

EFEKTIVITAS EKSTRAK *Solanum ferox* DALAM MENINGKATKAN RESPONS KEKEBALAN IKAN PATIN JAMBAL (*Pangasius djambal*) TERHADAP INFEKSI *Edwardsiella tarda*

Hany Handajani[#], Ganjar Adhywirawan Sutarjo, Yhogie Aldi Setyawan, Alif Zidane Juni Wananda, dan Yukis Angga Prasetya

Program Studi Akuakultur, Fakultas Pertanian Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang
Jalan Raya Tlogomas No.246 Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur 65144

(Naskah diterima: 14 Februari 2023; Revisi final: 18 Januari 2024; Disetujui publikasi: 18 Januari 2024)

ABSTRAK

Bakteri *Edwardsiella tarda* yang menginfeksi ikan patin dapat menyebabkan kematian hingga 80%. Terong asam (*Solanum ferox*) mengandung senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat membunuh bakteri penyebab infeksi. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak *S. ferox* terhadap respons imun ikan patin jambal (*Pangasius djambal*) serta memperoleh dosis optimum untuk penanggulangan bakteri *E. tarda*. Metode yang dilakukan adalah eksperimen dengan rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dosis ekstrak terong asam (0, 300, 600, dan 900 ppm) serta kontrol (perendaman antibiotik komersial) dengan tiga ulangan. Ikan uji yang digunakan adalah ikan patin jambal berukuran 14-16 cm sebanyak 150 ekor. Perlakuan diberikan dengan perendaman ikan uji dalam larutan uji selama 7 hari. Parameter uji antara lain gejala klinis, total eritrosit, total leukosit, diferensial leukosit, aktivitas fagositosis, prevalensi, pertumbuhan bobot mutlak, dan kelangsungan hidup. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perendaman ikan patin jambal dalam larutan ekstrak *S. ferox* meningkatkan respons imun ikan patin jambal yang terinfeksi *E. tarda*. Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak *S. ferox* dosis 600 ppm secara efektif meningkatkan aktifitas fagositosis yang kemudian mengoptimalkan respons imun dan profil darah ikan patin jambal.

KATA KUNCI: *Edwardsiella tarda*; ekstrak *Solanum ferox*; *Pangasius djambal*; respons imun

ABSTRACT: *Effectiveness of Solanum ferox in Improving Immune Responses of Catfish (Pangasius djambal) against Edwardsiella tarda Infection*

Infection of Edwardsiella tarda bacteria in farmed catfish could lead to mass mortality of up to 80% of the fish. Sour eggplant (Solanum ferox) contains antibacterial compounds which are capable of inhibiting the growth of bacteria and can kill infectious bacteria. The study aimed to determine the effect of S. ferox extract on the immune response of catfish (Pangasius djambal) and obtain its optimum dose to control the infection of E. tarda. The study used an experimental trial in which treatments were arranged in a completely randomized design (CRD) consisting of four treatment doses of sour eggplant extract (0, 300, 600, and 900 ppm) and control (immersion of commercial antibiotic) with three replicates. The test fish used were 150 catfish with a length of 14-16 cm. The treatments were applied by soaking the test fish

[#]Korespondensi: Program Studi Akuakultur, Fakultas Pertanian Peternakan,
Universitas Muhammadiyah Malang
Email: handajani@umm.ac.id

in the test solutions for 7 days. The measured parameters included clinical symptoms, total erythrocytes, total leukocytes, leukocyte differential, phagocytic activity, prevalence, absolute weight growth, and survival. The results showed that the immersion of catfish in *S. ferox* extract solution increased the immune responses of catfish infected by *E. tarda*. The results of this study concluded that *S. ferox* extract at a dose of 600 ppm effectively increases phagocytic activity which then optimizes the immune response and blood profile of catfish.

KEYWORDS: *Edwardsiella tarda*; **immune response**; *Pangasius djambal*; *Solanum ferox* extract

PENDAHULUAN

Pada budidaya ikan patin infeksi penyakit masih sering terjadi. Bakteri *Edwardsiella tarda* sering menyerang ikan patin yang dapat menimbulkan penyakit *motile edwardsiella septicaemia* (MES) (Qurrota *et al.*, 2020). Menurut Andayani *et al.* (2017) ikan patin jambal (*Pangasius djambal*) sangat rentan terhadap bakteri *E. tarda* yang merupakan penyebab penyakit edwardsiellosis. Mortalitas MES mencapai 80%, sehingga dapat menyebabkan penurunan produktivitas pada ikan patin yang berdampak kerugian bagi pembudidaya ikan. Penanggulangan MES pada budidaya umumnya masih menggunakan antibiotik sintetik (Narwiyani & Kurniasih, 2011; Pane *et al.*, 2018).

Undang-Undang Nomor 31 Tahun 2004 Pasal 8 Ayat 1 menyebutkan bahwa pemberian antibiotik yang berbahan kimia dalam jangka waktu yang lama dapat berdampak negatif terhadap ikan dan lingkungan. Pemberian antibiotik menyebabkan dampak negatif seperti kemunculan resistensi bakteri patogen serta residunya dapat memperburuk kualitas air (Kurniawan *et al.*, 2020). Alternatif pengganti antibiotik sintetik yakni antibakteri berbahan alami sebab tidak merusak lingkungan, harganya terjangkau, dan tidak menimbulkan residu pada ikan dan bersifat herbal (Azhar & Muhammad, 2018).

Solanum ferox merupakan jenis tanaman yang dimanfaatkan sebagai antibakterial pada ikan air tawar. Hazimah *et al.* (2018) menyatakan bahwa tanaman *S. ferox* memiliki berbagai senyawa bioaktif yang bersifat antibakteri. Ekstrak etanol terong asam (*S. ferox* Linn) diketahui mengandung metabolit sekunder antara lain alkaloid,

terpenoid, dan senyawa fenolik terutama flavonoid (Syarpin *et al.*, 2018). Penelitian terdahulu melaporkan bahwa tanaman tersebut memiliki kandungan levamisol, flavonoid, steroid, karbohidrat, secara *in vitro* maupun *in vivo* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. yang menginfeksi ikan nila (Hardi *et al.*, 2017). Hardi *et al.* (2017) melaporkan penggabungan *S. ferox*, *Boesenbergia pandurata*, dan *Zingiber zerumbet* mampu menghambat bakteri *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. baik infeksi secara tunggal maupun gabungan.

