

**PENGUNAAN KOMBINASI MADU DAN PATIKAN KERBAU (*Euphorbia hirta*)
DALAM MENGOBATI IKAN LELE (*Clarias sp.*) YANG TERINFEKSI BAKTERI
*Aeromonas hydrophila***

SKRIPSI

Oleh

**Virginia Novena Hardiman
1913010035**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PETERNAKAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS NUSA CENDANA
KUPANG
NOVEMBER 2023**

**PENGUNAAN KOMBINASI MADU DAN PATIKAN KERBAU (*Euphorbia hirta*)
DALAM MENGOBATI IKAN LELE (*Clarias sp.*) YANG TERINFEKSI BAKTERI
*Aeromonas hydrophila***

SKRIPSI

**Diajukan pada Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa
Cendana – Kupang untuk memenuhi sebagian persyaratan guna memperoleh gelar
Sarjana Perikanan (S. Pi)**

Oleh

**Virginia Novena Hardiman
1913010035**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PETERNAKAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS NUSA CENDANA
KUPANG
NOVEMBER 2023**

LEMBARAN PEMERIKSAAN

Mahasiswa dengan

Nama : Virginia Novena Hardiman

NIM : 1913010035

telah melaksanakan penelitian dengan

Judul : PENGGUNAAN KOMBINASI MADU DAN PATIKAN KERBAU (*Euphorbia hirta*) DALAM MENGOBATI IKAN LELE (*Clarias sp.*) YANG TERINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

dan telah diuji oleh Dewan Penguji.

Seluruh isi dalam Karya Ilmiah ini telah diperiksa dan disetujui oleh

Pembimbing I



Dr. Yuliana Salosso, S.Pi., MP
NIP. 19750701 199903 2 001

Pembimbing II



Wesly Pasaribu, S.Pi., M.Si
NIP. 19930413 201903 1 002

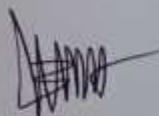
MENGETAHUI

Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan
Dekan,



Dr. H. Annel P. Manu, MP
NIP. 19680416 199203 1 002

Program Studi Budidaya Perairan
Koordinator,



Dr. Yuliana Salosso, S.Pi., MP
NIP. 19750701 199903 2 001



LEMBARAN PENGESAHAN

Mahasiswa dengan

Nama : Virginia Novena Hardiman
 NIM : 1913010035
 Judul Karya Ilmiah : Penggunaan Kombinasi Madu Dan Patikan Kerbau (*Euphorbia hirta*)
 Dalam Mengobati Ikan Lele (*Clarias sp.*) Yang Terinfeksi Bakteri
Aeromonas hydrophila

Di bawah bimbingan

Pembimbing satu : Dr. Yuliana Salosso, S.Pi.,MP
 Pembimbing dua : Wesly Pasaribu, S.Pi.,M.Si

Telah diuji oleh Dewan Penguji Karya Ilmiah Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana dan dinyatakan sah untuk memenuhi sebagian persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Perikanan (S.Pi) pada 17 November 2023 di Kampus Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana, Kupang.

Dewan Penguji

1. Penguji I: Dr. Yuliana Salosso, S.Pi.,MP (.....)
2. Penguji II: Wesly Pasaribu, S.Pi.,M.Si (.....)
3. Penguji III: Dr. Yudianta Jasmanindar, S.Pi.,M.Si (.....)

Kupang, 17 November 2023

Mengesahkan
 Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana, Kupang
 Dekan,



Dr. Arrol E. Manu, M.P
 NIP. 19680416 199203 1 002

PERNYATAAN AUTENTIK KARYA ILMIAH DAN SUMBER INFROMASI

Dengan ini saya menyatakan bahwa Karya Ilmiah yang berjudul: **PENGGUNAAN KOMBINASI MADU DAN PATIKAN KERBAU (*Euphorbia hirta*) DALAM MENGOBATI IKAN LELE (*Clarias sp.*) YANG TERINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

adalah benar merupakan hasil karya sendiri, data primer yang dicantumkan merupakan hasil yang diperoleh dari penelitian sendiri, dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Semua sumber data dan informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka dibagian akhir Karya Ilmiah ini. Bila dikemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia tanpa mengajukan banding menerima sanksi berupa pembatalan nilai hasil keseluruhan dari Karya Ilmiah, pencabutan gelar kesajaraan, dan pembatalan serta penarikan ijazah sarjana dan transkrip yang telah saya terima.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Nusa Cenada, Kupang.

