

The Effect of Giving Mangrove Leaf Extract (*Rhizophora apiculata*) on The Immune System of Goldfish (*Cyprinus carpio*) Infected with *Aeromonas hydrophila* Bacteria

Lu'lu'il Maknun¹, Fariq Azhar¹, Laily Fitriani Mulyani^{1*}

¹Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram, Kota Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

Article History

Received : November 03th, 2024

Revised : November 25th, 2024

Accepted : December 20th, 2024

*Corresponding Author: **Laily Fitriani Mulyani**, Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Mataram, Kota Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;
Email: lailyfitriani@unram.ac.id

Abstract: Goldfish (*Cyprinus carpio*) is a type of freshwater fishery commodity whose production activities are currently growing rapidly because they are in great demand by the public. Giving *Rhizophora apiculata* mangrove leaf extract can reduce the number of bacteria *Vibrio* in vannamei shrimp so that *Rhizophora apiculata* mangrove leaves can be used as a natural immunostimulant. The aim of this research is to determine the effect of administering *Rhizophora apiculata* mangrove leaf extract at different doses on the immune system of goldfish infected with *Aeromonas hydrophila* bacteria. This research was carried out for 60 days at the Fish Production and Reproduction Laboratory, Aquaculture Study Program, Mataram University. The method in this study used a completely randomized design with 5 treatments and 3 repetitions. The results of the study showed that P2 was the best result that was able to improve the immune system of young mothers after the challenge test, this can be seen from the erythrocyte value obtained at 5.41×10^6 cells/mm³, the leukocyte value at 6.06×10^4 cells/mm³, hemoglobin 10.7%, hematocrit 21.2%, lymphocytes 73.3%, monocytes 37.3%, neutrophils 32.3%, platelets 36.6% and phagocytic activity 34, 5%. The conclusion from the research that has been carried out is that the addition of *R. apiculata* mangrove leaf extract to goldfish feed has a significantly different effect on the erythrocyte, leukocyte and hematocrit levels of goldfish (*C. carpio*). The addition of mangrove leaf extract at a dose of 1% to goldfish is the right dose which can improve the body's defense system in goldfish.

Keywords: Bacteria, *Cyprinus carpio*, immunostimulants, *Rhizophora apiculata*.

Pendahuluan

Ikan mas (*Cyprinus carpio*) merupakan salah satu jenis komoditas perikanan air tawar yang saat ini kegiatan produksinya semakin berkembang pesat karena banyak diminati oleh masyarakat. Ikan mas memiliki nilai ekonomis yang tinggi sehingga jumlah permintaan terhadap ikan mas pada beberapa pasar lokal di Indonesia semakin meningkat. Hal ini menjadi daya tarik bagi para pengusaha untuk melakukan budidaya ikan mas secara intensif. Budidaya yang dilakukan secara intensif juga dapat berdampak negatif terhadap kesehatan ikan yang dibudidayakan apabila tidak dikontrol dengan baik. Dalam melakukan kegiatan budidaya ikan mas serangan bakteri dan patogen menyebabkan timbulnya penyakit infeksi. Hal ini menjadi salah

satu faktor permasalahan yang menyebabkan kegagalan dalam usaha budidaya (Mutik, 2022).

Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan salah satu bakteri yang banyak ditemukan dalam kegiatan budidaya ikan mas. Menurut Anggriani *et al.*, (2016), bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan mikroorganisme akuatik yang terdapat pada perairan laut dan perairan tawar, bakteri tersebut menjadi patogen yang dapat menyebabkan penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang mengakibatkan kematian massal pada ikan. Upaya pengendalian penyakit melalui tindakan pencegahan dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu dengan menjaga kualitas air, pemberian pakan yang tepat, menggunakan vaksin atau antibiotik dan penambahan imunostimulan. Dalam hal ini antibiotik apabila digunakan secara

berkelanjutan akan menyebabkan restensi terhadap mikroorganisme patogen dan pencemaran lingkungan. Salah satu alternatif yang cukup efektif yang dapat dilakukan dalam upaya pencegahan penyakit pada ikan mas yaitu dengan penambahan imunostimulan. Imunostimulan merupakan senyawa yang memiliki kemampuan meningkatkan sistem kekebalan tubuh non – spesifik ikan dan merupakan alternatif yang tepat untuk menghindari penggunaan bahan kimia atau obat – obatan (Lengka *et al.*, 2013).

Salah satu bahan alami yang dapat digunakan untuk meningkatkan sistem imun pada ikan ialah ekstrak daun mangrove (*Rhizophora apiculata*) (Saniswan, 2019). Kandungan pada daun mangrove (*Rhizophora apiculata*) dapat digunakan sebagai sumber antibakteri seperti fenol, alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid dan terpenoid, dengan adanya kandungan senyawa – senyawa tersebut mampu mengindikasikan kemampuan suatu ekstrak sebagai antioksidan yang baik (Mutik *et al.*, 2022). Penelitian Dewanto *et al.*, (2021), sebelumnya mengatakan ekstrak daun mangrove *Rhizophora apiculata* memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri Gram negatif seperti *Pseudomonas aeruginosa*. Demikian juga dalam penelitian Fadillah *et al.*, (2019), pemberian ekstrak daun mangrove *Rhizophora apiculata* mampu mengurangi jumlah bakteri total maupun *Vibrio* total pada udang vanname sehingga daun mangrove *Rhizophora apiculata* dapat dijadikan sebagai imunostimulan alami.

Oleh karena itu penelitian ini mengkaji pengaruh pemberian ekstrak daun mangrove *Rhizophora apiculata* dengan dosis yang berbeda untuk mendapatkan dosis yang tepat dalam meningkatkan sistem imun ikan mas yang diinfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* (Susandi, 2017). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun mangrove *Rhizophora apiculata* dengan dosis yang berbeda terhadap sistem imun ikan mas yang diinfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Bahan dan Metode

Metode penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 60 hari, dimulai dari 22 Februari hingga 1 April 2024 yang bertempat di Laboratorium Produksi dan Reproduksi Ikan dan Laboratorium Kesehatan

Ikan, Program Studi Budidaya Perairan Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan Fakultas Pertanian, Universitas Mataram.

Alat dan bahan

Alat dan bahan yang digunakan adalah haemocytometer, mikroskop, mikrohematokrit, haemometer, syringe, mikropipet dan timbangan. ikan mas (*C. Carpio*) ukuran 8 – 12 cm, bakteri *A. hydrophila*, ekstrak daun mangrove *Rhizophora apiculata*, media NA, media TSB, pakan pellet HI – Provite 781-1 yang mengandung protein 30%.

Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 3 ulangan, yaitu, KN = kontrol tanpa pemberian ekstrak + infeksi NaCl, KP = kontrol tanpa pemberian ekstrak + infeksi bakteri, P1= pemberian ekstrak dosis 0.5% + infeksi bakteri, P2 = pemberian ekstrak dosis 1 % + infeksi bakteri, P3 = pemberian ekstrak dosis 2% + infeksi bakteri.

Prosedur penelitian

Persiapan media pemeliharaan dan ikan uji

Tahapan awal yang sangat penting untuk diperhatikan dalam melakukan penelitian ini adalah persiapan wadah dan media pemeliharaan. Wadah pemeliharaan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah wadah kontainer yang berukuran 45 L sebanyak 15 buah. Media pemeliharaan yang digunakan pada penelitian ini ialah berupa air tawar yang sebelumnya telah diendapkan selama 24 jam sebelum digunakan. Air tawar tersebut diisi pada wadah pemeliharaan sebanyak 30 L pada setiap masing – masing kontainer dan diberi aerasi sebagai penyuplai oksigen. Hewan uji yang akan digunakan pada penelitian ini adalah ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang berukuran 8 -12 cm sebanyak 225 ekor dengan padat tebar sebanyak 15 ekor ikan pada masing – masing bak kontainer. Ikan terlebih dahulu dilakukan aklimatisasi selama 7 hari agar ikan tidak mengalami stress dan dapat beradaptasi dengan lingkungannya yang baru.

Pembuatan ekstrak daun mangrove

Pembuatan ekstrak daun mangrove dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut ethanol 96%. Proses

ekstraksi dilakukan dengan cara ditimbang bubuk daun mangrove sebanyak 1 kg selanjutnya direndam bubuk daun mangrove tersebut dengan menggunakan ethanol 96% dengan perbandingan 1 : 3, selama 3 x 24 jam. Hasil perendaman (maserasi) daun mangrove kemudian disaring dengan kertas saring dan hasil penyaringan dilanjutkan dengan proses ekstraksi cara panas yaitu dievaporasi dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C untuk memisahkan antara pelarut dengan ekstrak daun mangrove. Ekstrak daun mangrove dalam bentuk pasta disimpan pada tabung korning lalu disimpan di lemari pendingin dengan suhu yang rendah agar kandungan bioaktif pada daun mangrove tidak rusak.

Persiapan pakan dengan ekstrak daun mangrove

Pakan yang digunakan pada penelitian ini yaitu pakan pellet CP Prima Hi – Provite 781-1 PT. Central Proteina Prima yang mengandung protein 30%. Pakan pellet diberikan sebanyak 5% dari biomassa tubuh ikan. Pakan kemudian ditambahkan dengan ekstrak daun mangrove menggunakan mikropipet berukuran (20 - 200µ) dengan dosis yang berbeda sesuai dengan perlakuan yaitu pada KN dan KP tidak diberikan ekstrak sedangkan P1 dengan dosis 0,5%, P2 dengan dosis 1%, dan P3 dengan dosis 2%, kemudian dicampur hingga tercampur rata. Pencampuran pakan buatan dengan ekstrak daun mangrove *R. apiculata* dilakukan setiap 10 hari sekali. Pakan diberikan selama masa pemeliharaan dengan frekuensi pemberian pakan 3 kali sehari pada pukul 07.00 WITA, 13.00 WITA, dan 18. 00 WITA.

*Persiapan bakteri *A. hydrophila* dan *Streptococcus* sp.*

Persiapan bakteri dilakukan pada hari ke 48 – 50 sebelum dilakukannya uji tantang. Dalam penelitian ini digunakan dua jenis bakteri yaitu bakteri *A. hydrophila* untuk uji tantang yang diperoleh dari Laboratorium BBPBAP Jepara, dan bakteri *Streptococcus* sp. untuk uji aktivitas fagositosis yang diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Ikan, Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Uinversitas Mataram. Sebelum dilakukan uji tantang diperlukan persiapan media untuk pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Adapun tahapan persiapan isolat bakteri yang perlu dilakukan yaitu pembuatan media, peremajaan bakteri, dan pengenceran bakteri.

Peremajaan bakteri media yang digunakan berupa media NA (*Nutrient Agar*), pembuatan media NA (*Nutrient Agar*) dilakukan dengan cara ditimbang 4 gr bubuk NA dan ditambahkan 100 ml aquades ke dalam erlenmeyer, lalu dimasak diatas hot plate sampai mendidih, selanjutnya disterilisasi dengan cara dimasukan kedalam autoclave. Selanjutnya untuk pengenceran bakteri digunakan media TSB (*Tryptic Soy Broth*), pembuatan media TSB (*Tryptic Soy Broth*) dilakukan dengan cara ditimbang 4 gr bubuk TSB (*Tryptic Soy Broth*) dan ditambahkan dengan aquades sebanyak 100 ml ke dalam erlenmeyer lalu dimasak diatas hotplate hingga mendidih, selanjutnya disterilisasi dengan cara dimasukan kedalam autoklav. Sebelum bakteri dimasukkan kedalam media TSB (*Tryptic Soy Broth*), bakteri diencerkan terlebih dahulu dengan menggunakan pengenceran 10⁻⁸.

Uji Tantang

Uji tantang dilakukan setelah masa pemeliharaan yaitu pada (hari ke 51). Metode infeksi dilakukan dengan cara infeksi intramuskular yaitu dilakukan penyuntikan pada bagian punggung atau pada bagian ekor sirip punggung ikan sebanyak 0,1 ml pada setiap ikan perlakuan (kecuali pada kontrol negative yang akan disuntikan dengan Nacl 0.9% sebanyak 0,1 ml). Selanjunya pengambilan sampel darah ikan diambil setelah 10 hari dilakukan uji tantang dengan bakteri. Sampel darah ikan yang diambil akan digunakan untuk mengamati total eritrosit, leukosit, kadar hemoglobin, hematokrit, diferensial leukosit, dan aktivitas fagositosis.

