

PENGGUNAAN EKSTRAK DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* Linnaeus) SEBAGAI IMUNOSTIMULAN IKAN MAS (*Cyprinus carpio* L) YANG DIINFEKSI *MOTILE AEROMONAS SEPTICEMIA*

THE APPLICATION OF GUAJAVA LEAF EXTRACT (*Psidium guajava* Linnaeus) AS IMMUNOSTIMULANT OF COMMON CARP (*Cyprinus carpio* Linnaeus) INFECTED BY *MOTILE AEROMONAS SEPTICEMIA*

Rissa Amelia^{1,*}, Esti Harpeni², Hilma Putri Fidyandini²

¹Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Lampung, Indonesia

²Dosen Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Lampung, Indonesia

*email: rissaamelia8@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh berbagai konsentrasi pemberian ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* dalam pencegahan penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). Ikan mas total 150 ekor, panjang 9-11 cm dengan kepadatan 10 ekor/ akuarium. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan 3 ulangan yaitu (K+) tanpa ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* diuji tantang dengan *Aeromonas hydrophila*, (K-) tanpa ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* tanpa diuji tantang dengan *Aeromonas hydrophila*, (A) pemberian ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* sebanyak 125 ppm, (B) pemberian ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* sebanyak 250 ppm, (C) pemberian ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* sebanyak 500 ppm selama 23 hari. Parameter yang diamati meliputi total leukosit, differensial leukosit, kadar hematocrit, eritrosit, hemoglobin, aktivitas fagositosis (AF), indeks fagositosis (IF), tingkat perlindungan relative (RPS), kelangsungan hidup (SR) dan kualitas air. Data dianalisis dengan selang kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Parameter menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan diberi ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* yaitu total leukosit, eritrosit, differensial leukosit, hemoglobin, AF, IF dan RPS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* konsentrasi 250 ppm merupakan perlakuan terbaik untuk meningkatkan respon imun non spesifik pada ikan mas.

Kata Kunci: Psidium guajava, Cyprinus carpio, Aeromonas hydrophilla

Abstract

This study aims to analyze the effect of the various concentration of guava leaf extract (*Psidium guajava* Linnaeus) on the prevention of *Motile Aeromonas Septicemia* disease in common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus). In a total of 150 common carp, length 9-11 cm with a density of 10 carps/aquarium. This study used a completely randomized design through 5 treatments, each treatment has 3 replications, namely (K+) consists of without guava *Psidium guajava* leaf extracts and without bacteria-infection *Aeromonas hydrophila*, (K-) consists of without guava *Psidium guajava* leaf extracts with bacteria-infection *Aeromonas hydrophila*, (A) the application of 125 ppm guava *Psidium guajava* leaf extracts, (B) the application of 250 ppm guava leaf extracts, (C) the application of 500 ppm guava *Psidium guajava* leaf extracts for 23 days. The parameters observed total of leukocytes, differensial leukocytes, hematocrit levels, erythrocyte, hemoglobin, phagocytic activity (AF), phagocytic index (IF), relative percent survival (RPS), survival rate (SR) and water quality. Data were analyzed with Anova 95% confidence interval and continued with Duncan test. The parameter also showed a significant result ($P < 0,05$) with the application of guava *Psidium guajava* leaf extracts to the total leukocytes, differensial leukocytes, erythrocyte, hemoglobin, phagocytic activity, phagocytic index and relative percent survival. The results of this research indicate the concentration of 250 ppm guava *Psidium guajava* leaf extracts is the optimum application to increase common carp non-specific immune responses.

Keywords: Psidium guajava, Cyprinus carpio, Aeromonas hydrophilla

PENDAHULUAN

Ikan mas (*Cyprinus carpio* Linnaeus) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang banyak digemari masyarakat. Ikan ini memiliki nilai ekonomis tinggi dan jumlah permintaan yang besar terutama untuk beberapa pasar lokal di Indonesia. Permintaan yang besar sehingga membuat produksi mengalami peningkatan setiap tahunnya. Produksi ikan mas tahun 2017 sebesar 312.954 ton dan untuk tahun 2018 mengalami kenaikan 382. 579 ton (Direktorat Jendral Perikanan Budidaya, 2018). Keunggulan yang dimiliki ikan mas, diantaranya pertumbuhan relatif cepat dan mudah untuk dibudidayakan.

Salah satu masalah di budidaya ikan mas tidak terlepas dari adanya penyakit, penyakit banyak disebabkan oleh jamur, parasit, virus dan bakteri (Sumino *et al.*, 2013). Penyakit bakterial merupakan salah satu penyakit yang dapat menimbulkan kerugian yang tidak sedikit (Lukistyowati dan Kurniasih 2012). Antara lain penyakit yang sering menyerang ikan mas disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan jenis bakteri bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit sistemik serta mengakibatkan kematian secara masal (Haryani *et al.*, 2012). Bakteri ini menyebabkan penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) atau dikenal sebagai penyakit bercak merah (Sukenda *et al.*, 2008).

Upaya pencegahan yang dilakukan dengan menggunakan bahan alami yang lebih aman, ramah lingkungan dan mudah didapat. Salah satu tanaman yang merupakan bahan alami dapat digunakan untuk mencegah penyakit MAS adalah daun jambu biji. Daun jambu biji (*Psidium guajava* Linnaeus) mempunyai kandungan senyawa yang cukup banyak diantaranya yaitu flavonoid, tanin dan saponin. Saponin yang merupakan kandungan daun jambu biji kedalam golongan senyawa triterpenoid sebagai antimikroba dapat berfungsi sebagai antibakteri dengan mengganggu permeabilitas membran sel bakteri dapat menyebabkan kerusakan dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen yang ada pada sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (Darsana *et al.*, 2012) Dengan adanya senyawa aktif pada daun jambu biji diharapkan mampu menjadi bahan alami alternatif yang dapat dimanfaatkan untuk obat yang aman dan tidak menimbulkan residu, sehingga tidak berdampak negatif bagi konsumen serta dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 23 hari pada tanggal 6-28 September 2020 di Laboratorium Perikanan, Jurusan Perikanan dan ilmu kelautan, Fakultas Pertanian Universitas Lampung,