Kupang, 17 November 2023



Virginia Novena Hardiman
NIM. 1913010035

PERSEMBAHAN

Skripsi ini Dipersembahkan kepada :

1. Dengan ini saya mempersembahkan skripsi saya kepada Tuhan Yang Maha Esa yang senantiasa memberkati setiap langkah saya sampai saat ini sehingga Skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Kedua orang tua tercinta Mama Yuliana Ibus, Almh. Bapa Siprianus Hadin, kakak Viki Hardiman, adik-adik saya Vami Hardiman, Epifiano Hardiman, Sandra Hardiman
3. Teman-teman terkasih Olga Mardiansa Pingga, Maksima Jumina, Jesika Liunokas, Nata, Ayu, Elsa, Ocin, Bruno, Naldo dan teman-teman seperjuangan BDP 2019.
4. Almamater Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana.
5. Terkhusus kepada diri saya sendiri karena telah berjuang sampai pada titik ini sehingga saya dapat mencapai cita-cita saya untuk meraih gelar sarjana dan membanggakan orang tua saya.

MOTTO :

“Pikulah kuk yang Kupasang dan belajarliah kapadaKu, karena Aku lemah lembut dan rendah hati dan jiwamu akan mendapat ketenangan sebab kuk yang kupasang itu enak dan beban-Kupun ringan (Matius 11:29-30)”

RINGKASAN

VIRGINIA NOVENA HARDIMAN. Penggunaan Kombinasi Madu dan Patikan Kerbau (*Euphorbia hirta*) Dalam Mengobati Ikan Lele (*Clarias sp.*) Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Dibimbing oleh Dr. Yuliana Salosso, S.Pi.,MP dan Wesly Pasaribu, S.Pi.,M.Si

Bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah penyakit ikan yang dapat menimbulkan kerugian secara finansial bagi pembudidaya. Penggunaan antibiotik untuk menengobati ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* telah dilakukan akan tetapi dapat menimbulkan masalah bagi lingkungan dan resisten penyakit. Alternatif yang dapat digunakan adalah menggunakan bahan herbal. Madu dan *Euphorbia hirta* adalah bahan herbal yang mengandung senyawa yang bersifat antibakteri, antioksidan, dan antimikroba yang telah terbukti dapat menyembuhkan ikan yang terinfeksi bakteri.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh kombinasi madu dan *E. hirta* terhadap ikan lele (*Clarias sp.*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Ikan lele yang digunakan dalam penelitian ini diinfeksi secara injeksi intramuskular dengan 0,1 ml suspensi *A. hydrophilu* 1×10^8 cfu/ml. Setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* ikan kemudian diobati menggunakan kombinasi madu dan *E. hirta*. Pengobatan dibagi dalam tiga perlakuan yaitu perlakuan A:2 : 1 (1 liter madu & 500 ml air rebusan patikan kerbau), perlakuan B: 1,5 : 1,5 (750 ml madu & 750 ml air rebusan patikan kerbau), perlakuan C:1 : 2 (500 ml madu & 1 liter air rebusan patikan kerbau), dan kontrol. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah gejala klinis, hematology (eritrosit, leukosit, dan hemoglobin), dan gejala klinis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi madu dan *E. hirta* dapat menyembuhkan ikan lele (*Clarias sp.*) yang terinfeksi *A. hydrophila* dimana ikan lele gejala klinis yang ditimbulkan oleh infeksi bakteri *A. hydrophila* kembali membaik setelah dilakukan pengobatan. Total eritrosit pada perlakuan A ($2,37 \pm 5,7$ sel/ μ l), B ($2,23 \pm 5,7$ sel/ μ l), dan C ($2,27 \pm 1,5$ sel/ μ l) mengalami kenaikan setelah dilakukan pengobatan jika dibandingkan pada perlakuan kontrol negatif ($1,73 \pm 1,5$ sel/ μ l) . Total hemoglobin pada perlakuan ($12 \pm 0,11$ g/dL), B ($11 \pm 0,52$ g/dL), dan C ($11 \pm 0,36$ g/dL) menalami kenaikan setelah dilakukan pengobatan jika dibandingkan pada perlakuan kontrol negatif ($9 \pm 0,11$ g/dL). Total leukosit pada perlakuan A ($32,2 \pm 1,5$ sel/ μ l), B ($29,87 \pm 1,0$ sel/ μ l), dan C ($29,7 \pm 1,5$ sel/ μ l) mengalami penurunan setelah dilakuakn pengobatan jikan dibandingkan pada perlakuan kontrol negatif ($35,3 \pm 2,5$ sel/ μ l). Senyawa antibakteri dan senyawa bioaktif yang terkandung dalam madu dan patikan kerbau dapat meningkatkan sistem imun sehingga dapat mengurangi kematian pada ikan dan meningkatkan tingkat kelangsungan hidup ikan.

