



Jurnal Sains Akuakultur Tropis
Departemen Akuakultur
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan – Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang 50275
Telp. (024) 7474698, Fax.: (024) 7474698
Email: sainsakuakulturtropis@gmail.com, sainsakuakulturtropis@undip.ac.id

**PENGARUH PENAMBAHAN NANOKITOSAN EKSTRAK DAUN BIDARA ARAB
(*Ziziphus spina-christi*) DALAM PAKAN TERHADAP GEJALA KLINIS,
ERITROSIT, HEMOGLOBIN, DAN PERTUMBUHAN IKAN PATIN (*Pangasius sp.*)
YANG DIINFEKSI *Aeromonas hydrophila***

Effect of Chitosan Nanoparticle Loaded with Sidr (*Ziziphus spina-christi*) Leaf Extract in the Feed on Clinical Sign, Erythrocyte Count, Hemoglobin, and Growth of Catfish (*Pangasius sp.*) Infected by *Aeromonas hydrophila*.

Annisa Syahida Aulia, Sarjito*, Desrina dan Slamet Budi Prayitno

Departemen Akuakultur, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto S.H., Semarang 50275, Indonesia, telp: +62821 5350 5993,
fax: 0247474698

*Corresponding author: sarjito@lecturer.undip.ac.id

Abstrak

Ikan patin (*Pangasius sp.*) merupakan salah satu ikan ekonomis penting air tawar yang telah dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia. Salah satu jenis bakteri yang menyerang ikan patin adalah *Aeromonas hydrophila*. Bakteri ini menyebabkan terjadinya penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS). Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh dan dosis terbaik penambahan chitosan nanopartikel daun bidara arab (*Z.spina-christi*) terhadap eritrosit, hemoglobin, dan pertumbuhan ikan patin. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu dan Laboratorium Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro pada bulan Desember 2021-Agustus 2022. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 5 perlakuan dan 3 ulangan. Ikan patin yang digunakan berukuran 7-9 cm sebanyak 150 ekor. Perlakuan yang diberikan yaitu penambahan K+ (tetrakisiklin 10 ppm) dalam pakan, serta CNPs daun bidara arab (*Z.spina-christi*) dengan konsentrasi, A (0 ppm), B (450 ppm), C (500 ppm), dan D (550 ppm) selama 14 hari. CNPs daun bidara arab (*Z.spina-christi*) ditambahkan dalam pakan dengan metode *repeletting*. Parameter yang diamati meliputi gejala klinis, total eritrosit, Hb, pertumbuhan bobot mutlak, dan kualitas air. Hasil penelitian menunjukkan bahwa CNPs daun bidara arab (*Z.spina-christi*) pada pakan tidak memberikan pengaruh nyata terhadap eritrosit, Hb, dan pertumbuhan bobot mutlak ikan patin.

Kata kunci: *A. hydrophila*; Chitosan Nanoparticle; *Pangasius sp.*; *Ziziphus spina-christi*

Abstract

Catfish (*Pangasius sp.*) is a freshwater-consumed fish commonly known and cultivated by Indonesian people. One type of bacteria that attacks *Pangasius* is *Aeromonas hydrophila*. This bacterium causes *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) disease. This study examines the effect and the best dose of adding chitosan nanoparticles of Sidr leaves on catfish erythrocytes, hemoglobin, and growth. This research was conducted at the Integrated Laboratory and Aquaculture Department Laboratory, Building C, Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Diponegoro University in December 2021-August 2022. The method used in this study was experimental with Completely Randomized Design (CRD) 5 treatments and 3 replications. 150 catfish used measuring 7-9 cm. The treatment given was the addition of K+ (10 ppm tetracycline), and CNPs loaded with sidr leaves extract to feed with *repeletting* method with concentrations of A (0 ppm), B (450 ppm), C (500 ppm), and D (550 ppm) for 14 days. Parameters observed included clinical sign, total erythrocyte, hemoglobin, absolute weight gain, and

water quality. The results showed that the CNP of Sidr (*Z.spina-christi*) leaves in feed did not have a significant effect on erythrocytes, Hb, and the absolute weight growth of catfish.

Keywords: *A. hydrophila*; Chitosan Nanoparticle; *Pangasius* sp.; *Ziziphus spina-christi*

I. PENDAHULUAN

Ikan patin (*Pangasius* sp.) merupakan salah satu ikan konsumsi air tawar yang umum dikenal dan dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia. Menurut KKP (2022), produksi ikan patin dari tahun 2021 sebanyak 332 ton, naik hampir 2 kali lipat pada tahun 2022, menjadi sebesar 635 ton. Ikan ini digemari karena kandungan nutrisi seperti protein yang tinggi, rasa daging yang gurih dan lezat (Julianda dan Abubakar, 2020). Selain itu, dengan ikan ini tidak bersisik serta duri yang sedikit menjadi kelebihan lain dari ikan patin (Norhasanah *et al.*, 2020).

Salah satu penyakit yang sering menginfeksi dalam budidaya ikan patin (*Pangasius* sp.) adalah *motile aeromonas septicaemia* (MAS) yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila*, *A. punctata*, dan *A. sobria*.. Penyakit ini menyebabkan kematian 80-100% dalam jangka waktu 1-2 minggu (Aisiah *et al.*, 2020). Berdasarkan data KKP (2021), kasus MAS mulai dari kasus yang ringan hingga berat ditemukan di 18 provinsi di Indonesia, jumlah ini terbanyak dibandingkan dengan 13 penyakit ikan lainnya.

