

EFEK EKSTRAK KULIT BATANG KELOR (*Moringa oleifera* Lam) PADA STATUS KESEHATAN DAN KELULUSHIDUPAN IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI *Aeromonas hydrophila*

The Effect Immersed Of Moringa Skin Stem (Moringa oleifera Lam) On Health Status Of Common Carp (Cyprinus carpio) Infected by Aeromonas hydrophila

Sarjito, Fifiana Zulaekah, Alfabetian Condro Haditomo, Desrina, Restiana Wisnu Ariyati, dan Slamet Budi Prayitno
Departemen akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof Soedharto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa tengah – 50275, telp/fax.+62247474698
Email: sarjito@live.undip.ac.id

Diserahkan tanggal 30 Juli 2020, Diterima tanggal 24 Agustus 2020

ABSTRAK

Ikan mas banyak dibudidayakan dan memiliki nilai ekonomis penting. Serangan penyakit bercak merah (*Motile Aeromonas Septicemia*) masih merupakan kendala dalam budidaya ikan tersebut. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri genus *Aeromonas*, antara lain *Aeromonas hydrophila*. Untuk mengatasi infeksi bakteri tersebut dimungkinkan untuk menggunakan bahan herbal. Kulit batang kelor merupakan bahan herbal yang berpotensi sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah mengkaji pengaruh ekstrak kulit batang kelor terhadap status kesehatan dan kelulushidupan ikan mas yang diinfeksi *A. hydrophila*. Ikan uji yang digunakan adalah 120 ekor dengan rata-rata bobot $13,58 \pm 2,83$ g dan rata-rata panjang $9,93 \pm 0,72$ cm yang diinfeksi *A. hydrophila* sebanyak 0,1 mL secara *intramuscular* dengan kepadatan bakteri 10^7 CFU/mL. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap 4 perlakuan 3 ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah perendaman ekstrak kulit batang kelor dengan konsentrasi 0 mg/L (perlakuan A), 1000 mg/L (perlakuan B), 2000 mg/L (perlakuan C) dan 3000 mg/L (perlakuan D). Metode perendaman yang digunakan adalah *long bath* selama 2 jam. Perendaman dilakukan setelah gejala klinis dari infeksi *A. hydrophila* muncul. Data status kesehatan yang diamati meliputi kelulushidupan, eritrosit, leukosit dan hematokrit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perendaman ekstrak kulit batang kelor berpengaruh nyata terhadap kelulushidupan, eritrosit, leukosit dan hemoglobin ikan mas ($P < 0,05$), tetapi tidak berpengaruh pada hematokrit ($p > 0,05$). Konsentrasi ekstrak kulit batang kelor 1000 - 3000 mg/L dapat digunakan untuk mengobati ikan mas yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Kelulushidupan tertinggi $83,3 \pm 5,77\%$ dicapai pada perendaman 3000 mg/L. Oleh karena itu perendaman ekstrak kulit batang kelor dengan konsentrasi ini dapat digunakan untuk meningkatkan kelulushidupan ikan mas yang terinfeksi *A. hydrophila*.

Kata kunci: Ikan Mas; kelor; *Aeromonas hydrophila*; kelulushidupan; profil darah

ABSTRACT

Carp is a freshwater fish with high economic value that is commonly cultivated. One of the constraints in the cultivation is disease outbreaks cause by Aeromonas hidrophila. Moringa is a plant that has a potential antibacterial agent. Its skin stem can be used as antibacterial agent for Aeromonas hydrophila. This research was aimed to observe the performance of moringa skin stem extract to infected carps according to their survival rate and blood profile. Randomized experimental design was implemented to 120 fishes with average weight 13.59 ± 2.83 g and treated in 4 treatments and 3 replicates. The moringa skin stem extract were A (0 mg / L), B (1000 mg / L), C (2000 mg / L) and D (3000 mg / L) and immersed for 2 hours. Experimental carps were infected with 0.1 mL A. hidrophila at concentration of 10^7 CFU/mL pour to treatment until appeared clinical sign. The result showed that moringa stem skin extract immersion significantly ($P < 0.05$) improved the survival rate and blood profile, such as leucocytes of experimental carps. The moringa skin stem extract at 1000 mg/L demonstrated the best performance on the survival rate of infected experimental carps ($83,3 \pm 5,77\%$)

Keywords: Carp; moringa; *Aeromonas hydrophila*; survival rate; blood profile

PENDAHULUAN

Produksi ikan mas di Indonesia mengalami peningkatan produksi hingga tahun triwulan I 2020 mencapai 3,685 juta ton ikan mas (KKP, 2020). Untuk itu, penerapan budidaya ikan mas secara intensif perlu dilakukan sebagai upaya memenuhi

permintaan yang terus meningkat. Namun, penerapan teknologi intensif secara kurang tepat dapat menyebabkan kualitas air yang menurun (Sarjito *et al.*, 2019) dan meningkatkan stress pada ikan budidaya, sehingga ikan mudah terserang penyakit (Hardi *et al.*, 2017). Salah satu penyakit yang ditemukan pada ikan mas adalah *motile aeromonas*

septicemia yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* (Kong *et al.*, 2017). Penyakit ini dapat mengakibatkan kematian massal 80-100% dalam waktu 1-2 minggu, sehingga mengakibatkan kerugian secara ekonomi (Zhao *et al.*, 2019). Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengatasi penyakit bakteri pada ikan dengan menggunakan obat-obatan kimia dan herbal (Vallado *et al.*, 2015; Sarjito *et al.*, 2020^a; Zhang *et al.*, 2020). Pemakaian bahan herbal (epibiotik) berupa ekstrak tumbuhan herbal semakin banyak digunakan, karena ramah lingkungan, mudah terurai dan tidak menimbulkan efek resisten terhadap ikan, sehingga cocok digunakan untuk akuakultur ramah lingkungan dan berkelanjutan (Vallado *et al.*, 2015; Hardi *et al.*, 2018; Sarjito *et al.*, 2020^{ab}). Aplikasi pengobatan penyakit pada ikan dengan ekstrak bahan herbal dapat dilakukan cara perendaman maupun penambahan pada pakan (Gbadamosi, *et al.*, 2016; Sarjito *et al.*, 2020^a).

Penelitian tentang bahan herbal yang digunakan sebagai bahan obat dalam budidaya ikan telah banyak dilakukan, antara lain tumbuhan kelor (Adelakun *et al.*, 2017; Tekle *et al.*, 2015, Gbadamosi *et al.* 2016). Tumbuhan ini hampir setiap bagiannya dapat dimanfaatkan sebagai obat (Sayeed *et al.*, 2012). Ekstrak etanol kulit batang kelor memiliki kandungan bahan aktif yang tinggi (Tekle *et al.*, 2015). Oleh karena itu, ekstrak ini dapat digunakan sebagai bahan alternatif lain untuk mengobati penyakit bercak merah yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Menurut Ikalinus *et al.* (2015), ekstrak etanol kulit batang kelor mengandung senyawa steroid, flavonoid, alkaloid, fenolat, dan tanin. Tanin berperan sebagai pendenaturasi protein serta mencegah proses pencernaan bakteri, sedangkan flavonoid berfungsi sebagai antimikroba dan antivirus (Sayeed *et al.*, 2012; Leone *et al.*, 2015). Berdasarkan potensi sebagai anti bakteri dan penyebaran dari tanaman ini, maka perlu dilakukan penelitian tentang potensi pemanfaatan bagian tanaman kelor, antara lain kulit batangnya, untuk pengobatan penyakit bakteri pada ikan. Untuk itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh perendaman ekstrak kulit batang kelor terhadap kelulushidupan dan status kesehatan ikan mas yang diinfeksi *A. hydrophila*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan dan UPT Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro, Semarang.