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu akuarium pemeliharaan berukuran 60cm x 40cm x 35cm, *vacum evaporator*, botol vial, autoclave, *cool box*, centrifuge, hemacytometer, mikroskop buku, alat tulis, thermometer, DO meter, pH meter, dan kamera.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan mas yang berasal dari UPT Pengembangan Budidaya Ikan Pringsewu dengan ukuran 9-11 cm, ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava*, bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Biji

- Daun jambu biji dicuci hingga bersih menggunakan air mengalir.
- Daun jambu biji dijemur tanpa paparan sinar matahari hingga kering.
- Daun yang sudah kering dipotong kecil kecil dan dipisahkan tulangnya lalu di giling hingga menjadi halus.
- Ditimbang daun jambu biji sebanyak 500 gram lalu dimasukkan ke dalam botol vial dan dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% ditambah 2 liter pelarut direndam selama 1 hari.
- Kemudian disaring, hasil saringan dipisahkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang ada di daun Jambu biji. Senyawa yang akan diuji adalah polifenol, flavonoid, alkaloid, tanin. Uji fitokimia dilakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Alam (MIPA) Universitas Lampung.

Penyediaan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Untuk Penyediaan *Aeromonas hydrophila* dilakukan terlebih dahulu menyiapkan media agar GSP (*Glutamate Starch Phenol*) padat sebagai media hidup *Aeromonas hydrophila*. Setelah media GSP padat selesai. Selanjutnya bakteri *Aeromonas hydrophila* diambil dari stok kultur murni lalu diinokulasi pada media agar

yang diberi label pada setiap cawan petri. Isolat diambil menggunakan jarum ose yang telah dipanaskan pada api bunsen. Bakteri yang telah digoreskan kemudian diinkubasi 24 jam, selanjutnya bakteri akan dikultur pada media TSA (*Trypticase Soy Agar*) yang akan digunakan sebagai uji pendahuluan dan ujiantang.

Uji Antibakteri

- Alat dan bahan disterilisasikan dengan menggunakan autoklaf.
- Pembuatan media GSP (*Glutamate Starch Phenol*) yang akan digunakan sebagai media tumbuh bakteri.
- Bakteri *Aeromonas hydrophila* dalam TSB media miring.
- Ekstrak yang digunakan dengan dosis 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm.
- Cawan petri yang telah berisi TSA diberi bakteri *Aeromonas hydrophila* diambil dari media TSB dengan kepadatan 10^8 CFU/ml sebanyak 25 μ l dan diratakan dengan spreader.
- Kertas cakram yang telah disterilisasi lalu diberi larutan Aquades untuk kontrol (-) , Antibiotik untuk kontrol (+), dan ekstrak daun jambu biji 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 100 ppm.
- Kertas cakram diletakkan kedalam media yang telah berisi bakteri *Aeromonas hydrophila*.
- Kemudian diinkubasi selama 24 jam selanjutnya diukur zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong.
- Selanjutnya dosis yang digunakan untuk LD₅₀ yaitu 250 ppm, 500 ppm, dan 750 ppm.

Uji LD₅₀

Bertujuan untuk mengetahui konsentrasi daun jambu biji yang mengakibatkan kematian 50% pada hewan uji. Uji LD₅₀ dilakukan dengan cara penyuntikkan ekstrak daun jambu biji selama 48 jam. Kemudian diamati dan dihitung kematiannya. Konsentrasi yang digunakan dalam uji LD₅₀ yaitu 0 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 600 ppm, dan 750 ppm. Hasil data jumlah ikan mati diolah berdasarkan analisis probit dengan pengolah data SPSS 22.0 dan didapatkan Konsentrasi digunakan untuk selanjutnya 125 ppm, 250 ppm, dan 500 ppm.

Persiapan Wadah dan Ikan Uji

Wadah yang digunakan adalah akuarium berukuran 60 x 40 x 35 cm sebanyak 15 buah. Wadah yang akan digunakan dibersihkan dengan air setalah itu di beri kaporit lalu dikeringkan 24 jam, lalu diisi air 2/3 dari volume total wadah. Untuk hewan uji yang

digunakan dalam penelitian adalah ikan mas dengan panjang 9-11 didaptakan dari UPT Pengembangan Budidaya Ikan Pringsewu. Ikan uji dibagi secara acak untuk 5 perlakuan 3 ulangan dengan 10 ekor ikan per akuarium.

Pemeliharaan Ikan Uji

Pemeliharaan ikan uji dilakukan selama 23 hari. Pada masa pemeliharaan ikan uji diberi pakan pelet, pemberian dilakukan 3 kali dalam sehari pada pukul 08:00, 12:00 dan 16:00.

Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian yang dilakukan sebagai berikut:

- Ikan diaklimatisasi pada hari ke-0 hingga hari ke-6.
- Pada hari ke-8 dilakukan penyuntikkan ekstrak daun jambu biji.
- Ikan yang telah disuntik, dikembalikan ke wadah pemeliharaan dan dipelihara selama 7 hari.
- Selanjutnya ikan diinfeksi *Aeromonas hydrophila* pada hari ke-16 dengan kepadatan 10^8 CFU/ml melalui injeksi secara intramuscular.
- Ikan yang telah diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dipelihara selama 7 hari.
- Pengambilan dan Pengamatan leukosit, diferensial leukosit, kadar hematokrit, eritrosit, hemoglobin, AF/IF diaamati pada hari ke-7, 15 dan 23.
- Untuk Pengamatan SR (Survival Rate) pada hari ke-0 dan hari ke-23.