Diharapkan kedepannya pada penelitian yang sama dapat menggunakan ekstrak tumbuhan patikan kerbau (*E. hirta*) yang dikombinasikan dengan madu untuk membandingkan keefektifannya dalam mengobati ikan lele yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* serta dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan skala yang lebih besar dilapangan dan dengan waktu yang lama.

Kata kunci : *Clarias sp*, Madu, *Euphorbia hirta*, *Aeromonas hydrophila*

SUMMARY

VIRGINIA NOVENA HARDIMAN. Use of Honey and Patikan Kerbau (*Euphorbia hirta*) Combination in Treating Catfish (*Clarias* sp.) Infected with *Aeromonas hydrophila* Bacteria. Supervised by Dr. Yuliana Salosso, S.Pi., MP and Wesly Pasaribu, S.Pi., M.Si.

Aeromonas hydrophila bacteria is a fish killer that can cause financial losses to farmers. The use of antibiotics to treat fish infected with *A. hydrophila* bacteria has been done but can cause problems for the environment and disiacce resistance. An alternative that can be used is to use herbal ingredients. Honey and *Euphorbia hirta* are herbal ingredients that contain antibacterial, antioxidant, and antimicrobial compounds that have been proven to cure fish infected with bacteria.

This research was conducted to determine the effect of the combination of honey and *E. hirta* on catfish (*Clarias* sp.) infected with *A. hydrophila* bacteria. The catfish used in this study were infected by intramuscular injection with 0.1 ml of *A. hydrophila* suspension 1×10^8 cfu/ml. After being infected with *A. hydrophila* bacteria, the fish were then treated using a combination of honey and *E. hirta*. Treatment was divided into three treatments, namely treatment A: 2 : 1 (1 litre honey & 500 ml *E. hirta* decoction water), treatment B: 1,5 : 1.5 (750 ml honey & 750 ml water of *E. hirta* decoction), treatment C: 1: 2 (500 ml honey & 1 litre water of *E. hirta* decoction), and control. The parameters observed in this study were clinical symptoms, haematology (erythrocytes, leucocytes, and haemoglobin), and clinical symptoms.

The results showed that the combination of honey and *E. hirta* can cure catfish (*Clarias* sp.) infected with *A. hydrophila* where catfish clinical symptoms caused by *A. hydrophila* bacterial infection improved after treatment. Total erythrocytes in treatment A (2.37 ± 5.7 cells/ μ l), B (2.23 ± 5.7 cells/ μ l), and C (2.27 ± 1.5 cells/ μ l) increased after treatment when compared to the negative control treatment (1.73 ± 1.5 cells/ μ l). Total haemoglobin in treatments A (12 ± 0.11 g/dL), B (11 ± 0.52 g/dL), and C (11 ± 0.36 g/dL) increased after treatment when compared to the negative control treatment (9 ± 0.11 g/dL). Total leucocytes in treatments A (32.2 ± 1.5 cells/ μ l), B (29.87 ± 1.0 cells/ μ l), and C (29.7 ± 1.5 cells/ μ l) decreased after treatment compared to the negative control treatment (35.3 ± 2.5 cells/ μ l). Antibacterial compounds and bioactive compounds contained in honey and *E. hirta* can increase the immune system so that it can reduce mortality in fish and increase the survival rate of fish.