METODE PENELITIAN

Ikan uji yang digunakan adalah ikan mas dengan rata-rata bobot $13,59 \pm 2,83$ g dengan panjang $9,94 \pm 0,73$ cm sebanyak 120 ekor. Ikan uji dipelihara dalam 12 akuarium (ukuran $40 \times 30 \times 40$ cm³) dengan padat tebar 1 ekor/L atau 10 ekor/akuarium. Wadah uji dilengkapi dengan sistem aerasi. Isolat murni *A. hydrophila* diperoleh dari Badan Karantina Ikan dan Pengendalian Mutu (BKIPM) Yogyakarta. Media kultur bakteri yang digunakan adalah TSA (*Trypticase Soy Agar*) dan GSP (*Glutamate Strach Phenile*) sebagai media padat serta TSB (*Trypticase Soy Broth*) sebagai media cair. Bahan uji yang digunakan ialah ekstrak kulit batang kulit batang diperoleh dari kabupaten Boyolali.

Metode penelitian yang diaplikasikan adalah eksperimental dengan rancangan acak lengkap (4 perlakuan dan 3 ulangan). Perlakuan berupa perendaman ekstrak kulit batang kelor dengan konsentrasi yang berbeda. Uji fitokimia

dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak kulit batang kelor (*M. oleifera* Lam) dengan mengacu metoda Harborne (1987) dan Ikalinus *et al.* (2015).

Uji *in vitro* juga dilaksanakan untuk menentukan konsentrasi ekstrak kulit batang kelor yang dapat menghambat pertumbuhan *A. hydrophila*. Uji *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode cakram yaitu bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^8 CFU/mL diambil sebanyak 0,1 mL, kemudian ditanam pada media TSA dengan metoda *spread*. Paper disk yang telah direndam selama 1 jam dalam ekstrak kulit batang pohon kelor dengan konsentrasi 0 mg/L; 250 mg/L; 500 mg/L; 1.000 mg/L; 2000 mg/L; 3000 mg/L dan 4000 mg/L, kemudian diletakkan di atas media TSA yang telah ditanam bakteri. Selanjutnya *plate* media diinkubasi pada suhu 32°C selama 24-48 jam dan dilakukan perhitungan diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,01 mm (Al-Mutairi *et al.*, 2016). Berdasarkan uji *invitro*, diperoleh bahwa dosis perlakuan penelitian *in vivo* adalah 0 mg/L, 1000 mg/L, 2000 mg/L dan 3000 mg/L. Uji *in vivo* dilakukan dengan menginjeksikan 0,1 mL dengan kepadatan 10^7 CFU/mL *A. hydrophila* pada ikan uji secara *intramuscular*

Metode kultur bakteri ini mengacu pada Sarjito (2010). Inokulasi isolat murni *A. hydrophila* dari media TSA miring ke dalam media cair TSB, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex* dan diinkubasi selama 24 jam pada *water bath shaker*. Kemudian bakteri dipanen dengan mensentrifuge, sehingga dapat diperoleh supernatant. Supernatant dicuci dengan PBS tiga kali, maka diperoleh konsentrat bakteri. Konsentrat bakteri tersebut kemudian dilarutkan dengan *aguabides*, kemudian konsentrasi bakteri diukur dengan *spectrophotometer*. Satu ml konsentrat bakteri, kemudian diencerkan menggunakan *aguabides* sebanyak 9 mL, begitu seterusnya. Pengenceran dilakukan hingga dicapai kepadatan bakteri 10^6 CFU/mL. Untuk meningkatkan virulensi bakteri, maka pada penelitian ini dilakukan pasase sebanyak tiga kali. Pasase dilakukan dengan menginjeksikan sebanyak 0.1 mL dengan kepadatan 10^6 CFU/mL pada bagian *intramuscular* pada lima ekor ikan uji. Selanjutnya, kelima ekor ikan tersebut diamati selama tiga hari, jika ikan belum menunjukkan gejala klinis, maka dilakukan isolasi dari ginjal dan luka dengan media GSP. Koloni bakteri *A. hydrophila* yang tumbuh pada media GSP, kemudian dikultur pada media TSA untuk memperoleh isolat murni dari bakteri tersebut. Selanjutnya, bakteri dikultur kembali pada media TSB, setelah 24 jam dilakukan proses pasase kembali ke ikan hingga ikan menunjukkan gejala klinis terserang *A. hydrophila*.

Pembuatan ekstrak kulit batang kelor mengacu pada metoda dari Ikalinus *et al.* (2015). Kulit batang kelor dibersihkan dengan air bersih, kemudian ditiriskan dan dikeringkan. Sebelum dikeringkan, kulit batang diiris tipis-tipis terlebih dahulu. Kulit batang kulit batang kelor dan yang telah kering, masing-masing dihaluskan dan ditimbang. Selanjutnya, dilakukan proses maserasi untuk memperoleh ekstrak. Maserasi dilakukan dengan mencampurkan bahan – bahan tersebut dengan etanol 96% dalam *Erlenmeyer* memakai perbandingan 1:5 untuk kulit batang kulit batang kelor, kemudian didiamkan selama 24 jam. Selanjutnya, larutan disaring menggunakan kertas saring untuk memperoleh larutan

ekstrak (Kaleo *et al.*, 2019). Larutan ekstrak kemudian dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk memisahkan ekstrak dengan pelarutnya pada suhu 50°C dengan kecepatan 120 rpm, sehingga diperoleh ekstrak tanpa pelarut yang berbentuk pasta (Kavitha *et al.*, 2017). Ekstrak berupa pasta tersebut kemudian diencerkan menggunakan aquades sesuai dengan konsentrasi perlakuan.

Ikan uji yang digunakan adalah ikan yang sehat, yaitu berenang normal dan tidak cacat. Setiap akuarium berisi ikan uji sebanyak 10 ekor. Ikan diberi pakan sebanyak 3% bobot biomassa per hari sebanyak 3 kali yaitu pukul 08.00, 13.00 dan 17.00 WIB. Perlakuan, berupa perendaman ekstrak batang kelor dilakukan setelah ikan uji gejala klinis terdeteksi yaitu dengan perendaman berbagai konsentrasi ekstrak kulit batang kelor yang berbeda (0 mg/L, 1000 mg/L, 2000 mg/L dan 3000 mg/L) selama 2 jam tanpa pergantian air. Pengamatan ikan mas paska perendaman dilakukan selama 14 hari.