Parameter Pengamatan

Total Sel Darah Putih

Jumlah sel darah putih dengan bantuan mikroskop dengan perbesaran 400x. Jumlah leukosit total dihitung sebanyak 5 kotak hitung dan jumlahnya dihitung dengan rumus (Svobodova dan Vyukusova 1991). Total Leukosit = jumlah sel terhitung x 50 sel/mm³

Total Sel Darah Merah

Jumlah sel darah merah dengan bantuan mikroskop dengan perbesaran 400x. Jumlah eritrosit total dihitung pada 5 kotak kecil haemacytometer dan jumlah nyadi hitung dengan rumus (Nabib dan Pasaribu 1989):

$$\text{Jumlah eritrosit} : (A/N) \times (1/V) \times Fp$$

Keterangan:

A = Σ sel terhitung

V = volume kotak

N = Σ kotak hitung

Fp = Faktor pengeceran

Diferensial Leukosit

Pengamatan diferensial leukosit dilakukan untuk menentukan persentase setiap jenis leukosit yang ada di dalam darah. Pengamatan dilakukan dengan mengamati preparat ulas darah yang diwarnai dengan pewarna Giemsa di bawah mikroskop. dan hasilnya dinyatakan dalam % (Blaxhall, 1972). Indeks diferensial leukosit sebagai berikut:

Persentase limfosit: $\frac{L}{100} \times 100\%$

Persentase monosit: $\frac{M}{100} \times 100\%$

Persentase neutrofil: $\frac{N}{100} \times 100\%$

Kadar Hematokrit

Hematokrit merupakan perbandingan antara plasma dengan padatan darah, perbandingan diantara keduanya dibaca dengan pembaca mikro hematokrit dalam satuan % (Alifuddin, 1993).

Kadar hematocrit (%) = volume sel eritrosit mengendap/ volume darah x 100%

Hemoglobin

Pengukuran kadar Hemoglobin (Hb) dilakukan dengan menggunakan alat sahli haemometer.

Selanjutnya dilakukan pembacaan kadar Hb yang dinyatakan dalam g%. Indeks Hemoglobin:

$MCHC = \frac{\text{Hemoglobin}}{\text{Hematokrit}} \times 100\%$

$MCV = \frac{\text{Hematokrit}}{\text{Eritrosit}} \times 100\%$

$MCH = \frac{\text{Hemoglobin}}{\text{Eritrosit}} \times 100\%$

Aktivitas Fagositosis dan Indeks Fagositosis

Aktivitas fagositosis dan indeks fagositosis ditentukan dengan mencampur 20 μ l darah suspensi bakteri *Aeromonas hydrophila*. 7 μ l yang telah dlemahkan oleh formalin 1% di campur kemudian dioleskan dengan lembut dan diikuti oleh fiksasi dengan 95% etanol, dan pewarnaan dengan 10% Giemsa selama 20 menit. Perhitungan nilai AF dan IF mengacu Berger dan Jarcova (2012), sebagai berikut :

Aktivitas fagositosis = $\frac{\Sigma \text{Sel Fagositosis}}{\Sigma \text{Seturuh Sel Hemosit}} \times 100\%$

Indeks Fagositosis = $\frac{\Sigma \text{bakteri yang difagositosis}}{\Sigma \text{Sel fagositosis}} \times 100\%$

RPS (*Relative Percent Survival*) atau tingkat perlindungan relatif digunakan untuk menunjukkan efikasi imunostimulan untuk melindungi ikan dari serangan bakteri. Pengamatan dilakukan selama 4 hari terhadap gejala klinis dan jumlah sintasan. Data sintasan disajikan *relative percent survival*/RPS (Amend, 1981) dengan rumus :

RPS = 1- ikan mati perlakuan / ikan mati control x 100%

Tingkat Kelangsungan Hidup

Kelangsungan hidup diperoleh berdasarkan persamaan yang dikemukakan oleh Zonneveld *et al.*, (1991), yaitu:

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan:

SR: Kelangsungan hidup (%)

Nt : Jumlah ikan akhir

N0: Jumlah ikan awal

Pengukuran Kualitas Air

Kualitas media pemeliharaan ikan uji pada hari ke-7, hari ke-15, dan ke-23. Dilakukan penggantian air sebanyak 10-15% dari volume total setiap hari agar kualitas air tetap optimal. Selama pemeliharaan ikan uji dilakukan uji kualitas air yang meliputi suhu, pH dan DO Pengukuran masing-masing parameter dilakukan menggunakan alat ukur termometer dan pH meter.

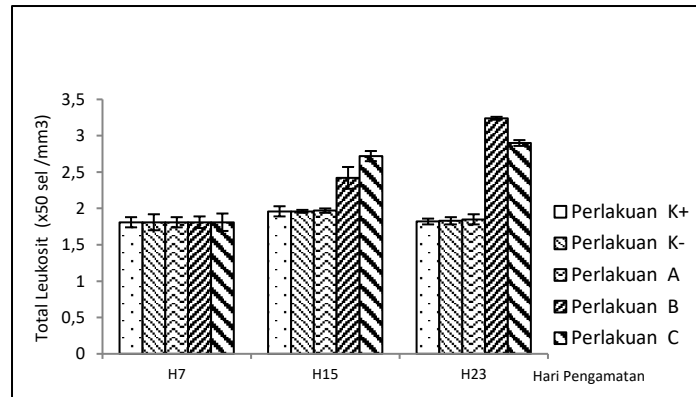
Analisis Data

Analisis data yang didapat diolah menggunakan perangkat lunak Microsoft Excel 2010, disajikan dalam bentuk rata-rata \pm standar eror. Data dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) - one away dengan memanfaatkan perangkat lunak SPSS versi 22.0 dan Parameter kualitas air dianalisis secara deskriptif.

HASIL

Total Sel Darah Putih (Leukosit)

Didapatkan hasil pengukuran Total Sel Darah putih (Leukosit) pada pemeliharaan ikan yang diberi ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* mengalami peningkatan total leukosit berbeda hingga akhir pemeliharaan (Gambar 1). Total leukosit pada H-23 setelah diuji tantang mengalami peningkatan dengan nilai tertinggi untuk perlakuan B 3,24x50 sel/mm³. Perlakuan C dengan nilai 2,9x50 sel/mm³ dengan hasil uji Anova yang berbeda nyata (p<0,05).