Oleh pembudidaya, ikan yang telah terinfeksi ikan patin biasanya diberi antibiotik yang mudah diperoleh seperti terramycin/oxytetracycline melalui pakan, perendaman, maupun injeksi. Akan tetapi, penggunaan antibiotik secara berulang dan tidak sesuai dengan dosis dapat menyebabkan timbulnya resistensi bakteri terhadap antibiotik (Nurlatifah *et al.*, 2022; Sarjito,2023). Upaya yang dapat dilakukan untuk mempercepat proses penyembuhan ikan patin yang terinfeksi *A. hydrophila* selain antibiotik adalah dengan menggunakan ekstrak tumbuhan, salah satunya daun bidara arab. Sarjito *et al.* (2021) menyebutkan bahwa ekstrak daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi*) memiliki fungsi antibakteri dengan mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan steroid. Kandungan-kandungan ini memiliki sifat antibakteri terhadap patogen-patogen yang ada pada akuakultur seperti *A. hydrophila*, *A. sobria*, *Vibrio parahaemolyticus*, *V. harveyii*, dan *V. alginolyticus*. Daun genus *Ziziphus* dapat diberikan dengan cara perendaman ekstrak pada air pemeliharaan (Roopavathy *et al.*, 2020), serta penambahan bubuk daun kering kedalam pakan (El-Asely *et al.*, 2020).

Pembentukan bahan menjadi nanopartikel dapat meningkatkan efektifitas bahan tersebut dalam tubuh ikan dikarenakan ukuran partikel yang lebih kecil sehingga mudah terserap (Abdel-Ghany dan Salem, 2019). Manfaat tersebut dapat lebih efisien lagi dengan memuat CNPs dengan senyawa aktif. Menurut Singh *et al.* (2021), pemuatan CNPs dengan senyawa aktif dapat meningkatkan kestabilan senyawa selama masa penyimpanan dan pelepasan senyawa dalam tubuh. Penelitian yang telah dilakukan oleh El-Sherbeny *et al.* (2022) menunjukkan hasil bahwa CNPs dapat membunuh bakteri *A. hydrophila* dengan cara menempel dan merusak dinding sel bakteri, hingga akhirnya sel mati karena lisis. Abd El-Naby *et al.* (2020) juga menunjukkan bahwa suplementasi pakan ikan dengan senyawa aktif yang dikombinasikan dengan CNPs memperoleh hasil yang lebih baik dibandingkan perlakuan senyawa tersebut saja dan CNPs saja. Maka dari itu dilakukan penelitian ini yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan CNPs daun bidara arab (*Z spina-christi*) pada pakan dan dosis terbaiknya terhadap pertumbuhan, dan profil darah ikan patin (*Pangasius* sp.) yang diinfeksi *A. hydrophila*.

II. MATERI DAN METODE

Materi

Ikan uji yang digunakan pada penelitian ini adaah benih ikan patin yang berasal dari pembudidaya ikan di Kecamatan Mranggen, Demak dengan ukuran $5,71 \pm 0,53$ g. Wadah pemeliharaan dengan akuarium berukuran 40x30x30 cm dengan aerasi. Bahan tanaman menggunakan bubuk daun bidara arab (*Z spina-christi*) yang berasal dari Surakarta, Jawa tengah. Isolat murni *A. hydrophila* diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Sukabumi. Media kultur yang digunakan TSA (*Trypticase Soy Agar*) sebagai media kultur umum, media TSB (*Trypticase Soy Broth*) sebagai media kultur umum yang berbentuk cair, dan media GSP (*Glutamate Stratch Phenole*) sebagai media selektif bakteri *Aeromonas* sp., serta aquades yang digunakan sebagai pelarut. Pakan uji menggunakan pakan komersial dengan protein sebesar 33%.

Metode

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap, dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang diberikan yaitu penambahan K+ (tetrasiklin 10 ppm) dalam pakan, serta CNPs daun bidara arab (*Z.spina-christi*) dengan konsentrasi, A (0 ppm), B (450 ppm), C (500 ppm), dan D (550 ppm).

Pembuatan CNPs daun bidara arab (*Z.spina-christi*) mengacu pada penelitian Ghanbary *et al.* (2021), yakni sebanyak 500 gram bubuk daun bidara arab (*Z.spina-christi*) dicampur dengan 5 liter ethanol 96% dan diaduk dengan menggunakan *overhead stirrer* selama 5 menit. Larutan kemudian disimpan dalam keadaan gelap (dibungkus dengan kantong plastik hitam) selama 4 hari. Larutan kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring dan disimpan untuk dilakukan evaporasi. Pembentukan CNPs secara gelas ionik dengan anion berupa *triphosphat* (TPP). Untuk membuat 100 ml nanokitosan, sebanyak 160 mg kitosan dilarutkan kedalam 80 ml asam asetat 1% selama 2 jam dengan menggunakan *overhead stirrer* dengan kecepatan 1000 rpm pada suhu 60 °C. Sebanyak 40 mg TPP dan 80 mg ekstrak daun bidara arab (*Z.spina-christi*) dilarutkan dalam 20 ml akuades selama 1 jam menggunakan *overhead stirrer* dengan kecepatan 1000 rpm pada suhu ruang. Larutan TPP dicampurkan dengan cara diteteskan menggunakan buret 1 tetes/detik kedalam larutan kitosan dengan tetap diaduk menggunakan *stirrer* selama 30 menit. pH larutan dinetralkan dengan menggunakan NaOH hingga mencapai pH 6. CNPs daun bidara arab (*Z.spina-christi*) disimpan dalam lemari pendingin hingga digunakan.

Pembuatan pakan yang mengandung tetrasiklin dan CNPs dilakukan dengan menghancurkan pakan komersial terlebih dahulu dengan menggunakan *hammer mill* hingga menjadi bubuk. Antibiotik tetrasiklin 10 ppm dan masing-masing konsentrasi CNPs daun bidara arab (*Z.spina-christi*) dan 100 gram pakan dicampur dengan aquades sebanyak 60 ml menggunakan *mixer* hingga merata. Adonan kemudian dicetak dengan menggunakan *meat grinder* dengan diameter 2 mm. Pakan dikeringkan dengan *oven* pada suhu 50 °C selama 1 jam (Gheytsi *et al.*, 2021). CNPs yang ditambahkan pada pakan dalam kondisi baik dimana batas penyimpanan 3 bulan pada suhu ruang, 6 bulan pada suhu 40 °C, dan 12 bulan pada suhu 25 °C (Morris *et al.*, 2011).