Parameter yang diamati meliputi gejala klinis, total leukosit, total eritrosit, hematokrit dan hemoglobin, tingkat kelulushidupan dan kualitas air. Pengamatan gejala klinis dilakukan setiap hari setelah dilakukan uji infeksi bakteri. Gejala klinis diamati secara visual meliputi respon perendaman tingkah laku dan morfologi ikan uji. Sedangkan pengukuran status kesehatan melalui profil darah (total leukosit, total eritrosit, hematokrit dan hemoglobin) dilakukan sebanyak 4 kali selama penelitian, yaitu sebelum infeksi (H0), setelah muncul gejala klinis (H-2), proses penyembuhan mulai terjadi (H-6), dan ikan telah sembuh (H-16).

Pengambilan darah dilakukan pada bagian dorsal ikan menggunakan spuit suntik 1 ml yang telah dibilas dengan EDTA 10% sebagai anti koagulan darah. Darah ikan yang telah diambil dimasukkan kedalam tabung *Eppendorf*. Selanjutnya, darah tersebut digunakan untuk pengamatan dan penghitungan total eritrosit, total leukosit, kadar hemoglobin dan hemtokrit sebagai parameter kesehatan ikan berdasarkan metoda Yustiati *et al.* (2019). Parameter kualitas air yang diukur, meliputi kadar oksigen terlarut (DO), tingkat keasaman air (pH) dan temperature dilakukan setiap tujuh hari sekali.

Data berupa total leukosit, total eritrosit, hematokrit, hemoglobin, kelulushidupan dengan analisis statistik dengan ANOVA, sedangkan gejala klinis dan kualitas air (DO, pH dan suhu) dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil uji fitokimia ekstrak kulit batang kelor (*M. oleifera* Lam) memiliki senyawa bahan aktif berupa saponin, tanin, terpenoid, alkaloid, dan flavonoid (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Batang Kelor (*M. oleifera* Lam)

No	Senyawa	Keterangan	Hasil
1	Saponin	Berbusa	Positif
2	Tanin	Biru Hitam	Positif
3	Terpenoid	Hijau	Positif
4	Alkaloid	Kuning Keruh	Positif
5	Flavonoid	Dua lapisan merah	Positif

Hasil uji *in vivo* menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang kelor (*M. oleifera* Lam) mampu menghambat pertumbuhan *A. hydrophila* (Tabel 2).

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Ekstrak Kulit Batang Kelor (*M. oleifera* Lam)

Konsentrasi ekstrak (mg/L)	Ulangan (mm)				Rerata (mm)
	1	2	3	4	
0	0	0	0	0	0
250	2,5	3,0	2,3	3,4	2,80 ± 0,49
500	5,0	6,1	4,7	4,1	4,97 ± 0,84
1000	7,4	7,6	7,1	8,9	7,75 ± 0,69
2000	10,5	8,3	8,4	9,1	9,08 ± 0,88
3000	11,35	11,5	12,7	11,6	11,79 ± 0,53
4000	8,1	8,8	7,8	8,6	8,3 ± 0,39

Tabel 2 memperlihatkan bahwa zona hambat ekstrak kulit batang kelor (*M. oleifera* Lam) paling tinggi ditunjukkan pada konsentrasi ekstrak 3000 mg/L (11,79 ± 0,53 mm), kemudian konsentrasi 2000 mg/L (9,08 ± 0,88 mm), 4000 mg/L (8,3 ± 0,39 mm), 1000 mg/L (7,75 ± 0,69 mm), 5000 mg/L (4,97 ± 0,84 mm) dan terendah pada konsentrasi 250 mg/L dengan zona hambat 2,80 ± 0,49 mm. Hasil ini memperlihatkan bahwa konsentrasi 3000 mg/L merupakan konsentrasi dengan zona hambat yang paling kuat dengan diameter yang terbentuk ≥ 10 mm.

Gejala Klinis

Gejala klinis yang ditunjukkan ikan mas setelah diinfeksi *A. hydrophila* berupa perubahan tingkah laku dan morfologi ikan. Perubahan tingkah laku yang terdeteksi pada ikan uji adalah berenang pasif dan respon terhadap pakan menurun. Ikan berenang pasif terlihat pada hari ke-1, (jam ke-9 paska infeksi), respon terhadap pakan mulai lambat pada hari ke-2 (jam ke 48, paska infeksi) dan sebagian ikan uji terlihat menggerombol di dasar akuarium pada hari ke-2 sampai dengan hari ke-6. Paska perendaman ekstrak kulit batang kelor, tingkah laku ikan uji mulai mengarah ke normal (ikan berenang normal dan mulai ada respon terhadap pakan), kecuali pada perlakuan A (0 mg/L) ikan uji masih tidak merespon pakan hingga 96 jam paska infeksi *A. hydrophila*. Sedangkan, pada perlakuan D (3000 mg/L), C (2000 mg/L) dan B (1000 mg/L), mulai hari ke-6 paska perendaman ikan uji mulai berenang normal dan respon terhadap pakan kembali normal.

Perubahan morfologi ikan uji yang terdeteksi adalah ikan uji memucat, bengkak memerah pada bekas suntikan (Gambar 1a) terlihat mulai hari ke-1 paska infeksi pada semua perlakuan, sedangkan luka/borok (Gambar 1b) dan ekor geripis terdeteksi pada hari ke-2 hingga hari ke-3 paska infeksi, dan ulcer (Gambar 1c) pada hari ke-4 hingga hari ke-7 paska infeksi bakteri. Gejala klinis tersebut mulai terdeteksi sehari paska infeksi (H-2) pada semua perlakuan. Gejala klinis berupa bengkak pada bekas suntikan terdeteksi setelah 10 jam, dan setelah 19 jam paska infeksi bekas suntikan terjadi peradangan. Setelah 30 jam infeksi bakteri peradangan mulai muncul nanah dan 36 jam paska infeksi ekor ikan uji terlihat mulai geripis. Oleh karena itu, pada hari kedua paska infeksi, saat gejala klinis ikan terserang *A. hydrophila* telah terdeteksi, maka dilakukan perendaman pada ikan uji dengan ekstrak kulit batang kelor selama 2 jam dengan dosis 0 mg/L pada perlakuan A, 1000 mg/L pada perlakuan B, 2000 mg/L perlakuan C dan 3000 mg/L pada perlakuan D. Tiga hari setelah dilakukan perendaman ekstrak kulit kelor, walaupun pada ikan uji masih

ditemukan nanah pada bekas suntikan yang pecah dan timbul luka atau borok (Gambar 2a), namun luka mulai mengecil (Gambar 2b) dan akhirnya menutup (Gambar 2c). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi ikan mas yang diinfeksi *A. hydrophila* semakin membaik setelah dilakukan perendaman dengan ekstrak kulit batang kelor selama 2 jam. Pada perlakuan C dan D luka lebih cepat pulih dibandingkan dengan perlakuan A dan B. Hari ke-6 paska perendaman luka pada perlakuan C dan D sudah mulai menutup. Sedangkan, pada perlakuan A dan B luka baru mulai menutup pada hari ke-10 paska perendaman. Hari ke-13 perlakuan C dan D sudah tidak ditemukan lagi adanya kelainan.

