

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN API-API (*Avicennia marina*) TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophilla*

Sri Andayani^a, Heny Suprastyani^a, Dwi Ratih Sulistyorinie^{a,*}

^aProgram Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Jl Veteran Malang, Indonesia

*Koresponden penulis : dwiratihsr@gmail.com

Abstrak

Serangan penyakit pada budidaya ikan koi seperti *Aeromonas hydrophilla* dapat menyebabkan kerugian ekonomi dalam budidaya. Banyak upaya yang dilakukan untuk mengobati serangan bakteri *A. hydrophilla* salah satunya menggunakan fitofarmaka ekstrak kasar daun api-api (*Avicennia marina*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dan mengetahui dosis terbaik terhadap histopatologi hati ikan koi yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan dalam penelitian ini adalah sebanyak 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Perlakuan A (10 ppm), B (30 ppm), C (50 ppm) dan D (70 ppm). Hasil pengamatan histopatologi hati pada ikan koi diperoleh adanya kerusakan berupa kongesti, hemoragi dan nekrosis pada organ hati. Perendaman dengan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) menunjukkan hasil yang berpengaruh nyata ($P>0,05$) hal ini terbukti dari semakin tinggi dosis ekstrak yang digunakan semakin rendah kerusakan pada hati ikan. Oleh karena itu, perendaman ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) mampu memberikan efek penyembuhan pada ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil terendah didapatkan pada perlakuan A (10 ppm) dan hasil terbaik ada pada perlakuan D (70 ppm).

Kata kunci : *Aeromonas hydrophilla*, daun api-api, hati, histopatologi, ikan koi

Abstract

Bacterial disease caused by *Aeromonas hydrophilla* often infected common carp culture. Many efforts made to prevent infection by *A. hydrophilla* bacteria, one of which used phytopharmaca grey mangrove leaf crude extract. This aims of this research to determine the effect of the use of grey mangrove (*A. marina*) crude extract and determine the effective dose on histopathology liver of common carp was infected by bacteria *A. hydrophilla*. This research used experimental method with Completely Randomized Design (CRD) 4 treatments and 3 replications. These treatment were A (10 ppm), B (30 ppm), C (50 ppm) and D (70 ppm). Soaking with grey mangrove leaf crude extract showed a significant effect ($P>0,05$) on histopathology of liver. The results of histopathology observation of the liver showed damage in the form congestion, hemorrhage and necrosis. Soaking grey mangrove leaf crude extract at a dose that has been able to provide a care for common carp infected bacteria *A. hydrophilla*. The results showed that the lowest results were obtained in treatment A (10 ppm) and the best results were in treatment D (70 ppm).

Keywords: *Aeromonas hydrophilla*, *Cyprinus carpio*, grey mangrove leaf, histopathology, liver

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang mempunyai sumber daya perikanan yang melimpah. Pemanfaatan sumberdaya perikanan sudah mengarah ke perikanan budidaya, dimana input teknologi dimasukan untuk mencapai hasil yang maksimal.

Dampak dari adanya input tersebut adalah adanya ketidakseimbangan ekosistem budidaya yang berakibat pada timbulnya penyakit pada komoditas yang dipelihara [1].

Salah satu budidaya yang saat ini menjanjikan keuntungan adalah budidaya ikan koi (*Cyprinus carpio*). Namun, kendala dalam budidaya ikan koi adalah adanya

serangan penyakit[2]. Ikan koi merupakan ikan yang sangat rentan terhadap serangan penyakit. Penyakit yang menyerang ikan koi salah satunya adalah *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Bakteri *A. hydrophilla* dapat menyebabkan 80% kematian ikan budidaya pada berbagai stadia [3].

Upaya pengobatan yang sering dilakukan pada ikan yang terinfeksi *A. hydrophilla* yaitu dengan menggunakan obat-obatan kimia. Namun, penggunaan bahan kimia cenderung tidak ramah lingkungan dan ada yang bersifat karsinogenik. Seiring dengan adanya kecenderungan yang memperhatikan masalah keamanan pangan dan lingkungan maka diharapkan adanya metode pengobatan penyakit bakterial yang bersifat aman bagi pembudidaya, ramah lingkungan dan murah melalui pemanfaatan tanaman herbal. Beberapa jenis tanaman diketahui memiliki senyawa aktif yang berfungsi sebagai anti bakteri, salah satunya adalah daun api-api (*Avicennia marina*) [4].

Berdasarkan masalah tersebut maka perlu dilakukan penelitian terhadap pengaruh pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* yang dapat berperan sebagai alternatif penggunaan antibiotik yang lebih aman bagi lingkungan dan memiliki residu yang lebih sedikit dari pada antibiotik. Selain itu juga mengurangi resistensi ikan terhadap antibiotik yang diberikan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* dan untuk mengetahui dosis terbaik pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimental yaitu dengan mengamati secara langsung pengaruh pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A.*

hydrophilla. Parameter utama dalam penelitian ini adalah histopatologi hati ikan koi. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pada penelitian ini menggunakan 4 perlakuan, 2 kontrol dengan 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dengan dosis 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm dan 70 ppm. Sedangkan kontrol positif dengan pemberian antibakteri *chloramphenicol* 30 ppm dan kontrol negatif ikan koi hanya diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* saja tanpa diberi perlakuan.