Stock bakteri *A. hydrophila* yang disimpan pada media preservasi dikultur kembali untuk pasase. Kultur bakteri dengan menginokulasikan satu ose dari media preservasi dan dikultur pada media TSA, diinkubasi selama 24 jam dan koloni yang tumbuh dikultur pada media cair TSB kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam dalam *waterbath shaker*. Pasase bakteri dilakukan untuk meningkatkan patogenesis sebelum dilakukan ujiantang. Metode pasase bakteri mengacu pada Sarjito *et al.*, (2020) yakni sebanyak 0,1 ml larutan bakteri dengan kepadatan 10⁶ CFU/ml diinjeksikan ke bagian *intramuscular* lima ekor ikan uji. Kelima ikan diamati selama tiga hari. Apabila pada hari ketiga ikan belum menunjukkan gejala klinis, dilakukan isolasi dari ginjal dan luka ikan dengan media GSP. Koloni bakteri *A. hydrophila* yang tumbuh dikultur kembali pada media TSA untuk mendapatkan isolat murni bakteri. Isolat murni bakteri dikultur pada media TSB dan diinkubasi selama 24 jam, setelah itu dilakukan pasase kembali sebanyak 3 kali. Bakteri hasil pasase dikultur pada media TSA miring, dan diinkubasi selama 24 jam kemudian digunakan untuk uji selanjutnya.

Ikan patin yang telah diaklimatisasi dan dipastikan sehat ditandai dengan tidak terdapat gejala klinis pada tubuh dan tingkah laku ikan, kemudian diuji tantang dengan menyuntikkan bakteri *A. hydrophila* sebanyak 0,1 ml/ekor dengan kepadatan yang diperoleh dari hasil uji LD50 yakni 10⁸ CFU/ml secara *intramuscular*.

Pemberian pakan dengan tetrasiklin, CNPs dan pakan kontrol diberikan apabila ikan sudah menunjukkan gejala klinis sekitar 36 jam setelah diinfeksi *A. hydrophila*. Pakan diberikan 3 kali dalam satu hari pada pukul 07.00, 12.00, dan 17.00 WIB (Hasibuan *et al.*, 2021) secara *at satiation* selama 14 hari.

Parameter yang diamati meliputi gejala klinis, total eritrosit, hemoglobin, pertumbuhan bobot mutlak, dan kualitas air. Gejala klinis diamati secara visual meliputi tingkah laku dan morfologi ikan. Pengukuran profil darah dilakukan pada sebelum ikan diinfeksi (hari ke-0), setelah ikan diinfeksi *A. hydrophila* dan menunjukkan gejala klinis (hari ke-1), hari ke-7 dan hari ke-14.

Metode pengambilan sampel darah mengacu pada Witeska *et al.* (2022), sampel ikan diambil dari akuarium, dianestesi dengan minyak cengkeh, kemudian dibalut dengan kain lembap untuk mengantisipasi ikan kehilangan lendir. Agar tidak stress, mata ikan juga ditutup dengan kain. Darah diambil dari sirip caudal dengan menggunakan jarum suntik berukuran 1 ml yang sudah dibilas dengan EDTA sebagai antikoagulan, sampel darah sebanyak <0,1 ml dimasukkan kedalam tabung Eppendorf yang sudah dibilas dengan antikoagulan dan segera dikocok perlahan supaya mencegah penggumpalan untuk selanjutnya dilakukan pengujian.

Perhitungan eritrosit mengacu pada metode penelitian Lestari *et al.*, (2017), yakni darah dihisap dengan pipet eritrosit sampai batas 0,5. Darah kemudian dicampur dengan larutan Hayem hingga batas 101 yang ada pada pipet. Pipet dikocok, kemudian cairan dituang pada kamar hitung. Perhitungan eritrosit dilakukan dibawah mikroskop. Rumus penghitungan eritrosit adalah berikut:

$$N = n \times 10^4$$

Keterangan:

n = jumlah sel darah merah yang terdapat pada 80 kotak kecil

N = jumlah sel darah merah pada 1 mm³ darah

Perhitungan kadar hemoglobin mengacu pada Simmons (1980) yakni memasukkan HCN 0.1 N kedalam pipet Sahli hingga skala 10, kemudian ditambahkan 20 µl darah ikan dan diaduk hingga homogen. Warna larutan kemudian disamakan dengan warna larutan standar, setelah itu kadar Hb dapat dibaca pada tabung Sahli.

Pertumbuhan bobot mutlak menurut Sutrisno *et al.*, (2020), dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$W = W_t - W_0$$

Keterangan:

W = pertumbuhan bobot mutlak (g)

W_t = Bobot ikan pada akhir pemeliharaan (g)

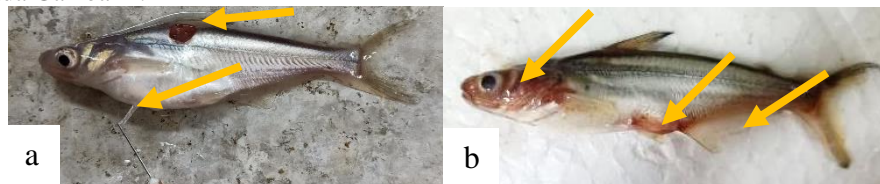
W_0 = Bobot ikan pada awal pemeliharaan (g)

Data gejala klinis dan kualitas air dianalisis secara deskriptif. Data eritrosit yang terkumpul dianalisis dengan analisa ragam (ANOVA) dengan selang kepercayaan 95%. Analisis ragam apabila didapatkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$) maka dilakukan uji dunnet untuk mengetahui perbedaan nilai antar perlakuan dan membandingkan dengan kontrol positif.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Gejala klinis ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* muncul setelah 36 jam pasca injeksi. Gejala klinis yang muncul akibat infeksi *A. hydrophila* diantaranya nafsu makan menurun, borok (ulcer) pada bekas suntikan, sirip geripis, munculnya bercak kemerahan pada tubuh, produksi lendir berlebih dan kematian. Gejala klinis yang muncul tersaji pada Gambar 1.