Parameter penelitian

Eritrosit

Perhitungan total eritrosit yaitu dengan cara sampel darah yang telah diambil dimasukan ke dalam tabung eppendorf, lalu darah ikan dalam tabung eppendorf dihisap menggunakan alat hisap eritrosit berbebtuk kapiler yang memiliki batu kecil berwarna merah didalamnya (untuk eritrosit) hingga garis menunjukkan 0,5 ml atau skala 1, selanjutnya ditambahkan dengan larutan Hayem hingga larutan mencapai skala 101 ml. Kemudian larutan yang ada didalam alat hisap pipa kapiler tersebut dihomogenkan dengan cara digoyangkan dengan membentuk angka delapan. Selanjutnya untuk mengeluarkan gelembung udara pada darah maka darah akan dibuang sebanyak 2 tetes pertama, lalu akan

diteteskan pada kamar hitung haemocytometer yang di tutup dengan cover glass. Kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 40, jumlah total eritrosit dihitung pada 5 bidang pandang pada kotak kecil pada haemocytometer, rumus untuk menghitung total eritrosit sesuai dengan rumus (Fitria *et al.*,2019) pada persamaan 1.

$$\text{Total Eritrosit} = \frac{Ne \times 200}{0,02} \quad (1)$$

Keterangan:

Ne = Jumlah eritrosit pada 5 bidang pandang

200x = Faktor pengenceran

0,02 = Volume total darah dalam 5 bidang pandang (mm³)

Leukosit

Perhitungan total leukosit yaitu dengan cara sampel darah diambil dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf, lalu darah ikan dalam tabung eppendorf dihisap menggunakan alat hisap leukosit berbebtuk kapiler yang memiliki batu kecil berwarna putih didalamnya (untuk leukosit) hingga garis menunjukkan 0,5 ml atau skala 1, selanjutnya ditambahkan dengan larutan Turk hingga larutan mencapai skala 11 ml. Kemudian larutan yang ada didalam alat hisap pipa kapiler tersebut dihomogenkan dengan cara digoyangkan dengan membentuk angka delapan. Selanjutnya untuk mengeluarkan gelembung udara pada darah maka darah akan dibuang sebanyak 2 tetes pertama, lalu akan ditetaskan pada kamar hitung haemocytometer yang di tutup dengan cover glass. Kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 40, jumlah total leukosit dihitung pada 5 bidang pandang pada kotak kecil pada haemocytometer, rumus untuk menghitung total leukosit yaitu sesuai dengan rumus (Fitria *et al.*,2019) pada persamaan 2.

$$\text{Total Leukosit} = \frac{N1 \times 20}{0,4} \quad (2)$$

Keterangan:

N1 = Jumlah leukosit pada 5 bidang pandang

20x = Faktor pengenceran

0,4 = Volume total darah dalam 5 bidang pandang (mm³)

Hemoglobin

Pengukuran kadar hemoglobin dilakukan dengan mengacu pada metode Sahli, dimana

kadar hemoglobin diukur dengan cara diisi larutan HCl 0,1 N kedalam tabung sahlometer hingga mencapai angka 0 (garis skala pada bagian paling bawah tabung sahlometer), kemudian tabung tersebut ditempatkan diantara 2 tabung dengan warna standar, lalu diambil darah ikan dengan pipet sahli sebanyak 0,02 ml dan dimasukkan kedalam tabung sahli dan didiamkan selama 3 menit. Kemudian dilanjutkan dengan penambahan akuades dengan pipet tetes secara perlahan sambil diaduk dengan batang pengaduk hingga warna yang dihasilkan sama dengan warna standar (Sudirman, 2021).

Hematokrit

Pengukuran kadar hematokrit mengacu pada metode Anderson dan Siwicki (1993) dalam Royan *et al.*, (2014) yaitu dengan cara sampel darah dalam tabung eppendorf dihisap dengan tabung hemtokrit hingga mencapai $\frac{3}{4}$ bagian tabung, kemudian pada bagian ujung yang bertanda merah dengan menggunakan kretoseal (lilin penutup). Selanjutnya kapiler mikrohematorit di *centrifuge* selam 15 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Perhitungan nilai kadar hematokrit dilakukan dengan membandingkan volume padatan sel darah merah dengan volume total darah dengan skala hematokrit pada persamaan 3.

$$\frac{\text{Panjang volume sel darah merah yang mengendap}}{\text{Panjang total volume darah dalam tabung}} \times 100 \quad (3)$$

Diferensial Leukosit

Perhitungan diferensial leukosit dilakukan dengan mengacu pada Amlacher (1970) dalam Hartika *et al.*, (2014) yakni dengan cara dihitung presentase sel - sel leukosit yang diamati pada 10 bidang pandang dengan masing – masing jenis diferensial leukosit yang terhitung dikelompokkan sesuai dengan jenisnya yaitu limfosit, monosit, neutrophil, dan trombosit). Adapaun rumus yang dapat digunakan untuk menghitung jumlah sel limfosit, monosit, neutrophil, dan trombosit pada persamaan 4 sampai 7.

$$\% \text{ Limfosit} = \frac{L}{100} \times 100\% \quad (4)$$

$$\% \text{ Monosit} = \frac{M}{100} \times 100\% \quad (5)$$

$$\% \text{ Neutrofil} = \frac{N}{100} \times 100\% \quad (6)$$

$$\% \text{ Trombosit} = \frac{T}{100} \times 100\% \quad (7)$$

Aktivitas Fagositosis

Pengukuran aktivitas fagositosis mengacu pada Andreson dan Siwicki (1993) yaitu dengan cara sampel darah ikan diambil sebanyak 50 µl dimasukkan kedalam tabung eppendorf. Selanjutnya ditambahkan suspensi bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan kepadatan 10⁷ sel/ml sebanyak 50 µl. Kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 20 menit. Lalu diambil suspensi tersebut sebanyak 5 µl dan dibuat preparat ulas. Setelah itu preparat ulas dikeringkan, setelah kering difiksasi dalam larutan etanol selama 5 – 10 menit lalu dikeringkan di udara. Selanjutnya preparat ulas direndam dalam larutan Giemsa selama 10 – 15 menit, lalu dibilas dengan akuades dan dikeringkan kembali. Kemudian preparat ulas diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40 x. presentase sel – sel fagositik dapat dihitung dengan cara mengamati jumlah sel – sel yang memfagosit bakteri. Nilai aktivitas fagositosis dapat dihitung dengan rumus (Chidhiyah, 2012), sebagai berikut :

$$\frac{\text{Jumlah sel yang melakukan fagositosis}}{\text{Jumlah sel fagosit}} \times 100\% \quad (8)$$

Analisis data

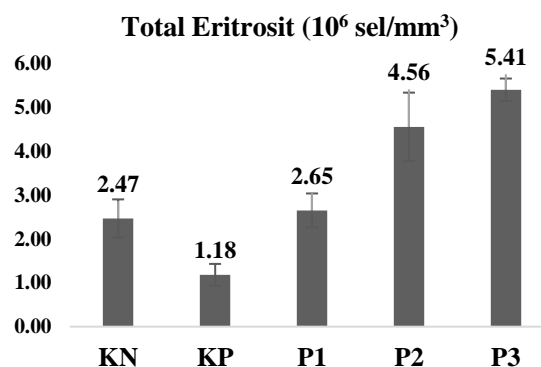
Data hasil penelitian yang telah diperoleh dianalisis secara deskriptif dan statistik (Anova) dengan menggunakan program SPSS dengan taraf kepercayaan 95% (P<0,05). Apabila hasil berbeda nyata maka akan dilakukan dengan uji lanjut menggunakan Duncan.