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2018 sampai dengan Februari 2019 di Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perairan Divisi Keamanan Hasil Perikanan dan Laboratorium Hidrobiologi Divisi Sumberdaya Ikan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain: toples plastik 16L, toples kaca 10 L, Akuarium ukuran 200 x 60 x 80, timbangan digital, *aerator set*, pipet volume, bola hisab, nampan, oven, penggilingan, pipet tetes, jarum ose, bunsen, tabung reaksi, lemari pendingin, botol film, gelas ukur, *sprayer*, mikroskop, spektrofotometer, *rotary evaporator*, inkubator, *vortex mixer*, objek glass, cover glass, seser ikan, erlenmeyer, *hotplate*, *thermometer* akuarium, pH meter, DO meter, tabung reaksi, rak tabung reaksi, penggaris, spatula, *washing bottle*, autoklaf, *laminary air flow*, beaker glass dan *sectio set*.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain: ikan koi (*C. carpio*) ukuran 8-10 cm, daun api-api (*A. marina*), Bakteri *A. hydrophilla*, alumunium foil, alkohol 70%, etanol PA, akuades, sarung tangan lateks, kertas saring, plastik *wrap*, masker, tissue, kapas, kertas label, *nutrient agar*, *nutrient broth*, air media, BaCl, H₂SO₄ dan spirtus.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Api-Api (*A. marina*)

Proses pembuatan ekstrak kasar dimulai dengan menyiapkan daun api-api (*A. marina*). Daun api-api didapatkan dari Desa Betoyoguci Kecamatan Manyar Kabupaten Gresik Jawa Timur sebanyak 3 kg. Selanjutnya daun api-api tersebut dikeringkan menggunakan oven dengan suhu <math><60^{\circ}\text{C}</math> dan didapatkan berat daun kering sebanyak 1,245 g. Daun kemudian digiling hingga menjadi serbuk, hasil penggilingan ditimbang menggunakan timbangan digital, didapatkan serbuk sebanyak 1,040 g. Langkah selanjutnya yaitu proses maserasi. Maserasi dilakukan dengan perbandingan 1:5, serbuk daun api-api sebanyak 200 g dimaserasi menggunakan etanol PA 98% sebanyak 1000 ml dan dibungkus aluminium foil dan *plastic wrap* selama 2 hari (dihomogenkan setiap 7 jam). Siapkan wadah untuk penyaringan dan saring menggunakan kertas saring rangkap 2. Larutan hasil penyaringan dibungkus *aluminium foil* dan disimpan ditempat yang tidak terkena cahaya matahari. Selanjutnya larutan hasil penyaringan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga berbentuk pasta. Ekstrak hasil evaporasi diletakkan dalam botol film dan dibungkus dengan *aluminium foil*, selanjutnya disimpan pada lemari pendingin.

Persiapan Bakteri *A. Hydrophilla*

Bakteri *A. hydrophilla* diperoleh dari BBPBAP (Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau) Jepara, Jawa-Tengah. Bakteri diperoleh dengan kepadatan 9×10^8 sel/ml hasil pengukuran pada media NB (*Nutrient Broth*) yang sudah dicocokkan dengan larutan standar *Mc Farland*.

Persiapan Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan adalah ikan koi (*C. carpio*) yang didapatkan dari pembudidaya ikan di daerah Blitar. Ikan yang digunakan dalam penelitian berukuran 8–10 cm dan bobot ikan 3,60–8,84 g. Ikan dipelihara selama 7 hari di akuarium berukuran (200x60x80) cm untuk pengadaptasian. Padat tebar ikan uji yang

digunakan pada setiap akuarium sebanyak 1 ekor/2 L [5]. Masing-masing toples yang akan digunakan diisi 10 L air dan ikan uji sebanyak 5 ekor. Selanjutnya ikan diaklimatisasi selama 3 hari pada toples. Selama aklimatisasi ikan koi diberi pakan pelet secara ad libitum sebanyak 2 kali sehari dan dilakukan penyiponan apabila air pemeliharaan sudah kotor.

Uji Lethal Dose 50% (LD_{50})

Ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) yang didapat setelah dilakukan uji MIC adalah dosis 10 ppm, 35 ppm, 60 ppm dan 85 ppm. Pada uji LD_{50} menggunakan ikan koi (*C. carpio*) dengan ukuran 8-12 cm dengan jumlah 20 ekor yang dibagi menjadi 4 perlakuan sehingga setiap perlakuan terdapat 5 ekor ikan uji. Sebelum dilakukan pemberian ekstrak, ikan diadaptasikan selama 1 minggu dan diberi pakan pelet 2 kali sehari yaitu pukul 08.00 dan 15.00 WIB. Setelah itu, ikan diletakkan ke dalam toples perlakuan dan diberi ekstrak daun api-api (*A. marina*) sesuai dengan dosis yang telah ditentukan. Selanjutnya ikan diamati selama 48 jam. Setelah 48 jam diperoleh hasil yaitu pada dosis 85 ppm ikan uji mengalami kematian sebanyak 50%. Hal ini dikarenakan pada dosis 85 ppm kadar ekstrak terlalu tinggi, tingginya ekstrak menyebabkan toksik pada media budidaya. Sehingga dosis yang digunakan pada perlakuan penelitian adalah dosis dibawah dosis 85 ppm, yaitu 10, 30, 50 dan 70 ppm.