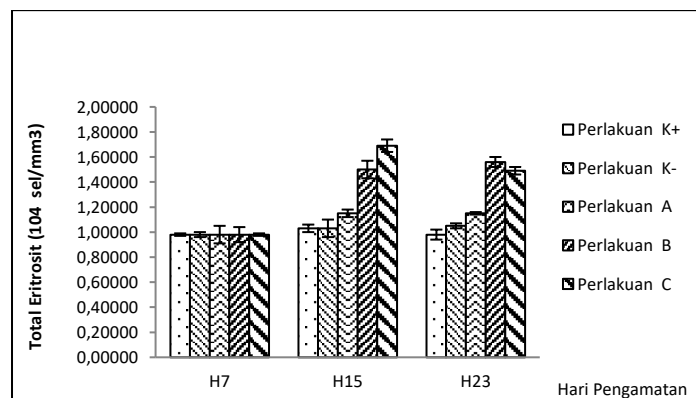


Gambar 1. Total leukosit ikan mas pada berbagai perlakuan.

Total Sel Darah Merah (Eritrosit)

Dari hasil pengukuran total sel darah merah (Eritrosit) Pada pemeliharaan ikan yang diberi yang diberi ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* (Gambar 2). Hasil uji Anova diketahui bahwa perlakuan menunjukkan adanya hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$).

Jumlah eritrosit pada saat pemberian ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* masih berada pada kisaran normal, hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* pada perlakuan tidak mengganggu kesehatan ikan namun dapat meningkatkan kesehatan ikan mas.

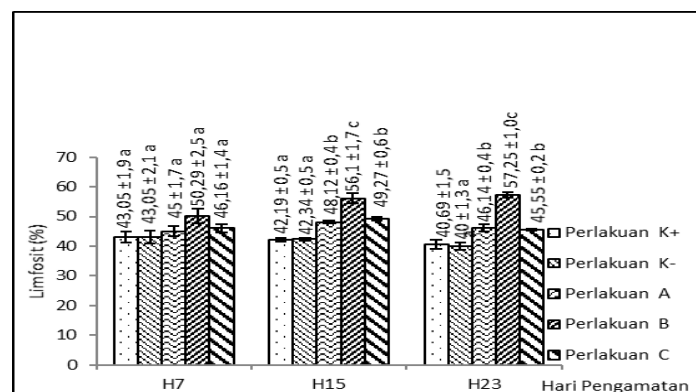


Gambar 2. Jumlah total eritrosit ikan mas pada berbagai perlakuan.

Limfosit

Limfosit merupakan salah satu sel darah yang bertanggung jawab untuk produksi antibodi berperan sebagai sel-sel sistem kekebalan

tubuh. Setelah dilakukan perlakuan pemberian ekstrak jambu biji *Psidium guajava* dan diuji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* (Gambar 3).

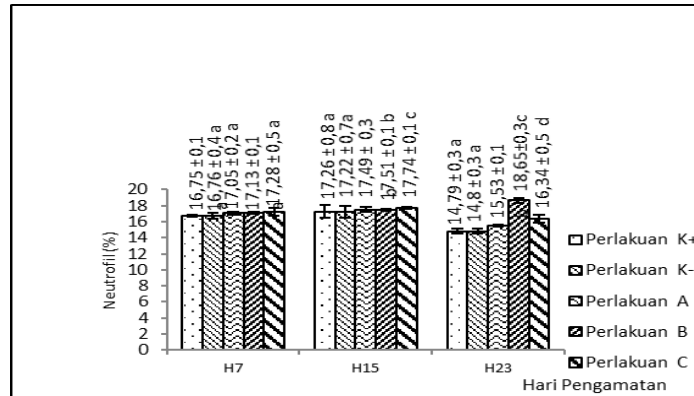


Gambar 3. Persentase sel limfosit ikan mas pada berbagai perlakuan.

Monosit

Monosit bagian dari sel darah putih berperan pertahanan tubuh untuk menghancurkan antigen yang masuk (Gambar 4).

Didapatkan hasil pengamatan persentase sebelum dan setelah perlakuan mengalami kenaikan maupun penurunan.

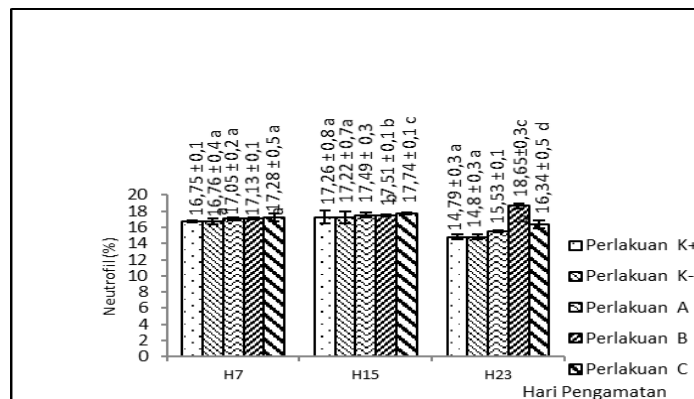


Gambar 4. Persentase sel monosit ikan mas pada berbagai perlakuan.

Berdasarkan uji Anova menunjukkan adanya hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$). Pada pengamatan H-23 persentase monosit paling tinggi pada perlakuan pemberia ekstrak 250ppm 20,35 % dan monosit terendah perlakuan kontrol 13,06%.

Neutrofil

Sel neutrofil dari sistem imun yang berfungsi dalam mefagositosis infeksi penyakit yang disebabkan oleh serangan suatu mikroorganisme (Gambar 5). Berdasarkan hasil persentase sebelum perlakuan sel neutrophil normal dan setelah perlakuan mengalami penurunan.



Gambar 5. Persentase sel neutrofil ikan mas pada berbagai perlakuan.