Hasil dan Pembahasan

Total Eritrosit

Hasil total nilai eritrosit yang diperoleh pada Gambar 1 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun mangrove dengan dosis yang berbeda pada pakan yang diberikan pada ikan mas *C. carpio* yang diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila* diperoleh nilai tertinggi total eritrosit terdapat pada perlakuan P3 dengan dosis ekstrak (2%) sebesar 5,41 x 10⁶ sel/mm³, selanjutnya perlakuan P2 dengan dosis ekstrak (1%) sebesar 4,56 x 10⁶ sel/mm³, sedangkan pada perlakuan P1 dosis ekstrak (0,5%) diperoleh nilai total eritrosit sebesar 2,65 x 10⁶ sel/mm³, dan pada perlakuan KN (Kontrol Negatif) diperoleh nilai eritrosit sebesar 2,47 x 10⁶ sel/mm³. Nilai total eritrosit pada perlakuan KP (Kontrol Positif) cukup rendah yaitu sebesar 1,18 x 10⁶ sel/mm³. Berdasarkan hasil *analysis of variance*

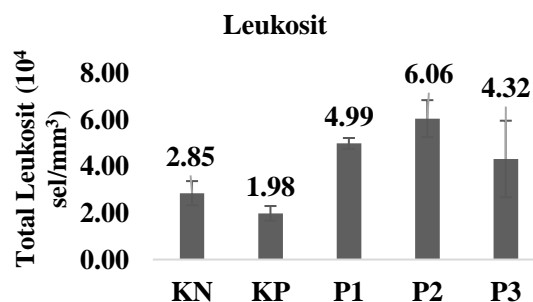
(ANOVA) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun mangrove dengan dosis yang berbeda pada ikan mas (*C. carpio*) yang telah diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila* memberikan pengaruh yang signifikan atau berbeda nyata (p<0,05) pada nilai total eritrosit ikan mas.



Gambar 1. Rata – rata Nilai Total Eritrosit Ikan Mas

Total Leukosit

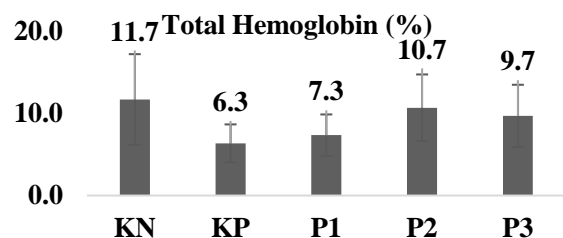
Hasil total nilai leukosit yang diperoleh pada Gambar 2 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun mangrove dengan dosis yang berbeda pada pakan ikan mas (*C. carpio*) yang diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila* memberikan pengaruh yang berbeda nyata (p<0,05). Hasil total nilai leukosit memperoleh nilai tertinggi hingga terendah, nilai tertinggi terdapat pada perlakuan P2 sebesar 6,06 x 10⁴ sel/mm³, perlakuan P1 sebesar 4,99 x 10⁴ sel/mm³, perlakuan P3 sebesar 4,32 x 10⁴ sel/mm³, dan perlakuan KN (Kontrol Negatif) sebesar 2,85 x 10⁴ sel/mm³, total nilai leukosit terendah terdapat pada perlakuan KP (Kontrol Positif) sebesar 1,98 x 10⁴ sel/mm³. Berdasarkan grafik yang tertera pada Gambar 2 menunjukkan bahwa P2 tidak berbeda nyata dengan P1, P3, dan KN akan tetapi berbeda nyata dengan perlakuan KP.



Gambar 2. Rata-rata Total Leukosit Ikan Mas

Hemoglobin

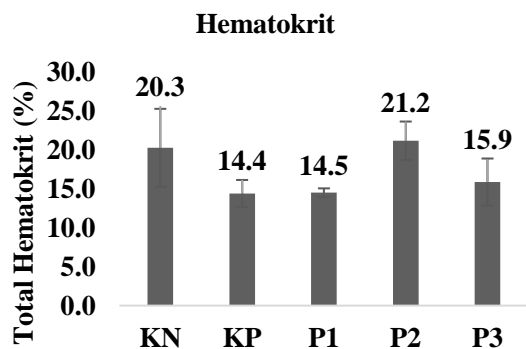
Hasil yang diperoleh pada Gambar 4.3 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun mangrove dengan dosis yang berbeda pada pakan memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) terhadap nilai total hemoglobin ikan mas (*C. carpio*) yang diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophil*. Pada Gambar 3 diperoleh hasil total nilai hemoglobin dari yang tertinggi hingga terendah, nilai tertinggi berada pada perlakuan KN (Kontrol Negatif) sebesar 11,7% namun tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan semua perlakuan lainnya, P2 sebesar 10,7%, P3 sebesar 9,7%, P1 7,3% dan perlakuan KP sebesar 6,3% yang merupakan perlakuan dengan nilai paling rendah.



Gambar 3. Rata – rata Total Hemoglobin Ikan Mas

Hematokrit

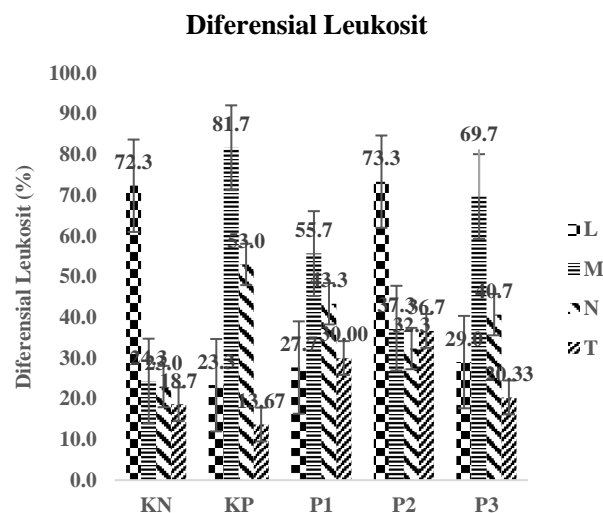
Hasil yang diperoleh dari pemberian ekstrak daun mangrove dalam pakan dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0,05$), terhadap total hematokrit ikan mas yang telah diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Pada Gambar 4.4 nilai total hematokrit yang dihasilkan pada grafik memperoleh nilai tertinggi hingga terendah, dimana nilai tertinggi diperoleh pada perlakuan P2 sebesar 21,2% namun tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan perlakuan KN (Kontrol Negatif) dan P3, selanjutnya nilai terendah diperoleh pada perlakuan KP sebesar 14,4% yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan perlakuan P1.