It is hoped that in the future the same research can use *E. hirta* plant extract (*E. hirta*) combined with honey to compare its effectiveness in treating catfish infected with *A. hydrophila* bacteria and further research can be carried out on a larger scale in the field and with a long time.

Keywords: *Clarias* sp, Honey, *Euphorbia hirta*, *Aeromonas hydrophila*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan Cinta-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi dengan judul “Penggunaan Kombinasi Madu dan Patikan Kerbau (*Euphorbia hirta*) Dalam Mengobati Ikan Lele (*Clarias* sp.) Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*”. Skripsi ini ditulis dan disusun berdasarkan hasil penelitian yang menjadi salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan pada Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan Universitas Nusa Cendana.

Penulis sangat menyadari bahwa selama penelitian dan penulisan skripsi begitu banyak tantangan dan hambatan yang telah dialami dan dilewati. Namun berkat kerja keras dan dukungan dari berbagai pihak, tantangan dan hambatan dapat teratasi. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi. Ucapan terima kasih terasa tak cukup melihat begitu banyak tangan yang membantu, sekiranya Doa dan Berkat Tuhan menyertai langkah hidup. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Dr. Ir. Arnol E. Manu, MP selaku Dekan Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan Universitas Nusa Cendana serta Wakil Dekan bidang akademik dan kemahasiswaan Dr. Ir. Edi Djoko Sulistijo, MP yang telah membantu penulis dalam urusan-urusan akademik, administrasi maupun kemahasiswaan selama mengikuti kuliah.
2. Dr. Yuliana Salosso, S.Pi., MP selaku Koordinator Prodi Budidaya Perairan, Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan atas kesediaan membagi waktu dalam mengurus segala administrasi demi terselesainya tulisan ini dan seluruh kesan yang baik selama masa perkuliahan Tuhan memberkati.
3. Dr. Yuliana Salosso, S.Pi., MP selaku pembimbing I dan Wesly Pasaribu, S.Pi.,M.Si selaku pembimbing II yang dengan sabra membimbing, meluangkan waktu, tenaga dan ilmunya dalam membantu penulis menyelesaikan skripsi ini.
4. Dr. Yudiana Jasmanindar, S.Pi.,M.Siselaku penguji yang sudah memberikan banyak usulan dan saran dalam melengkapi penulisan skripsi ini.
5. Wesly Pasaribu, S.Pi.,M.Si selaku Dosen Penasehat Akademik yang telah memberikan saran dan bantuan selama Penulis berada di bangku kuliah.
6. Dosen Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan khususnya Program Studi Budidaya Perairan, yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta dorongan dalam memberikan arahan yang bermanfaat dan membimbing penulis selama perkuliahan, dan

para Pegawai yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan segala urusan administrasi, sehingga semuanya terselesaikan.

7. Kedua orang tua tercinta Mama Yuliana Ibus, Almh. Bapa Siprianus Hadin, kakak Viki Hardiman, adik-adik saya Vami Hardiman, Epifiano Hardiman, Sandra Hardiman yang sudah memberikan banyak dukungan, motivasi dan doa yang tulus kepada penulis.
8. Sahabat terkasih Olga Mardiansa Pingga, Maksima Jumina, Jesika Liunokas, Nata, Ayu, Elsa, Ocín, Naldo dan Bruno yang selalu memberikan motivasi, dukungan dan doa kepada penulis.
9. Teman-teman Seperjuangan BDP 2019 untuk teman tersayang yang selalu membantu penulis selama menuntut ilmu di almamater tercinta.
10. Terakhir, saya ingin berterima kasih kepada diri saya, karena telah percaya pada diri sendiri, terima kasih padaku karena telah melakukan semua kerja keras ini, terima kasih karena tidak pernah berhenti berjuang.

Penulis menyadari penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis berharap agar adanya usul dan saran yang membangun demi menyempurnakan tulisan ini. Akhir kata atas perhatiannya penulis ucapkan terima kasih.