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui efek dosis yang berbeda dari ekstrak *S. ferox* terhadap respons imun khususnya profil darah ikan patin dan memperoleh dosis ekstrak yang optimum untuk penanggulangan bakteri *E. tarda* pada ikan patin. Ekstrak *S. ferox* diharapkan dapat digunakan sebagai pengganti antibiotik dalam upaya pengendalian penyakit bakteri *E. tarda*.

BAHAN DAN METODE

Metode Penelitian

Metode eksperimental dengan menerapkan rancangan acak lengkap (RAL), terdiri dari empat perlakuan masing-masing diulang tiga kali. Perlakuan penelitian adalah K: ikan direndam dengan antibiotik komersial (tetrasiklin); P1: ikan direndam dalam ekstrak *S. ferox* dosis 0 ppm; P2: ikan direndam dalam ekstrak *S. ferox* dosis 300 ppm; P3: ikan direndam dalam ekstrak *S. ferox* dosis 600 ppm; dan P4: ikan direndam dalam ekstrak *S. ferox* dosis 900 ppm.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Ekstrak *Solanum ferox*

Metode ekstraksi dengan cara basah mengacu pada Rifkowsky & Wardanu (2016). Bahan uji yang digunakan adalah buah terong asam segar. Buah terong asam dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan debu. Selanjutnya diiris dengan pisau lalu dihaluskan menggunakan *blender* dan ditambahkan etanol 70% dengan perbandingan 1:2. Buah yang sudah halus dimaserasi selama 3 hari dengan *shaker* dan berikutnya diperas menggunakan kain steril, kemudian hasilnya dievaporasi selama 4 jam hingga diperoleh ekstrak cair. Setelah itu ekstrak cair dilakukan *freeze drying* dengan suhu -55 sampai -40°C selama 8 jam dan akhirnya mendapatkan ekstrak berbentuk serbuk.

Perendaman Ikan Uji dengan Ekstrak *Solanum ferox*

Pencegahan penyakit MES dilakukan dengan metode perendaman. Perendaman dilakukan selama 7 hari *nonstop* dengan dosis *S. ferox* berbeda tiap perlakuan, kemudian setelah perendaman ikan diinfeksi bakteri *E. tarda*. Pascainfeksi, ikan dipelihara hingga hari ke-14.

Uji Tantang dan Pengamatan Gejala Klinis

Isolat *E. tarda* diperoleh dari Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Brawijaya. Ikan patin jambal berukuran 14-16 cm diperoleh dari pembudidaya di Desa Sumbersekar, Malang. Infeksi dilakukan dengan injeksi intramuskular menggunakan *syringe* 1 mL dengan kepadatan bakteri 10^8 CFU mL⁻¹ sebanyak 0,1 mL per ekor. Ikan dimasukkan dalam akuarium selama 24 jam dan diamati gejala klinis yang ditimbulkan setelah infeksi. Terjadinya perubahan morfologi pada ikan yang menandakan adanya infeksi *E. tarda* yaitu timbulnya luka-luka (*ulcer*) dari *muscular* sampai *peduncle*, pendarahan pada sirip anus, perut membesar, sirip geripis, dan *ulcer* yang terjadi menimbulkan bau.

Pengambilan Darah

Darah ikan diambil satu kali di akhir pemeliharaan (hari ke-14), menggunakan *syringe* sebanyak 1 mL dari bagian *cardiac puncture* (punksi jantung). Darah dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf* dan digunakan untuk pengukuran total eritrosit, total leukosit, diferensial leukosit, dan aktivitas fagositosis (Prayitno *et al.*, 2017).

Parameter yang Diamati

Total Eritrosit

Sel darah dihitung menggunakan *haemocytometer*. Darah diambil dengan pipet *haemocytometer* sampai tanda 0,5. Sampel darah yang diambil sudah diberi antikoagulan. Untuk melisiskan leukosit ditambahkan larutan Hayem. Pipet dikocok membentuk angka delapan selama 3-5 menit, supaya darah tercampur secara merata. Larutan darah diteteskan ke dalam *haemocytometer* dan ditutup dengan *cover glass*, diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Jumlah total eritrosit dihitung dari lima kotak kecil pada *haemocytometer* (Tungkup *et al.*, 2021) menggunakan rumus (1) sebagai berikut:

$$\Sigma \text{Eritrosit} = \frac{\Sigma \text{Sel}}{\text{Volume kotak besar}} \times \text{Faktor Pengenceran} \dots \dots \dots (1)$$

Total Leukosit

Darah diambil menggunakan pipet thoma leukosit sampai skala 0,5, ditambahkan larutan Turk's sampai skala 11. Sampel darah digoyang selama 3-5 menit supaya homogen. Sampel darah diteteskan di *haemocytometer* dan ditutup dengan *cover glass*. Pengamatan dilakukan dengan pembesaran 400 kali pada mikroskop binokuler. Leukosit dihitung pada empat kotak besar di bagian sudut kiri dan kanan atas serta pada sudut kiri dan kanan bawah (Subryana *et al.*, 2020). Total leukosit dihitung menggunakan rumus (2) sebagai berikut:

$$\Sigma \text{Leukosit} = \frac{\Sigma \text{Sel}}{\text{Volume kotak besar}} \times \text{Faktor Pengenceran} \dots \dots \dots (2)$$

