selang Aerasi dan Aerator



Timbangan Digital



Sahli Meter

Lampiran 1 (Lanjutan)



Appendorf



Mikroskop



pH meter



DO meter



Nampan dan Pipet Tetes



Spuit Disposable

Lampiran 2. Bahan Penelitian



Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)



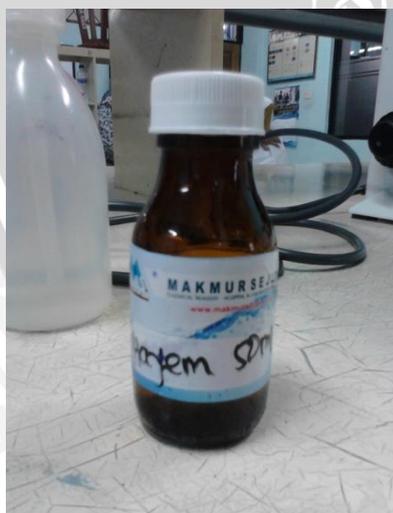
Ekstrak Kasar Daun Mengkudu



Sampel Darah Ikan Nila



Turk



Hayem



Giemsa

Lampiran 3. Perhitungan Dosis Ekstrak Kasar Daun mengkudu (*M. citrifolia*)

- Perlakuan A (200 ppm)

$$\text{ppm} = \text{mg/L}$$

$$200 \text{ ppm} = x \text{ mg/L}$$

$$x \text{ mg} = 200 \text{ mg}$$

Jadi, ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) yang dibutuhkan sebanyak 200 mg/L

- Perlakuan B (400 ppm)

$$\text{ppm} = \text{mg/L}$$

$$400 \text{ ppm} = x \text{ mg/L}$$

$$x \text{ mg} = 400 \text{ mg}$$

Jadi, ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) yang dibutuhkan sebanyak 400 mg/L

- Perlakuan C (600 ppm)

$$\text{ppm} = \text{mg/L}$$

$$600 \text{ ppm} = x \text{ mg/L}$$

$$x \text{ mg} = 600 \text{ mg}$$

Jadi, ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) yang dibutuhkan sebanyak 600 mg/L

- Perlakuan D (800 ppm)

$$\text{ppm} = \text{mg/L}$$

$$800 \text{ ppm} = x \text{ mg/L}$$

$$x \text{ mg} = 800 \text{ mg}$$

Jadi, ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) yang dibutuhkan sebanyak 800 mg/L

Lampiran 4. Perhitungan Jumlah Eritrosit

a. Rataan Eritrosit

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	31.28	19.8	25.34	76.42	25.47	5.74
B	28.91	43.96	25.34	98.21	32.74	9.88
C	36.93	45.19	34.95	117.07	39.02	5.43
D	51.28	53.26	58.9	163.44	54.48	3.95
Total				455.14		

FK	17262.70
JK TOTAL	1723.21
JK PERLAKUAN	1371.71
JK ACAK	351.50

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1371.71	457.23	10.40**	4.07	7.59
Acak	8	351.50	43.93			
Total	11					

SED	= $\sqrt{2}$ KT acak/r	= 5,41
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 10,06
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 15,67

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		25.47	32.74	39.02	54.48	
A	25.47	—				a
B	32.74	7.26 ^{ns}	—			a
C	39.02	13.55*	6.29 ^{ns}	—		a
D	54.48	29.01**	21.74**	15.46*	—	b

Keterangan: ns = Non Significant (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

Lampiran 5. Jumlah Leukosit

a. Rataan Jumlah Leukosit

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	82.89	71.97	88.67	243.53	81.18	8.48
B	72.87	78.28	68.26	219.41	73.14	5.02
C	58.65	73.34	57.33	189.32	63.11	8.89
D	48.96	30.47	36.34	115.77	38.59	9.45
Total				768.03		

FK	49155.84
JK TOTAL	3605.58
JK PERLAKUAN	3074.94
JK ACAK	530.64

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	3074.94	1024.98	15.45**	4.07	7.59
Acak	8	530.64	66.33			
Total	11					