Gambar 1. Gejala Klinis Ikan Patin yang Terinfeksi *A. hydrophila*

Keterangan: a) luka dan lendir berlebih; b) kemerahan pada operkulum dan anus, serta sirip geripis

Gejala klinis muncul pada ikan patin yang terinfeksi *A. hydrophila* setelah 36 jam yakni nafsu makan menurun, muncul borok (ulcer), dan terjadi kematian. Gejala berlanjut pada hari ke-2 hingga hari ke-12. Beberapa ikan yang menunjukkan gejala klinis pasca diinfeksi *A. hydrophila* mengalami kematian. Pada hari ke-7 setelah ikan diberi pakan perlakuan, mulai terjadi pemulihan pada ikan patin perlakuan K+ dan C. Pemulihan terlihat dari peradangan luka berkurang, luka perlahan mengering, bercak kemerahan pada tubuh berkurang, serta sirip perlahan kembali normal. Peningkatan nafsu makan dan tingkah laku berenang ikan juga kembali normal. Pada hari ke-8, ikan pada perlakuan K+ menunjukkan gejala klinis sirip geripis dan kemerahan. Gejala tersebut juga terjadi pada perlakuan A (0 ppm) dengan gejala klinis sirip geripis, kemerahan, luka, dan *exophthalmia*. Perlakuan B (450 ppm) menunjukkan gejala klinis sirip geripis, dan kemerahan. Pada perlakuan C (500 ppm), gejala klinis yang muncul sirip geripis, kemerahan, luka yang mulai menutup, dan *exophthalmia*. Perlakuan D menunjukkan gejala klinis sirip geripis, dan kemerahan. Pada hari ke-12 sudah tidak nampak gejala klinis pada ikan perlakuan K+, pada perlakuan A ikan masih menunjukkan kemerahan dan produksi lendir serta sirip geripis, perlakuan B menunjukkan ikan mengalami pemulihan sirip geripis, pada perlakuan C dan D kemerahan ikan berkurang dan luka sudah menutup.

Hasil penghitungan total eritrosit ikan patin yang dipelihara tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata total eritrosit ikan patin

Perlakuan	Rerata total eritrosit (10^6 sel/ mm^3) pada hari ke-			
	0	1	7	14
K+	1,61±0,34	2,04±0,20	1,73±0,49	1,65±0,05
A (0 ppm)	1,36±0,24	1,81±0,60	1,70±1,10	1,88±0,55
B (450 ppm)	1,41±0,35	1,31±0,44	2,04±0,39	1,69±0,34
C (500 ppm)	1,82±0,43	1,79±0,38	1,42±0,63	1,75±0,41
D (550 ppm)	1,60±0,10	1,61±0,53	2,44±0,53	1,97±0,06

Hasil uji Anova menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata dari penambahan CNPs daun bidara arab (*Z.spina-christi*) terhadap kadar eritrosit ikan patin pada setiap perlakuan pada hari ke 0, 1, 7, maupun 14.

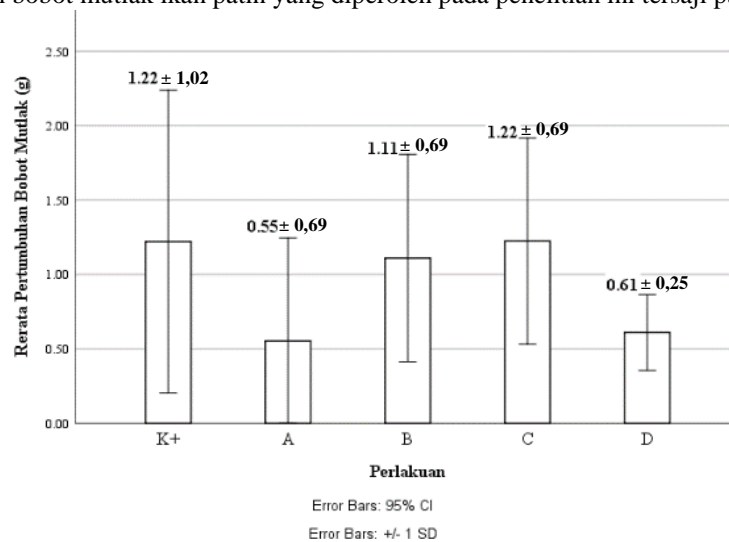
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, hasil rerata kadar Hb ikan patin (*Pangasius* sp.) tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Kadar Hb pada Ikan Patin

Perlakuan	Rerata kadar Hb (g/dl) pada hari ke-			
	0	1	7	14
K+	6,60±1,06	7,73±0,64	8,70±0,70	6,70±0,14
A (0 ppm)	6,60±0,91	6,20±1,13	7,73±1,36	7,20±1,40
B (450 ppm)	7,53±0,50	8,00±0,28	8,87±0,70	7,45±0,77
C (500 ppm)	6,73±0,64	7,27±0,83	7,80±1,77	8,27±1,45
D (550 ppm)	6,73±1,10	6,93±1,72	7,80±1,58	7,50±0,78

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh nyata penambahan CNPs daun bidara arab (*Z. spina-christi*) pada pakan terhadap rerata kadar Hb pada hari ke 0, 1, 7, dan 14.

Hasil pertumbuhan bobot mutlak ikan patin yang diperoleh pada penelitian ini tersaji pada Gambar 2.