Gambar 4. Rata-rata Total Hematokrit Ikan Mas

Diferensial Leukosit

Data pada Gambar 5. terdapat grafik diferensial leukosit, dimana diferensial leukosit ini terdiri dari 4 bagian sel yaitu limfosit, monosit, neutrofil dan trombosit. Pada gambar tersebut dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak daun mangrove pada pakan ikan mas dengan dosis yang berbeda menghasilkan pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap nilai diferensial leukosit pada ikan mas yang diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila*.



Gambar 5. Rata-rata Diferensial Leukosit

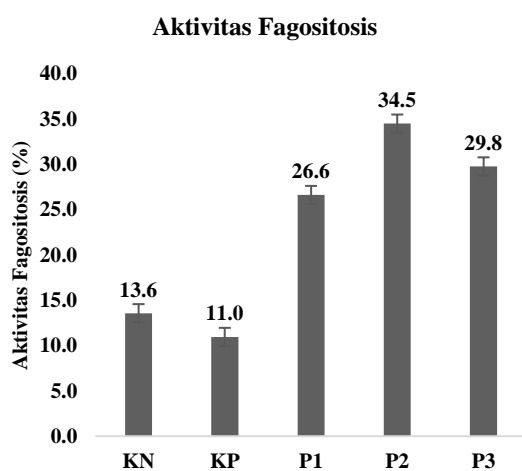
Sel limfosit nilai tertinggi terdapat pada perlakuan P2 sebesar 73,3%, diikuti oleh perlakuan KN (Kontrol Negatif) sebesar 72,3% yang berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan perlakuan P3 sebesar 29% dan P1 sebesar 27,7%, jumlah sel limfosit yang paling rendah diperoleh pada perlakuan KP(Kontrol Positif) dengan hasil yang berbeda ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan yaitu sebesar 23,3%. Nilai tertinggi sel monosit diperoleh pada perlakuan KP sebesar 81,7%, hasil yang diperoleh berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan lainnya, selanjutnya perlakuan P3 sebesar 69,7% yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan P1 sebesar 55,7% dan P2 sebesar 37,3%, namun berbeda ($p < 0,05$) dengan perlakuan terendah pada perlakuan KN sebesar 24,3%.

Sel neutrofil yang memiliki nilai tertinggi terdapat pada perlakuan KP sebesar 53% namun tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan semua perlakuan lainnya, selanjutnya P1 sebesar 43,3%, P3 sebesar 40,6%, P2 sebesar 32,3% dan perlakuan KN sebesar 23% yang merupakan perlakuan dengan nilai paling rendah. Untuk sel trombosit, nilai tertinggi dieperoleh pada

perlakuan P2 sebesar 36,6% hasil yang diperoleh berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan semua perlakuan lainnya, kemudian perlakuan P1 sebesar 30% yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan P3 sebesar 20,3%, dan KN sebesar 18,6%, namun berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan perlakuan terendah pada perlakuan KP sebesar 13,6%.

Aktivitas fagositosis

Grafik yang ditunjukkan pada Gambar 6 yakni penambahan ekstrak daun mangrove dalam pakan dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) terhadap nilai aktivitas fagositosis pada ikan mas yang diinjeksi bakteri *A. hydrophila*. Namun dapat dilihat pada grafik tersebut bahwa di peroleh nilai tertinggi aktivitas fagositosis pada perlakuan P2 sebesar 34,5%, diikuti oleh P3 sebesar 29,8%, P1 sebesar 26,6%, KN sebesar 13,6% dan nilai terendah diperoleh pada perlakuan KP sebesar 11%. Berdasarkan hasil uji lanjut menggunakan Uji Duncan, dimana P2 berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan KP, namun tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan perlakuan P3, P1, dan KN.



Gambar 6. Rata-rata Nilai Aktivitas Fagositosis Ikan Mas

Pembahasan

Eritrosit

Eritrosit merupakan sel darah merah yang memiliki jumlah sel paling banyak dalam darah. Eritrosit dapat digunakan sebagai indikator yang dapat menggambarkan kondisi tubuh ikan terhadap respon bakteri patogen yang menyerang. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, pada Gambar 1 diperoleh total nilai eritrosit pada ikan mas menunjukkan nilai tertinggi diperoleh pada perlakuan P3 dengan

dosis 2% yaitu sebesar $5,41 \times 10^6$ sel/mm³, dan nilai terbaik diperoleh pada perlakuan P2 dengan dosis ekstrak 1%, yang dimana kadar eritrosit pada perlakuan P2 ini masih dalam kisaran normal. Tingginya nilai eritrosit pada perlakuan P2 ini menunjukkan bahwa efektivitas dari bahan alami berupa ekstrak daun mangrove yang mengandung senyawa antibakteri seperti alkaloid, saponin, flavonoid, dan tannin yang bersifat antioksidan sehingga dapat merangsang sistem imun pada ikan mas, penambahan ekstrak dengan dosis 1% ini merupakan dosis yang terbaik untuk meningkatkan nilai eritrosit pada ikan mas, hal ini dikarenakan dosis tersebut dapat diserap dengan baik oleh tubuh ikan mas.

Menurut Dewanto *et al.* (2021), bahwa dengan adanya kandungan flavonoid yang bersifat antioksidan dalam ekstrak dapat menyebabkan meningkatnya jumlah eritrosit pada ikan. Sebaliknya nilai total eritrosit terendah diperoleh pada perlakuan KP (Kontrol Positif) yaitu sebesar $1,81 \times 10^6$ sel/mm³, rendahnya nilai total eritrosit pada perlakuan KP dapat terjadi akibat adanya perbedaan pertahanan daya tahan tubuh pada ikan kontrol dan ikan perlakuan yang diberikan ekstrak daun mangrove, dimana kondisi ikan dengan perlakuan kontrol ini akan lebih mudah melemah dan terinfeksi bakteri menyebabkan jumlah sel darah merah berkurang.

Menurut Anggraini *et al.* (2016), bahwa kadar eritrosit dapat dijadikan sebagai indikator yang dapat menggambarkan kesehatan ikan, dimana kadar eritrosit yang rendah dibawah kisaran normal menandakan ikan dalam kondisi anemia dan apabila kadar eritrosit yang terlalu tinggi melebihi kisaran normal menandakan ikan dalam kondisi stress. Nilai kadar eritrosit pada semua perlakuan yang diperoleh pada penelitian ini masih dalam kisaran normal dimana menurut Susandi *et al.* (2017), kadar normal eritrosit pada ikan mas berkisar antara $1,67 - 4,47 \times 10^6$ sel/mm³. Tinggi rendahnya kadar eritrosit akan berpengaruh pada kadar hemoglobin dan kadar hematokrit ikan (Wandi, 2009).