Diferensial Leukosit

Perhitungan jenis leukosit berdasarkan metode Blaxhall (1972). Tahap yang dilakukan yaitu mengambil darah ikan, kemudian dibuat preparat ulas darah pada kaca objek lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Selanjutnya, difiksasi dengan larutan metanol 95%, dibilas dengan akuades, dan dikeringanginkan, kemudian dilakukan pewarnaan menggunakan giemsa 50% selama 2 menit. Preparat ulas dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Sediaan siap diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali (Kurniawan *et al.*, 2020). Monosit, neutrofil, dan limfosit adalah jenis leukosit yang diamati. Penghitungan dilakukan sampai 100 sel dan dimasukkan dalam formula (3) berikut:

$$\text{Persentase Sel} = \sum n \times 100\% \dots \dots \dots (3)$$

Dimana n adalah jumlah sel yang dihitung

Aktivitas Fagositosis

Pengambilan 100 μL darah dan memasukkannya ke dalam *eppendorf* sebagai metode fagositosis. Penyiapan bakteri *E. tarda* pada kepadatan 10^8 CFU mL^{-1} dan dicampurkan ke dalam *phosphate buffered saline* (PBS) dengan perbandingan 1:1. Pengambilan campuran bakteri dan PBS sebanyak 100 μL untuk ditambahkan ke dalam 100 μL darah dalam *eppendorf*. Inkubasi dilakukan pada suhu inkubator 30°C dan dilakukan selama waktu 50 menit, lalu dilanjutkan dengan pembuatan apusan darah. Sediaan apusan darah dibuat dengan peralatan dua *object glass* yang bebas lemak dan sangat bersih. Dua *object glass* tersebut masing-masing diperuntukkan sebagai tempat tetes darah (sampel) yang akan diperiksa dan untuk meratakan tetes darah agar lapisan tipis didapatkan. Peletakan *object glass* untuk meratakan darah pada kemiringan sudut kira-kira 45° dan secara cepat digerakkan agar terbentuk selapis tipis. Pengeringan sampel darah pada suhu ruang

dan dilakukan penetesan metanol ke seluruh apusan darah sebagai fiksasi dengan metanol absolut. Selanjutnya, apusan darah dibiarkan pada suhu ruang sampai kering. Setelah kering, dilakukan pewarnaan pada apusan darah dengan pewarna giemsa modifikasi metode Romanosky (Ardina & Rosalinda, 2018). Pengamatan di bawah mikroskop cahaya terhadap sediaan ulas kering dengan pembesaran 100 kali. Berdasarkan dari 50 sel fagosit yang teramati, kemudian dilakukan penghitungan jumlah sel yang menunjukkan proses fagositosis menggunakan formula (4) (Lengka *et al.*, 2013).

$$\text{Aktivitas Fagositosis (\%)} = \frac{\sum \text{Sel Fagosit yang melakukan fagositosis}}{\sum \text{Sel Fagosit teramati}} \times 100 \dots \dots \dots (4)$$

Prevalensi

Perhitungan prevalensi dilakukan 14 hari setelah ikan diinfeksi dengan bakteri *E. tarda*, menggunakan formula (5) yang dijelaskan oleh Kabata (1985).

$$\text{Prevalensi (\%)} = \frac{(\text{Jumlah ikan yang teresang penyakit})}{(\text{Jumlah ikan yang diperiksa})} \times 100\% \dots \dots \dots (5)$$

Kelangsungan Hidup

Kelangsungan hidup ikan uji dihitung 14 hari pascainfeksi dengan bakteri *E. tarda*, menggunakan formula (6) menurut Effendie (1997).

$$\text{Kelangsungan hidup} = \frac{\sum \text{Ikan yang hidup diakhiri Penelitian}}{\sum \text{Ikan yang ditebar saat awal penelitian}} \times 100\% \dots \dots \dots (6)$$

Pertumbuhan Mutlak

Pertumbuhan mutlak diketahui melalui penimbangan bobot akhir ikan yang dilakukan 14 hari setelah ikan diinfeksi dengan bakteri *E. tarda*. Pertumbuhan mutlak dihitung menggunakan formula (7) sebagaimana dijelaskan oleh Effendie (1997):

$$\text{Pertumbuhan mutlak (g)} = \text{bobot ikan akhir (g)} - \text{bobot ikan awal (g)} \dots \dots \dots (7)$$

Analisis Data

Profil darah ikan (jumlah eritrosit, jumlah leukosit, diferensial leukosit, dan aktivitas fagositosis), prevalensi, kelangsungan hidup serta pertumbuhan ikan dianalisis menggunakan analisis sidik ragam. Hasil analisis yang berpengaruh nyata dilanjutkan uji statistiknya dengan uji Duncan untuk melihat perbedaan antarperlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Klinis dan Prevalensi

Ikan patin jambal yang terinfeksi *E. tarda* menunjukkan gejala klinis sirip anal mengalami peradangan hingga pangkal ekor berwarna kemerahan dan sirip ekor geripis, tubuh menghasilkan banyak lendir, dan pada bagian kepala hingga mulut mengalami lesi (Gambar 1).

Ikan yang terinfeksi *E. tarda*, ditunjukkan dengan gejala klinis sesuai dengan pernyataan Tungkup *et al.* (2021). Gejala klinis infeksi *E. tarda* meliputi produksi lendir berlebihan, perut membengkak, terdapat lesi (borok) di bagian kepala diawali dengan luka yang membesar, anus sampai pangkal ekor mengalami peradangan sampai berwarna merah serta ikan sangat lambat pergerakannya.

Nilai prevalensi ikan yang sakit tertinggi pada perlakuan 0 ppm dengan nilai 60% diikuti dengan perlakuan 900 ppm sebesar 53,33%,

perlakuan 300 ppm dengan nilai 46,66% kemudian perlakuan 600 ppm bernilai 33,33%, dan nilai terendah terdapat pada perlakuan kontrol yakni 26,6% (Gambar 2). Menurut Adam & Maftuch (2017), tingkat infeksi bakteri atau prevalensi akan menentukan dampaknya pada ikan. Semakin tinggi nilai prevalensinya, maka semakin parah tingkat infeksi dan dampak yang ditimbulkan.