Pelaksanaan Penelitian

Penginfeksian Bakteri *A. hydrophilla* pada ikan koi (*C. carpio*)

Penginfeksian bakteri dilakukan dengan cara perendaman dengan memasukkan bakteri langsung pada media pemeliharaan. Penginfeksian menggunakan bakteri *A. hydrophilla* dengan kepadatan 1×10^7 sel/ml. dengan menggunakan rumus pengenceran menurut [6] sebagai berikut:

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 9 \times 10^8 &= 10.000 \times 10^7 \\ V_1 &= \frac{10.000 \times 10^7}{9 \times 10^8} \end{aligned}$$

$$V_1 = 111 \text{ ml}$$

Berdasarkan perhitungan diatas diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan adalah sebanyak 111 ml.

Pemberian Ekstrak Kasar *A. marina*

Pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dengan perendaman dengan cara memasukkan ekstrak kasar daun api-api ke dalam media pemeliharaan. Perendaman dilakukan selama 48 jam. Setelah itu ikan dipindah ke dalam air bersih selama 7 hari pemeliharaan. Selama pemeliharaan dilakukan pengukuran parameter penunjang yaitu DO, pH dan suhu setiap hari pada pukul 08.00 dan 15.00 WIB.

Pengambilan Jaringan Hati

Pengambilan jaringan hati dilakukan hanya pada ekor ikan setiap perlakuan. Jaringan hati yang telah diambil dibersihkan dengan menggunakan aquades. Setelah itu dimasukkan ke dalam botol film yang berisi formalin 10%. Kemudian dilakukan pembuatan preparat histopatologi.

Pembuatan Preparat Histopatologi

Adapun tahapan uji histopatologi Menurut [7] adalah sebagai berikut:

- a. Tahap Fiksasi
Sampel hati diambil untuk diamati jaringannya kemudian jaringan direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam.
- b. Tahap Dehidrasi
Tahap dehidrasi dilakukan dengan memasukkan ke dalam botol yang berisi alkohol. alkohol yang digunakan dengan seri naik yang terdiri dari alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96% dan alkohol *absolute*.
- c. Tahap *Clearing*
Tahap *clearing* untuk mentransparankan dilakukan dengan mencelupkan ke dalam larutan xylol 1 selama 1 jam, xylol 2 selama 2 jam.
- d. Tahap Impregnasi
Tahap impregnasi bertujuan untuk menyamakan keadaan jaringan dengan bahan pengeblokan (*embedding*).

Dilakukan dengan mencelupkan bahan ke paraffin cair dengan suhu 56-60°C selama 2 jam, kemudian dilanjutkan dengan mencelupkan kembali ke dalam paraffin cair dengan suhu 56-60°C selama 2 jam.

- e. Tahap *Embedding* (Pengeblokan)
Tahapan ini bertujuan untuk memudahkan penyayatan dengan menggunakan mikrotom. Setelah penyayatan bahan yang sudah diblok selesai, langkah berikutnya adalah memasukkan hasil sayatan ke dalam *waterbath* (suhu 45°C), kemudian pilih hasil sayatan yang terbaik dan siapkan obyek glass untuk persiapan pewarnaan HE (*Haematoxylin Eosin*). Kemudian keringkan pada oven dengan suhu 45°C selama 24 jam.
- f. Teknik Pewarnaan Jaringan dengan Menggunakan HE (*Haematoxylin Eosin*)
Pewarnaan dengan menggunakan HE (*Haematoxylin Eosin*) dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu deparafinisasi, hidrasi, cat utama, dehidrasi dan *clearing*.
- g. Tahap *Mounting*
Preparat dilem dengan menggunakan *entelen new*. Kemudian ditutup dengan *cover glass* jangan sampai terjadi gelembung. Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai lem mengering kemudian diamati dibawah mikroskop dengan menggunakan perbesaran 400x.

Parameter Penelitian

Parameter utama dalam penelitian ini yaitu histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*). Pengamatan histopatologi dilakukan bertujuan untuk melihat gambaran jaringan hati pada ikan yang diinfeksi yang diobati dengan daun api-api dan ikan tanpa perlakuan yang diinfeksi, kemudian dilakukan skoring kerusakan histopatologi hati. Menurut [8], skoring yaitu pemberian skor terhadap masing-masing parameter untuk menentukan tingkat penilaiannya pada jaringan dengan cara menghitung jumlah kerusakan dengan menghitung persentasenya. Pembacaan dimulai dari tepi kiri (sesuai dengan posisi ekor preparat) ke arah kepala kemudian turun ke bawah dan bergeser ke arah ekor kembali (gerak zig-zag). Setiap bidang lapang pandang diamati tingkat kerusakan jaringannya dengan kriteria kongesti, hemoragi dan nekrosis, kemudian

dipersentase dengan pemberian skor dari angka 1 sampai 4. Angka 1 mempunyai tingkat persentase kerusakan jaringan 0-5%, angka 2 tingkat persentase kerusakan jaringan 6-25%, angka 3 tingkat persentase kerusakan jaringan 26-50% dan angka 4 tingkat persentase kerusakan jaringan >50%.