Leukosit

Leukosit merupakan sel darah putih yang memiliki peran penting sebagai sistem pertahanan tubuh pada ikan. Leukosit berfungsi sebagai indikator untuk mengetahui adanya infeksi pada tubuh ikan. Jumlah leukosit yang terdapat dalam tubuh ikan akan memproduksi leukosit lebih banyak apabila ada benda asing

yang menyerang tubuh ikan hal ini menandakan bahwa sistem imun pada ikan sedang bekerja melawan bakteri, meningkatnya jumlah leukosit menandakan efektifitas sistem pertahanan tubuh ikan dalam melawan serangan bakteri. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, pada Gambar 2 diperoleh total nilai leukosit pada ikan mas yang diberikan tambahan ekstrak daun mangrove menunjukkan nilai tertinggi diperoleh pada perlakuan P2 dengan dosis 1% sebesar $6,06 \times 10^4$ sel/mm³ dan nilai terendah diperoleh pada perlakuan KP (Kontrol Positif) sebesar $1,98 \times 10^4$ sel/mm³ yaitu perlakuan tanpa penambahan ekstrak.

Tingginya nilai leukosit pada perlakuan P2 menandakan bahwa sistem imun ikan sedang bekerja dalam melawan serangan bakteri, hal ini dapat terjadi akibat adanya rangsangan yang disebabkan oleh adanya penambahan ekstrak daun mangrove yang mengandung senyawa aktif antibakteri seperti flavonoid, tannin, dan saponin yang bekerja untuk memproduksi leukosit dengan jumlah yang lebih banyak. Proses produksi jumlah leukosit yang lebih banyak ini merupakan respon sistem pertahanan tubuh ikan akibat adanya serangan bakteri ataupun penyakit (Junaidi *et al.*, 2020). Menurut Mahenda (2021), bahwa senyawa flavonoid bekerja dengan cara merusak membran sitoplasma dan mengaktifkan sistem limfa sehingga dapat meningkatkan sel darah putih ketika benda asing masuk kedalam tubuh ikan. Nilai total leukosit yang diperoleh pada perlakuan KP tergolong rendah karena jumlah leukosit yang diperoleh pada perlakuan KP dibawah batas normal kisaran nilai leukosit pada ikan. Menurut Caesar *et al.* (2019), bahwa kadar normal nilai leukosit pada ikan berkisar antara 2×10^4 sampai 15×10^4 sel/mm³.

Hemoglobin

Hemoglobin merupakan bagian dari eritrosit yang memiliki fungsi sebagai pengangkut oksigen dan karbondioksida dalam tubuh ikan. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan kadar hemoglobin pada ikan mas yang diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila* diperoleh nilai cukup tinggi pada perlakuan KN (Kontrol Negatif) sebesar 11,7% dan nilai terendah diperoleh pada perlakuan KP sebesar 6,3%. Tingginya kadar hemoglobin pada perlakuan KN melebihi kisaran normal hemoglobin pada ikan mas, menurut Sudirman *et al.* (2021), bahwa kadar normal hemoglobin pada

ikan mas yaitu berkisar antara 4,9 – 9,65%. Laju metabolisme pada tubuh ikan akan menurun dan energi yang dihasilkan akan menjadi rendah apabila kadar hemoglobin pada tubuh ikan rendah. Menurut Septiani *et al.* (20), bahwa kadar hemoglobin yang rendah pada ikan akan menghambat laju metabolisme pada ikan sehingga menyebabkan ikan menjadi lemas dan nafsu makannya akan berkurang.

Hematokrit

Hematokrit merupakan presentase volume sel darah merah yang ada pada tubuh ikan (Saragih, 2020). Hematokrit digunakan untuk mengukur perbandingan antara sel darah merah dan plasma darah (Riastina, 2016). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan kadar hematokrit tertinggi dan terendah diperoleh pada perlakuan P2 sebesar 21,2% dan KP sebesar 20,3%, sedangkan nilai kadar hematokrit terendah diperoleh pada perlakuan KP sebesar 14,4%. Pada saat ikan mengalami kondisi stress kadar hematokrit akan menurun, Menurut Madyowati *et al.* (2018), bahwa stress pada ikan akan menyebabkan terjadinya penyimpangan fisiologis dan ketidakseimbangan hormon sehingga menyebabkan komponen dalam darah akan mengalami perubahan. Rendahnya nilai hematokrit pada perlakuan KP ini diduga karena adanya serangan bakteri *A. hydrophila*, sehingga akan berdampak terhadap terhambatnya pertumbuhan ikan. Menurut Madyowati *et al.* (2018), bahwa kadar normal hematokrit pada ikan mas berkisar antara 21,42 – 43,29%.

Pengamatan diferensial leukosit dilakukan untuk mengetahui perbandingan presentase komponen sel leukosit. Jenis – jenis sel leukosit pada ikan mas terdiri dari sel limfosit, monosit, neutrophil dan trombosit, keempat jenis sel ini dapat mengalami peningkatan dan penurunan dengan jumlah yang relatif dari sel leukosit dengan begitu dapat memberikan petunjuk kondisi tubuh ikan melawan serangan bakteri atau benda asing yang masuk kedalam tubuh ikan (Syahrial, 2019). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, nilai sel limfosit yang diperoleh berkisar antara 23,3% - 73,3%. Presentase nilai limfosit pada ikan normal berkisar antara 71,12 – 82,88% (Riswan *et al.*, 2021). Presentase nilai sel limfosit tertinggi diperoleh pada perlakuan P2 dengan dosis 1% sebesar 73,3%, tingginya presentase sel limfosit pada perlakuan ini dibandingkan dengan perlakuan lainnya dapat disebabkan oleh adanya penambahan ekstrak

daun mangrove yang memiliki senyawa antioksidan yang dapat memberikan respon positif terhadap sistem kekebalan tubuh ikan, serta jumlah dosis ekstrak yang diberikan tergolong tepat karena dapat diserap dengan baik oleh tubuh ikan. Menurut Hartika *et al.* (2014), meningkatnya jumlah sel limfosit yang dihasilkan dapat berperan cukup besar terhadap peningkatan respon imun ikan terhadap serangan penyakit dan infeksi.

Sel monosit

Sel monosit merupakan sel yang memiliki peran untuk memberikan informasi terhadap leukosit apabila ada bakteri atau benda asing yang menyerang tubuh ikan (Ridwantara *et al.*, 2019). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, nilai sel monosit cukup tinggi pada perlakuan KP sebesar 81,7% dan terendah diperoleh pada perlakuan P2 sebesar 37,3%. Pada penelitian ini ikan mas memiliki rata – rata presentase nilai sel monosit yang cukup tinggi, hal ini dapat disebabkan oleh adanya infeksi yang terjadi pada ikan. Menurut syarifah (2022), bahwa presentase jumlah monosit pada ikan akan meningkat dalam waktu yang singkat jika ikan mengalami infeksi.