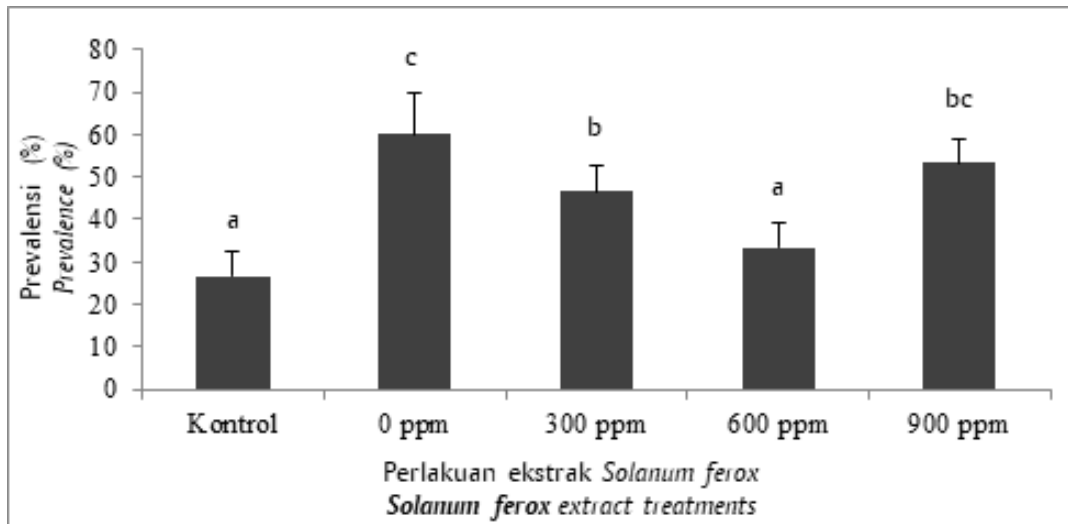
Total Eritrosit

Hasil pengukuran total eritrosit tertinggi diperoleh pada perlakuan P2 dengan nilai $1,83 \pm 0,64 \times 10^6$ sel mm^{-3} , diikuti dengan P1 $1,76 \pm 0,25 \times 10^6$ sel mm^{-3} , kemudian P3 $1,70 \pm 0,60 \times 10^6$ sel mm^{-3} , pada perlakuan K $1,50 \pm 0,5 \times 10^6$ sel mm^{-3} , dan perlakuan P4 $1,36 \pm 0,25 \times 10^6$ sel mm^{-3} adalah total eritrosit yang terendah (Gambar 3). Tinggi rendahnya eritrosit pada perlakuan tersebut disebabkan karena ekstrak *S. ferox* mengandung senyawa polifenol yang merupakan kelompok senyawa flavonoid. Restuti *et al.* (2020) melaporkan bahwa flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan dan berfungsi sebagai reservoir radikal hidroksil dan superoksida dalam sel darah sehingga melindungi lipid membran dan mencegah kerusakan sel darah merah. Selain itu tiap tanaman terdapat senyawa saponin dengan konsentrasi tinggi pada bagian tertentu dan dipengaruhi varietas tanaman (Illing *et al.*, 2017). Senyawa saponin ini yang diduga mampu menghemolisis sel darah merah sehingga eritrosit menurun (Kurniawan *et al.*, 2020).



Gambar 1. Gejala klinis infeksi *Edwardsiella tarda* pada ikan patin jambal: (A) sirip anal mengalami peradangan yang ditandai dengan warna merah, (B) tubuh berwarna pucat and pudar dengan lendir tubuh banyak, (C) bagian kepala terdapat lesi, (D) mulut mengalami luka borok, dan (E) sirip ekor geripis.

Figure 1. Clinical signs of *Edwardsiella tarda* infection in catfish: (A) inflammation of the anal fin indicated by red color; (B) pale and faded body color with excessive mucus on the body surface; (C) lesion on the fish head, (D) ulcers on the mouth, and (E) damage caudal fin.

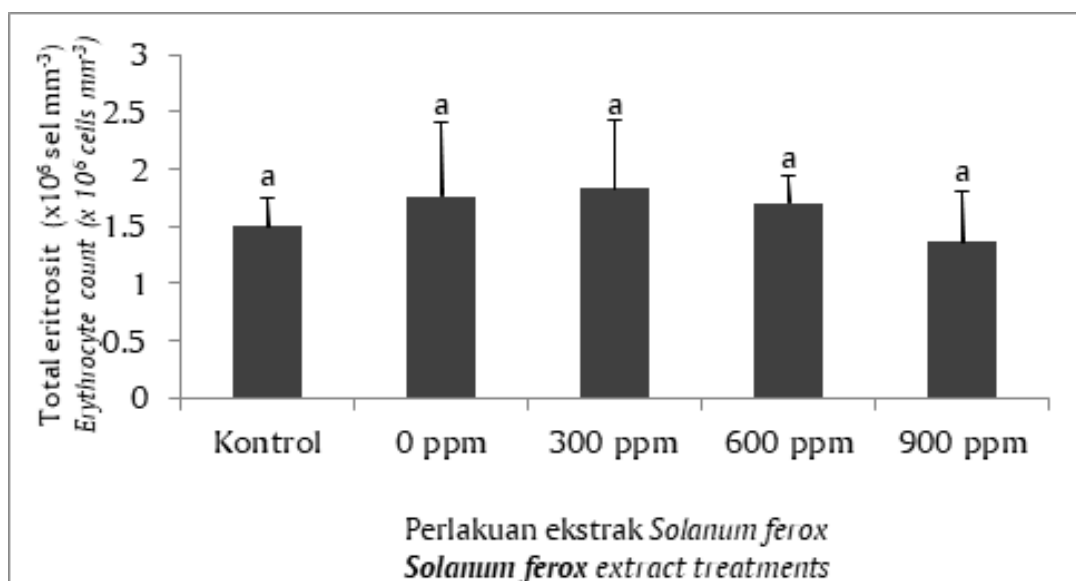


Gambar 2. Prevalensi ikan patin yang sakit pascainfeksi *Edwardsiella tarda* dengan dosis ekstrak *Solanum ferox* yang berbeda

Figure 2. Prevalence of infected catfish after *Edwardsiella tarda* infection after treated with different dosages of *Solanum ferox* extract

Keterangan: huruf superskrip yang berbeda pada masing-masing batang menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$).

Note: different superscript letters on each bar indicate significantly different results ($P < 0.05$).



Gambar 3. Total eritrosit dalam darah ikan patin pascainfeksi *Edwardsiella tarda* dengan dosis ekstrak *Solanum ferox* berbeda

Figure 3. Total erythrocytes in the blood of catfish after treated with different dosages of *Solanum ferox* extract and infected with *Edwardsiella tarda*

Keterangan: huruf superskrip yang berbeda pada masing-masing batang menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$).

Note: different superscript letters on each bar indicate significantly different results ($P < 0.05$).

