**Efek Immunomodulator Larutan Jamu Ikan Terhadap Ikan Nilem**

**yang Diinfeksi Bakteri *Aeromononas hydrophila***

**Rosidah1 Muhammad Fathi Dhiaulhaq1 Kiki Haetami1 Roffi Grandiosa1**

1Dapartement of Fisheries, Faculty of Fisheries and Marine Science, Universitas Padjadjaran,

Jalan Ir. Soekarno Km 21, Jatinangor, Kabupaten Sumedang, 45363, Indonesia

\*Email : [dhiaulhaqfathi@gmail.com](mailto:dhiaulhaqfathi@gmail.com)

**Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan penambahan jamu ikan pada pakan yang dapat meningkatkan ketahanan tubuh ikan nilem, dilihat dari peningkatan jumlah sel darah putih dan gejala klinis. Penelitian dilakukan pada bulan Juli – Desember 2020 di Laboratorium Akuakultur dan Laboratorium Bioteknologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran. Penelitian menggunakan metode eksperimental Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu penambahan jamu ikan dalam pakan dengan konsentrasi : 0 mL/kg (A), 100 mL/kg (B), 200 mL/kg (C), 300 mL/kg (D), 400 mL/kg (E). Masa pemberian perlakuan dilakukan selama 21 hari. Setelah itu ikan nilem diuji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan kepadatan 108 CFU/ml. Parameter yang diamati yaitu jumlah sel darah putih sebelum diberi perlakuan, setelah diberi perlakuan, setelah diuji tantang, gejala klinis, kelangsungan hidup dan kualitas air. Data jumlah sel darah putih dianalisis dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Data gejala klinis dianalisis secara deskriptif. Hasil memperlihatkan bahwa penambahan jamu ikan dengan konsentrasi 200 mL/kg efektif meningkatkan ketahanan tubuh ikan nilem. Selama 21 hari pemberian jamu ikan, jumlah sel darah putih mengalami peningkatan sebesar 36,92±2,34%, dari 44867 sel/mm3 menjadi 71067 sel/mm3. Gejala klinis yang terlihat pada perlakuan tersebut tidak menunjukkan kerusakan berarti dan memperlihatkan pemulihan tecepat dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

**Kata kunci**: *Aeromonas hydrophila*, ikan nilem, jamu ikan, sistem imun

**Abstract**

The Research aims to determine the addition of herbal solutions on feed which could improve the immune system of Bonylip barb infected by *Aeromonas hydrophila* that indicated from the increase number of leukocyte and clinical signs. The method used in this research was Completely Randomized Design (CRD) with five treatments and three replications. The treatments are addition of herbal solutions on feed with the dose of 0 mL/kg (A), 100 mL/kg (B), 200 mL/kg (C), 300 mL/kg (D), 400 mL/kg (E). The treatments was maintainance for 21 days. At the end of maintenance, bonylip barb was infected by *Aeromonas hydrophila* with a density of 108 cfu/mL. Observations number of total leukocytes counted before treatment, after treatment and after infected by *Aeromonas hydrophila*. The observations of clinical signs were damage surface of the body of fish test, shocks response and feeding response. The Data of total leukocytes count after treatment and after challenged were analyzed by ANOVA and followed by Duncan's test, while data of the clinical signs were analyzed descriptively. The results showed that the addition of herbal solutions concentrate as much as 200 mL/kg was the most effective to improve immune response of bonylip barb. During 21 days of treatments, total leukocytes count increased 36,92±2,34% from 44867 cell/mm3 to 71067 sel/mm3. Clinical symptoms were seen in the experiment from fish fed with addtional herb solution, however no significant damage was shown while recovery after experimental infections was faster compared with other treatments.

Keywords : *Aeromonas hydrophila*, Bonylip barb, Herbs solution, Leukocyte, Clininal symptoms

**1. Pendahuluan**

Produksi ikan budidaya di Indonesia terus meningkat selama beberapa tahun terakhir. Berdasarkan data dari Kementerian Kelautan dan Perikanan Indonesia total produksi pada tahun 2015 yaitu mencapai 15,63 juta ton dan nilainya terus meningkat hingga total produksi pada tahun 2017 yaitu mencapai 16,11 juta ton (Statistik.kkp.go.id). Usaha peningkatan produksi budidaya ikan yaitu dilakukan dengan sistem intensifikasi pada kolam maupun keramba jaring apung dengan meningkatkan kepadatan ikan yang dibudidayakan. Kondisi tersebut dapat menyebabkan menurunnya mutu kualitas air dan mengakibatkan ikan akan mengalami stres (Hariskrishnan *et al*. 2011).

Ikan dalam kondisi stres dapat dengan mudah terserang oleh patogen penyebab penyakit. Salah satu bakteri oportunistik yang mudah menyerang ikan dalam kondisi stres yaitu bakteri *Aeromonas hydrophila* (Laith dan Najiah 2013). Bakteri tersebut dapat menyebabkan tingkat kematian pada ikan mencapai 95% dengan kepadatan 108 cfu/mL (Rosidah *et al*. 2019). Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* dinamakan *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS), dengan gejala klinis adanya peradangan, pendarahan sampai borok di permukaan tubuh ikan, perut membuncit, mata membesar dan berakhir pada kematian (Anyanwu *et al*. 2015).