SED	= $\sqrt{2 \text{ KT acak}/r}$	= 6,64
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 12,36
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 19,25

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		38.59	63.11	73.14	81.18	
D	38.59	—				a
C	63.11	24.52**	—			b
B	73.14	34.55**	10.03 ^{ns}	—		b
A	81.18	42.59**	18.07*	8.04 ^{ns}	—	b

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

Lampiran 6. Jumlah Limfosit

a. Rataan Jumlah Limfosit

Perlakuan	Ulangan			Total	Rataan	SD
	1	2	3			
A	57	58	59	174	58.00	1.00
B	62	61	62	185	61.67	0.58
C	65	61	69	195	65.00	4.00
D	75	70	76	221	73.67	3.21
Total				775		

FK	50052.08
JK TOTAL	458.91
JK PERLAKUAN	403.58
JK ACAK	55.33

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	403.58	134.52	19.44*	4.07	7.59
Acak	8	55.33	6.91			
Total	11					

SED	= $\sqrt{2}$ KT acak/r	= 2,14
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 3,99
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 6,21

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		73.67	65.00	61.67	58.00	
D	73.67	—				a
C	65.00	8.67*	—			b
B	61.67	12.00**	3.33 ^{ns}	—		c
A	58.00	15.67**	7.00**	3.67 ^{ns}	—	c

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

Lampiran 7. Jumlah Monosit

a. Rataan Jumlah Monosit

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	32	30	29	91	30.33	1.53
B	29	30	27	86	28.67	1.53
C	26	29	25	80	26.67	2.08
D	18	25	20	63	21.00	3.61
Total				320		

FK	8533.33
JK TOTAL	192.66
JK PERLAKUAN	148.66
JK ACAK	44.00

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	148.66	49.55	9.01**	4.07	7.59
Acak	8	44.00	5.5			
Total	11					

SED	= $\sqrt{2 \text{ KT acak}/r}$	= 1,91
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 3,56
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 5,54

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		21.00	26.67	28.67	30.33	
D	21.00	—				a
C	26.67	5.67**	—			b
B	28.67	7.67**	2.00 ^{ns}	—		b
A	30.33	9.33**	3.67*	1.67 ^{ns}	—	b

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

Lampiran 8. Jumlah Neutrofil

a. Rataan Jumlah Neutrofil

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	11	12	12	35	11.67	0.58
B	9	9	11	29	9.67	1.15
C	9	10	6	25	8.33	2.08
D	7	5	4	16	5.33	1.53
Total				105		

FK	918.75
JK TOTAL	80.25
JK PERLAKUAN	63.58
JK ACAK	16.66

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	63.58	21.19	10.17**	4.07	7.59
Acak	8	16.66	2.08			
Total	11					

SED	= $\sqrt{2 \text{ KT acak}/r}$	= 1,17
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 2,19
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 3,41

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		5.33	8.33	9.67	11.67	
D	5.33	—				a
C	8.33	3.00*	—			b
B	9.67	4.33**	1.33 ^{ns}	—		b
A	11.67	6.33**	3.33*	2.00 ^{ns}	—	b

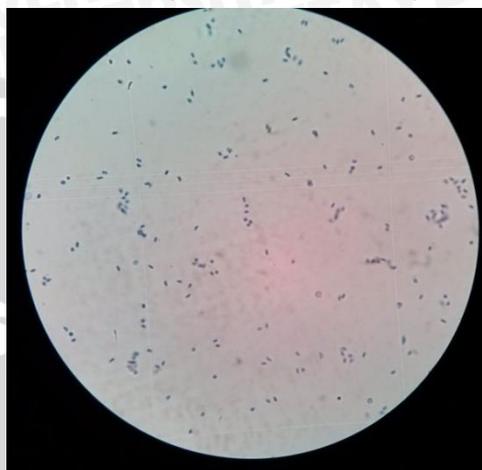
Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