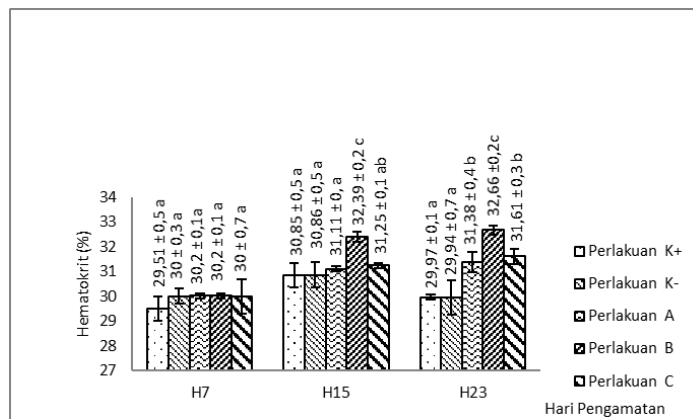
Berdasarkan hasil uji Anova terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$) antarperlakuan pada sel neutrofil pada H-15. Pengamatan H-23 dengan hasil uji Anova menunjukkan adanya perbedaan nyata terhadap sel neutrofil ($p < 0,05$) pada H-23.

Kadar Hematokrit

Hematokrit berguna untuk melihat kondisi kesehatan ikan yaitu dengan melihat persentase volume eritrosit yang terjadi setelah dilakukan

pemberian ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* dan setelah di uji tantang dengan *Aeromonas hydrophila* (Gambar 6).

Perlakuan 250 ppm menghasilkan persentase paling tinggi pada H-23 sebesar 32,66%, dan paling rendah perlakuan K-. Berdasarkan hasil uji Anova ada perbedaan nyata ($p < 0,05$). Indikator ikan terkena infeksi, rendahnya kandungan protein pakan dan defisiensi vitamin dapat dilihat dari pengamatan kadar hematokrit (Tanbiyaskur, 2011).

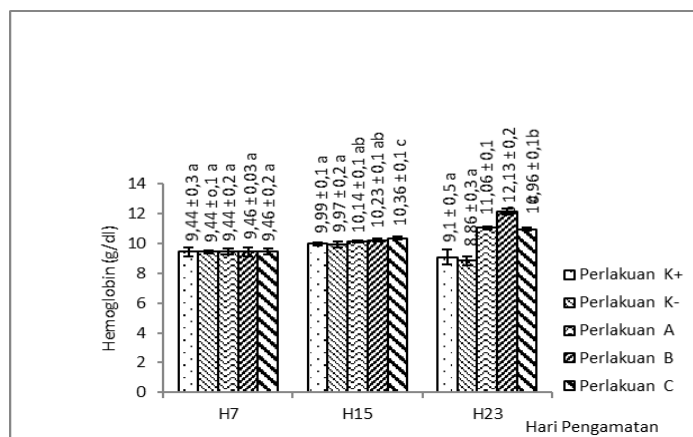


Gambar 6. Persentase hematokrit ikan mas pada berbagai perlakuan.

Hemoglobin

Hemoglobin merupakan bagian dari darah sebagai transportasi oksigen, karbon dioksida serta nutrisi dalam tubuh. Hasil pengamatan

hemoglobin pada sebelum perlakuan, setelah perlakuan dan diuji tantang mengalami naik maupun turun mulai dari H-1, H-15, dan H-23 (Gambar 7).

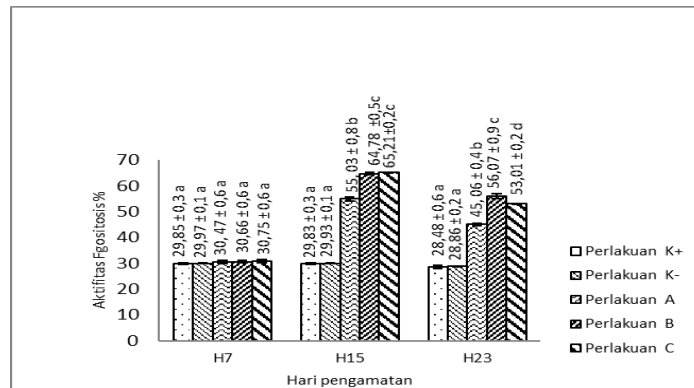


Gambar 7. Nilai hemoglobin ikan mas pada berbagai perlakuan.

Hemoglobin pada perlakuan A, B, C, dan D menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$) hingga akhir pemeliharaan. Pada H-23 nilai tertinggi pada perlakuan B250 ppm sebesar 12,13g/dl namun juga terjadi penurunan masing-masing pada perlakuan K+ sebesar 9,1g/dl, K- sebesar 8,86g/dl, 125 ppm sebesar 11,06g/dl, dan perlakuan 500 ppm sebesar 10,96g/dl.

Aktivitas Fagositosis

Aktivitas fagositosis bertujuan untuk mengetahui peningkatan daya tahan tubuh, karena aktivitas fagositosis merupakan mekanisme pertahanan non spesifik. Persentase aktifitas fagositosis sebelum dilakukan perlakuan H-7 sampai dengan H-23 lalu uji tantang untuk hasil aktifitas fagositosis mengalami peningkatan dan penurunan (Gambar 8).

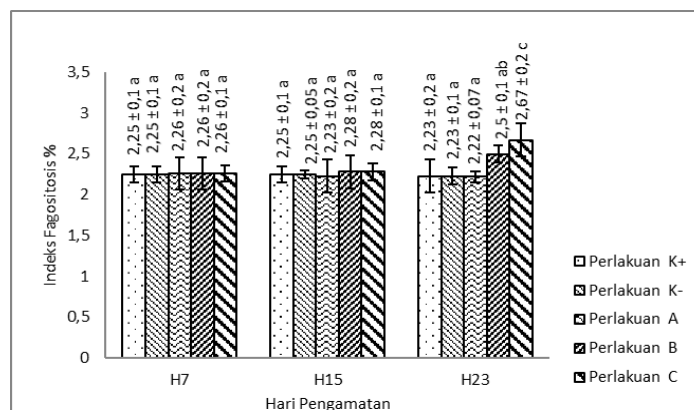


Gambar 8. Persentase aktivitas fagositosis ikan mas pada berbagai perlakuan.