Penanggulangan penyakit pada ikan dapat dilakukan dengan pemberian bahan-bahan kimia yang bersifat sebagai antibakteri, yaitu antibiotik. Namun penggunaan antibiotik secara terus menerus akan menimbulkan dampak yang kurang baik, antara lain terjadi resistensi patogen terhadap antibotik tersebut, mencemari lingkungan dan menimbulkan residu pada tubuh ikan sehingga membahayakan bagi manusia yang mengkonsumsinya (Wahjuningrum *et al*. 2010).

Tindakan yang paling tepat agar ikan tidak terserang penyakit adalah melakukan upaya pencegahan, dengan cara meningkatkan ketahanan tubuh alami ikan. Pemberian immunostimulan salah satu cara untuk meningkatkan ketahanan tubuh ikan terhadap serangan penyakit. Bahan immunostimulan yang lebih aman, murah, mudah didapat dan ramah lingkungan adalah bersumber dari tumbuhan (herbal). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa bahan herbal dapat meningkatkan ketahanan tubuh ikan, yang terindikasi dengan meningkatkan jumlah sel darah putih. Menurut Harikrishnan *et al*. (2011) penggunaan beberapa jenis bahan herbal sebagai jamu ikan diketahui berdampak positif terhadap sistem imun ikan, didasarkan pada kandungan zat aktif yang dimiliki tumbuhan tersebut antara lain flavonoid, saponin dan triterpenoid. Komposisi bahan herbal sebagai penyusun jamu ikan, diantaranya kunyit, jahe, temulawak, kencur, mengkudu, daun ketapang, daun sirih beserta tangkai, molase dan ragi.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan penambahan konsentrasi jamu ikan ke dalam pakan yang dapat meningkatkan ketahanan tubuh ikan nilem terhadap serangan *A. hydrophila*, dilihat dari peningkatan jumlah sel darah putih dan gejala klinis yang timbul.

**2. Bahan dan Metode**

2.1 Bahan

Bahan yang digunakan antara lain ikan nilem (*Osteochillus vitattus*) sebagai ikan uji sebanyak 400 ekor berukuran 5 – 7 cm yang berasal dari Laboratorium Budidaya Ciparanje FPIK Unpad, isolat bakteri *A. hydrophila* dari Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan Bogor, jamu ikan dengan komposisi kunyit, jahe, temulawak, kencur, mengkudu, daun ketapang, daun sirih beserta tangkai, molase, ragi dan pakan komersil PF 500, media agar NA (*Nutrient Agar*), NB (*Nutrient Broth*), akuades dan larutan turk’s. Alat yang digunakan meliputi akuarium berukuran 60×29,5×35,5 cm3 sebanyak 15 buah setiap akuarium diisi oleh 20 ekor ikan uji, haemocytometer, alat bedah ikan, mikroskop, hand counter, jarum ose, cawan petri, inkubator, magnetic stirrer dan hot plate.

2.2 Metode

Metode penelitian yang digunakan adalah Rancang Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah penambahan jamu ikan ke dalam pakan dengan konsentrasi :

A: tanpa penambahan jamu ikan (kontrol)

B: 100 mL/kg

C: 200 mL/kg

D: 300 mL/kg

E: 400 mL/kg

Ikan uji di beri jamu ikan selama 21 hari, kemudian diuji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan kepadatan 108 CFU/ml melalui penyuntikan secara intramuskular. Pengamatan gejala klinis dilakukan selama 14 hari setelah diuji tantang. Persiapan pakan uji diawali dengan menimbang pakan sebanyak 3% dari bobot ikan uji, kemudian dicampur dengan jamu ikan menggunakan *disposable syringe* sesuai dengan perlakuan, didiamkan selama 12 jam. Pemberian pakan dilakukan sebanyak dua kali dalam satu hari, yaitu pada pukul 08.00 dan 16.00 WIB.

2.3 Kultur Isolat Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Isolat bakteri diinokulasi pada media *Nutrient Agar* (NA) menggunakan jarum ose dengan digoreskan pada media kultur, lalu diinkubasi pada suhu 30oC selama 24 jam. Bakteri yang tumbuh diambil menggunakan jarum ose sebanyak 1 ose, selanjutnya dilarutkan ke dalam media cair *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi menggunakan inkubator *shaker* pada suhu 37oC dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Hasil dari kultur menggunakan media NB diambil 2 mL dan dimasukkan ke dalam kuvet lalu dilihat nilai absobansinya pada spektrofotometer sampai menunjukkan angka 0,235 atau setara dengan kepadatan 108 cfu/mL.

2.4 Uji Tantang dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Ikan uji *(Osteochilus vittatus*) yang telah diberi perlakuan jamu ikan, kemudian diuji tantang dengan bakteri *A.hydrophila* kepadatan 108 cfu/mL melalui penyuntikan secara intramuskular. Bakteri yang disuntikan sebesar 0,1 mL/individu. Pengamatan gejala klinis dilakukan selama 14 hari setelah dijui tantang

2.5 Pengamatan Sel Darah Putih

Pengamatan sampel darah dilakukan sebanyak tiga kali yaitu sebelum diberi perlakuan, setelah diberi perlakuan selama 21 hari dan setelah 14 hari uji tantang dengan *Aeromonas hydrophila*. Prosedur pengamatan sel darah putih mengikuti prosedur dari Blaxall dan Daisley 1973.