Status kesehatan

Status kesehatan ikan mas berdasarkan profil darah (total eritrosit, total leukosit, hematokrit, dan hemoglobin) pada ikan sehat (hari ke-0), gejala klinis terdeteksi dan dilakukan perendaman (hari ke 2) dan proses pemulihan terdeteksi (hari ke-6) dan ikan sembuh (hari ke-16) tersaji pada Gambar 3. Gambar 3. memperlihatkan bahwa rerata total leukosit mengalami peningkatan pada hari ke-2 pada semua perlakuan dan mengalami penurunan pada hari ke-6 pada perlakuan B, C dan D, sedangkan pada perlakuan A masih terus mengalami kenaikan hingga hari ke-6. Pada penelitian ini juga terdeteksi bahwa rerata total eritrosit, hematokrit dan hemoglobin mengalami penurunan pada hari ke-2, kemudian ada kecenderungan naik untuk proses pemulihan pada hari ke-6

pada perlakuan B, C dan D. Hasil ini juga diperoleh bahwa tanpa pemberian ekstrak batang kulit kelor (perlakuan A) semua parameter status kesehatan (eritrosit, hemoglobin, dan hematokrit), walaupun menunjukkan adanya indikasi perbaikan atau recovery (Gambar 3a, 3b,3c, dan 3d), tetapi waktunya lebih lama yaitu pada hari ke 10, serta semua parameter tersebut tidak kembali mendekati ke nilai awal (hari ke-0). Hasil analisis statistik dengan ANOVA juga diperoleh bahwa perendaman ekstrak kulit batang dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap total leukosit, total eritrosit dan hemoglobin, namun tidak berpengaruh nyata ($p>0,05$) terhadap hematokrit ikan uji paska infeksi (hari ke-2) dan paska perendaman (hari ke-6 dan ke-16).

Kelulushidupan

Kelulushidupan ikan selama penelitian disajikan pada Gambar 4. Gambar 4 memperlihatkan bahwa kelulushidupan tertinggi diperoleh pada perlakuan D ($83,3\pm 5,77\%$) dan terendah pada perlakuan A ($36,7\pm 5,77\%$). Hasil analisis statistik dengan ANOVA diperoleh bahwa perendaman ekstrak kulit batang pohon kelor dengan dosis berbeda berpengaruh nyata terhadap kelulushidupan ikan mas yang diinfeksi *A. hydrophila* ($p<0,05$).

Kualitas Air

Kualitas air selama penelitian (Tabel 3) adalah layak untuk pemeliharaan mas



Gambar 1. Gejala Klinis Ikan Mas Setelah Infeksi Bakteri *A. hydrophila*
 Keterangan : a) Bengkak, b) Luka dan sirip geripis; c) Ulcer

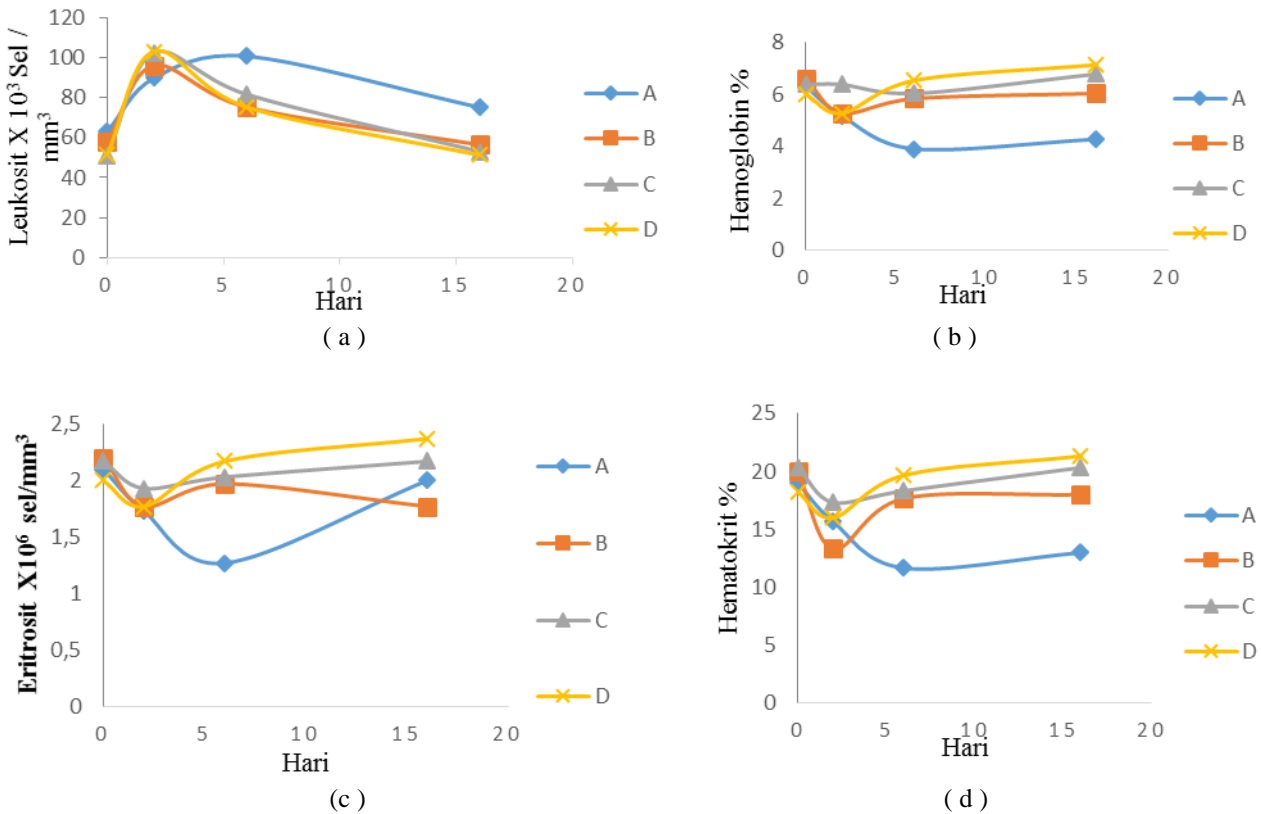


Gambar 2. Perubahan Morfologi Ikan Ikan Mas Ekstrak Kulit Batang Kelor
 Keterangan : a). Luka /borok; b). Luka mulai mengecil; c). Luka mulai menutup.