Sedangkan parameter penunjang pada penelitian ini adalah kelulushidupan (*Survival Rate*) dan parameter kualitas air (suhu, oksigen terlarut dan pH). Kelulushidupan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut [9]:

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

Keterangan:

SR = Kelulushidupan ikan (%)

N_t = Jumlah ikan hidup pada akhir penelitian (ekor)

N₀ = Jumlah ikan hidup pada awal penelitian (ekor)

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dilakukan analisis secara statistika dengan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan. Tujuan analisis keragaman atau uji F adalah untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur. Apabila hasil uji F menunjukkan berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk membedakan antara dua perlakuan terbaik. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan jumlah kerusakan jaringan hati maka dilakukan uji polynomial orthogonal.

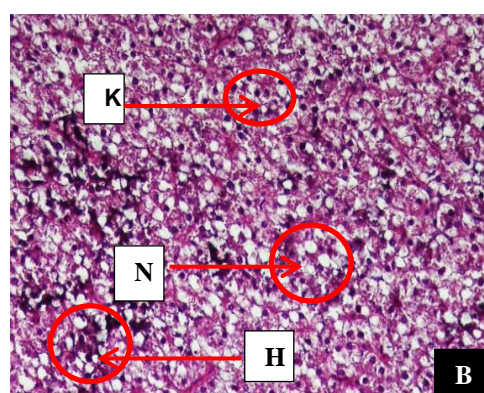
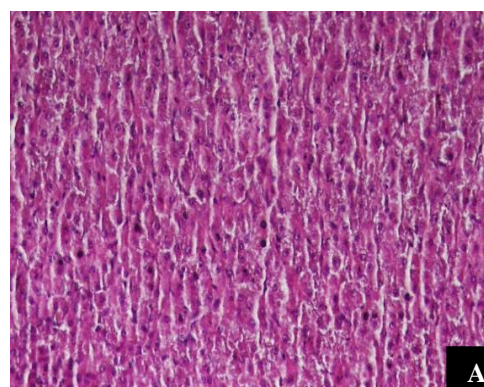
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji Histopatologi

Gambaran Hati Ikan yang Diinfeksi Bakteri A. hydrophilla dan Normal

Pada Gambar 1 (A) dapat dilihat jaringan hati ikan sehat menunjukkan tidak adanya kerusakan. Sedangkan pada Gambar 1 (B) yaitu jaringan hati yang diinfeksi bakteri dan tanpa pemberian ekstrak daun api-api (*A. marina*) terlihat banyak terjadi

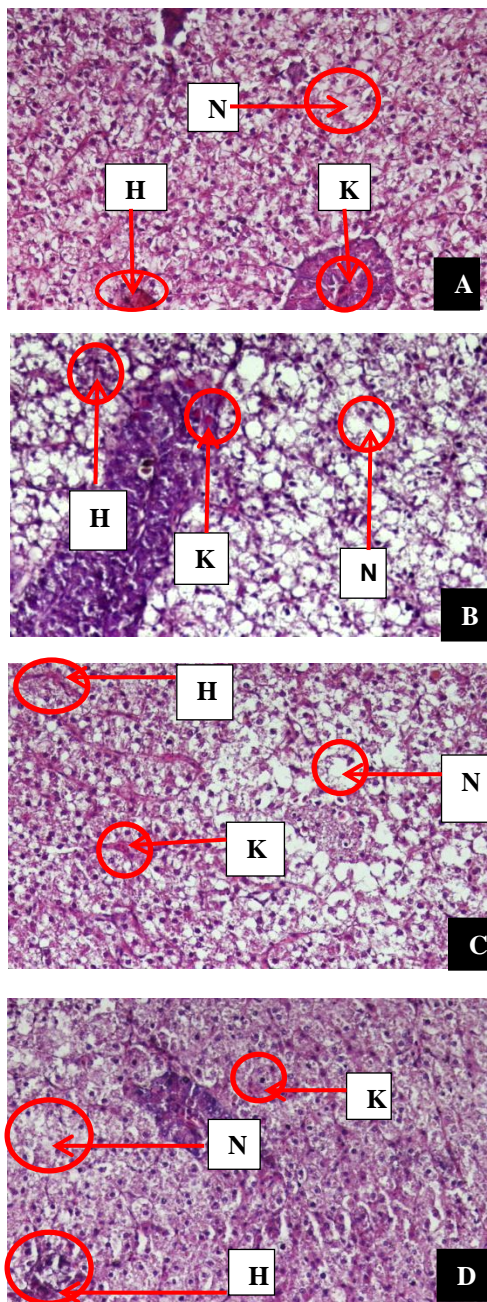
kerusakan. Kerusakan yang terjadi diantaranya Kongesti Hemoragi dan Nekrosis.



Gambar 1. Gambar Histopatologi Hati, (A) Histopatologi Hati Ikan Sehat, (B) Histopatologi Hati yang diinfeksi *A. hydrophilla* dan tanpa pemberian ekstrak kasar *A. marina*, (K) Kongesti (H) Hemoragi (N) Nekrosis. Pengamatan dengan menggunakan perbesaran 400x dengan Pewarnaan HE.