2.6 Analisis Data

Persentase rata-rata peningkatan jumlah sel darah putih ikan nilem dianalisis dengan uji F, apabila terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 95% untuk melihat perbedaan antar perlakuan. Data gejala klinis yang meliputi kerusakan permukaan tubuh, respon terhadap pakan dan kejutan dianalisis secara deskriptif.

**3. Hasil dan Pembahasan**

3.1 Jumlah Sel Darah Putih Setelah Diberi Perlakuan

Ikan uji setelah diberi perlakuan dengan jamu ikan selama 21 hari mengalami peningkatan jumlah sel darah putih (leukosit) pada semua perlakuan. Peningkatan jumlah sel darah putih untuk setiap perlakuan berbeda-beda (Gambar1)

Gambar 1. Jumlah Sel Darah Putih Sebelum dan Sesudah Pemberian Jamu Ikan

Pada Gambar 1 terlihat kisaran rata-rata jumlah sel darah putih ikan uji sebelum diberi perlakuan sebesar 4,01 x 104 – 4,48 x 104 sel/mm, setelah diberi perlakuan mengalami kenaikan menjadi 4,53 x 104 – 7,10 x 104 sel/mm3 sel/mm. Menurut Mulyana dan Mumpuni (2016) jumlah sel darah putih sekitar 7,05 x 104 sel/mm3 masih dalam batas normal. Jumlah sel darah putih tertinggi terjadi pada ikan yang diberi jamu ikan dengan konsentrasi 200 mL/kg, pada konsentrasi lebih dari 200 mL/kg mengalami penurunan jumlah sel darah putih, namun jumlahnya masih lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (perlakuan A). Persentase peningkatan jumlah sel darah putih untuk setiap perlakukan berbeda-beda untuk setiap perlakuan (Tabel 1).

Tabel 1. Rata-rata Peningkatan Jumlah Sel Darah Putih Ikan Nilem Setelah Diberi Jamu Ikan

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Perlakuan | Rata-rata Jumlah Sel Darah Putih (sel/mm3) | | |
| Sebelum pemberian jamu ikan | Setelah pemberian jamu ikan | Persentase peningkatan jumlah sel darah putih (%) |
|  |
|  |
| A (Kontrol) | 40133 | 45333 | 11,41±1,42a |  |
| B (100 mL/kg) | 42667 | 61067 | 30,02±3,49cd |  |
| C (200 mL/kg) | 44867 | 71067 | 36,92±2,34d |  |
| D (300 mL/kg) | 41800 | 54533 | 23.30±7,44bc |  |
| E (400 mL/kg) | 41333 | 52667 | 21,37±2,33b |  |

Berdasarkan Tabel 1 ikan uji yang tidak diberi jamu ikan (kontrol) persentase peningkatan jumlah sel darah putih paling rendah dibandingkan perlakuan lain yang diberi jamu ikan. Hasil analisis sidik ragam memperlihatkan pemberian jamu ikan memberikan pengaruh nyata terhadap peningkatan jumlah sel darah putih ikan nilem. Hasil uji Duncan pada taraf kepercayaan 5% perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya dan menghasilkan persentase kenaikan sel darah putih yang paling rendah. Hal ini memperlihatkan bahwa jamu ikan mempunyai efek sebagai immunomodulator yang mampu meningkatkan ketahanan tubuh ikan nilem, yang terindikasi adanya peningkatan jumlah sel darah putih. Sebagaimana menurut Yonar *et al*. (2019), sel darah putih dapat dijadikan sebagai indikator pertahanan tubuh untuk melawan serangan penyakit. Kurkumin yang terkandung dalam kunyit dan temulawak dapat meningkatkan respons imun pada ikan dilihat dari jumlah sel darah putihnya. Penelitian yang dilakukan Yonar *et al*. (2019), memperlihatkan bahwa pemberian kurkumin pada pakan sebesar 2% meningkatkan jumlah sel darah putih ikan *rainbouw trout* sebesar 29,04 x 103 sel/mm3 dan berbeda nyata dengan perlakuan kontrol yaitu 24,16 x 103 sel/mm3. Nya dan Austin (2009), dalam penelitiannya memperlihatkan bahwa penambahan jahe 0,5 g pada 100 gram pakan memiliki nilai leukosit tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya yaitu berjumlah 243,7 x 103 sel/mm3 pada ikan *rainbouw trout*. Hasil penelitian Abdel-Tawwab dan Abbas (2017), memperlihatkan bahwa sumplementasi tepung kunyit pada dosis yang optimal sebesar 2,0 g/kg pakan dapat meningkatkan pemanfaatan pakan untuk ikan mas (*Cyprinus carprio*). Hal ini disebabkan kurkumin pada tepung kunyit menghambat tumbuhnya patogen pada organ pencernaan, sehingga meningkatkan daya serap nutrisi pada pencernaan pakan. Perlakuan B1(00 mL/kg) dan C (200 mL/kg) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, namun nilai peresentase kenaikan tertinggi terdapat pada perlakuan C, yaitu sebesar 36,92±2,34%. Hal ini disebabkan bahan aktif yang terkandung pada konsentrasi 100 mL/kg masih kurang untuk menginduksi sel darah putih. Perlakuan D (300 mL/kg) dan E (400 mL/kg) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dan mengalami penurunan persentase peningkatan sel darah putih dibandingkan dengan perlakuan B dan C. Hal ini kemungkinan pada konsentrasi tersebut terjadi perubahan rasa (palatabilitas) pakan, akibat dari bahan herbal yang dikandungnya seperti jahe, temulawak, kencur, mengkudu, daun ketapang, daun sirih terlalu tinggi, sehingga pakan tidak dapat dikonsumsi secara maksimal, terlihat dari masih adanya sisa pakan dalam akuarium. Dari uraian di atas memperlihatkan konsentrasi jamu ikan sebesar 200 mL/kg (perlakuan C) merupakan konsentrasi terbaik untuk meningkatkan ketahanan ikan.