Gambar 2. Histogram Rerata Bobot Mutlak Ikan Patin

Keterangan: K+) Tetrasiiklin 10 ppm; CNPs daun bidara arab (*Z.spina-christi*) konsentrasi A) 0 ppm; B) 450 ppm; C) 500 ppm; D) 550 ppm

Hasil pengamatan pertumbuhan menunjukkan bahwa pertumbuhan mutlak pada perlakuan C setara dengan perlakuan K+, terendah terdapat pada perlakuan A (0 ppm). Hasil uji Anova juga menunjukkan bahwa penambahan CNPs daun bidara arab (*Z. spina-christi*) pada pakan tidak memberikan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan bobot mutlak ikan patin.

Kualitas air selama pemeliharaan diukur dan tersaji pada Tabel 3. Cukuplayak untuk pemeliharaan ikan patin.

Tabel 3. Hasil Peneraan Kualitas Air Selama Pemeliharaan

Perlakuan	Kualitas Air		
	DO (mg/L)	pH	Suhu (°C)
K+	4-7,5	6,8-8,68	25,1 – 27,3
A	3,7-8,0	6,68-8,37	25 – 27,3
B	3,8-7,2	6,94-8,47	25 – 27
C	3,4-7,6	7,04-8,69	25,1 – 27,1
D	3,4-7,4	7,02-8,31	25,1 – 27,2
Optimum	> 3 ^a	6,5-8,5 ^b	25 – 30 ^c

Pembahasan

Gejala klinis mulai muncul pada 36 jam setelah ikan diinfeksi *A. hydrophila*. Hasil ini selaras dengan penelitian Abdelhamed *et al.* (2017), ikan lele yang diinfeksi *A. hydrophila* mulai menunjukkan gejala klinis 24 jam setelah infeksi. Gejala klinis awal yang muncul pada ikan patin pasca infeksi *A. hydrophila* diantaranya nafsu makan menurun, produksi lendir berlebih, berenang pasif, muncul ulcer dan peradangan, serta kematian ikan mulai terjadi. Penurunan nafsu makan mulai muncul pada 36 jam pasca ikan diinfeksi. Menurut Andriani *et al.* (2020), penurunan nafsu makan disebabkan karena stress dan terganggunya sistem pencernaan ikan setelah diinfeksi *A. hydrophila*. Bercak kemerahan muncul pada permukaan tubuh dan kepala ikan patin sekitar 36 jam

pasca ikan terinfeksi *A. hydrophila* pada seluruh perlakuan. Menurut Yustiati *et al.* (2019), bercak kemerahan dan kemerahan pada pangkal sirip terjadi karena pecahnya pembuluh darah sehingga darah merembes dan terlihat kemerahan di permukaan tubuh. *Dropsy* mulai terjadi pada hari ke-2 pada seluruh perlakuan, ditunjukkan dengan membesarnya rongga perut ikan karena terisi cairan. Menurut Lili *et al.* (2019), *dropsy* terjadi karena adanya *Aerolysin Cytotoxic Enterotoxin* yang diproduksi *A. hydrophila*. Menurut Noor El-Deen *et al.* (2013), *dropsy* terjadi karena aliran cairan tubuh ikan tidak lancar sehingga merembes dan terakumulasi pada rongga perut. Ulcer ditandai dengan munculnya peradangan yang membesar menjadi luka dan hemoragi pada bekas suntikan *A. hydrophila*. Menurut Mangunwardoyo, *et al.* (2010), ikan yang terinfeksi bakteri akan mengaktifkan respon imun dan memproduksi polimorfonuklear leukosit yang berperan sebagai sel fagosit. Hal ini menyebabkan bakteri memproduksi hemolisin yang bersifat racun dimana mengakibatkan munculnya ulcer dan hemoragi pada tubuh ikan. Menurut Agustina *et al.* (2019), munculnya ulcer terjadi karena tingginya kepadatan bakteri yang ada pada suatu lokasi, pada penelitian ini adalah lokasi suntikan *A. hydrophila*, sehingga volume dan intensitas toksin yang dihasilkan bakteri pada lokasi tersebut juga lebih banyak. *Exophthalmia* mulai terjadi pada hari ke-2, ditandai dengan membesar dan menonjolnya mata ikan. Menurut Yustiati *et al.* (2019), *exophthalmia* terjadi karena produksi gas oleh *A. hydrophila* sehingga terjadi penumpukan gas pada mata ikan.

Proses pemulihan ikan patin pasca diinfeksi *A. hydrophila* mulai terjadi pada hari ke-7 pasca ikan diberi pakan perlakuan, ditandai dengan ulcer yang mulai menutup dan kemerahan pada luka berkurang. Pada akhir pemeliharaan, ikan perlakuan K+ menunjukkan luka yang menutup. Pada perlakuan A (0 ppm) ikan yang semula memiliki luka mengalami kematian, sedangkan ikan lain masih menunjukkan gejala klinis kemerahan, *exophthalmia* dan sirip geripis. Pada perlakuan yang diberi CNPs bidara arab, gejala klinis masih muncul namun menunjukkan proses pemulihan pada sirip geripis, kemerahan, dan peradangan pada luka. Hasil ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan tetrasiklin adalah perlakuan yang paling baik dalam memulihkan gejala klinis ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* diikuti dengan perlakuan yang diberi CNPs daun bidara arab. Pengurangan peradangan diduga karena CNPs daun bidara arab (*Z. spina-christi*) mengandung senyawa antiinflamasi. Sarjito *et al.* (2021) menyebutkan bahwa ekstrak daun bidara arab (*Z. spina-christi*) memiliki senyawa antiinflamasi diantaranya Neophytadiene yang merupakan turunan dari terpenoid. Menurut Oktaviani *et al.* (2019), senyawa Neophytadiene memiliki aktifitas antiinflamasi dan membantu dalam aktifitas penutup luka.