Kupang, 17 November 2023

Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana Kupang

Virginia Novena Hardiman

RIWAYAT HIDUP



Nama Lengkap : Virginia Novena Hardiman
Tempat/tanggal lahir : Wae Mata, 26 Juli 2001
Jenis kelamin : Perempuan
Alamat : Jl. Herman Yohanes, Desa Penfui Timur,
Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten
Kupang, Provinsi Nusa Tenggara Timur
Nomor HP : 081245825507
Nama ayah/ibu : Almh. Siprianus Hadin/Yuliana Ibus
Riwayat Pendidikan : SDI Wae Nakeng
Sekolah Dasar : SDI Wae Nakeng
Sekolah Lanjutan Tingkat Pertama : SMP NEGERI 1 Lembor
Sekolah Menengah Umum : SMAK St. Familia Wae Nakeng, Lembor
Perguruan Tinggi : Universitas Nusa Cendana

DAFTAR ISI

LEMBARAN PEMERIKSAAN.....	Error! Bookmark not defined.
LEMBARAN PENGESAHAN	i
PERNYATAAN AUTENTIK KARYA ILMIAH DAN SUMBER INFROMASI	ii
PERSEMBAHAN.....	iv
RINGKASAN.....	v
SUMMARY	vi
KATA PENGANTAR	vii
RIWAYAT HIDUP	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan.....	3
D. Manfaat	3
E. Hipotesis	3
II. Tinjauan Pustaka	4
A. Ikan Lele	4
1. Klasifikasi dan Morfologi Ikan Lele (<i>Clarias</i> sp.)	4
2. Kebiasaan Makan.....	4
B. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	5
1. Klasifikasi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	5
2. Habitat <i>Aeromonas hydrophila</i>	6
C. Tanaman Patikan Kerbau	7
1. Klasifikasi Tanaman Patikan Kerbau.....	7
2. Morfologi Tanaman Patikan Kerbau.....	8
3. Kandungan senyawa aktif Tanaman Patikan Kerbau.....	8
4. Pemanfaatan Tanaman Patikan Kerbau Sebagai Obat Ikan.....	9
1. Kandungan Senyawa Aktif Madu.....	9
2. Penggunaan Madu Sebagai Bahan Antibakteri.....	10
3. Uji fitokimia bahan kombinasi MSadu dan <i>E. hirta</i>	10
E. Hematologi Ikan	11
III. Metode Penelitian	13
A. Waktu dan Tempat.....	13

B. Alat dan Bahan	13
C Prosedur Penelitian.....	13
1. Aklimatisasi dan Pemeliharaan Ikan.....	13
2. Pembuatan Air Rebusan Tanaman Patikan Kerbau	13
3. Pengenceran Madu.....	14
4. Kultur Bakteri	14
5. Infeksi Bakteri Pada Ikan Lele.....	14
6. Pengobatan Ikan Patin Menggunakan Patikan Kerbau dan Madu Hutan Kefa	14
7. Pengambilan Darah.....	14
D. Parameter Yang Diamati	15
1. Gejala klinis	15
2. Hematologi.....	15
3. Kelulushidupan	15
E. Rancangan Penelitian	15
F. Analisis Data.....	16
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	17
A. Gejala Klinis	17
B. Hematologi.....	19
1. Eritrosit	19
2. Hemoglobin.....	20
3. Leukosit.....	22
C. Tingkat Kelangsungan Hidup.....	23
V. PENUTUP	25
A. Kesimpulan	25
B. Saran.....	25
DAFTAR PUSTAKA.....	26
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Bahan aktif kombinasi madu dan <i>E. Hirta</i>	10
Tabel 2 Gambaran gejala klinis ikan lele <i>Clarias sp</i>	17
Tabel 3 Tingkat kelangsungan hidup ikan lele (<i>Clarias sp</i>) selama penelitian	23

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Ikan lele (<i>Clarias sp</i>).....	4
Gambar 2 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	5
Gambar 3 Daun Patikan Kerbau (<i>E. hirta</i>)	7
Gambar 4 Diagram rata-rata eritrosit selama penelitian	19
Gambar 5 Rata-rata jumlah hemoglobin selama penelitian.....	21
Gambar 6 . Diagram rata-rata leukosit selama penelitian.....	22