3.2 Peningkatan Jumlah Sel Darah Putih Setelah Diuji Tantang dengan Bakteri *A. hydrophila*

Setelah ikan nilem diberi perlakuan dengan jamu ikan selama 21 hari, kemudian dilakukan uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Berdasarkan hasil pengamatan setelah diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* jumlah sel darah putih memperlihatkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah sel darah putih sebelum diuji tantang. Grafik peningkatan jumlah sel darah putih setelah diuji tantang dapat dilihat pada Gambar 2.

Gambar 2. Jumlah Sel Darah Putih Setelah Diuji Tantang dengan Bakteri *A. hydrophila*

Jumlah sel darah putih terendah terjadi pada perlakuan A (kontrol) yaitu 8,05 x 104 sel/mm3 dan tertinggi pada perlakuan C (200 mL/kg) yaitu sebesar 10,7 x 104 sel/mm3. Persentase peningkatan jumlah sel darah putih pada perlakuan A (kontrol) sebesar 43,71±0,06%, sedangkan persentase peningkatan sel darah putih pada ikan yang diberi perlakuan jamu (perlakuan B, C, D dan E) berkisar antara 33,85±0,01% - 40,78±0,03%. Berdasarkan hasil analisis ragam pemberian jamu berpengaruh nyata terhadap peningkatan jumlah sel darah putih setelah diuji tantang. Hasil uji Duncan pada taraf kepercayaan 5% perlakuan A, D dan E tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, namun berbeda nyata dengan perlakuan C. Perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan C (Tabel 2).

Adanya peningkatan jumlah sel darah putih pada ikan nilem setelah diuji tantang memperlihatkan adanya infeksi dari bakteri *A. hydrophila* yang menyerang tubuh ikan. Sebagaimana menurut Nugroho *et al*. (2017), bahwa ikan *Betta* sp. yang diuji tantang dengan *A. hydrophila* mengalami peningkatan sel darah putih pada perlakuan kontrol dengan nilai tertinggi yaitu sebesar 12,36 ± 0,19 x 103 sel/mm3.

Tabel 2. Rata-rata Peningkatan Jumlah Sel Darah Putih Ikan Nilem Setelah Diinfeksi dengan Bakteri A. *hydrophila*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Perlakuan | Rata-rata Jumlah Sel Darah Putih (sel/mm3) | | |
| Sebelum diuji tantang | Setelah diuji tantang | Persentase peningkatan jumlah sel darah putih (%) |
|  |
|  |
| A (Kontrol) | 45333 | 80533 | 43,71±0,06c |  |
| B (100 mL/kg) | 61067 | 93733 | 34,76±0,05ab |  |
| C (200 mL/kg) | 71067 | 107467 | 33,85±0,01a |  |
| D (300 mL/kg) | 54533 | 92200 | 40,78±0,03bc |  |
| E (400 mL/kg) | 52667 | 88200 | 40,39±0,03bc |  |

Berdasarkan Tabel 3 memperlihatkan nilai persentase peningkatan sel darah putih tertinggi terjadi pada perlakuan A (kontrol), walaupun tidak berbeda nyata dengan perlakuan D dan E. Hal ini memperlihatkan bahwa ikan masih dalam kondisi sakit akibat serangan bakteri *A. hydrophila*. Selain itu, kemungkinan disebabkan oleh tingginya kandungan saponin dalam jamu ikan pada perlakuan D (300 mL/kg) dan E (400 mL/kg) menyebabkan zat imunostimulan tidak bekerja optimal. Sebagaimana menurut Hashemi dan Davoodi (2012), saponin dalam jumlah yang melebihi batas normal akan berperan sebagai imunospresor, yaitu zat yang dapat menurunkan sistem imun.

Perlakuan C nilai peningkatan sel darah putihnya paling rendah, walaupun tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Hal ini memperlihatkan peningkatan sel darah putih terendah disebabkan ikan pada perlakuan tersebut dapat memanfaatkan sel darah putih lebih baik untuk melawan serangan bakteri *A. hydrophila.* Yakubu *et al*. (2020), menyatakan bahwa ikan yang diberi ekstrak daun ketapang dengan dosis 62,5 g/kg memiliki aktifitas fagosit yang tinggi pada ikan nila merah hybrid setelah empat minggu pemeliharaan dan diuji tantang dengan bakteri *S.* *agalactiae*. Hal ini menandakan pemberian jamu ikan yang mengandung daun ketapang berfungsi sebagai immunostimulan dilihat dari imun respon yang baik.