Berdasarkan hasil rerata eritrosit yang tersaji pada Tabel 1, rerata eritrosit pada hari ke-0 berkisar antara $1,36-1,82 \times 10^6$ sel/mm³. Rerata total eritrosit pada perlakuan A dan C lebih rendah daripada nilai normal total eritrosit ikan patin. Menurut Lukistyowati *et al.* (2007), total eritrosit normal ikan patin berkisar antara $1,57-3,41 \times 10^6$ sel/mm³. Pasca ikan diinfeksi *A. hydrophila*, terjadi penurunan total eritrosit pada perlakuan B dan C. Perlakuan K+, A, dan D mengalami peningkatan. Hari ke-7 perlakuan menunjukkan total eritrosit pada perlakuan K+, A, dan C mengalami penurunan, sedangkan pada perlakuan B dan D terjadi peningkatan total eritrosit. Total eritrosit pada hari ke-7 berkisar antara $1,42-2,44 \times 10^6$ sel/mm³. Nilai ini sudah mulai menunjukkan bahwa total eritrosit ikan kembali normal. Total eritrosit hari ke-14 pada perlakuan A dan C mengalami peningkatan. Menurut Prasetio *et al.* (2017), peningkatan kadar eritrosit menandakan ikan mengalami proses homeostatis dimana tubuh ikan memproduksi sel darah merah untuk menggantikan sel darah merah yang lisis akibat infeksi. Namun demikian, hasil uji Anova menunjukkan bahwa pada hari ke-14 pemberian antibiotik dan CNPs daun bidara arab (*Z.spina-christi*) pada pakan terhadap ikan yang diinfeksi *A. hydrophila* tidak memberikan pengaruh nyata. Total eritrosit ikan patin pada hari ke-14 pada seluruh perlakuan tergolong dalam nilai normal total eritrosit ikan patin.

Berdasarkan hasil pengujian kadar Hb ikan patin pada awal penelitian berkisar antara 6,20-8,87 g/dL. Nilai ini tergolong cukup normal. Menurut Fahmi *et al.* (2014) dalam Rimalia dan Kisworo (2021), kadar Hb normal pada ikan Teleostei berkisar antara 5,05-8,33 gr/dl. Rerata kadar Hb pada hari ke-1 mengalami peningkatan pada hampir seluruh perlakuan kecuali perlakuan A. Pada hari ke-7 kadar Hb mengalami peningkatan pada seluruh perlakuan. Kadar Hb pada hari ke-14 menurun ke kadar Hb normal ikan patin, berkisar antara 6,70-8,27 g/dl. Hasil uji Anova menunjukkan bahwa penambahan CNPs ekstrak daun bidara arab (*Z.spina-christi*) tidak memberikan pengaruh nyata terhadap kadar Hb ikan patin. Kadar Hb berkaitan dengan kadar eritrosit. Pada akhir penelitian kadar Hb kembali normal sesuai dengan kadar eritrosit yang kembali ke nilai normal juga. Menurut Ye *et al.* (2016) kadar Hb dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, pH darah, dan tekanan oksigen parsial.

Pertumbuhan bobot mutlak tertinggi terdapat pada perlakuan K+ dan C, diikuti perlakuan B, E, dan terendah pada perlakuan A. Pertumbuhan bobot mutlak berkaitan dengan kandungan antibakteri yang ada pada perlakuan K+ dan pemberian CNPs daun bidara arab (*Z.spina-christi*) sehingga energi yang diperoleh dari pakan selain digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri juga digunakan untuk pertumbuhan ikan. Prastito *et al.* (2018) menyatakan bahwa pertumbuhan bobot mutlak dapat disebabkan adanya kandungan antibakteri sehingga penyerapan zat nutrisi menjadi lebih baik dan dapat memicu pertumbuhan. Pada akhir penelitian, kesehatan ikan juga semakin membaik ditandai dengan gejala klinis yang berangsur-angsur berkurang, dan di akhir penelitian tidak menunjukkan gejala klinis lagi pada ikan uji. Menurut Syawal *et al.* (2019) kesehatan ikan yang baik dapat mendukung peningkatan pertumbuhan yang ditunjukkan dengan adanya penambahan bobot. Rerata pertumbuhan bobot mutlak ikan patin pada perlakuan C setara dengan perlakuan K+ antibiotik tetrasiklin menghasilkan nilai

1,22 g. Menurut Rahman *et al.*, (2022), penambahan komponen herbal pada pakan dalam bentuk nanopartikel dapat meningkatkan penyerapan nutrisi dalam saluran pencernaan. Pemrosesan ekstrak daun bidara arab (*Z.spina-christi*) menjadi bentuk nanopartikel dan ditambahkan chitosan dapat memperpanjang durasi bertahan dalam aliran darah sehingga penyerapan dan penyebaran optimal dalam seluruh tubuh. Hal ini berpengaruh dalam *feed digestibility*, pemanfaatan pakan, dan penyerapan pakan sehingga laju pertumbuhan meningkat. Hasil yang diperoleh juga menunjukkan bahwa pemberian CNPs memberikan pertumbuhan bobot mutlak yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian pakan tanpa tambahan. Hasil ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Abd El-Naby *et al.* (2020), bahwa pemberian CNPs pada pakan memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan pakan tanpa CNPs. Peningkatan pertumbuhan ini diduga berkaitan dengan kemampuan CNPs ini dalam meningkatkan kemampuan penyerapan nutrisi dan aktifitas antibakteri yang lebih baik, serta peningkatan aktifitas enzim pencernaan yang berperan dalam pertumbuhan ikan (Abd El-Naby *et al.* 2020)

Hasil pengukuran kualitas air pemeliharaan ikan patin selama penelitian masih dalam kisaran normal. Suhu air selama penelitian berkisar antara 25-27,3°C, menurut Syahrizal *et al.* (2020) suhu pada penelitian ini termasuk optimal untuk pemeliharaan ikan patin. Kisaran pH selama penelitian tergolong cukup baik berkisar antara 6,68-8,69. Nilai ini optimal untuk pemeliharaan ikan patin berdasarkan Munisa *et al.* (2015), bahwa kisaran pH optimal untuk ikan patin berkisar antara 6,5-9,0. Kadar oksigen terlarut berkisar antara 3,4-8,0. Menurut SNI (2009) kadar oksigen terlarut pada penelitian ini memenuhi persyaratan kualitas air untuk budidaya ikan patin yakni ≥ 3 mg/L.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa penambahan CNPs daun bidara arab (*Z.spina-christi*) pada pakan tidak memberikan pengaruh nyata terhadap eritrosit, Hb, dan pertumbuhan bobot mutlak ikan patin. Rerata pertumbuhan bobot mutlak tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan C (500 ppm) sebesar 1,22 gram.