DAFTAR LAMPIRAN

1.	Lampiran 1 Hasil Uji	39
2	Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian.....	45

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Ikan lele (*Clarias* sp.) merupakan salah satu komoditas perikanan yang dapat dibudidayakan dengan prospek yang baik dalam skala industri dan rumah tangga (Jatnika *et al.*, 2014). Berdasarkan data produksi ikan lele (*Clarias* sp.) pada tahun 2020 menjadikan ikan lele sebagai ikan komoditas air tawar yang banyak dibudidayakan dengan jumlah produksi sebesar 347.511,48 ton (KKP, 2020). Namun terdapat hambatan dalam budidaya ikan lele karena disebabkan penyakit (Nainggolan *et al.*, 2021)

Penyakit ikan dapat disebabkan oleh infeksi bakteri dan jamur dan faktor lingkungan lainnya (kualitas air yang buruk) dan dapat menyebabkan kematian massal pada ikan budidaya sehingga menimbulkan dampak negatif baik secara ekonomi maupun ekologi (Dar *et al.*, 2020). Bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat menginfeksi berbagai ikan yang hidup di air tawar dan muara (Ture *et al.*, 2022). Ikan yang dapat terserang bakteri *A. hydrophila* adalah ikan nila (Manurung, 2017), ikan gurami (Mulia, 2016), ikan siam (Olga *et al.*, 2020), dan ikan lele (Wulandari *et al.*, 2019).

Aeromonas spp. merupakan bakteri gram negatif, basil motil atau batang basil cocco, tidak membentuk spora dengan ujung membulat berukuran 13,5 μ m dan termasuk dalam keluarga *Aeromonadaceae* dari Gammaproteobacteria dan bersifat patogen terhadap ikan (Pekala-Safińska, 2018; Semwal *et al.*, 2023). Infeksi *A. hydrophila* menyebabkan gejala seperti septikemia hemoragik, pembengkakan pada perut ikan, eksoptalmia atau mata menonjol, dan terjadi pembusukan pada sirip dan ekor, pendarahan pada tubuh ikan dan terjadi kerusakan pada ginjal dan hati (Austin B & Austin D, 1993; Jhingran and Das, 1990).

Upaya pengobatan pada ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* telah banyak dilakukan seperti penggunaan antibiotik dan bahan kimia (Raffi & Suresh, 2011). Penggunaan antibiotik yang berlebihan akan menyebabkan berbagai gen resisten antibiotik sehingga menyebabkan pencegahan dan pengendalian menjadi lebih sulit (Piotrowska & Popowska, 2014; Preena *et al.*, 2020). Pemanfaatan bahan herbal dapat dilakukan untuk meningkatkan pencegahan dan pengobatan penyakit ikan (Pasaribu & Djonu, 2021). Efek terauteknik dari farmakologis pada herbal atau tanaman obat menyebabkan tanaman dapat digunakan untuk pengobatan (Chang, 2000; Caruso *et al.*, 2013). Jamu atau tanaman obat dan penggunaannya

adalah pendekatan instan, mudah tersedia, hemat biaya, efisien dan ramah lingkungan untuk pengembangan patrik akuakultur moderen yang berkelanjutan (Semwal *et al.*, 2023).

Madu merupakan bahan alami yang dapat digunakan sebagai agen antimikroba dan penyembuh luka (Almasaudi, 2021; Ganjewala *et al.*, 2014). Berbagai komponen yang berkontribusi pada khasiat antibakteri madu diantaranya ialah kandungan gula; senyawa polifenol; hidrogen peroksida; 1,2- senyawa dikarbonil; dan lebah defensin (Almasaudi, 2021). Komponen-komponen diatas dapat bekerja secara sinergis sehingga memungkinkan madu menjadi kuat melawan berbagai mikroorganisme termasuk bakteri yang resisten terhadap berbagai obat (Almasaudi, 2021). Bahan herbal lainnya yang dapat digunakan adalah daun patikan kerbau (*Euphorbia hirta*). Daun patikan kerbau berpotensi sebagai agen antibakteri karena mengandung alkaloid, flavonoid, fenol dan tanin yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri (Mahmud *et al.*, 2016). Pada pengujian antibakteri yang dilakukan Rettanata *et al.*, (2014) ekstrak air dan etanol *E. hirta* cukup menghambat *A. hydrophila* (masing-masing 24,76% dan 27,94%).