3.3 Gejala Klinis Kerusakan Permukaan Tubuh Ikan Nilem yang Terinfeksi *A. hydrophila*

Hasil pengamatan kerusakan permukaan tubuh yang terjadi pada ikan uji yang diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* terlihat 24 jam pasca penginfeksian. Kerusakan permukaan tubuh yang teramati berupa sisik mengelupas (Gambar 3c), *dropsy* (Gambar 3b), *ulcer* (Gambar 12), *hemorragic* (Gambar 3d) dan inflamasi. Berdasarkan hasil pengamatan kerusakan permukaan tubuh yang muncul berbeda setiap untuk setiap perlakuannya (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Pengamatan Kerusakan Tubuh Pada Ikan Nilem

| **Hari Ke-** | **Perlakuan** | | | | | | | | | | | | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **A** | | | **B** | | | **C** | | | **D** | | | **E** | | |
| **1** | **2** | **3** | **1** | **2** | **3** | **1** | **2** | **3** | **1** | **2** | **3** | **1** | **2** | **3** |
| 1 | ac | ab | ab | ab | ab | ac | a | a | b | bc | ac | abc | ab | ab | ac |
| 2 | abc | abcd | abc | ab | ab | ac | ab | ac | b | bc | ac | abc | ab | ab | ac |
| 3 | abcd | abcd | abcd | abc | ab | abc | ab | ac | bc | abc | acd | ab | abc | ab | abc |
| 4 | abcd | acd | acd | acd | abc | ab | ab | abc | abc | abcd | acd | abd | abc | abc | abc |
| 5 | abd | acd | acd | acd | abc | abd | abc | ab | ac | acd | acd | abd | bcd | acd | abcd |
| 6 | abd | acd | acd | ad | ad | ad | bc | ab | ac | acd | abd | abd | bcd | acd | acd |
| 7 | M | M | acd | ad | ad | ad | c | a | a | M | bd | ad | bd | cd | ad |
| 8 | M | M | M | a | ad | d | c | a | a | M | bd | ad | bd | cd | ad |
| 9 | M | M | M | a | a | d | c | a | a | M | bd | d | d | d | ad |
| 10 | M | M | M | a | a | d | c | a | a | M | d | d | M | M | d |
| 11 | M | M | M | - | a | - | - | - | - | M | d | d | M | M | d |
| 12 | M | M | M | - | - | - | - | - | - | M | d | d | M | M | d |
| 13 | M | M | M | - | - | - | - | - | - | M | d | d | M | M | d |
| 14 | M | M | M | - | - | - | - | - | - | M | d | d | M | M | d |

**Keterangan** : (a) Sisik mengelupas, (b) *dropsy*, (c) *Hemorragic*, (d) *ulcer*, (-) tidak muncul gejala klinis

|  |  |
| --- | --- |
| A picture containing fish  Description automatically generatedGambar a. Ikan Nilem Sehat | A fish in a cage  Description automatically generated with low confidenceGambar b. Perut Buncit (*Dropsy*) |
| A picture containing indoor  Description automatically generated  Gambar c. Sisik Mengelupas | A picture containing chart  Description automatically generated  Gambar d. Pendarahan (*Hemorragic/Hyperemia*) |

Gambar 3. Kerusakan Permukaan Tubuh pada Ikan Nilem

Luka borok muncul pertama kali pada perlakuan A di hari ke-2 (Gambar 4), sedangkan ikan pada perlakuan lainnya luka borok terjadi pada hari ke-4 untuk perlakuan D dan hari ke-5 untuk perlakuan E. Perlakuan yang tidak muncul luka borok yaitu perlakuan C. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yardimci dan Aydin (2011), kulit kemerahan atau hiperemia merupakan salah satu gejala klinis awal dari infeksi *A. hydrophila*, mekanisme dari *A. hydrophila* yaitu masuk ke dalam sel reseptor dan memecah sel inang dengan menghasilkan enzim ekstraseluler seperti hemolisin, protease dan elastase yang menyebabkan peradangan dan akhirnya berkembang menjadi borok (Gambar ).



Gambar 4. Luka Borok pada Ikan nilem (Ulcer)

Semua perlakuan pada awal penginfeksian dengan bakteri *A. hydrophila* mengalami kematian. Mulai hari ke-7 ikan uji pada perlakuan A mengalami kematian total, sedangkan perlakuan lainnya mulai terjadi kematian total pada hari ke-7 untuk perlakuan D dan hari ke-10 untuk perlakuan E. Ikan uji pada perlakuan A mengalami kerusakan tubuh yang lebih parah, hal ini memperlihatkan ikan uji yang ketahanan tubuhnya tidak diinduksi oleh imunostimulan daya ketahanan tubuhnya rendah terhadap serangan bakteri *A. hydrophila*, terlihat dari jumlah sel darah putih yang paling rendah (Gambar 1, Tabel 1). Kandungan herbal yang terdapat pada jamu ikan (Flavonoid, alkaloid, kurkumin, atsiri, saponin dan tertepenoid) dapat mengaktifkan sistem pertahanan tubuh pada ikan dengan cara meningkatkan jumlah sel darah putih. Meningkatnya jumlah sel darah putih (leukosit) akan menurunkan aktivitas bakteri *A. hydrophila* dengan cara memfagositosis sel bakteri tersebut, sehingga daya infeksinya semakin rendah dan dapat mengurangi jumlah ikan yang terinfeksi (Dontriska *et al*. 2014).