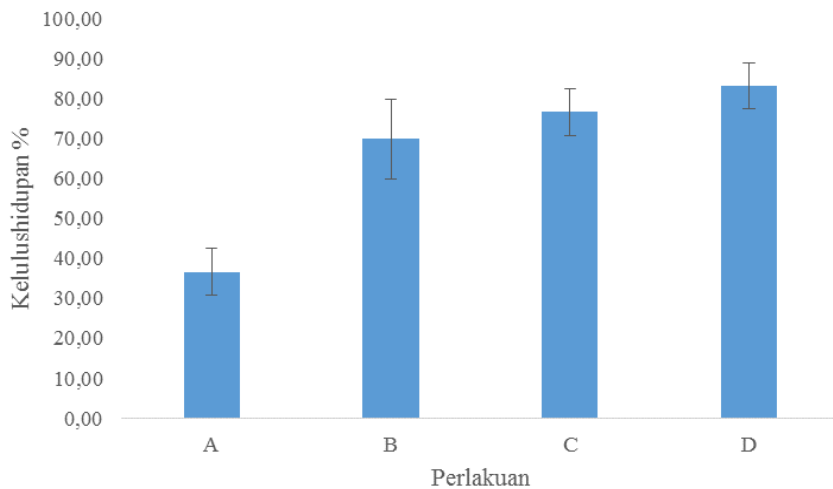
Tabel 3. Kisaran Parameter Kualitas Air Media Pemeliharaan Ikan Mas (*C. carpio*) Selama Penelitian

Parameter	Perlakuan				Kisaran Optimum
	A	B	C	D	
DO (mg/l)	3,64 – 4,01	3,72 – 3,96	3,09 – 3,82	3,63 – 3,76	$\geq 5^{a,b}$
Suhu (°C)	25,5 – 26,4	25,4 – 26,3	25,1– 26,7	25,4– 26,2	25 – 30 ^{ab}
pH	7,77 – 8,02	7,84 – 8,09	7,90–8,06	7,96 – 8,08	6,5 – 8,5 ^a

Keterangan : (a) SNI : 01- 6131 – 1999; (b) Sahite *et al.* (2020)



Gambar 3. Grafik Profil Darah Ikan Mas Selama Penelitian
 Keterangan : (a) Total Leukosit; (b) Total Eritrosit; (c) Hematokrit; (d) Hemoglobin



Gambar 4. Diagram Kelulushidupan Ikan Mas Pasca Perendaman Ekstrak Kulit Batang Kelor

Keterangan: Perlakuan A (konsentrasi ekstrak kulit batang kelor 0 mg/L); Perlakuan B (konsentrasi ekstrak kulit batang kelor 1000 mg/L); Perlakuan C (konsentrasi ekstrak kulit batang kelor 2000 mg/L); Perlakuan D (konsentrasi ekstrak kulit batang kelor 3000 mg/L)

Pembahasan

Berdasarkan hasil uji fitokimia didapatkan bahwa kandungan senyawa aktif dalam ekstrak kulit batang kelor adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan terpenoid (Tabel 1). Hasil skrining fitokimia sama dengan penelitian sebelumnya oleh Ikalinus *et al.* (2015) bahwa kulit batang kelor mengandung senyawa steroid, flavonoid, alkaloid, fenolat, dan tanin. Senyawa tersebut dapat dimanfaatkan

sebagai anti bakteri (Tekle *et al.*, 2015; Leone *et al.*, 2015). Hal ini juga dibuktikan dengan kemampuan zone hambat yang pada uji in vivo berkisar antara 5 - 20 mm (Tabel 2.) atau masuk dalam katagori sedang sampai kuat.

Gejala klinis berupa bengkak memerah pada bekas suntikan (Gambar 1a), terlihat mulai hari ke-1 paska infeksi pada semua perlakuan, sedangkan luka/borok (Gambar 1b) terdeteksi pada hari ke-2 hingga hari ke-3 paska infeksi, dan

ulcer (Gambar 1c) pada hari ke-4 hingga hari ke-7 paska infeksi serta warna pucat pada tubuh ikan. Gejala klinis tersebut pernah dilaporkan oleh Kavitha *et al.* (2017). Adanya abses pada bekas suntikan, lesi pada kulit, hemorragi dan borok ikan uji paska infeksi berkaitan dengan enzim proteolitik, aerolysin dan haemolysin yang dimiliki oleh *A. hydrophila* (Stratev dan Odeyemi, 2016; Kong *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2019). Pada perlakuan, luka abses pada bekas suntikan mulai terdeteksi pada hari ke-2 hingga hari ke-5 paska infeksi. Selanjutnya pada hari ke-6, ikan pada perlakuan B, C dan D sudah terlihat proses penyembuhan, akan tetapi belum terjadi pada perlakuan A. Hal ini menunjukkan bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak kulit batang kelor mampu menghambat pertumbuhan dan mematikan bakteri, sehingga terjadi pemulihan luka pada ikan uji. Perubahan tingkah laku ikan uji setelah infeksi *A. hydrophila* adalah ikan berenang pasif dan respon terhadap pakan lambat dan bergerombol di dasar akuarium. Gejala klinis ini juga pernah dilaporkan oleh Zhao *et al.* (2019) pada ikan yang terserang bakteri *A. hydrophila*. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa tingkah laku ikan uji berangsur-angsur ke arah normal pada hari ke-6 paska perendaman ekstrak kulit batang kelor dilakukan.

Nilai rerata total leukosit ikan ikan mas selama penelitian berkisar antara $5,08 - 6,31 \times 10^4$ sel/mm³ pada awal penelitian (hari ke-0), $8,98-10,32 \times 10^4$ sel/mm³ paska injeksi (hari ke-2), dan $7,52 -10,08 \times 10^4$ sel/mm pada hari ke -6, $5,13 -7,52 \times 10^4$ sel/mm³. Hasil pengukuran pada hari ke-0, 2 dan hari ke-16 (Gambar 3a) menunjukkan total leukosit masih dalam kisaran normal, menurut Ayoub *et al.* (2019), ikan yang sehat memiliki total leukosit $2-15 \times 10^4$ sel/mm³. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fenol, flavonoid, terpenoid, saponin dan alkanoid dalam ekstrak kulit batang kelor berperan sebagai bakteriosida dengan baik, sehingga perendaman yang dilakukan mampu menghambat dan membunuh bakteri *Aeromonas* yang menginfeksi ikan uji (Eltran *et al.*, 2020). Hal ini akan berpengaruh pula pada produksi leukosit sebagai respon terhadap adanya infeksi dari *A. hydrophila*. Produksi leukosit akan meningkat ketika terjadi infeksi untuk menghambat dan melawan infeksi bakteri patogen yang masuk dalam tubuh melalui fagositosis (Rosidah *et al.*, 2019, Sarjito *et al.*, 2020^{a,b}; Zhang *et al.*, 2020). Rerata total leukosit pada perlakuan A masih pada nilai $7,52 - 10,08 \times 10^4$ sel/mm³ pada hari ke 6 dan akhir penelitian, sedangkan pada perlakuan lainnya sudah kembali ke nilai awal ($5,13-6,15 \times 10^4$ sel/mm³). Hasil penelitian ini juga diperoleh bahwa perendaman dengan ekstrak kulit batang pohon kelor mampu mempersingkat kerja waktu dalam melawan *A. hydrophilla* dalam tubuh ikan uji.