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perhitungan total eritrosit atau sel darah merah ikan patin tidak berbeda nyata terhadap dosis ekstrak *S. ferox* ($P>0,05$). Pada ikan uji, total eritrosit masih dalam kisaran normal yakni, $1,5-1,83 \times 10^6$ sel mm^{-3} . Menurut Qurrota *et al.* (2020), jumlah eritrosit ikan patin normal berkisar $1,91-2,83 \times 10^6$ sel mm^{-3} . Jika rata-rata jumlah sel darah merah ikan berada di bawah kisaran tersebut, berarti ikan mengalami anemia. Jika jumlah sel darah merah berada di atas batas normal, maka ikan sedang dalam keadaan *stress*. Faktor yang memengaruhi jumlah sel darah merah antara lain adalah umur, jenis kelamin, lingkungan, nutrisi, dan kondisi kekurangan oksigen (Fauzan *et al.*, 2017).

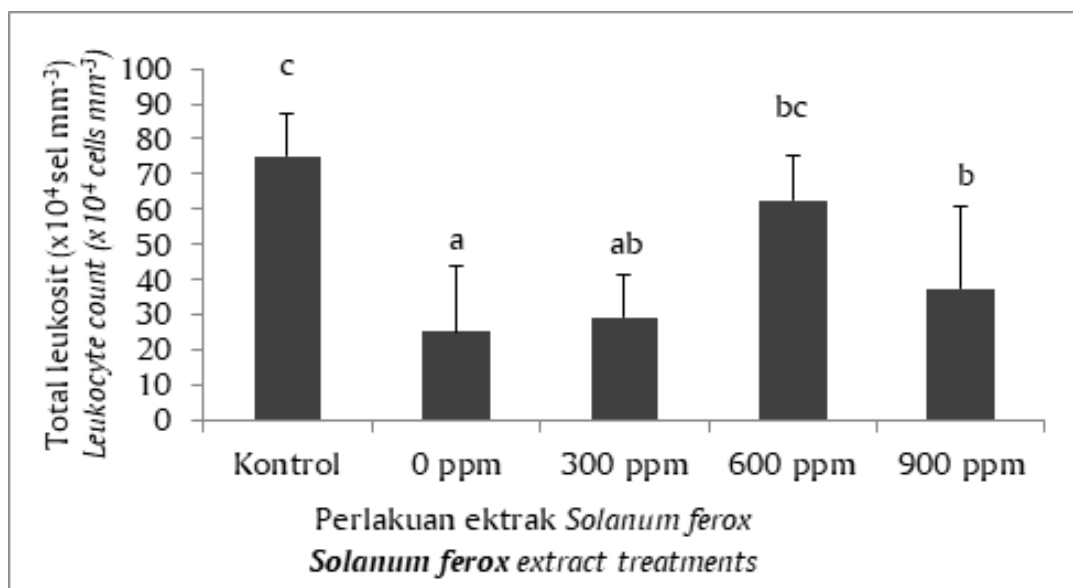
Total Leukosit

Sel darah putih (leukosit) merupakan komponen sel darah yang mengandung inti. Pertahanan tubuh ikan yang terinfeksi patogen tidak terlepas dari peran leukosit. Rerata jumlah leukosit yang

tinggi menunjukkan ikan patin terinfeksi bakteri. Leukosit pada kontrol menunjukkan hasil yang tertinggi dikarenakan kontrol merupakan antibiotik komersial (tetrasiklin), tetapi dengan pemberian ekstrak *S. ferox* sebanyak 600 ppm memberikan hasil tidak berbeda nyata ($P<0,05$) dengan kontrol. Menurut Syawal *et al.* (2021), leukosit ikan patin normal berkisar $9,24-11,98 \times 10^4$ sel mm^{-3} . Data hasil penelitian ini menunjukkan tingginya leukosit ikan patin. Hal tersebut mengindikasikan bahwa sel darah putih berupaya memperkuat daya tahan tubuh dengan proses perlawanan terhadap bakteri atau patogen. Rata-rata jumlah leukosit pada penelitian ini adalah $25-75 \times 10^4$ sel mm^{-3} dengan nilai tertinggi pada kontrol diikuti perlakuan dosis ekstrak *S. ferox* 600 ppm (Gambar 4).

Diferensial Leukosit

Limfosit, monosit, dan neutrofil merupakan komponen sel leukosit. Untuk mengetahui perbedaan persentase komponen tersebut, dilakukan pengamatan diferensial leukosit.



Gambar 4. Total leukosit dalam darah ikan patin pascainfeksi *Edwardsiella tarda* dengan dosis ekstrak *Solanum ferox* berbeda

Figure 4. Total leukocytes in the blood of catfish after treated with different doses of *Solanum ferox* extract and infected with *Edwardsiella tarda*

Keterangan: huruf superskrip yang berbeda pada masing-masing batang menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P<0,05$).

Note: different superscript letters on each bar indicate significantly different results ($P<0.05$).

Tabel 1. Diferensial leukosit (limfosit, monosit, dan neutrofil) pada ikan patin dengan pemberian ekstrak *Solanum ferox* yang berbeda dan diinfeksi oleh *Edwardsiella tarda*Table 1. Leukocyte differential (lymphocytes, monocytes, and neutrophils) in catfish after treated with different *Solanum ferox* extracts and infected by *Edwardsiella tarda*

Perlakuan <i>Treatments</i>	Limfosit (%) <i>Lymphocytes (%)</i>	Monosit (%) <i>Monocytes (%)</i>	Neutrofil (%) <i>Neutrophiles (%)</i>
Kontrol <i>Control</i>	39,7 ± 6,96 ^c	13,36 ± 0,20 ^b	18,06 ± 0,40 ^c
0 ppm	12,83 ± 3,83 ^a	11,26 ± 0,92 ^a	15,86 ± 0,60 ^a
300 ppm	19,1 ± 4,53 ^{ab}	11,76 ± 0,66 ^a	16,80 ± 0,45 ^b
600 ppm	30,5 ± 5,47 ^{bc}	14,03 ± 0,25 ^b	18,90 ± 0,51 ^c
900 ppm	29,8 ± 16,42 ^{bc}	12,20 ± 0,10 ^a	17,10 ± 0,43 ^b

Keterangan: huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$).

Note: different superscript letters in the same column indicate significantly different results ($P < 0.05$).