Gambaran Histopatologi Hati pada Sampel Perlakuan

Pengamatan Histopatologi digunakan untuk melihat perubahan patologi pada perendaman ikan koi (*C. carpio*) dengan ekstrak daun api-api yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* dengan perlakuan dosis yang berbeda. Perlakuan yang digunakan pada saat penelitian terdiri dari 4 macam diantaranya perlakuan A dengan dosis sebesar 10 ppm, perlakuan B dengan dosis sebesar 30 ppm, perlakuan C dengan dosis sebesar 50 ppm dan yang terakhir perlakuan D dengan dosis sebesar 70 ppm. Pemeliharaan dilakukan selama 7 hari. Gambar jaringan hati pada sampel perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Gambar Histopatologi Hati, (A) Dosis 10 ppm, (B) Dosis 30 ppm, (C) Dosis 50 ppm, (D) Dosis 70 ppm, (K) Kongesti (H) Hemoragi (N) Nekrosis. Pengamatan dengan menggunakan perbesaran 400x dengan pewarnaan HE.

Adapun analisis data kerusakan pada histopatologi jaringan hati yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* yang direndam dalam ekstrak kasar daun api-api adalah sebagai berikut:

a. Kongesti

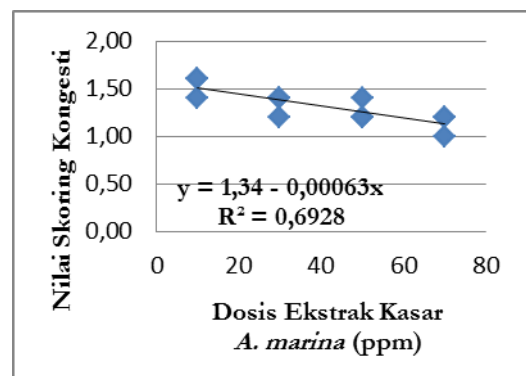
Menurut [10], kongesti merupakan keadaan terjadinya penumpukan sel-sel darah merah yang sangat padat dalam pembuluh

darah yang menunjukkan kondisi tidak normal pada hati ikan. Menurut [11], kerusakan kongesti pada hati terjadi akibat adanya pembengkakan sel sehingga sinusoid menyempit. Sinusoid merupakan suatu rongga yang terdapat pada jaringan hati yang memungkinkan terjadinya pertukaran nutrisi dan zat lainnya antara darah dan hepatosit. Apabila sinusoid menyempit, maka darah akan terbendung di dalam jaringan hati sehingga proses pertukaran nutrisi maupun zat lain akan terganggu. Menurut [12], bakteri *A. hydrophilla* salah satu bakteri gram negatif yang dapat menyebabkan terjadinya kongesti pada hati. Adapun hasil rata-rata pada kongesti disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rata-Rata Kerusakan Kongesti

Perlakuan	Rerata
A (10 ppm)	1,53 ^a
B (30 ppm)	1,33 ^a
C (50 ppm)	1,27 ^{ab}
D (70 ppm)	1,13 ^b

Berdasarkan analisis varian (ANOVA), perlakuan pemberian ekstrak kasar daun api-api memberikan hasil berpengaruh terhadap kerusakan kongesti jaringan hati. Hasil rata-rata kerusakan kongesti tertinggi adalah perlakuan A dengan dosis 10 ppm, sedangkan rata-rata kerusakan kongesti terendah adalah perlakuan D dengan dosis 70 ppm. Adapun Grafik hubungan dosis ekstrak daun api-api dengan nilai skoring kongesti dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik Hubungan antara Dosis Ekstrak Kasar *A. marina* dengan Nilai Skoring Kongesti.

Pada Gambar 3 didapatkan persamaan $y = 1,34 - 0,00063x$ dan memiliki nilai

koefisien determinasi yakni 0,6928 menunjukkan bahwa dosis yang digunakan berpengaruh terhadap presentase sel hati yang mengalami kongesti sebesar 69,28%. Selain itu, juga dapat diketahui hubungan antara dosis ekstrak kasar daun api-api dengan sel hati yang mengalami kongesti berbanding terbalik, apabila semakin tinggi dosis maka nilai skoring kongesti semakin rendah. Menurut [13], penghambatan atau pembasmian bakteri oleh bahan antibakteri dapat dipengaruhi oleh konsentrasi atau intensitas zat antibakteri, semakin tinggi konsentrasi zat antibakteri yang diaplikasikan dalam suatu waktu tertentu maka semakin cepat pula sel-sel bakteri akan terbunuh tentunya sampai suatu batas tertentu.

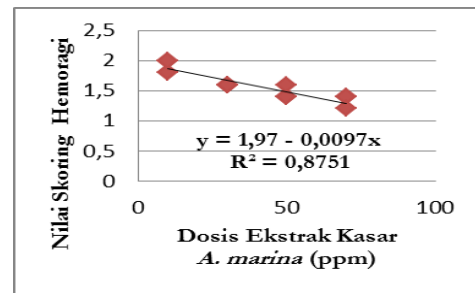
b. Hemoragi

Menurut [14], hemoragi merupakan salah satu kerusakan hati tingkat sedang. Hemoragi ini terjadi bila kongesti sudah sangat parah, maka pembuluh darah akan pecah dan darah berada pada tempat yang tidak semestinya (pendarahan). Hemoragi mengindikasikan keluarnya darah dari pembuluh darah, baik keluar tubuh maupun ke dalam jaringan tubuh. Bila perdarahan meluas akan terjadi purpura dan eritrosit terlihat di luar pembuluh darah. Menurut [15], hemoragi dapat disebabkan oleh kerusakan pembuluh darah akibat agen infeksi yang beredar di pembuluh darah. Adapun hasil rata-rata pada kerusakan kongesti disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Rata-Rata Kerusakan Hemoragi