DAFTAR PUSTAKA

- [KKP]. Laporan Kinerja DJPB Tahun 2021. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- [KKP]. Laporan Kinerja DJPB Tahun 2022. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Abd El-Naby, A. S., A. A. Al-Sagheer, S. S. Negm, and M. A. E. Naiel. 2020. Dietary Combination of Chitosan Nanoparticle and Thymol Affects Feed Utilization, Digestive Enzymes, Antioxidant Status, and Intestinal Morphology of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 501: 82-89.
- Abdehamed, H., I. Ibrahim, W. Baumgartner M. L. Lawrence, and A. Karsi. 2017. Characterization of Histopathological and Ultrastructural Changes in Channel Catfish Experimentally Infected with Virulent *Aeromonas hydrophila*. *Frontiers in microbiology*, 8, 1519.
- Abdel-Ghany, H. M., dan M. E. Salem. 2019. Effect of Dietary Chitosan Supplementation on Farmed Fish; A Review. *Reviews in Aquaculture*, 1-15.
- Agustina, P., Sarjito, dan A. H. C. Haditomo. 2019. Study of *Bacillus methylotrophicus* as a Probiotic Candidate Bacteria with Different Concentration Against *Aeromonas hydrophila* on Water as a Cultivation Media of Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Earth and Environmental Science* 246, 1-13.
- Aisiah, S., A. Prayitno, M. Maftuch, dan A. Yuniarti. 2020. Effect of *Nauclea subdita* (Korth.) Steud. Leaf Extract on Hematological and Histopathological Changes in Liver and Kidney of Striped Catfish Infected by *Aeromonas hydrophila*. *Veterinary world*, 13(1), 47–53.
- Andriani, Y., A. A. Handaka, Rosidah, dan R. Himyati. 2020. Potential of Telang Plant (*Clitoria ternatea*) for Treatment of *Aeromonas hydrophila* Infection on Koi Fish (*Cyprinus carpio*). *Omni-Akuatika*, 16(1): 24-31.
- El-Asely, A., A. Amin, A. S. Abd El-Naby, F. Samir, A. El-Ashram, dan M. A. O. Dawood. 2020. Ziziphus mauritiana supplementation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet for improvement of immune response to *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish Physiol Biochem*, 46: 1561-1575.
- El-Sherbeny, E. M. E., Khoris, E. A., and Kassem, S. 2022. Assessment the efficacy of some various treatment methods, in vitro and in vivo, against *Aeromonas hydrophila* infection in fish with regard to side effects and residues. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology : CBP*, 253, 109246.
- Ghanbary, K., F. Firouzbaksh, E. Arkan, dan M. Mojarrab. 2021. The Effect of *Thymbra spicata* Hydroalcoholic Extract Loaded on Chitosan Polymeric Nanoparticles on Some Growth Performances, Hematology,