3.4 Gejala Klinis Respons Terhadap Kejutan

Berdasarkan hasil pengamatanrespons ikan terhadap kejutan bervariasi untuk setiap perlakuan (Tabel 4). Berdasarkan Tabel 4 terlihat pada hari pertama pengamatan, perlakuan A (kontrol) dan D (300 mL/kg) tidak menunjukkan respons terhadap kejutan, sementara pada perlakuan B (100 mL/kg), C (200 mL/kg) dan E (400 mL/kg) pada menunjukkan respons meskipun dalam kondisi respons yang masih rendah. Adanya penurunan respons pada setiap perlakuan setelah di uji tantang bakteri *A*. *hydrophila* ditandai juga dengan tingkah laku ikan yang terlihat berenang dengan posisi miring, loncat ke permukaan akuarium dan berenang bergerombol di sekitar aerasi (Hardi *et al*. 2017).

Tabel 4. Hasil Pengamatan Respons Terhadap Kejutan

| **Hari Ke-** | **Perlakuan** | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **A** | | | **B** | | | | | **C** | | | | | **D** | | **E** | | |
| **1** | **2** | **3** | | **1** | **2** | **3** | **1** | | **2** | **3** | **1** | **2** | | **3** | **1** | **2** | **3** |
| 1 | - | - | - | | - | + | - | - | | + | + | - | - | | - | - | + | - |
| 2 | - | - | + | | + | + | + | + | | + | + | + | + | | + | + | + | + |
| 3 | + | + | + | | + | + | + | + | | + | + + | + | + | | + | + | + | + |
| 4 | + | + | + | | + + | + + | + | + + | | + + | + + | + | + | | + | + | + | + |
| 5 | + | + | + | | + + | + + | + + | + + | | + + | + + | + | + | | + | + | + | + |
| 6 | + | + | + | | + + | + + | + + | + + | | + + | + + | + | + | | + + | + | + | + |
| 7 | M | M | + | | + + | + + | + + | + + | | + + | + + | + | + | | + + | + | + | + |
| 8 | M | M | M | | + + | + + | + + | + + | | + + | + + | M | + + | | + + | + | + | + |
| 9 | M | M | M | | + + | + + | + + | + + | | + + | + + | M | + + | | + + | + | + | + + |
| 10 | M | M | M | | + + | + + | + + | + + | | + + | + + | M | + + | | + + | M | M | + + |
| 11 | M | M | M | | + + | + + | + + | + + | | + + | + + | M | + + | | + + | M | M | + + |
| 12 | M | M | M | | + + | + + | + + | + + | | + + | + + | M | + + | | + + | M | M | + + |
| 13 | M | M | M | | + + | + + | + + | + + | | + + | + + | M | + + | | + + | M | M | + + |
| 14 | M | M | M | | + + | + + | + + | + + | | + + | + + | M | + + | | + + | M | M | + + |

**Keterangan** : (-) Tidak ada respon, (+) Respon terhadap kejutan rendah,

(++) Respon terhadap kejutan normal, (M) Mati

Respons normal mulai terlihat pada perlakuan C pada hari ke-3, sedangkan pada perlakuan lainnya terlihat pada hari ke-4 untuk perlakuan B, pada hari ke-6 pada perlakuan D dan hari ke-9 pada perlakuan E. Perlakuan A (kontrol) masih menunjukkan respons rendah terhadap kejutan pada hari ke-6 dan mulai terjadi kematian total pada hari ke-7 sampai akhir pengamatan. Kematian total juga terjadi pada perlakuan D pada hari ke-8 dan perlakuan E pada hari ke-10.

Perlakuan C memperlihatkan pengaruh yang baik dari pemberian imunostimulan berupa jamu ikan yang terlihat dari respons terhadap kejutan mulai normal pada hari ke-3 sampai akhir pengamatan. Sebagaimana Hardi *et al*. (2017), penambahan bahan herbal (*Boesenbergia panduratu*, *Solanum ferox*, *Zingiber zerumbet*) melalui pakan memperlihatkan berenang ikan menjadi normal kembali setelah diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. Hal sebaliknya terlihat pada perlakuan D (300 mL/kg) dan E (400 mL/kg), meskipun pada kedua perlakuan tersebut diberikan jamu ikan dalam pakan, kemungkinan tingginya kandungan saponin dalam jamu ikan dapat menyebabkan ikan teracuni sehingga respons terhadap kejutan menjadi rendah. Sebagaimana menurut Ardulanisa (2017), tingginya dosis ekstrak buah mengkudu, dapat menyebabkan kandungan saponin yang berpotensi sebagai toksik disamping sebagai antibaktei pada ikan tawes.