Hasil pengukuran nilai eritrosit, hematokrit dan hemoglobin berbanding terbalik dengan leukosit. Eritrosit, hematokrit dan hemoglobin mengalami penurunan pada hari ke-2 dari hari ke-0, kemudian meningkat lagi pada hari ke 5 (Gambar 3a, 3b dan 3c), namun masih dalam kisaran normal. Hasil pengukuran total eritrosit, hematokrit dan hemoglobin pada hari ke-2 berturut-turut, $1,73-1,93 \times 10^6$ sel/mm³, 13,33-16,00% dan 4,20 - 5,27 g% dan untuk kisaran normal ketiga parameter tersebut adalah $1,5-2,9 \times 10^6$ sel/mm³ (Tiamiyu *et al.*, 2019), 30,8-45,5% (Rahmaningsih *et al.*, 2018) dan 4,2-8,4 g% (Akinrotimi *et al.*, 2011). Bakteri ini mengeluarkan hemolysin yang dapat melisis eritrosit dan membebaskan

hemoglobin darah, sehingga terjadi penurunan total eritrosit dan hemoglobin pada hari tersebut (Sarjito *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2019; Sarjito *et al.*, 2020^{a,b}). *A. hydrophila* mengeluarkan enzim-enzim yang bersifat toksik seperti hemolisin yang larut dalam darah, sehingga melisis eritrosit dan membebaskan hemoglobin sehingga darah banyak keluar dan menyebabkan hemorraghi (Zhao *et al.*, 2019). Selanjutnya, penurunan jumlah eritrosit dapat juga diakibatkan oleh aktivitas hemolitik dari bakteri (Stratev *et al.*, 2015; Kong *et al.*, 2017 ; Eltran *et al.*, 2020). *A. hydrophila* juga menghasilkan enzim aerolysin dan haemolysin (Muslikha *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2019). Enzim tersebut dapat menyebabkan sel darah membengkak dan kemudian proses kematian pada sel darah merah (Kavitha *et al.*, 2017; Hardi *et al.*, 2018^b; Elabd *et al.*, 2019). Selanjutnya, pembengkakan eritrosit akan mengganggu mobilisasi hemoglobin dari limpa ke organ hematopoietic lainnya sehingga mengakibatkan nilai hemoglobin menurun (Abd Allah *et al.*, 2019). Walaupun demikian, hasil pengukuran eritrosit selama penelitian menunjukkan bahwa total eritrosit masih dalam keadaan normal. Nilai eritrosit masih dalam keadaan normal pada ikan yang terinfeksi menunjukkan bahwa bahan aktif dari kulit kelor mampu menghambat kinerja bakteri (Hammed *et al.*, 2015, Leone *et al.*, 2015, Rosidah *et al.*, 2019), sehingga ikan uji mampu memproduksi eritrosit untuk menggantikan lisis eritrosit akibat infeksi bakteri (Sabzi *et al.* 2017). Hasil analisis statistik dengan ANOVA menunjukkan bahwa perendaman ekstrak kulit batang kulit dengan konsentrasi yang berbeda selama 2 jam berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap total leukosit, total eritrosit dan hemoglobin, namun tidak berpengaruh nyata ($p>0,05$) terhadap hematokrit ($p>0,05$). Hasil penelitian ini sama dengan penelitian Mbokane dan Ngonidzashe (2018) dan Abd El-Gawad *et al.* (2020). Selanjutnya, penurunan hematokrit terjadi seiring dengan menurunnya jumlah eritrosit dalam darah (Saparuddin., 2018; Sarjito *et al.*, 2020^b). Nilai hematokrit darah dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti eritrosit (jumlah, ukuran dan bentuk), lingkungan, jenis kelamin, spesies dan stadia ikan (Rosidah *et al.*, 2018; Setiyowati *et al.*, 2019). Ikan yang terinfeksi akan menjadi lemah dan tidak nafsu makan sehingga laju metabolisme tubuhnya menurun dan energi yang dihasilkan rendah disebabkan oleh kadar hemoglobin yang rendah (Lusiastuti dan Hardi, 2018).

Hasil penelitian diperoleh bahwa perendaman ekstrak kulit batang pohon kelor dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap kelulushidupan ikan mas ($p<0,05$). Kelulushidupan tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan D ($83,3\pm 5,77$ %), diikuti oleh perlakuan C ($76,7\pm 5,77$ %), perlakuan B ($70,0\pm 10$ %), dan kelulushidupan terendah pada perlakuan A, yaitu $36,7\pm 5,77$ %. Nilai tersebut menunjukkan adanya perbedaan nyata antar perlakuan A dengan B, C dan D. Perbedaan tersebut dikarenakan pada perlakuan B dan D dilakukan perendaman ekstrak kulit batang pohon kelor dengan konsentrasi yang berbeda, sehingga zat aktif (fenol, flavonoid, terpenoid, saponin dan alkanoid) yang terkandung dalam ekstrak tersebut berkerja membantu tubuh melawan antigen. Bahan aktif yang terkandung ekstrak kulit batang kelor, terutama saponin dan flavonoid berfungsi sebagai anti bakteri (Ikalinus *et al.*, 2015; Gbadamosi *et al.*, 2016; Leona *et al.*, 2015, Eltran *et al.*, 2020). Cara kerja kedua senyawa tersebut

adalah mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri melalui penghambatan permeabilitas dinding sel bakteri, sintesis protein sel bakteri, sintesis asam nukleat sel bakteri, dan metabolisme sel bakteri (Kavitha *et al.*, 2017; Kaleo *et al.*, 2019). Nilai kelulushidupan ikan terendah terjadi pada perlakuan A, diduga karena tidak dilakukannya perendaman ekstrak kulit batang kelor, sehingga tidak ada bahan aktif yang menghambat pertumbuhan dari bakteri yang diinfeksi. Oleh karena itu, perendaman ekstrak kulit pohon kelor mampu meningkatkan kelulushidupan ikan mas yang diinfeksi sampai dengan $83,3 \pm 5,77\%$ (perlakuan D). Hasil ini lebih tinggi dibandingkan *Clarias gariepinus* ($80,0 \pm 5,00\%$) yang diberi pakan dengan *Moringa oleifera* (Rosidah, 2019) Selama penelitian, kualitas air media pemeliharaan masih dalam kisaran optimum untuk kehidupan ikan mas (Badan Standardisasi Nasional, 1999, Sihite *et al.*, 2020).

KESIMPULAN

Perendaman ekstrak kulit batang kelor mampu menstimulasi proses pemulihan ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi *A. hydrophila*. Perendaman ekstrak kulit batang kelor memberikan pengaruh nyata ($p < 0.05$) terhadap status kesehatan berdasarkan pada total leukosit, total eritrosit hemoglobin dan tingkat kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) paska injeksi *A. hydrophila* pada hari ke-2, ke-6 dan ke-16 dan tetapi tidak pada hematokritnya. Konsentrasi terbaik untuk mengatasi infeksi *A. hydrophila* pada *C. carpio* adalah 3.000 mg/L ekstrak kulit batang kelor dengan kelulushidupan mencapai $83,3 \pm 5,77\%$