Neutrofil merupakan bagian dari sel leukosit yang berperan dalam memfagosit infeksi penyakit yang disebabkan oleh suatu mikroorganisme seperti bakteri (Syarifah, 2022). Berdasarkan zhasil yang diperoleh pada penelitian ini, jumlah neutrofil pada perlakuan KP menghasilkan jumlah yang cukup tinggi. Tingginya jumlah sel pada perlakuan KP disebabkan karena adanya bakteri pada tubuh ikan sehingga ikan terinfeksi dan merangsang produksi sel neutrofil untuk memfagositosis bakteri tersebut. Pada perlakuan P2 sel neutrofil tergolong rendah, hal ini dapat terjadi akibat adanya penambahan ekstrak daun mangrove yang cukup efektif dalam menghambat infeksi patogen. Hal ini sesuai dengan pendapat Rezky *et al.*, (2023), rendahnya jumlah sel neutrofil dapat disebabkan akibat berkurangnya infeksi akibat adanya aktivitas serangan bakteri.

Meningkatnya jumlah trombosit pada ikan mas diperoleh pada perlakuan P2 sebesar 36,7%, dan terendah pada perlakuan KP sebesar 13,6%. Trombosit pada ikan memiliki fungsi yaitu sebagai penutup luka. Meningkatnya jumlah trombosit ini dapat diduga bahwa ikan tersebut mengalami pendarahan atau karena adanya luka, dengan adanya jumlah trombosit yang tinggi

menandakan ikan dalam proses penyembuhan luka (Syafar *et al.*, 2017). Menurut Rezky *et al.* (2023), bahwa trombosit sangat berperan penting dalam proses pembekuan darah dan juga memiliki fungsi sebagai pencegah hilangnya cairan tubuh akibat adanya kerusakan pada tubuh ikan, dan pada saat fase penyembuhan jumlah trombosit ini akan menurun, menandakan ikan kembali sehat.

Aktivitas fagositosis merupakan proses memakan bakteri atau benda asing oleh sel – sel fagosit yaitu sel monosit dan neutrofil (Setyani & Haditomo, 2018). Proses ini merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh ikan dalam melawan serangan bakteri atau benda asing yang masuk ke dalam tubuh ikan (Setyowati *et al.*, 2007). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh nilai aktivitas fagositosis tertinggi pada perlakuan P2 dengan dosis ekstrak 1% sebesar 34,5%. Tingginya nilai aktivitas fagositosis ikan mas pada perlakuan P2 dikarenakan adanya penambahan ekstrak daun mangrove pada pakan yang memiliki senyawa fitokimia berupa zflavonoid dan tannin yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis. Kemampuan fagositosis dapat meningkat secara cepat dalam menghancurkan antigen dan mikroorganisme intraseluler serta meningkatkan pertahanan terhadap antigen ekstraseluler karena adanya senyawa flavonoid (Sanusi, 2022). Selain itu senyawa tannin yang terkandung dalam ekstrak daun mangrove memiliki kemampuan sebagai antibakteri.

Senyawa tannin memiliki kemampuan untuk mengaktifkan enzim dan mengganggu terjadinya transport pada lapisan sel (Ta'dung *et al.*, 2023). Rendahnya nilai aktivitas fagositosis pada perlakuan KP dapat terjadi akibat infeksi yang disebabkan oleh bakter *A. hydrophila*, dimana pada perlakuan ini tidak adanya rangsangan imunostimulan karena tidak diberikan penambahan ekstrak daun mangrove yang dapat meningkatkan jumlah fagosot untuk melawan bakteri atau benda asing yang menyerang tubuh ikan. Menurut Mardiana & Budi (2017), bahwa jika nilai aktivitas fagositosis semakin rendah maka patogenitas bakteri akan semakin tinggi.

Kualitas air merupakan salah satu hal terpenting yang harus diperhatikan karena air merupakan media tempat hidup ikan, kualitas air yang buruk akan mempengaruhi kegiatan budidaya seperti pertumbuhannya akan terhambat, dan lebih rentan terserang oleh

penyakit oleh karena itu kualitas air dalam melakukan budidaya harus selalu dijaga dan diperhatikan. Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air yang diperoleh selama masa penelitian ialah, suhu berkisar antara 29,0 – 30,7°C, pH berkisar antara 6,6 – 7,1, dan oksigen terlarut (DO) berkisar antara 6,1 – 7,3 mg/L. Nilai yang didapatkan dari pengukuran kualitas air pada penelitian ini masih tergolong optimal untuk menunjang kehidupan ikan mas, hal ini sejalan dengan pendapat Darwis *et al.* (2019), bahwa kisaran suhu yang optimum bagi kehidupan ikan mas berkisar antara 25 - 32°C, pH yang optimum berkisar antara 6,5 – 8,5, dan kadar oksigen terlarut atau (DO) yang optimum bagi ikan mas yaitu >4 mg/L.

Kesimpulan

Penambahan ekstrak daun mangrove dengan dosis 1% pada ikan mas ini merupakan dosis yang tepat yang dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh pada ikan mas, dimana nilai eritrosit tertinggi diperoleh pada perlakuan P2 dengan dosis ekstrak 1% tersebut yaitu sebesar $5,41 \times 10^6$ sel/mm³, nilai leukosit pada perlakuan P2 sebesar $6,06 \times 10^4$ sel/mm³, dan kadar hematokrit pada perlakuan P2 sebesar 21,2%.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada orang tua serta seluruh teman – teman yang telah membantu kelancaran dalam penelitian ini.