Lampiran 9. Gambaran Darah Ikan Nila (*O. niloticus*)

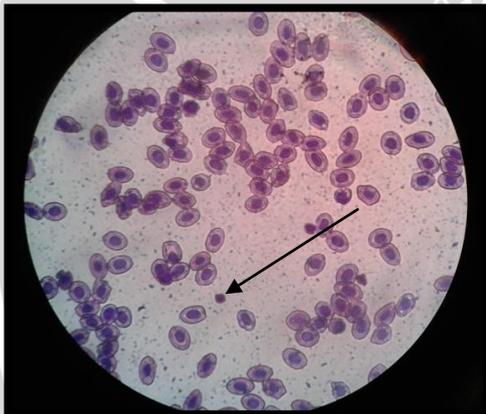
a. Eritrosit (Perbesaran 400X)



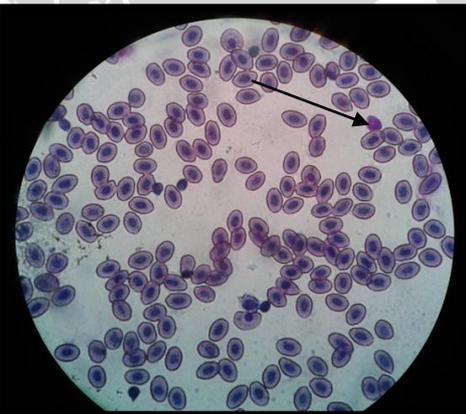
b. Leukosit (Perbesaran 400X)



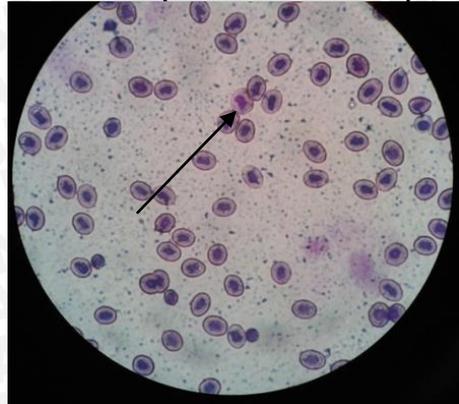
c. Limfosit (Perbesaran 100X)



d. Monosit (Perbesaran 100X)



e. Neutrofil (Perbesaran 400X)



Lampiran 10. Kegiatan Penelitian



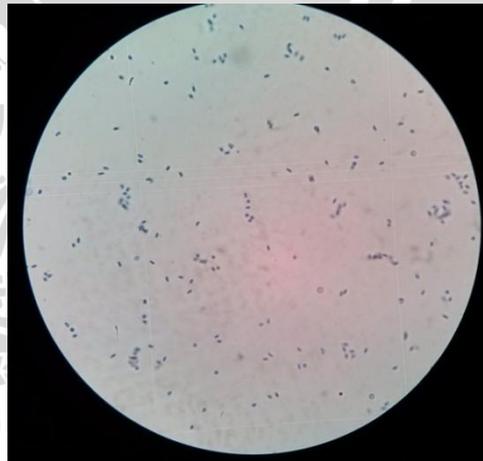
Infeksi Ikan dengan *A. hydrophila*



Penimbangan Ekstrak Kasar Daun mengkudu



Pengamatan Eritrosit dalam haemocytometer



Pengamatan Leukosit dalam haemocytometer



Pengambilan darah



Pewarnaan Darah dengan Giemsa

Lampiran 11. Tabel Kualitas Air

Perlakuan	Pagi			Sore		
	pH	Suhu (t ^o)	DO	pH	Suhu (t ^o)	DO
A	7,96	26,22	4,40	7,68	26,61	4,19
B	8,02	26,27	4,08	7,77	26,64	4,50
C	8,01	25,16	4,10	7,75	25,54	4,42
D	8,00	26,23	5,06	7,80	25,97	4,21
K-	7,94	26,48	4,22	7,70	26,40	4,10
K+	8,04	24,62	4,25	7,81	25,72	4,30