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sebagian didanai dari Hibah Penelitian Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro 2018. Untuk itu, disampaikan kepada Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro, Ketua Laboratorium Terpadu dan laboratorium Departemen Akuakultur yang telah memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd Allah, Q.A., S.M. Aly, H.G.A. El-Rahman, F.M.A. Youssef dan F.K. Ahmed. 2019. Effect of some Immunostimulants on Clinicopathological Findings of African Catfish *Clarias gariepinus* Infected with Motile Aeromonas Septicemia. *Ec Veterinary Science*. 4(7): 498-510.
- Abd El-Gawad, E., A.El Asely, A.M., Soror, E.I., Abbas, A.A., and Austin, B., 2020. Effect of Dietary *Moringa oleifera* Leaf on The Immune Response and Control of *Aeromonas hydrophila* Infection in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. *Aquaculture International*., 28: 389–402(2020). <https://link.springer.com/article/10.1007/s10499-019-00469-0>
- Adelakun KM, Ibrahim AO, Ogialekhe P, Oyelowo OJ, Okunloye AD, 2017. Piscicidal Effect of *Moringa oleifera* LAM., 1785 (Drustick) on *Clarias gariepinus* (African Catfish) Juvenile. *J Environ Anal Toxicol* 7: 512. DOI: [10.4172/2161-0525.1000512](https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000512)
- Akinrotimi, O.A., D.O. Bekibele dan O.O. Orokotan. 2011. Select Hematological Values of the African Catfish (*Clarias gariepinus*) Raised in a Water Recirculating Aquaculture System. *International Journal of Recirculating Aquaculture*. 12: 1-12. DOI: <http://doi.org/10.21061/ijra.v12i1.1351>
- Al-Mutairi, M. H., S. Ali., S. M. Aly and Y. Aldebasi. 2016. Antibacterial Activity of Sider (*Ziziphus spina-christi*), Leaves Extract Against Selected Pathogenic Bacteria. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 3(5): 138-144.
- Ayoub, H. F., M. M. E. Tantawy and H. M. R. A. Latief. 2019. Influence of Moringa (*Moringa oleifera*) and Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and Tumeric (*curcuma longa*) in Immune Parameters and Challenge of Nile Tilapia to *Aeromonas hydrophila*. *Life Science Journal*,16(4): 8-15. http://www.lifesciencesite.com/ljs/ljs160419/02_345_69ljs160419_8_15.pdf
- Badan Standardisasi Nasional. 1999. Produksi Induk Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linnaeus) strain Majalaya kelas induk pokok (Parent Stock SNI : 01- 6131 – 1999
- Elabd, H., E. Soror., A. E. Asely., E. A. El-Gawad and A. Abbas. 2019. Dietary Supplementation of *Moringa leaf* Meal for Freshwater Fish: Effect on Growth and Stress Indices. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*. 45: 265-271. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.05.009>
- Eltran, J. M. G., A. T. Mansour., A. S. Alsafuqi., H. M. Ali and M. A. Esteban. 2020. Effects of Aqueous and Ethanolic Leaf Extracts from Drumstick Tree (*Moringa oleifera*) on Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.) Leucocytes, and Their Cytotoxic, Antitumor, Bactericidal and Antioxidant Activities. *Fish and Shellfish Immunology*, 106: 44-55. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.06.054>
- Gbadamosi, O.K., Fasakin A., E. and Adebayo, O.T. 2016. Hepatoprotective and Stress - Reducing Effects of Dietary *Moringa oleifera* extract against *Aeromonas hydrophila* infections and Transportation-Induced Stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1757) Fingerlings. *International Journal of Environmental & Agriculture Research (IJOEAR)* 2 (7) : 121 -128. <https://ijoea.com/Paper-July-2016/IJOEAR-JUL-2016-25.pdf>
- Hammed. A.M., Amosu Af., Awe. Af., and Gbadamosi, F.F. 2015. Effects Of *Moringa Oleifera* Infected Adults African Mud Cat Fish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822). *International Journal Of Current Research* 7 (11) : 22117-22122.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. ITB, Bandung.
- Hardi, E.H., I.W. Kusuma, W. Sueinarti, G. Saptiani, Sumoharjo and A.M. Lusiastuti. 2017. Utilization of Several Herbal Plant Extracts on Nile Tilapia in Preventing *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas* sp. Bacterial Infection. *Nusantara Bioscience*. 9(2): 220-228. DOI <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n090219>
- Hardi, E.H., G. Saptiani, I.W. Kusuma, W. Suwinarti and A. Sudaryono. 2018^a. Inhibition of Fish Bacteria Pathogen in Tilapia Using a Concoction Three of Borneo Plant