Perlakuan	Rerata
A (10 ppm)	1,93 ^a
B (30 ppm)	1,60 ^b
C (50 ppm)	1,47 ^{bc}
D (70 ppm)	1,33 ^c

Berdasarkan analisis varian (ANOVA), perlakuan pemberian ekstrak kasar daun api-api memberikan hasil berpengaruh terhadap kerusakan hemoragi jaringan hati. Hasil rata-rata kerusakan hemoragi tertinggi adalah perlakuan A dengan dosis 10 ppm, sedangkan rata-rata kerusakan hemoragi terendah adalah perlakuan D dengan dosis 70 ppm. Adapun Grafik hubungan dosis ekstrak daun api-api dengan nilai skoring hemoragi disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik Hubungan antara Dosis Ekstrak Kasar *A. marina* dengan Nilai Skoring Hemoragi

Pada Gambar 4 didapatkan persamaan $y = 1,97 - 0,0097x$ dan memiliki nilai koefisien determinasi yakni 0,8751 menunjukkan bahwa dosis yang digunakan berpengaruh terhadap presentase sel hati yang mengalami Hemoragi sebesar 87,51%. Selain itu, juga dapat diketahui hubungan antara dosis ekstrak kasar daun api-api dengan sel hati yang mengalami Hemoragi berbanding terbalik, apabila semakin tinggi dosis maka nilai skoring Hemoragi semakin rendah. Menurut [16], semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka semakin tinggi kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri. Sehingga kemampuan suatu bahan untuk membunuh bakteri semakin besar.

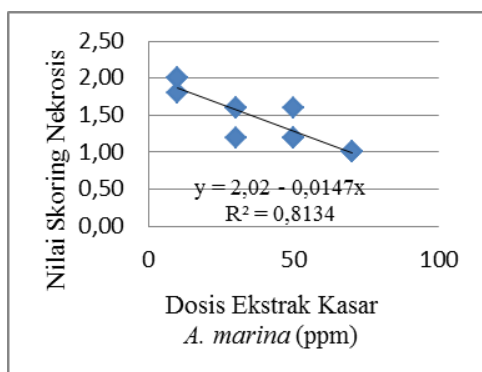
c. Nekrosis

Menurut [17], nekrosis menggambarkan keadaan terjadinya penurunan aktivitas jaringan yang ditandai dengan hilangnya beberapa bagian sel satu demi satu dari satu jaringan sehingga dalam waktu yang tidak lama akan mengalami kematian. Nekrosis biasanya disebabkan karena stimulus (perubahan lingkungan) yang bersifat patologis (penyakit). Kerusakan pada hati ikan seperti nekrosis diduga timbul karena bakteri sudah berkembang di dalam hati. Nekrosis pada sel hati disebabkan oleh aktivitas sitolisis (peristiwa pecahnya sel) yang menyebabkan pengkerutan atau pengecilan ukuran nucleus secara menyeluruh. Adapun hasil rata-rata pada kerusakan kongesti disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Rata-Rata Kerusakan Nekrosis

Perlakuan	Rerata
A (10 ppm)	1,93 ^a
B (30 ppm)	1,47 ^b
C (50 ppm)	1,33 ^{bc}
D (70 ppm)	1,00 ^c

Berdasarkan analisis varian (ANOVA), perlakuan pemberian ekstrak kasar daun api-api memberikan hasil berpengaruh terhadap kerusakan nekrosis jaringan hati. Hasil rata-rata kerusakan nekrosis tertinggi adalah perlakuan A dengan dosis 10 ppm, sedangkan rata-rata kerusakan nekrosis terendah adalah perlakuan D dengan dosis 70 ppm. Grafik hubungan dosis ekstrak daun api-api dengan nilai skoring nekrosis dapat dilihat pada Gambar 5.

**Gambar 5.** Grafik Hubungan antara Dosis Ekstrak Kasar *A. marina* dengan Nilai Skoring Nekrosis.

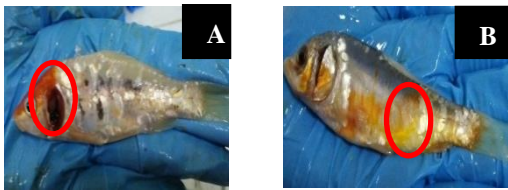
Pada Gambar 5 didapatkan persamaan $y = 2,02 - 0,0147x$ dan memiliki nilai koefisien determinasi yakni 0,8134 menunjukkan bahwa dosis yang digunakan berpengaruh terhadap presentase sel hati yang mengalami nekrosis sebesar 81,34%. Selain itu, juga dapat diketahui hubungan antara dosis ekstrak kasar daun api-api dengan sel hati yang mengalami nekrosis berbanding terbalik, apabila semakin tinggi dosis maka nilai skoring nekrosis semakin rendah.

Hasil uji fitokimia daun *A. marina* mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid dan saponin. Menurut [18], mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu menghambat pertumbuhan dan metabolisme bakteri dengan cara

merusak membran sitoplasma dan mendenaturasi protein sel bakteri. Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel sehingga dapat menyebabkan kematian bakteri. Pada perusakan membran sitoplasma, ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian. Bakteri yang mengalami kematian akan di fagositosis oleh makrofag. Menurut [19], keberadaan antibakteri menjadi faktor penting melalui mekanismenya terhadap bakteri. Tanin memiliki aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan enzim dan mengganggu transport protein pada pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati.