Indeks Fagositosis

Pengamatan indeks fagositosis dilakukan guna mengetahui respon sel fagosit terhadap adanya antigen dalam tubuh. Persentase indeks fagositosis sebelum dilakukan perlakuan H-7 sampai dengan H-23 lalu dilakukan ujiantang untuk hasil indeks fagositosis mengalami peningkatan dan penurunan (Gambar 9).

Hasil indeks fagositosis awal pemeliharaan H-7 berdasarkan uji Anova menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) antar perlakuan. Pada H-15 Persentase indeks fagositosis paling tinggi terdapat pada perlakuan B dan C dibanding perlakuan lainnya dengan nilai 22,28% dan menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$).

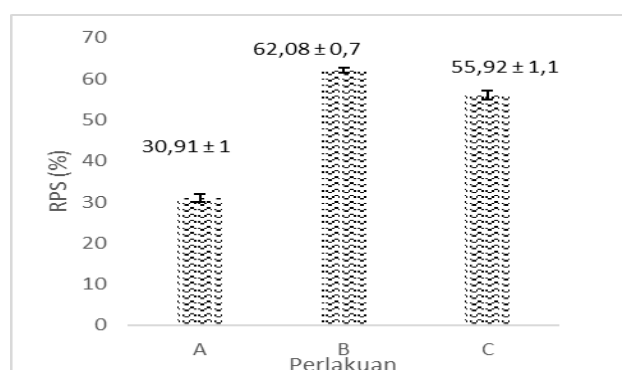


Gambar 9. Persentase indeks fagositosis ikan mas pada berbagai perlakuan.

Relative Percent Survival (RPS)

Nilai RPS tertinggi pada perlakuan konsentrasi B 250 ppm yaitu sebesar 62,08%, dimana konsentrasi B memiliki kelangsungan

hidup terendah, Sedangkan perlakuan A dan perlakuan C memiliki nilai RPS 30,91% dan 55,92% (Gambar 10).

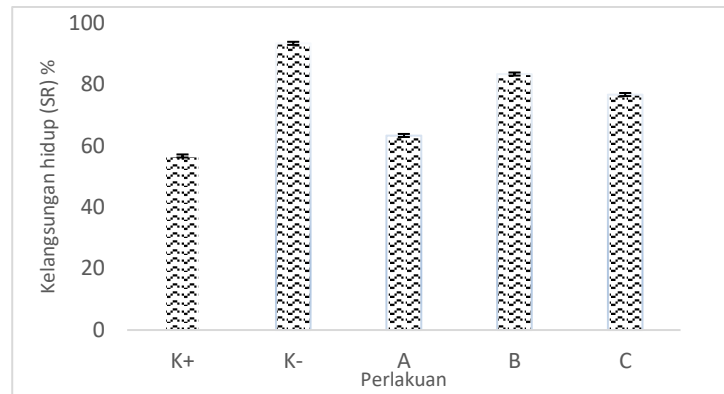


Gambar 10. Persentase RPS ikan mas pada berbagai perlakuan.

Kelangsungan Hidup (SR)

Pada penelitian ini kelangsungan hidup ikan mas pada perlakuan K- memiliki kelulushidupan tertinggi yaitu 93,33%, dan nilai kelangsungan hidup terendah pada perlakuan konsentrasi K+ yang tidak diberi ekstrak daun

jambu biji *Psidium guajava* 56,66%, Kemudian pada perlakuan B memiliki nilai SR sebesar 83,33%, perlakuan C memiliki nilai SR sebesar 76,66% dan Perlakuan A memiliki nilai SR sebesar 63,33% (Gambar 11).



Gambar 11. Nilai SR ikan mas pada perlakuan.

Kualitas Air

Parameter kualitas air memiliki peran penting dalam menunjang kelangsungan hidup pada pemeliharaan ikan. Kualitas air yang diukur pada penelitian ini yaitu Suhu, pH, dan

DO. Selama penelitian kualitas air dilakukan dengan pergantian air, Berdasarkan hasil uji kualitas air yang telah dilakukan sesuai dengan SNI 01-6133-1999 Nilai parameter dari kualitas air dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Parameter kualitas air

Parameter	Hari Pengamatan		
	Awal	Akhir	Nilai Optimum
Suhu	24,6-27,5	24,5-27,7	24-28
pH	6,1-7,7	6,3-7,6	6,5-8,5
DO (mg/l)	2,2-3,2	2,3-3	<4

PEMBAHASAN

Adapun faktor yang mempengaruhi kemampuan ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* sehingga bersifat antibakteri yaitu mengandung senyawa aktif saponin, tanin, triterpenoid, dan flavonoid (Biswas *et al.*, 2013). Tanin merupakan komponen utama dari daun jambu biji *Psidium guajava*, senyawa tanin yang terkandung dalam daun jambu biji *Psidium guajava* adalah sebanyak 9-12% (Joseph dan Priya, 2011).

Tanin mampu berikatan membentuk kompleks dengan enzim bakteri ataupun substrat, kemudian memasuki sel bakteri melalui dinding sel bakteri. Daya antimikroba tanin disebabkan oleh adanya gugus piragalol dan gugus galoil yang merupakan gugus fenol yang menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuhnya dengan cara bereaksi dengan sel protein dari bakteri sehingga terjadi denaturasi protein. Adanya denaturasi protein pada dinding

sel bakteri menyebabkan gangguan metabolisme bakteri sehingga terjadi kerusakan pada dinding sel yang akhirnya menyebabkan sel lisis (Scalbert, 1991).

Menurut Priyatna *et al.*, (2011) peningkatan sel darah putih dapat dijadikan petunjuk adanya fase pertama infeksi maupun stres. Peningkatan jumlah sel darah putih disebabkan oleh peningkatan aktivitas pembelahan sel darah putih, karena sel darah putih berperan dalam mengeleminasi patogen yang masuk ke tubuh melalui proses fagositosis. Pada ikan sehat jumlah sel darah putih umumnya lebih rendah dibanding sel darah merah (Syafar *et al.*, 2017).