Rustikawati (2012) menyatakan bahwa sistem imun spesifik dapat melindungi tubuh dari infeksi pathogen. Hal ini diperankan oleh limfosit, sedangkan yang berperan dalam memfagosit antigen dan menyampaikan informasi infeksi penyakit ke leukosit adalah monosit. Mekanisme pertahanan tubuh bekerja sebagai respons adanya infeksi tubuh. Tugas ini diperankan oleh neutrofil. Diferensial leukosit ikan patin yang diberi ekstrak *S. ferox* dengan dosis yang berbeda setelah uji tantang dengan *E. tarda* disajikan pada Tabel 1.

Ikan patin yang sehat memiliki nilai limfosit berkisar antara 71,12-82,88% (Preanger *et al.*, 2016). Hasil penelitian ini menunjukkan, jumlah limfosit pada ikan patin yang terinfeksi *E. tarda* berkurang. Hal ini berhubungan dengan melemahnya sistem kekebalan ikan. Hal tersebut didukung dengan hasil penelitian Rustikawati (2012) yang menjelaskan bahwa kebutuhan limfosit meningkat disebabkan dengan meningkatnya intensitas patogen, sehingga sel limfosit mengalami penurunan. Jumlah monosit menunjukkan bahwa sel sedang melakukan proses fagositosis terhadap benda asing atau penyakit. Pada ikan patin normal jumlah monosit berkisar 5-13% (Ayunin *et al.*, 2020) sedangkan pada penelitian ini jumlah monosit di atas nilai normal yaitu berkisar antara 11,2-14,07%.

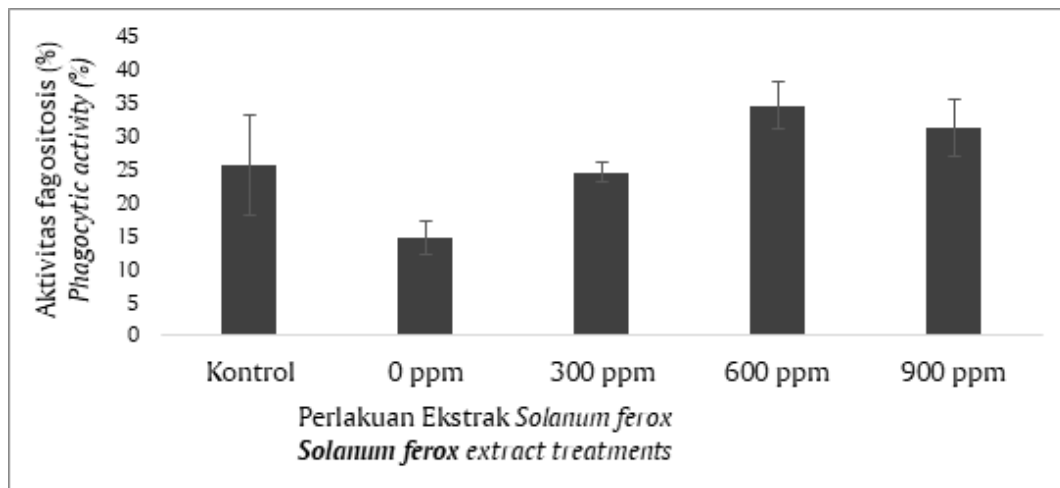
Tingginya persentase monosit berhubungan dengan infeksi benda asing atau patogen dalam tubuh dan respons imun nonspesifik, sehingga sel makrofag diaktifkan untuk menyerang bakteri. Hal ini didukung dengan senyawa saponin, flavonoid, dan tanin sebagai agen imunomodulator (Subryana *et al.*, 2020).

Neutrofil hewan uji pada penelitian ini berkisar 15,8-18,9% dan paling tinggi persentase neutrofilnya terdapat pada perlakuan 600 ppm. Jumlah neutrofil yang normal berkisar 3,25-8,40% (Sitepu, 2016). Utami *et al.* (2013) menyatakan bahwa terjadinya mekanisme imun dalam merespons adanya infeksi dan menyebabkan peningkatan jumlah neutrofil. Terjadinya proses fagositosis ditandai dengan aktivitas sel neutrofil dalam memfagosit patogen dalam tubuh ikan. Hal ini menyebabkan peningkatan jumlah neutrofil.

Aktivitas Fagositosis

Perhitungan aktivitas fagositosis dilakukan setelah ikan patin dipelihara selama 14 hari. Aktivitas fagositosis dalam darah ikan patin selama penelitian disajikan pada Gambar 5.

Aktivitas fagositosis diukur setelah ikan patin dilakukan uji tantang dengan bakteri *E. tarda*. Perlakuan 600 ppm memiliki nilai aktivitas

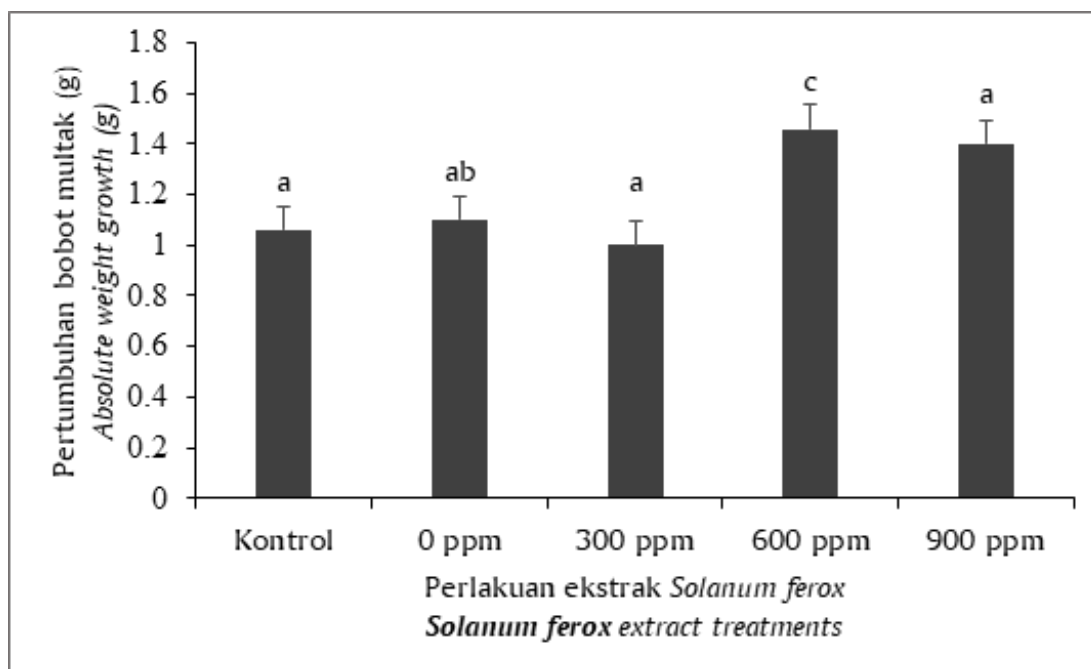


Gambar 5. Aktivitas fagositosis pada ikan patin dengan perendaman ekstrak *Solanum ferox* yang berbeda dan diinfeksi oleh *Edwardsiella tarda*

Figure 5. Phagocytic activity in catfish with different *Solanum ferox* extract immersions and infected by *Edwardsiella tarda*

Keterangan: huruf superskrip yang berbeda pada masing-masing batang menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$).