Gejala Klinis pada Ikan Koi (*C. carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *A. Hydrophilla*

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan hasil bahwa pada saat ikan dilakukan perendaman ke dalam toples yang berisi bakteri, ikan terlihat menyendiri di dasar toples dan berenang tidak beraturan. Ikan mengeluarkan lendir yang berlebihan pada permukaan tubuhnya, perut membesar, insang memucat dan sisik mulai mengelupas seperti yang disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Gejala klinis ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi *A. hydrophilla*, (A) Insang Memucat dan (B) Sisik Mengelupas

Menurut [20], ikan yang terserang *A. hydrophilla* menunjukkan tanda-tanda diantaranya kemampuan berenang ikan menjadi lemah, nafasnya megap-megap dan sering muncul di permukaan, kurangnya nafsu makan, warna insang pucat dan rusak, warna tubuh ikan berubah menjadi gelap, kulit ikan mengeluarkan banyak lendir yang diikuti oleh pendarahan yang selanjutnya akan menjadi borok. Untuk melindungi tubuh dari infeksi bakteri, ikan akan mengeluarkan lendir terus-menerus sehingga mengakibatkan metabolisme tubuh meningkat dan pemakaian energi lebih banyak. Akibatnya ikan menjadi cepat lemah dan mudah stres. Keadaan tersebut mempermudah bakteri untuk masuk dan menginfeksi ikan.

Menurut [21], pada beberapa jenis ikan tawar sering ditemukan tanda klinis seperti pembengkakan pada perut dan berisi cairan yang diikuti dengan kematian. Infeksi *A. hydrophilla* menyebabkan penyakit dengan gejala klinis seperti sisik lepas dan rontoknya sirip-sirip ikan yang terinfeksi.

Parameter Kualitas Air

Air merupakan media tempat hidup ikan selama pemeliharaan. Ikan sangat mudah terserang patogen pada lingkungan yang kurang baik. Dalam hal ini yang sangat mempengaruhi adalah kualitas air. Kualitas air merupakan faktor yang harus diperhatikan dalam pemeliharaan ikan. Ikan akan tumbuh optimal apabila parameter kualitas air di tempat hidupnya sesuai dengan kisaran toleransi yang dapat diterima oleh ikan tersebut. Pada saat penelitian, dilakukan pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Adapun hasil kisaran pengukuran kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kisaran Parameter Kualitas Air

No.	Kualitas Air	Kisaran Kualitas Air	Referensi
1	DO (ppm)	5,70-10,90	>5 [22]
2	Suhu ($^{\circ}$ C)	24,50-28,70	20-30 [22]
3	Ph	6,26-8,50	6,50-8,50 [22]

Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*)

Pada hasil penelitian diperoleh hasil kisaran kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) yaitu 60% sampai dengan 100%. Terjadinya kematian pada ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi *A. hydrophilla* disebabkan karena bakteri *A. hydrophilla* merupakan bakteri patogen dan dapat menyebabkan kematian pada ikan. Menurut [23], *A. hydrophilla* termasuk ke dalam kelompok bakteri patogen dengan virulensi yang tinggi. Tingkat virulensi bakteri tersebut ditentukan oleh kemampuan bakteri menghasilkan enzim dan toksin tertentu yang berperan dalam proses invasi dan infeksi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*.
- Dosis terbaik pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) pada penelitian yaitu pada perlakuan D dengan dosis 70 ppm.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* diperoleh hasil perlakuan terbaik dengan dosis 70 ppm, namun belum didapatkan dosis optimal. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian dengan dosis yang lebih tinggi dan