Kombinasi beberapa ekstrak tanaman dapat meningkatkan aktivitas antioksidan (Abderrahim *et al.*, 2019). Studi mengungkapkan bahwa tanaman obat dan campuran madu juga dapat memerangi resistensi multi obat dari isolate bakteri dan menunjukkan potensi untuk menjadi sumber senyawa pengubah resistensi antibiotic (Oluyeye *et al.*, 2019; Tariq *et al.*, 2014).

Untuk penggunaan yang optimal pada ikan, madu harus dikombinasikan dengan *E. hirta* yang kandungan bahan aktifnya lebih banyak (Salosso, Ressie, *et al.*, 2023). Kombinasi madu dan paikan kerbau (*Euphorbia hirta*) perlu dilakukan agar dapat mengetahui pengaruh aktivitas antibakteri pada ikan lele (*Clarias sp.*) yang terinfeksi *A. hydrophila* jika kedua bahan tersebut dikombinasi.

B. Rumusan Masalah

Hasil penelitian yang dilakukan Salosso, (2019a) menunjukkan bahwa Madu hutan juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *A. hydrophila* dan *V. alginoliticus* dengan zona hambat yang berbeda karena semua madu hutan berasal dari Pulau Timor mengandung alkaloid, saponin, steroid, dan terpenoid, kecuali madu Kefa yang tidak mengandung steroid dan terpenoid. Hasil pengamatan uji konsentrasi bakterisida minimum (KMB) yang dilakukan oleh Assidqi, (2021) menunjukkan bahwa konsentrasi minimum ekstrak patikan kerbau yang menunjukkan aktivitas membunuh *A. hydrophila* adalah 0,312%. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk menemukan perbandingan kombinasi kedua bahan tersebut: madu

dan ekstrak daun kerbau (*Euphorbia hirta*). Berdasarkan uraian diatas yang menjadi rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah penggunaan kombinasi madu dan patikan kerbau (*Euphorbia hirta*) mampu mengobati ikan lele (*Clarias sp.*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*?
2. Berapakah perbandingan kombinasi madu dan patikan kerbau (*Euphorbia hirta*) yang mampu mengobati ikan lele (*Clarias sp.*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*?

C. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Untuk mengetahui pengaruh penggunaan kombinasi madu dan patikan kerbau (*Euphorbia hirta*) mampu mengobati ikan lele (*Clarias sp.*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*
2. Untuk mengetahui perbandingan kombinasi madu dan patikan kerbau (*Euphorbia hirta*) yang dapat mengobati ikan lele (*Clarias sp.*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*.

D. Manfaat

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah untuk menambahkan pengetahuan dan memberikan kontribusi dalam mengembangkan pengetahuan budidaya perikanan khususnya bidang penanggulangan dan pengobatan penyakit menggunakan bahan herbal yang aman bagi ikan.

E. Hipotesis

Pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau (*Euphorbia hirta*) dapat mengobati ikan lele (*Clarias sp.*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Ikan Lele

Ikan lele (*Clarias sp.*) adalah salah satu komoditas ikan air yang memiliki banyak peminat Indonesia sehingga menyebabkan produksi setiap tahunnya mengalami kenaikan (Anis & Hariani, 2019).

1. Klasifikasi dan Morfologi Ikan Lele (*Clarias sp.*)

Klasifikasi ikan lele (*Clarias sp.*) berdasarkan taksonomi yang dikemukakan oleh Weber de Beaufort (1965) dalam (Suyanto, 2007) adalah sebagai berikut

Phylum	: Chordata
Class	: Pisces
Ordo	: Ostariophysi
Subordo	: Siluro
Family	: Claridae
Genus	: <i>Clarias</i>
Spesies	: <i>Clarias sp.</i>



Gambar 1 Ikan lele (*Clarias sp.*)

Secara umum ikan lele (*Clarias sp.*) memiliki tubuh yang licin, tidak bersisik, dan memiliki kumis. Lele memiliki kepala yang panjang (Mutalib, 2017). Mulut ikan lele terletak pada ujung moncong (terminal), dan dilengkapi dengan empat buah kumis (Nofian & Andriyanto, 2006). Ikan lele memiliki tiga buah sirip tunggal, yakni sirip punggung (*dorsal*), sirip ekor (*caudal*), dan sirip dubur (*anal*) (Nofian & Andriyanto, 2006).