Note: different superscript letters on each bar indicate significantly different results ($P < 0.05$).



Gambar 6. Pertumbuhan bobot mutlak ikan selama penelitian dengan pemberian ekstrak *Solanum ferox* dengan dosis yang berbeda

Figure 6. Absolute weight growth of the fish during the study after treated with different doses of *Solanum ferox* extract

Keterangan: huruf superskrip yang berbeda pada masing-masing batang menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$).

Note: different superscript letters on each bar indicate significantly different results ($P < 0.05$).

fagositosis tertinggi yaitu sebesar $34,66 \pm 3,51\%$ yang menandakan perbedaan nyata ($P < 0,05$) terhadap perlakuan kontrol dengan aktivitas fagositosis $25,66 \pm 7,50\%$. Pada perlakuan 300 ppm dan 900 ppm, hasil uji statistik menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$), dimana pada perlakuan tersebut memiliki nilai $24,66 \pm 1,52\%$ dan $31,33 \pm 4,16\%$. Perlakuan 900 ppm aktivitas fagosit lebih rendah dibandingkan perlakuan 600 ppm diduga terjadi immunosupresi pada tubuh ikan. Hal ini dapat dipengaruhi dosis ekstrak *S. ferox* yang diberikan terlalu tinggi yang memengaruhi tubuh ikan sehingga tidak mampu merespons rangsangan antigenik secara maksimal dan respons imun yang dibentuk tidak terlalu maksimal (Yusuf *et al.*, 2021). Perlakuan 0 ppm menunjukkan nilai aktivitas fagosit terendah dengan nilai $14,66 \pm 2,51\%$.

Pada penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak *S. ferox* pada ikan patin dapat meningkatkan aktifitas fagositosis. Aktivitas fagositosis merupakan proses eliminasi mikroorganisme asing yang masuk oleh leukosit yang terdiri dari limfosit, monosit, dan neutrofil (Andayani *et al.*, 2017). Dosis yang tepat dapat memengaruhi imunitas ikan patin. Dosis 600 ppm merupakan dosis optimal untuk meningkatkan aktivitas fagositosis dibandingkan perlakuan lainnya.

Pertumbuhan Bobot Mutlak

Analisis pertumbuhan menunjukkan pemberian ekstrak *S. ferox* tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap pertumbuhan bobot mutlak ikan patin jambal yang dipelihara selama 28 hari (Gambar 6). Hal ini diduga terjadi karena ikan mengalami stress setelah dilakukan injeksi bakteri *E. tarda*. Stress menyebabkan ikan menjadi tidak responsif terhadap pakan dan tidak mendapatkan nutrisi yang cukup untuk tumbuh. Kondisi fisiologis organisme yang tidak normal disebabkan oleh respons hormonal internal terhadap lingkungan dan faktor eksternal yang tidak mendukung. Hal ini yang menyebabkan stress pada ikan. Gangguan pada keseimbangan fisiologis dan homeostasis ikan dapat mempercepat aliran energi dalam sistem tubuh (Tang *et al.*, 2018).

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak *S. ferox* berpengaruh terhadap pertumbuhan, prevalensi, dan respons imun ikan patin yang ditunjukkan melalui profil darah ikan (total leukosit, diferensial leukosit, dan aktivitas fagositosis), namun tidak berpengaruh terhadap total eritrosit dengan metode perendaman. Perendaman ekstrak *S. ferox* 600 ppm merupakan dosis terbaik yang mampu meningkatkan respons imun ikan patin jambal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Kemendikbud Dikti dan Universitas Muhammadiyah Malang atas pendanaan yang diberikan. Terimakasih juga diucapkan kepada Editor dan Mitra Bestari Jurnal Riset Akuakultur yang telah menelaah dan memberikan saran terhadap naskah ini agar layak untuk dipublikasikan.

DAFTAR ACUAN

- Ayunin Q., Budianto, Andayani, S. & Pratiwi, C. D. (2020). Analisis kondisi kesehatan ikan patin *Pangasius* sp. yang terinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 9(2), 164-172. <https://doi.org/10.20473/jafh.v9i2.16192>
- Adam, M. A., & Maftuch. (2017). Kondisi total leukosit dan protein plasma ikan koi (*Cyprinus carpio* Koi) pasca perendaman ekstrak *Gracilaria verrucosa* yang terinfeksi bakteri *Aeromonas salmonicida*. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 8(1), 11-18. <https://doi.org/10.5281/jsapi.v8i1.268>
- Andayani, S., Suprastyani, H., Gumala, G. H. A., Oktafa, U., Fatikah, N. M., Wahyudi, M., Farida, A., & Pratama, R. (2017). Pengaruh pemberian bakteri *Lactobacillus plantarum* terhadap histopatologi dan hematologi ikan patin jambal (*Pangasius djambal*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*. *JFMR (Journal of Fisheries and Marine Research)*, 1(1), 31–38. <https://doi.org/10.21776/ub.jfmr.2017.001.01.6>