- Extracts. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 144: 1-8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/144/1/012015>
- Hardi, E.H., R.A. Nugroho, G. Saptiani, R. Sabrinah, M. Agriandini and M. Mawardi. 2018^b. Identification of Potentially Pathogenic Bacteria from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Channel Catfish (*Clarias batracus*) Culture in Samarinda, East Kalimantan, Indonesia. Biodiversitas. 19(2): 480-488. DOI <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190215>
- Ikalinus. R., S.K. Widyastuti, dan N.L.E. Setiasih. 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). Journal Indonesia Medicus Veterinus 4(1) : 71-79.
- KKP, 2020. <https://kkp.go.id/djpb/artikel/3042-capaian-kinerja-subsektor-perikanan-budidaya-danoutlook-tahun-2018>
- Kaleo, I.V., Q. Gao., B. Liu., C. Sun., Q. Zhou., H. Zhang., F. Shan., Z. Xiong., L. Bo., and C. Song. 2019. Effect of *Moringa oleifera* leaf Extract on Growth Performance, Physiological and Immune Response and Related Immune Gene Expression of Freshwater with *Aeromonas* sp. Fish and Shellfish Immunology, 89: 603-613. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.03.039>
- Kavitha, C., M. Ramesh., S. S.Kumaran.,and S. A. Lakshmi. 2017. The Effect of *Moringa oleifera* Seed Extract on Some Hematological and Biochemical Profiles in a Freshwater Fish, *Cyprinus carpio*. Experimental Pathology, 64: 681-687. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2011.01.001>
- Kong X., Qiao D., Zhao X., Wang L., Zhang J., Liu D., and Zhang H.2017. The Molecular Characterizations of Cu/ZnSOD and MnSOD and its Responses of mRNA Expression and Enzyme Activity to *Aeromonas hydrophila* or Lipopolysaccharide Challenge in Qihe Crucian Carp *Carassius auratus*. Fish Shellfish Immunol. 67: 429-440. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.06.031>
- Leone, A., S. Alberto, B. Alberto, S. Alberto, A. Junior, and B. Simona. 2015. Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Leaves: An Overview. Int. J. Mol. Sci 16 : 12791-12835. doi: [10.3390/ijms160612791](https://doi.org/10.3390/ijms160612791)
- Lusiastuti, A.M. dan E.H. Hardi. 2018. Gambaran Darah sebagai Indikator Kesehatan pada Ikan Air Tawar. Prosiding Seminar Ikan VI. 65-69.
- Mbokane, EM., and Ngonidzashe., 2018. Alterations of Haemato-biochemical Parameters Pre and Post-challenge with *Aeromonas hydrophila* and survival of *Oreochromis mossambicus* Fed *Moringa oleifera*-Based Diets. Fish and Shellfish Immunology, 83 : 213 - 222. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.09.017>
- Muslikha, S. Pujiyanto, S.N. Jannah dan H. Novita. 2016. Isolasi, Karakterisasi *Aeromonas hydrophila* dan Deteksi Gen Penyebab Penyakit Motile *Aeromonas Septicemia* (MAS) dengan 16S rRNA dan *Aerolysin* pada Ikan Lele (*Clarias* sp.). Jurnal Biologi. 5(4): 1-7.
- Rahmaningsih, S., M. Zaenuddin dan A. Sudianto. 2018. Gambaran Hematokrit Darah Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*) yang Diberi Perendaman Serbuk Kulit batang Majapahit (*Crescentia cujete* L.) dan Diinfeksi dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Kelautan dan Perikanan Terapan. 1(2): 63-67. DOI: <http://dx.doi.org/10.15578/jkpt.v1i2.7334>
- Rosidah, A. Rizal, I. Rustikawati and F. Octavia. 2018. The Effect of Differences in Altitude Location of an Aquaculture on Fish's Hematocrit and Fish's Haemoglobin of Carp Fish and Resistance to Bacterial Attack. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 137: 1-9 <https://doi.org/10.1088/1755-1315/137/1/012008>
- Rosidah R., Buwono, I.B, Lili W., Suryadi, I.B., and Triandika, A.R., 2019. The Resistance of Sangkuriang Catfish (*Clarias gariepinus* Burchell 1822) Against *Aeromonas hydrophila* Bacteria Given Moringa Leaf Extracts (*Moringa Oleifera* L.) Through the Feed. Jurnal Ikhtology 19(1) : 97-113 <https://doi.org/10.32491/jii.v19i1.435>
- Sabzi, E., H. Mohammadiarm dan A.P. Salati., 2017. Effect of dietary L-carnitine and lipid levels on growth performance, blood biochemical parameters and antioxidant status in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, 480: 89-93. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.08.013>
- Saparuddin. 2018. Pengaruh Ekstrak Etanol Terhadap Peningkatan Konsentrasi Hemoglobin dan Nilai Hematokrit Ikan Kerapu Tikus. Jurnal Saintifik. 4(1): 39-46. DOI: <https://doi.org/10.31605/saintifik.v4i1.142>
- Sarjito, 2010. Aplikasi Biomolekuler dalam Karakterisasi Agensi Penyebab Penyakit Vibrio dan Potensi Bakteri Sponge Sebagai Pengendali Vibriosis Pada Ikan Kerapu Program Doktor Manajemen Sumberdaya Pantai, Fakultas Paska Sarjana Universitas Diponegoro.
- Sarjito., A. H. C. Haditomo., R. W. Ariyati., A. Sabdaningsih., Desrina and S. B. Prayitno. 2019. Screening of Potential Isolate Candidates Probiotic Against *Aeromonas hydrophila* from Boyolali, Indonesia. IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series 1217: 1-7. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1217/1/012147>
- Sarjito, S., Prayitno, S.B., Rochani, N.Q.S., Haditomo, A.C.H., Amalia, R., dan Desrina., 2020^a. Potensi Epibiotik Campuran Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) dan Temulawak (*Curcuma zanthorrhiza*) Pada Pakan Untuk Mengatasi Infeksi *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Lele (*Clarias gariepinus*). Saintek Perikanan : Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology, 16(1), 51-58. <https://doi.org/10.14710/ijfst.16.1.51-58>
- Sarjito , S B Prayitno , N T Kusuma and Desrina, 2020^b . The Potential of Mixed Epibiotic (Binahong Leaves, *Anredera cordifolia*, and Garlic, *allium sativum*, extracts) as a Feed Additive to Combat *Aeromonas hydrophila* Infection on Catfish (*Clarias gariepinus*) . Journal of Physics: Conference Series 1524 (2020) 012063 IOP Publishing. doi:10.1088/1742-6596/1524/1/012063.
- Sayeed, M.A., M.S. Hossain, M.E.H. Chowdhury, and M. Haque. 2012. . In vitro Antimicrobial Activity of Methanolic Extract of *Moringa oleifera* Lam. Fruits. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.

- 1(8192):94–95.
<https://www.phytojournal.com/archives/2012/vol1issue4/PartA/13.1.pdf>
- Setiyowati, I., H. Suprpto, and G. Mahasri. 2019. The Effects of Mercury Chloride (HgCl₂) on the Change in Hematology and Blood Sugar Level in Carp (*Cyprinus carpio*). IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 236: 1-11.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/236/1/012104>
- Sihite, E.R, Rosmaiti, Putriningtias A., dan Putra AS, A., 2020, Pengaruh Padat Tebar Tinggi Terhadap Kualitas Air Dan Pertumbuhan Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) Dengan Penambahan Nitrobacter. Jurnal Ilmiah Samudra Akuatika Iv(1): 10 -16 .Doi: [10.33059/Jisa.V4i1.2444](https://doi.org/10.33059/Jisa.V4i1.2444)
- Stratev, D., Daskalov H., and I. Vashin, I., 2015. Characterisation and Determination of Antimicrobial Resistance of β -Haemolytic *Aeromonas* spp. Isolated from Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Revue Med. Vet*, 166(2): 54-61
- Stratev D., and Odeyemi O. A. 2016. Antimicrobial resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from different food sources: A mini-review. *J. Infect. Public Health* 9: 535–544. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2015.10.006>
- Tekle, W., N.P. Sahu, and M. Makesh. 2015. Antioxidative and Antimicrobial Activities of Different Solvent Extracts of *Moringa oleifera*: an *in vitro* Evaluation. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 5(5): 1 – 12.
<http://www.ijsrp.org/research-paper-0515.php?rp=P414037>
- Tiamiyu, A.M., Olatoye, I.O. and Addeji O.B. 2019. Blood Indices of African Catfish (*Clarias gariepinus*) Following Dietary Administration of *Talinum triangulare*. *International Journal of Research Granthaalayah*. 7(4): 185-198. DOI: 10.5281/zenodo.2653843
- Vallado, G.M.R., Gallani SU, and Pilarski, F., 2015. Phytotherapy as an Alternative for Treating Fish Disease. *J. Vet. Phar. And Therapeutic* 38(5): 417 – 428.
<https://doi.org/10.1111/jvp.12202>
- Yustiati, A., D. F. Kundari., A. A. H. Suryana, and I. B. B. Suryadi. 2019. Effectiveness of Potassium Diformate Addition to Feed to Improve Immune System of Pangasius (*Pangasianodon hypophthalmus*) that Challenged by *Aeromonas hydrophila*. *World Scientific News*, 134(2): 86-100.
- Zhao, Z.L., Jin, J.H., Di G.L, Li, L., and Kong, Z.H., 2019.. Molecular Characteristics, Pathogenicity and Medication Regimen of *Aeromonas hydrophila* Isolated from Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) *J. Vet. Med. Sci.*, 81(12): 1769–1775. doi: [10.1292/jvms.19-0025](https://doi.org/10.1292/jvms.19-0025)
- Zhang, X.,Z. Sun., J. Cai., J. Wang., G. Wang., Z. Zhu., F. Cao. 2020. Effects of Dietary Fish Meal Replacement by Fermented Moringa (*Moringa oleifera* Lam) Leaves on Growth Performance, Nonspecific Immunity and Disease Resistance Against *Aeromonas hydrophila* in *C. carp*. *Fish and Shellfish Immunology*, 102: 430-439.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.04.051>