Referensi

- Anggraini, R., Aliza, D., & Mellisa, S. (2016). Identifikasi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* dengan Uji Mikrobiologi pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*) yang Dibudidayakan di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar (*Doctoral Dissertation, Syiah Kuala University*).
- Caesar, NR., Yanuhar, U., Musa, M. 2019. Efek Pemberian Probiotik Terhadap Ikan Koi (*C. carpio*) yang Terinfeksi *Myxobolus* sp. *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology* 15: 60-65.
- Dewanto, D. K., Hermawan, R., Muliadin, M., Riyadi, P. H., Aisiah, S., & Tanod, W. A. (2021). Profil GC-MS Dari Ekstrak Daun *Rhizophora Apiculata* Dari Pesisir Teluk Tomini, Sulawesi Tengah dengan Aktivitas Antibakteri Dan Antioksidan. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal Of Marine Science And Technology*, 14(1), 30-42.
- Fadillah, N., Waspodo, S., & Azhar, F. (2019). Penambahan Ekstrak Daun Mangrove *Rhizophora Apiculata* pada Pakan Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*) untuk Pencegahan Vibriosis. *Journal Of Aquaculture Science*, 4(2), 91-101.
- Fitria, N., Tjong, D. H., & Zakaria, I. J. (2019). Fisiologis Darah Ikan Baung (*Hemibagrus nemurus* Blkr.). *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 6(1), 33 - 38.
- Hartika, R., Mustahal, M., & Putra, A. N. (2014). Gambaran Darah Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) dengan Penambahan Dosis Prebiotik yang Berbeda Dalam Pakan. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 4(4), 259-267.
- Junaidi, M., Azhar, F., Setyono, B. D. H., & Waspodo, S. 2020. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Mangrove (*Rhizophora Apiculata*) terhadap Performa Pertumbuhan Udang Vaname. *Buletin Veteriner Udayana*, 4(21), 198–204. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2020.v12.i02.p15>
- Kurnia, YY. N. (2021). Uji Efek Ekstrak Etanol Lidah Buaya (*Aloe Vera L.*) terhadap Aktivitas dan Kapasitas Sel Makrofag Peritoneum pada Mencit Putih Jantan. Universitas Perintis Indonesia.
- Lengka, K., Manoppo, H., & Kolopita, M. E. (2013). Peningkatan Respon Imun Non Spesik Ikan Mas (*Cyprinus Carpio L*) Melalui Pemberian Bawang Putih (*Allium Sativum*). *E-Journal Budidaya Perairan*, 1(2), 21-28.
- Madyowati, S. O., & Muhajir. 2018. Respon Stressor Kepadatan Ikan Mas (*Cyprinus carpio L*) Setelah Diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda* Secara Buatan Terhadap Nilai Hematokrit. *Prosiding Seminar Nasional Kelautan dan Perikanan IV*, 316–32.
- Mutik, M. S., Sibero, M. T., Widianingsih, W., Subagiyo, S., Pribadi, R., Haryanti, D., ... & Murwani, R. (2022). Kandungan Senyawa Bioaktif dan Aktivitas Biologis Ekstrak Daun *Rhizophora Apiculata* Asal

- Perairan Teluk Awur, Jepara. *Jurnal Kelautan Tropis*, 25(3), 378-390.
- Riastina, R. (2016). Pengaruh Pemberian Simplisia Lidah Buaya (*Aloe Vera*) Terhadap Diferensial Leukosit dan Jumlah Eritrosit pada Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*). (Doctoral Dissertation, Universitas Muhammadiyah Purwokerto).
- Ridwantara, D., Buwono, I. D., Suryana, A. A. H., Lili, W., & Suryadi, I. B. B. (2019). Uji Kelangsungan Hidup dan Pertumbuhan Benih Ikan Mas Mantap (*Cyprinus Carpio*) pada Rentang Suhu yang Berbeda. *Jurnal Perikanan Kelautan*, 10 (1), 46 - 54.
- Riswan, M., Lukistyowati, I., & Syawal, H. 2021. Diferensiasi Leukosit Ikan Komet (*Carassius auratus*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan Pascapengobatan dengan Larutan Propolis Leukocytes. *Jurnal Natur Indonesia*, 19(April), 6–12.
- Royan, F., Rejeki, S., & Haditomo, A. H. C. (2014). Pengaruh Salinitas yang Berbeda Terhadap Profil Darah Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*). *Journal Of Aquaculture Management And Technology*, 3(2), 109-117.
- Saniswan, Y. (2019). Pengaruh Penggunaan Sistem Bioremediasi Dengan Penambahan Probiotik pada Media Pemeliharaan Terhadap Pertumbuhan Benih Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*). (Doctoral Dissertation, Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan).
- Sanusi, W. H. P. (2022). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia Calabura L*) untuk Pengobatan Infeksi Jamur *Saprolegnia sp* pada Benih Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*). (Doctoral Dissertation, Universitas Islam Riau).
- Saptiani, G., Asikin, A. N., Ardhani, F. & Hardi, E. H., 2018. Tanaman Bakau Apiapi Putih (*Avicenia Marina*) Berpotensi Menghambat Mikrob Patogen dan Melindungi Post Larva Udang Windu. *Jurnal Veteriner*, 19(1), 45-54.
- Saragih, N. (2020). Pemanfaatan Ekstrak Bawang Putih (*Allium Sativum*) Dalam Pakan Sebagai Probiotik untuk Benih Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*). (Doctoral Dissertation, Universitas Dharmawangsa).
- Setyani, R., & Haditomo, A. H. C. (2018). Pengaruh Perendaman Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus Acidus L Skeels*) Terhadap Total Eritrosit dan Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila*. *Journal Of Aquaculture Management And Technology*, 7(1), 114-119
- Setyowati D. N., Hardaningsih I., Priyono S. B. (2007). Sintasan dan Pertumbuhan Benih Pasca Larva Beberapa Subspesies Gurami (*Oshpronemus goramy*). *Jurnal Perikanan*.9:149–153.
- Sudirman, I., Syawal, H., & Lukistyowati, I. 2021. Profil Eritrosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio L*) yang Diberi Pakan Mengandung Vaksin *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Ilmu Perairan (Aquatic Science)*, 9(2), 144–151.
<https://doi.org/10.31258/jipias.9.2.p.144-151>.
- Susandi, F., Mulyana, M., & Rosmawati, R. (2017). Peningkatan Imunitas Benih Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy Lac.*) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* Menggunakan Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*). *Jurnal Mina Sains*, 3(2), 1-13.
- Syafar, L. A., Gusnanti, M Dan Fedik, A. R. (2017). Blood Description Parasite Infestation and Survival Rate of Carp (*Cyprinus Carpio*) Which Is Exposed Byspore Protein Myxobolus Koi On Rearing Pond As Immunostimulan Material. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. Vol. 19(2) : 1-18
- Syahrial, S. (2019). Studi Komparatif Morfologi Mangrove *Rhizophora Apiculata* pada Kawasan Industri Perminyakan dan Kawasan Non Industri Provinsi Riau. *Maspari Journal: Marine Science Research*, 11(1), 31-40.
- Syarifah, G. A. (2022). Identifikasi dan Prevalensi Ektoparasit pada Ikan Mas (*Cyprinus Carpio, Linnaeus*) di Kolam Budi Daya Kedaung. (Bachelor's Thesis, Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta).
- Wandi, E. (2009). Deskripsi Hematologi Ikan Kelemak (*Lebto barbushoevenii*) yang Dikultur di Dalam Keramba. (Doctoral disertation, Universitas Riau).