- Azhar, F., & Junaidi, M. (2018). Pelatihan penanganan streptococcosis pada ikan nila menggunakan bahan alami. *Prosiding PKM-CSR*, 1(2018), 645-651.
- Blaxhall, P. C. (1972). The haematological assessment of the health of freshwater fish. *Journal of Fish Biology*, 4(4), 593–604. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1972.tb05704.x>
- Effendie, M. I. (1997). *Biologi perikanan*. Yayasan Pustaka Nusantara.
- Fauzan, M. (2017). Pengaruh tingkat paparan timbal (Pb) terhadap profil darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 1(4), 702-708. <https://doi.org/10.21157/jim%20vet.v1i4.4867>
- Hardi, E. H., Saptiani, G., Kusuma, I. W., Suwinarti, W., & Nugroho, R. A. (2017). Immunomodulatory and antibacterial effects of *Boesenbergia pandurata*, *Solanum ferox*, and *Zingiber zerumbet* on tilapia, *Oreochromis niloticus*, *AACL Bioflux*, 10(2), 182-190.
- Hazimah, Azharman, Z., Triwuri, N. A., Yuharmen, & Jose, C. (2018). Evaluasi fitokimia dan aktivitas antioksidan dari tanaman *Solanum ferox* L dan *Plectranthus amboinicus* L. *Sains dan Terapan Kimia*, 12(2) 76–83. <http://dx.doi.org/10.20527/jstk.v12i2.4988>
- Illing, I., Safitri, W., & Erfiana. (2017). Uji fitokimia ekstrak buah dengan. *Jurnal Dinamika*, 8(1), 66–84.
- Kabata, Z. (1985). *Parasites and diseases of fish cultured in the tropics*. Taylor & Francis.
- Kurniawan, R., Syawal, H., & Effendi, I. (2020). Pengaruh penambahan suplemen herbal pada pakan terhadap diferensiasi leukosit ikan dan sintasan ikan patin (*Pangasionodon hypophthalmus*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 8(2), 150-163. <https://doi.org/10.36706/jari.v8i2.12761>
- Lengka, K., Manoppo, H., & Kolopita, M. E. F. (2013). Peningkatan respon imun non spesifik ikan mas (*Cyprinus carpio* L) melalui pemberian bawang putih (*Allium sativum*). *e-Journal Budidaya Perairan*, 1(2), 21-28. <https://doi.org/10.35800/bdp.1.2.2013.1912>
- Lukistiyowati, I., Windarti, & Riau waty, M. (2007). Analisis hematologi sebagai penentu status kesehatan ikan air tawar di Pekanbaru. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru. *Jurnal Akuatika*, 2(2), 1-14.
- Narwiyani, S., & Kurniasih. (2011). Perbandingan patogenesitas, *Edwardsiella tarda* pada ikan mas koki (*Charrassius auratus*) dan ikan celebes rainbow (*Telmatherina celebensis*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 6(2), 291-301. <http://dx.doi.org/10.15578/jra.6.2.2011.291-301>
- Pane, N. S., Hasim, & Mulis. (2018). Perendaman ekstrak kunyit terhadap ikan nila yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *NIKE: Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 6(1), 11-18. <https://doi.org/10.37905/v6i1.5154>
- Preanger, C., Utama, I. H., & Kardena, I. M. (2016). Gambaran ulas darah ikan lele di Denpasar Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*, 5(2), 96-103.
- Restuti, A. N. S., Yulianti, A., & Lindawati, D. (2020). Efek minuman coklat (*Theobroma cacao* L.) terhadap peningkatan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin tikus putih anemia. *Jurnal Gizi Indonesia (The Indonesian Journal of Nutrition)*, 8(2), 79–84. <https://doi.org/10.14710/jgi.8.2.79-84>
- Rifkowitz, E. E., & Wardanu, A. P. (2016). Pengaruh ekstraksi cara basah dan cara kering terhadap aktivitas antioksidan ekstrak cengkodok (*Melastoma malabathricum* L.). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 5(1), 10-15. <http://dx.doi.org/10.17728/jatp.v5i1.33>
- Rustikawati, I. (2012). Efektivitas ekstrak *Sargassum* sp. terhadap diferensiasi leukosit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi *Streptococcus iniae*. *Jurnal Akuatika*, 3(2), 125-134.
- Septimesy, A., Jubaedah, D., & Sasanti, A. D. (2016). Pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan Patin (*Pangasius* sp.) di sistem resirkulasi dengan padat tebar berbeda. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 4(1), 1-8. <https://doi.org/10.36706/jari.v4i1.4417>

- Subryana, N., Wardiyanto, & Susanti, O. (2020). Penggunaan ekstrak daun kelor *Moringa oleifera* (Lam, 1785) untuk meningkatkan imunitas non spesifik benih ikan nila *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 9(3), 194-203. <https://doi.org/10.20473/jafh.v9i3.16321>
- Syarpin, Nugroho, W, & Rahayu, S. (2018). Uji fitokimia dan antioksidan ekstrak etanol buah terung asam (*Solanum ferox* L.). *Acta Pharmaciae Indonesia*, 6(2) 46-50. <https://doi.org/10.20884/1.api.2018.6.2.1544>
- Syawal, H., Effendi, I., & Kurniawan, R. (2021). Perbaikan profil hematologi ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) setelah penambahan suplemen herbal pada pakan. *Jurnal Veteriner*, 22(1), 16-25. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2021.22.1.16>
- Tang, U. M., Aryani, N., Masjudi, H., & Hidayat, K. (2018). Pengaruh suhu terhadap stress pada ikan baung (*Hemibagrus nemurus*). *Asian Journal of Environment, History and Heritage*, 2(1). 43-49.
- Tungkup, M. L., Syawal, H., & Riau waty, M. (2019). Gambaran eritrosit ikan jambal siam (*Pangasionodon hypophthalmus*) terinfeksi *Edwardsiella tarda* yang diobati dengan larutan daun mangga apel (*Mangifera indica*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 26(1), 62-69. <http://dx.doi.org/10.31258/jpk.26.1.62-69>
- Utami, D. T., Prayitno, S. B., Hastuti, S., & Santika, A. (2013). Gambaran parameter hematologis pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi vaksin DNA *Streptococcus iniae* dengan dosis yang berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 7(4), 7–20.
- Yusuf, R., Riau waty, M., & Syawal, H. (2021). Efek perendaman ikan patin siam (*Pangasionodon hypophthalmus*) dalam larutan vaksin HydroVac terhadap diferensiasileukosit. *Jurnal Ilmu Perairan (Aquatic Science)*, 9(2), 134-143. <http://dx.doi.org/10.31258/jipas.9.2.p.134-143>