- Immunity, and Response To Acute Stress in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 548: 1-9.
- Gheytsi, A., S. P. H. Shekarabi, H. R. Islami, dan M. S. Mehrgan. 2021. Feeding Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, With Lemon Essential Oil Loaded in Chitosan Nanoparticles: Effect on Growth Performance, Serum Hemato-Immunological Parameters, and Body Composition. *Aquaculture International*, 29: 2207-2221.
- Hasibuan, S., S. Syafriadiman, N. Aryani, M. Fadhli, dan M. Hasibuan. 2021. The Age and Quality of Pond Bottom Soil Affect Water Quality and Production of *Pangasius hypophthalmus* in The Tropical Environment. *Aquaculture and Fisheries*, 1-9.
- Julianda, E., dan R. Abubakar. 2020. Kontribusi Pendapatan Pembesaran Ikan Patin (*Pangasius* sp) Dalam Keramba di Desa Kandis Kecamatan Pampangan Kabupaten Ogan Komering Ilir. *Societa*, 9(1): 1-6.
- Lestari, E., T. R. Setyawati, dan A. H. Yanti. 2017. Profil Hematologi Ikan Gabus (*Channa striata* Bloch, 1793). *Protobiont*, 6(3).
- Lili, W., R. GUmilar, A. Nurhayati, dan Rosidah. 2019. Effectivity of Solution Mangosteen Rind (*Garciana mangostana*) as Medicine for Black Tilapia Juvenile (*Oreochromis niloticus* Bleeker) when Infected by *Aeromonas hydrophila*. *World Scientific News*, 133: 56-70.
- Lukistyowati, I., Windarti dan Riau waty, M., 2007. Analisis Hematologi sebagai Penentu Status Kesehatan Ikan Air Tawar di Pekanbaru. *Jurnal Akuatika*, 2(2): 1-14.
- Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari, dan E. Riani. 2010. Uji Patogenisitas dan Virulensi *Aeromonas hydrophila* Stanier pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) Melalui Postulat Koch. *J. Ris. Akuakultur*, 5(2): 245-255.
- Morris, G. A., J. Castile, A. Smith, G. G. Adams, dan S. E. Harding. 2011. The Effect of Prolonged Storage at Different Temperatures on The Particle Size Distribution of Tripolyphosphate (TPP) – Chitosan Nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 84: 1430-1434.
- Munisa, Q., Subandiyono, dan Pinandoyo. 2015. Pengaruh Kandungan Lemak dan Energi yang Berbeda dalam Pakan Terhadap Pemanfaatan Pakan dan Pertumbuhan Patin (*Pangasius pangasius*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 4 (3):12-21.
- Norhasanah, S. Rahmah, dan Maymunah. 2020. Pengaruh Formulasi Tepung Tapioka, Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) dan Ampas Tahu Terhadap Kadar Air, Protein, Serat Kasar dan Daya Kembang serta Daya Terima Kerupuk. *Jurnal Kesehatan Indonesia*, 10(3): 164-171.
- Nurlatifah, S., I. B. G. darmayasa, P.G. S. Julyantoro, dan P. E. Sudaryatma. 2022. Penghambatan Faktor Virulensi *Vibrio parahaemolyticus* Menggunakan Isolat Bakteri dari Saluran Pencernaan Ikan Kerapu. *Acta Veteinia Indonesiana*, 10(3): 228 -238.
- Oktaviani, D. J., S. Widiyastuti, D. A. Maharani, A. N. Amalia, A. M. Ishak, dan A. Zuhrotun. 2019. Artikel Review: Potensi *Turbinaria ornata* sebagai Penyembuh Luka dalam Bentuk Plester. *Farmaka*, 17(2): 464-471.
- Prasetyo, E., M. Fakhruddin, dan H. Hasan. 2017. Pengaruh Serbuk Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Hematologi Ikan Jelawat (*Leptobarbus hoevenii*) Yang Diuji Tantang Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Ruaya*, 5(2): 44-54.
- Prastito, Pinandoyo, R. A. N. dan V. E. Herawati. 2018. The Effect of Addition Curcuma's (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Extract to The Increase of Feed Consumption, Efficiency and The Growth of Catfish (*Pangasius*). *Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan*, 7(1): 638-646.
- Rahman, A. N. A., G. E. Elshopakey, A. Beihary, D. E. Altohamy, A. I. Ahmed, K. Y. Farroh, M. Alkafafy, S. A. Shanin, dan R. E. Ibrahim. 2022. Chitosan-Ocimum basilicum Nanocomposite as a Dietary Additive in *Oreochromis niloticus*: Effects on Immune-Antioxidant Response, Head Kidney Gene Expression, Intestinal Architecture, and Growth. *Fish and Shellfish Immunology*, 128: 425-435.
- Rimalia, A., dan Y. Kisworo. 2021. Diagnosa Darah Sebagai Indikator Kesehatan Ikan Betok (*Anabas testudineus* Bloch), Ikan Lele (*Clarias batracus*) dan Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). *Jurnal Techno-Fish*, 5(2): 76-83.
- Roopavathy, J., B. Karpagam, dan D. Vigneshpriya. 2020. Effect of *Ziziphus Jujube* Leaf Extract on Kidney of Freshwater Fish, *Oreochromis mossambicus*. *International Journal of Zoology and Applied Biosciences*, 5(4): 210-216.
- Sarjito, 2023. Penanganan Penyakit Ikan Berbasis Bahan Alami Dalam Rangka Mewujudkan Akuakultur Berkelanjutan. *UNDIP Press*. 102 hal.
- Sarjito, L. Purnamayanti, P. H. Riyadi, Desrina, dan S. B. Prayitno. 2021. Phytochemical Analysis and Antibacterial Activities of Sidr Leaf Extract (*Ziziphus spina-christi*) against Pathogenic Bacteria in Aquaculture. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci*, 44(4): 845-864.
- Sarjito, S. B. Prayitno, N. Q. S. Rochani, A. H. C. Haditomo, R. Amalia, dan Desrina. 2020. Potensi Epibiotik Campuran Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) dan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

- pada Pakan untuk Mengatasi Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele (*Clarias gariepinus*). Saintek Perikanan, 16(1): 51-58.
- Simmons, A. 1980. Technical Hematology. 3rd Edition. J.B. Lippicot Company. Philadelphia. Toronto.
- Singh, A., A. Mittal, dan S. Benjakul. 2021. Chitosan Nanoparticles: Preparation, Food Applications and Health Benefits. Science Asia (47): 1-10.
- Standar Nasional Indonesia Nomor 7551 Tahun 2009 tentang Produksi Ikan Patin Pasupati (*Pangasius* sp.) Kelas Pembesaran di Kolam.
- Sutrisno, N., D. S. C. Utomo, dan M. Sarida. 2020. Performa Reproduksi dan Pertumbuhan Bobot Mutlak Nilem (*Osteochilus hasselti* Cuvier & Valenciennes 1842) dengan Penambahan Hormon Pertumbuhan Rekombinan Kerapu Kertang. Zoo Indonesia, 29(2): 83-93.
- Syahrizal, Z. Arifin, dan Paimung. 2020. Rekayasa Komposisi Pakan Pellet Benih Ikan Patin (*Pangasianodon hypophthalmus*) dengan Fermentasi Em4 (*Effective microorganisms* 4). Jurnal Akuakultur Sungai dan Danau, 5(1): 1-8.
- Syawal, H., M. Riau waty, Nuraini dan S. Hasibuan. 2019. Pemanfaatan Pakan Herbal (Jamu) untuk Meningkatkan Produksi Ikan Budidaya. Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat, 3:188-193.
- Witeska, M., E. Kondera, K. Lugowska, dan B. Bojarski. 2022. Hematological methods in fish – Not only for beginners. Aquaculture, 547: 737498.
- Ye, L., J. Amberg, D. Chapman, M. Gaikowski, dan W. T. Liu. 2016. Fish gut microbiota analysis differentiates physiology and behavior of invasive Asian carp and indigenous American fish. ISME J., 8(3): 541-551.
- Yustiati, A., D. F. Kundari, A. A. Suryana, dan I. B. B. Suryadi. 2019. Effectiveness of Potassium Diformalate Addition to Feed to Improve Immune System of *Pangasianodon hypophthalmus* That Challenged by *Aeromonas hydrophila*. World Scientific News, 134(2), 86-100.