Hal ini sesuai dengan pernyataan Sunarto (2015) yang menyatakan bahwa kisaran normal nilai eritrosit pada ikan mas 1,12-2,40 10^4 sel/mm³. Jumlah eritrosit total selama pemberian ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* masih berada dalam kisaran normal. Hal ini menunjukkan pemberian imunostimulan daun jambu biji *Psidium guajava* pada perlakuan

tidak mengganggu kesehatan ikan namun diduga dapat meningkatkan status kesehatan ikan.

Peningkatan persentase limfosit merupakan refleksi keberhasilan sistem imunitas ikan dalam mengembangkan respon imunitas seluler (non spesifik) sebagai pemicu untuk respon kekebalan (Maryani dan Rosdiana, 2020). Hasil uji Anova menunjukkan adanya hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$).

Sel limfosit akan mengalami penurunan karena antibodi yang membentuk digunakan untuk menyerang bakteri. Dengan adanya peningkatan persentase sel limfosit dalam sel darah putih disebabkan masuknya senyawa yang berperan sebagai imunostimulan. Setelah diinfeksi bakteri, sel limfosit akan mengalami penurunan karena antibodi yang membentuk digunakan untuk menyerang bakteri (Rustikawati, 2012).

Kurniawan *et al.*, (2013) menyatakan bahwa penurunan persentase monosit diduga meningkatnya persentase limfosit untuk memproduksi antibodi sehingga produksi monosit terhambat.

Neutrofil dalam darah akan meningkat jika terjadi infeksi dan berperan sebagai pertahanan pertama dalam tubuh (Harikrishnan *et al.*, 2010).

Peningkatan pasca diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* disebabkan karena ikan mengalami infeksi oleh bakteri tersebut. Menurut Utami *et al.*, (2013) infeksi yang masuk ke dalam tubuh merangsang sel darah putih untuk memproduksi sel monosit lebih banyak. Menurut Rustikawati (2012) sel-sel fagositosis yang terbentuk diantaranya monosit dan neutrofil akan memfagosit benda asing yang mengeluarkan senyawa oksidatif yang menghancurkan patogen.

Rendahnya kadar hemoglobin di bawah kisaran normal mengindikasikan rendahnya kandungan protein pakan, kualitas air yang buruk serta infeksi bakteri (Royan *et al.*, 2014).

Cook *et al.*, (2011) menyatakan bahwa nilai hematokrit di bawah 30% menunjukkan defisiensi sel darah merah. Selain itu, kemampuan bakteri *Aeromonas hydrophila* dalam menghasilkan eksotoksin yang dapat melisis sel darah merah menjadi salah satu faktor penyebab penurunan sel darah merah. Hal ini disebabkan ikan mampu membentuk sistem pertahanan tubuh sehingga serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* tidak mampu masuk ke dalam darah. Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki fungsi sebagai zat anti bakteri, antiviral, dan antiradang yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan menghambat enterotoksin, sehingga dapat memproduksi sel darah kembali dalam kondisi normal.

Peningkatan nilai aktivitas fagositosis diindikasikan karena selama ujiantang, proses fagositosis meningkat untuk melawan antigen (bakteri patogen) yang masuk ke dalam tubuh, hal tersebut merupakan reaksi sistem imun non spesifik (Wulandari *et al.*, 2018). Qomariyah *et al.*, (2017) adanya peningkatan kekebalan tubuh ikan dapat dilihat dari peningkatan indeks fagositosis. Fagositosis merupakan mekanisme yang paling penting dan merupakan fungsi utama sel leukosit saat terjadi peradangan (Utami *et al.*, 2013)

Nilai RPS dipengaruhi oleh respon imun, semakin meningkatnya respon imun maka RPS akan meningkat (Rahmawati, 2017). Hal ini memperlihatkan bahwa ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* mengandung senyawa yang berfungsi sebagai imunostimulan yang dapat menginduksi ketahanan tubuh terhadap serangan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Adanya senyawa flavonoid mampu meningkatkan aktifitas neutrofil, basofil, monosit, limfosit, eosinofil, dalam fungsinya sebagai salah satu bagian sistem pertahanan tubuh.

Kisaran suhu tersebut tergolong sesuai dan baik untuk pemeliharaan ikan mas, hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Makaminan (2011) bahwa suhu optimum untuk budidaya ikan mas 25-32 °C. Kisaran pH yang diperoleh selama penelitian diawal pemeliharaan yaitu berkisar 6,1-7,7 dan pada akhir pemeliharaan yaitu berkisar 6,3-7,6. Nilai pH pada kisaran tersebut tergolong baik untuk pemeliharaan ikan mas. Nilai Ph yang baik untuk budidaya ikan mas berkisar 6,5-8,5. Kadar oksigen terlarut yang didapatkan awal pemeliharaan yaitu berkisar 2,2-3,2 mg/l dan pada akhir penelitian berkisar 2,3-3 mg/l. Kadar oksigen terlarut tergolong normal untuk pemeliharaan ikan mas. Kadar oksigen terlarut diperairan yang baik bagi pertumbuhan ikan mas yaitu <4 mg/l (Wihardi, 2014).