penelitian lanjutan untuk mengetahui dosis yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sukarni, Maftuch, dan H. Nursyam. "Kajian Penggunaan Ciprofloxacin terhadap Histologi Insang dan Hati Ikan Botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*." *J. Exp. Life Sc.*, vol. 2, no. 1, hal 6-12, 2012.
- [2] Nurjannah, R. D. D., S. B. Prayitno dan S. Sarjito. "Pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap profil darah dan kelulushidupan ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*." *Journal of Aquaculture Management and Technology.*, vol. 2, no. 4, hal 1-12, 2013.
- [3] Samsundari, S. "Pengujian ekstrak temulawak dan kunyit terhadap resistensi bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menyerang ikan mas (*C. carpio*)." *Gamma.*, vol. 1, no. 2, hal. 71-83, 2012.
- [4] Karmila, U., S. Karina dan C. Yulvizar. "Ekstrak kunyit *Curcuma domestica* sebagai anti bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan patin *Pangasius sp.*" *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Perikanan dan Kelautan Unsyiah.*, vol. 2, no. 10, hal. 150-157, 2017.
- [5] Anggraini, D., F. H. Taqwa dan Yulisman. "Mortalitas benih ikan koi (*Cyprinus carpio*) pada ketinggian dasar media gabus ampas tebu dan lama waktu pengangkutan yang berbeda." *JPK.*, vol. 19, no. 1. hal. 78-89, 2017.
- [6] Lukistyowati, I dan Kurniasih. 2011. "Kelangsungan hidup ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) yang diberi pakan ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) dan di infeksi *Aeromonas hydrophila*." *Jurnal Perikanan dan Ilmu Kelautan.*, vol. 16, no. 1, hal. 144-160, 2011.
- [7] Kahfi, K. E., K. Fariestha, H. Suprastyani. "Histopatologi hati dan ginjal ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang diberi pakan simplisia kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L)." *Jurnal Perikanan dan Ilmu Kelautan Riau.*, vol 1, no. 1, hal. 1-11, 2016.
- [8] Izzah, N., S. Arsad, A. W. Ekawati. "Pengaruh Penambahan Probiotik dan Minyak Ikan Pada Pakan Terhadap Histopatologi Lambung Ikan Sidat (*Anguilla sp.*)." *Journal of Fisheries and Marine Research.*, vol. 3, no. 1, hal. 81-85, 2019.
- [9] Kusriani, E., S. Cindelas dan A. B. Prasetio. "Pengembangan budidaya ikan hias koi (*C. carpio*) lokal di balai penelitian dan pengembangan budidaya ikan hias Depok." *Media Akuakultur.*, vol. 10, no. 2, hal. 71-78, 2015.
- [10] Aminah, S. B. Prayitno dan Sarjito. "Pengaruh perendaman ekstrak daun ketapang (*Terminalia cattapa*) terhadap kelulushidupan dan histologi hati ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*." *Journal of Aquaculture Management And Technology.*, vol. 3, no. 4, hal. 118-125, 2014.
- [11] Nurjannah, R. D. D., S. B. Prayitno dan S. Sarjito. "Pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap pofik darah dan kelulushidupan ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*." *Journal of Aquaculture Management and Technology.*, vol. 2, no. 4, hal. 1-12, 2013.
- [12] Yuasa, K. N., M. B. Panigoro dan Kholidin. "Panduan Diagnosa Penyakit Ikan Budidaya Air Tawar : Teknik Diagnosa Penyakit Ikan Budidaya Air Tawar di Indonesia." *International Cooperation Agency.* 75 hlm, 2003.
- [13] Handayani, N., S. Wahyuono, T. Hertiani dan R. Murwanti. "Uji aktivitas fagositosis makrofag ekstrak

- etanol daun suji (*Dracaena angustifolia*) secara in vitro.” *Pharmacy Medical Journal.*, vol. 1, no. 1, hal. 26-32, 2018.
- [14] Jamin dan Erlangga. “Pengaruh insektisida golongan organofosfat terhadap benih ikan nila gift (*Oreochromis niloticus*, Bleeker): analisis histologi hati dan insang.” *Acta Aquatica.*, vol. 3, no. 2, hal. 46-53, 2016.
- [15] Salikin, R. Q., Sarjito dan S. B. Prayitno. “Pengaruh perendaman ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap mortalitas dan histologi hati ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas caviae*.” *Journal of Aquaculture Management and Technology.*, vol. 3, no. 3, hal. 43-50, 2014.
- [16] Roslizawaty, N., Y. Ramadani, Fakhurrrazi dan Herrialfian. “Aktivitas antibakterial ekstrak etanol dan rebusan sarang semut (*Myrmecodia* sp.) terhadap bakteri *Escherichia coli*.” *Jurnal Medika Veterinaria.*, vol. 7, no. 2, hal. 91-94, 2013.
- [17] Mandia, S., N. Marusin dan P. Santoso. “Analisis histologis ginjal ikan asang (*Osteochilus hasseltii*) di danau Maninjau dan Singkarak, Sumatera Barat.” *Jurnal Biologi Universitas Airlangga.*, vol. 2, no. 3, hal. 194-200, 2013.
- [18] Setiawan, M. H., S. Mursiti dan E. Kusumo. “Aisolasi dan uji daya antimikroba ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L. Merr).” *Jurnal MIPA.*, vol. 39, no. 2, hal. 128-134, 2016.
- [19] Ngajow, M., J. Abidjulu dan V. S. Kamu. “Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang Matoa (*P. pinnata*) terhadap bakteri *Stapylococcus aureus* secara in vitro.” *Jurnal MIPA Unsrat Online.*, vol. 2, no. 2, hal. 128-132, 2013.
- [20] Khaerani, L, R., S. B. Prayitno dan A. H. C. Haditomo. “Pengaruh perendaman ekstrak blimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) untuk mengobati infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas (*C. carpio*).” *Journal of Aquaculture Management and Technology.*, vol. 7, no. 1, hal. 99-106, 2018.
- [21] Mangunwardoyo, W., M. R. Ismayasari dan E. Riani. “Uji patogentias dan virulensi *Aeromonas hydrophila* Stanier pada ikan nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) melalui postulat koch.” *Jurnal Riset Akakultur.*, vol. 5, no. 2, hal. 245-255, 2010.
- [22] Solichin, A., N. Widyorini dan D. S. M. Wijayanto. “Pengaruh ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) dengan dosis yang berbeda terhadap lepasnya suckers kutu ikan (*Argulus* sp.) pada ikan koi (*Cyprinus carpio*).” *Journal of Management of Aquatic Resources.*, vol. 2, no. 2, hal. 46-53, 2013.
- [23] Yu, H. B., P. S. Rao, H. C. Lee, S. Vilches, S. Merino, J. M. Tomas and K. Y. Leung. “A type III secretion system is required for *Aeromonas hydrophila* AH-1 pathogenesis.” *Infection and Immunity.*, vol. 72, no. 3, hal. 1248-1256, 2004.