3.5 Gejala Klinis Respons Terhadap Pakan

Pengamatan respons ikan nilem terhadap pakan dilakukan selama 14 hari setelah penginfeksian dengan bakteri *A. hydrophila*. Pengamatan tersebut dilakukan untuk mengetahui perubahan metabolisme yang terjadi akibat infeksi bakteri *A. hydrophila* pada tubuh ikan melalui respons terhadap pakan. Sebagaimana menurut Roy *et.al* (2018), organ target ikan yang diserang bakteri *A. hydrophila* adalah ginjal yang dapat mengubah proses metabolisme dalam tubuh. Berdasarkan hasil pengamatan respons ikan uji terhadap pakan bervariasi pada setiap perlakuannya (Tabel 5).

Tabel 5. Hasil Pengamatan Respons Terhadap Pakan

| **Hari Ke-** | **Perlakuan** | | | | | | | | | | | | | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **A** | | | **B** | | | **C** | | | | **D** | | | **E** | | |
| **1** | **2** | **3** | **1** | **2** | **3** | **1** | **2** | **3** | **1** | | **2** | **3** | **1** | **2** | **3** |
| 1 | + | + | + | + | + | + | + | + | ++ | | + | + | + | + | + | + |
| 2 | + | + | + | + | + | + | + | + + | ++ | | + | + | + | + | + | ++ |
| 3 | + | + | + | + | + + | + + | + + | + + | + + | | + | + | + | + | + | + + |
| 4 | + | + | + | + + | + + | + + | + + | + + | + + | | + | + | + | + | + | + + |
| 5 | + | + | + | + + | + + | + + | + + | + + | + + + | | + + | + | + + | + + | + + | + |
| 6 | + | + | + | + + | + + | + + | + + | + + | + + + | | + + | + | + | + + | + + | + |
| 7 | M | M | + | + + | + + | + + | + + + | + + | + + + | | + | + + | + | + + | + + | + |
| 8 | M | M | M | + + | + + | + + + | + + + | + + + | + + + | | M | + + | + + | + | + | + |
| 9 | M | M | M | + + | + + | + + + | + + + | + + + | + + + | | M | + + | + + | + | + | + + |
| 10 | M | M | M | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | | M | + + | + + | M | M | + + |
| 11 | M | M | M | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | | M | + + + | + + | M | M | + + |
| 12 | M | M | M | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | | M | + + + | + + + | M | M | + + + |
| 13 | M | M | M | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | | M | + + + | + + + | M | M | + + + |
| 14 | M | M | M | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | + + + | | M | + + + | + + + | M | M | + + + |

**Keterangan** : (+) Respons rendah, (++) Respons sedang, (+++) Respons terhadap pakan normal, (M) Mati/Mortal

Berdasarkan Tabel 5 terlihat pada hari pertama pengamatan setelah diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*, menunjukkan adanya penurunan respons terhadap pakan. Terlihat pada perlakuan C (200 mL/kg) sudah menunjukkan respons sedang terhadap pakan, sedangkan pada perlakuan lainnya menunjukkan respons rendah terhadap pakan. Respons normal terhadap pemberian pakan mulai terlihat pada hari ke-5 untuk perlakuan C, pada perlakuan B (100 mL/kg) pada hari ke-7, pada hari ke-11 untuk perlakuan D (300 mL/kg) dan hari ke-12 untuk perlakuan E (400 mL/kg). Sedangkan perlakuan A (kontrol) dari awal pengamatan sampai hari ke-6 menunjukkan respons yang rendah terhadap pakan dan kemudian hari ke-7 terjadi kematian total, sementara pada perlakuan D dan E respons menunjukkan fluktuasi hingga terjadi kematian pada hari ke-8 untuk perlakuan D dan pada hari ke-10 untuk perlakuan E.

Perlakuan A mengalami respons terhadap pakan yang paling buruk, hal ini menunjukkan ikan uji yang tidak diinduksi imunostimulan berupa jamu ikan ketahanan tubuhnya rendah terhadap serangan bakteri *A. hydrophila*. Pemberian jamu ikan dengan konsentrasi tinggi memperlihatkan respons terhadap pakan yang kurang baik. Hal tersebut merupakan efek dari kandungan saponin yang tinggi dalam jamu ikan yang terlihat pada perlakuan D (300 mL/kg) dan E (400 mL/kg). Sebagaimana menurut Hashemi dan Davoodi (2012), saponin dalam jumlah yang melebihi batas normal akan berperan sebagai imunospresor, yaitu zat yang dapat menurunkan sistem imun.

Pemberian imunostimulan pada konsentrasi yang tepat memperlihatkan hasil yang paling baik terlihat pada perlakuan C (200 mL/kg). Mulai pada hari ke-5 menunjukkan respons normal tercepat dibandingkan perlakuan lainnya. Menurut Chen *et.al* (2018), menyatakan bahwa tumbuhan herbal dapat meginduksi nafsu makan pada beberapa spesies ikan, selain itu kandungan anti mikroba yang terdapat pada jamu ikan seperti flavonoid berperan dalam mengeliminasi mikroba negatif pada saluran pencernaan ikan. Penelitian Lestariningsih (2015) menunjukkan hasil penambahan tepung meniran yang mengandung flavonoid pada pakan mampu meningkatkan jumlah BAL (Bakteri Asam Laktat) dan menurunkan jumlah bakteri *Escheria coli* pada saluran pencernaan.

**Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Jamu ikan yang diberikan melalui pakan pada ikan nilem mempunyai efek sebagai Immunomodulator, terindikasi dengan adanya peningkatan persentase jumlah sel darah putih sebesar 21,37±2,33% sampai 36,92±2,34%.
2. Konsentrasi 200 mL/kg menghasilkan peningkatan jumlah sel darah putih tertinggi (36,92±2,34%), memperlihatkan gejala klinis berupa kerusakan permukaan tubuh, respons terhadap kejutan dan respons terhadap pakan yang paling ringan.

**Daftar Pustaka**

Abdel-Tawwab, M., & Abbass, F. E. Turmeric Powder, *Curcuma longa* L., in Common Carp, *Cyprinus carpio* L., Diets: Growth Performance, Innate Immunity, and Challenge against Pathogenic *Aeromonas hydrophila* Infection. Journal of the World Aquaculture Society. 2017; 48:(2), 303–312.

Anyanwu MU, Chah KF, Shoyinka VS. Evaluation of pathogenicity of motile Aeromonas species in African catfish. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 2015; 2(3): 93-98.

Ardulanisa, R., Prayitno, S. B., & Haditomo, A. H. C. Pengaruh Perendaman Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Terhadap Kelulushidupan Ikan Tawes (*Barbonymus gonionotus*) yang Diinfeksik *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2017; 6(3): 258–265.

Blaxhall, P. C., & Daisley, K. W. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*. 1973; *5*(6), 771–781.

Chen, Q., Wu, L., Du, X., & Zheng, W. The Comparsion on Attractive Effects Of Feeding Attractants On Fishes With Different Food Habits. *J. Chongqing Normal Univ*. 2018; *35*:102–108.

Dontriska, Sasansti, A., & Yulisman. Efektivitas Tepung Jintan Hitam (*Nigella sativa*) untuk Mencegah Infeksi Aeromonas hydrophila Pada Ikan Patin. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 2014; *2*(2): 188–201.

Harikrishnan, R., Balasundaram, C., M-S Heo. Impact Of Plant Products On Innate and Adaptive Immune System Of Cultured Finfish Anda Shellfish. *Aquaculture.* 2014;317: 1-15.

Hardi, Esti H., Saptiani, G., Kusuma, I. W., Suwinarti, W., & Nugroho, R. A. Immunomodulatory and antibacterial effects of *Boesenbergia pandurata*, *Solanum ferox*, and *Zingiber zerumbet* on tilapia, *Oreochromis niloticus*. *AACL Bioflux*. 2017; 10(2): 182–190.

Hashemi SR, Davoodi H. Herbal plants as new immuno-stimulator in poultry industry: A review. *Asian Journal of Animaland Veterinery Advances*. 2012; 7(2): 105-116.

Laith, A. R., & Najiah, M. *Aeromonas hydrophila*: Antimicrobial susceptibility and histopathology of isolates from diseased catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell). Journal of Aquaculture Research and Development. 2014; 5(2): 512

Lestariningsih, Sjofjan, O., & Sudjarwo, E. Pengaruh Tepung Tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) Sebagai Pakan Tambahan Terhadap Mikroflora Usus Halus Ayam Pedaging. Agripet. 2015; 15(2).

Nugroho, R. A., Manurung, H., Nur, F. M., & Prahastika, W. *Terminalia catappa* L. Extract improves survival, hematological profile and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Betta* sp. Extract. Archives of Polish Fisheries. 2017; 25(2): 103–115.

Nya, E. J., & Austin, B. Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases. 2009; 32: 971–977

Pusat Data Statistik dan Informasi Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) RI. 2017. Pengolahan Data Produksi Perikanan dan Kelautan. (<https://statistik.kkp.go.id/home.php?m=total&i=2#panel-footer> diakses pada tanggal 5 September 2021).

Rosidah, Nurruhwati, I., Yunita, M. D., & Pratiwy, F. M. Virulence test of *Aeromonas hydrophila* bacteria on goldfish (*Carassius auratus*). International Journal of Fisheries and Aquatic Research. 2019; 4(2): 15–20.

Roy, A., Singha, J., & Abraham, T. Histopathology of Aeromonas caviae infection in challenged Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). Intern Ational Journal of Aquaculture. 2018; 8(20): 151–155.

Wahjuningrum, D., E, H. Solikhah., T. Budiardi dan M. Setiawati. Pengendalian Infeksi *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp) dengan Campuran Meniran (*Phyllanthus niruri*) dan Bawang Putih (*Allium sativum*) Dalam Pakan. *Jurnal Akuakultur Indonesia.* 2010;9(2): 93-103

Yakubu, Y., Talba, A. M., Chong, C. M., Ismail, I. S., & Shaari, K. Effect of *Terminalia catappa* methanol leaf extract on nonspecific innate immune responses and disease resistance of red hybrid tilapia against *Streptococcus agalactiae*. Aquaculture Reports. 2020; 18.

Yardimci, B., & Aydin, Y. Pathological findings of experimental *Aeromonas hydrophila* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Ankara Üniv Vet Fak Derg. 2011; 58

Yonar, M. E., Mişe Yonar, S., İspir, Ü., & Ural, M. Ş. Effects of curcumin on haematological values, immunity, antioxidant status and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Aeromonas salmonicida* subsp. achromogenes. *Fish and Shellfish Immunology*. 2019; 89: 83 – 90.