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak daun jambu biji *Psidium guajava* dengan berbagai konsentrasi yang diberikan pada ikan mas memberikan pengaruh nyata terhadap leukosit, eritrosit, differensial leukosit, hemoglobin, RPS, AF, dan IF dengan konsentrasi 250 ppm. Sedangkan pada parameter hematokrit dan kelangsungan hidup (SR) tidak memberikan pengaruh nyata pada setiap perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin M. 1993. Diagnosa Penyakit Ikan (Cara Pemeriksaan Penyakit Ikan) Bogor: Fakultas Perikanan IPB
- Amend DF. 1981. Potency Testing of Fish Vaccines. *Fish Biologcs: Serodiagnostics and Vaccines* 49: 447-454
- Berger J, Jarcova M. 2012. Phagocytosis of insect haemocytes as a new alternative model. *Journal of Applied Biomedicine* 10(1): 35-40
- Biswas B, Rogers K, McLaughlin F, Daniels D, Yadab A. Antimicrobial activities of leaf extract of guava (*Psidium guajava* L.) on two gram-negative and gram-positive bacteria. *International Journal of Microbiology* 2013(746165): 1-7
- Blaxhall PC. 1972. Hematological Assessment on the health of freshwater fish. a review of selected literature. *Journal Fish Biology* 4(4): 593-604
- Cook DG, Wells RMG, Herbert NA. 2011. Anemia adjust the aerobic physiology of snapper *Pagrus auratus* and modulates hypoxia avoidance behaviour during oxygen choice presentatoin. *The Journal of Experimental Biology* 214(17): 2927-2934
- Darsana IGO, Besung INK, Mahatmi H. 2012. Potensi daun binahong (*Androdera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro. *Indonesia Medicus Veterinus* 1(30): 337- 351
- Direktorat Jendral Perikanan Budidaya. 2018. Laporan Kinerja DJPB. Jakarta
- Harikrishnan R, Balasundaram C, Heo MS. 2010. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophilla*. *Fish & Shellfish Immunology* 28(2): 354-361
- Haryani A, Granduosa R, Buwono ID, Santika A. 2012. Uji efektivitas daun pepaya (*Carica papaya*) untuk pengobatan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla* pada ikan mas koki (*Carassius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 3(3): 213-220
- Joseph B, Priya RM. 2011. Phytochemical and biopharmaceutical aspects of *Psidium guajava* (L.) essential oil: a review. *Research Journal of Medicinal Plants* 5(4): 432-442
- Kurniawan, Prayitno SB, Angela ML. 2013. Pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L) terhadap profil darah dan kelulushidupan ikan lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus* Var. Sangkuriang) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*. *Journal of Aquaculture Management and Technology* 2(4): 50-62
- Lukistyowati I, Kurniasih. 2012. Pelacakan Gen Aerolysin dari *Aeromonas hydrophilla* pada Ikan Mas yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih. *Jurnal Veteriner* 13(1): 43-50
- Makaminan W. 2011. Studi parameter kualitas air pada lokasi budidaya ikan di Danau Tondano Desa Eris Kecamatan Eris Kabupaten Minahasa Provinsi Sulawesi Utara. (Skripsi). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam Ratulangi. Manado
- Maryani M, Rosdiana R. 2020. Peranan imunostimulam akar kuning *Arcangelisia flava* Merr pada gambaran aktivitas sistem imun ikan mas (*Cyprinus carpio* L). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia* 8(1): 22-36
- Nabib R, Pasaribu FH. 1989. Patologi dan Penyakit Ikan. PAU Bioteknologi. Institute Pertanian Bogor. Bogor. 156 hal
- Priyatna R, Indrajulianto S, Kurniasih. 2011. Infeksi *Aeromonas salmonicida* dari berbagai wilayah di Indonesia pada ikan mas *Cyprinus carpio*. *Biota* 16(2): 287-297
- Qomariyah N, Suprpto H, Sudarsono. 2017. Pemberian vaksin formalin killed cell (FKC) *Vibrio alginolitycus* untuk meningkatkan survival rate (SR), titer antibodi dan fagositosis leukosit pada kerapu cantang (*Epinephelus* sp.) setelah uji tantang bakteri *Vibrio alginolitycus*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 9(1): 15-24
- Rahmawati E. 2017. Ketahanan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931) yang diberi probiotik *Bacillus* sp. D22 terhadap infeksi *Vibrio alginolyticus*. [Skripsi]. Universitas Lampung, Bandar Lampung
- Rustikawati I. 2012. Efektivitas ekstrak *Sargassum* sp terhadap differensiasi leukosit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi *Streptococcus iniae*. *Jurnal Akuatika* 3(2): 125-134
- Royan F. 2014. Pengaruh salinitas yang berbeda terhadap profil darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology* 3(2): 109-117
- Scalbert A. 1991. Antimicrobia properties of tannins. *Journal of Phytochemistry* 30(12): 3875-3883
- Sukenda JL, Wahjuningrum D, Hasan A. 2008. Penggunaan kitosan untuk pencegahan infeksi *Aeromonas hydrophilla* pada ikan lele dumbo *Clarias* sp. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 7(2): 159-169
- Sumino, Supriyadi A, Wardiyanto. 2013. Efektivitas ekstrak daun ketapang (*Terminalia cattapa* L.) untuk pengobatan infeksi *Aeromonas salmonicida* pada ikan patin (*Pangasionodon hypophthalmus*). *Jurnal Sain Veteriner* 31(1): 79-88
- Sunarto. 2015. Studi hematologi untuk diagnosa penyakit ikan secara dini sentra produksi budidaya air tawar Sungai Kapuas Kota Pontianak. *Jurnal Akuatika* 4(1): 11-20
- Syafar LA, Mahasri G, Rantam FA. 2017. Blood description, parasite infestation and survival rate of carp (*Cyprinus carpio*) which id exposed by spore protein *Myxobolus koi* on rearing pond as immunostimulan material. *Jurnal Biosains Pascasarjana* 19(2): 158-179
- Svobodova Z, Vyukusova B. 1991. Diagnostic, prevention and therapy of fish disease and intoxication. *Research Institute of Fish Culture and Hydro biology Vodnany Czechoslovakia*.

- Tanbiyaskur. 2011. Efektivitas pemberian probiotik, prebiotik dan sibiobiotik melalui pakan untuk pengendalian infeksi *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). (Tesis). Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Utami DT, Prayitno SB, 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 Aquacultur Management and Tecnology* 2(4): 7-20
- Wihardi Y, Yusanti IA, Haris RBK. 2014. Feminisasi pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) dengan perendaman ekstrak daun tangkai buang terung cepoka (*Solanum Torvum*) pada lama waktu perendaman berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan* 9(1): 23-28
- Wulandari S, Jumadi R, Rahmawati FF. 2018. Efektivitas serbuk daun tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap differensial leukosit dan aktivitas fagositosis ika nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. *Jurnal Perikanan Pantura (JPP)* 1(1): 40-49
- Zonneveld N, Huisman EA, Boon JH. 1991. Prinsip-Prinsip Budidaya Ikan. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 318 hal