2. Kebiasaan Makan

Ikan lele diklasifikasikan sebagai omnivora namun ada juga yang diklasifikasikan sebagai karnivora, karena makanan utama bersifat hewani dan tumbuhan mulai dari yang ukurannya kecil hingga yang besar dan juga terkadang bersifat kanibalisme (Astriana *et al.*, 2021)

Ikan lele adalah pemakan hewan dan pemakan bangkai (*carnivorousscavanger*) berupa binatang-binatang renik, seperti kutu-kutu air (*Daphnia*, *Cladocera*, *Copepoda*), cacing, larva (jentik-jentik serangga), siput kecil dan sebagainya (Mulia & Vauziyyah, 2021). Ikan ini biasanya mencari makanan di dasar perairan, tetapi bila ada makanan yang terapung maka lele juga dengan cepat memakannya (Mulia & Vauziyyah, 2021).

B. Bakteri *Aeromonas hydrophila*

1. Klasifikasi Bakteri *A. hydrophila*

Klasifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* yang dikemukakan oleh Chester, 1901 dalam (Stanier, 1943) adalah sebagai berikut

Kingdom	: Bakteria
Subkingdom	: Nagibakteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Aeromonadales
Family	: Aeromonadaceae
Genus	: Aeromonas Stanier
Sepecies	: <i>Aeromonas hydrophila</i>



Gambar 2 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

(Sumber : <https://www.itis.gov/>)

A. Hydrophila adalah bakteri Gram-negatif, fermentatif, berbentuk batang, berukuran 0,8-1,0x1,0-3,5 m, dengan flagel kutub tunggal (Austin B & Austin D, 2007). *Aeromonas hydrophila* merupakan kelompok bakteri patogen dengan tingkat virulensi yang tinggi (Chopra *et al.*, 2000). Tingkat virulensi dapat ditentukan oleh kemampuan bakteri untuk menghasilkan enzim spesifik dan toksin yang berperan dalam proses invasi dan infeksi (Agustin, 2016). *A. hydrophila* menghasilkan virulensi, kitinase, lesitinase, dan hemolisin bekerja untuk mendegradasi jaringan (Del Corral *et al.*, 1990) mengakibatkan tubuh ikan menjadi kemerahan, terjadi pendarahan pada permukaan tubuh ikan dan luka borok yang berakhir pada kematian ikan (Mangunwardoyo *et al.*, 2016).

Indikasi klinis seperti kehilangan keseimbangan, gerakan abnormal, lesi kemerahan pada dasar sirip dan daerah anus dan lesi putih keabu-abuan yang meluas hingga sirip ekor diamati pada setiap kelompok ikan yang disuntik secara intramuskular dalam keadaan hampir mati (Ali *et al.*, 2014).. Hati ditemukan membesar, setelah pembedahan ikan yang baru mati (Ali *et al.*, 2014). Dipercaya sebagai penyebab septikemia hemoragik yang fatal dan sindrom ulseratif epizootik (EUS), yang ditandai dengan gejala internal seperti akumulasi cairan asketis, kerusakan organ, anemia, terutama pada ginjal dan hati, serta gejala eksternal seperti lecet, abses, pendarahan insang dan dubur, eksoftalmos, penonjolan sisik, busuk ekor dan busuk sirip (M. Rahman *et al.*, 2007; M. H. Rahman *et al.*, 1997).

2. Habitat *Aeromonas hydrophila*

Aeromonas hydrophila adalah bakteri air tawar, fakultatif anaerobik (Semwal *et al.*, 2023). Anggota genus ini ditemukan tersebar luas di habitat aslinya seperti tanah, air tawar dan air payau, dan air limbah (Araujo *et al.*, 1991). Spesies *Aeromonas* jugadapat ditemukan di berbagai habitat perairan dan lingkungan termasuk sedimen, muara, rumput laut, air bekas, air minum dan makanan (Martínez-Murcia *et al.*, 2008; Matyar *et al.*, 2007).

A. hydrophila memiliki habitat alami di perairan dan dapat tumbuh subur pada suhu berkisar antara 0^o sampai 45^o. Pada ikan infeksi *A. hydrophila* merupakan penyakit zoonosis yaitu dapat ditularkan dari hewan ke manusia dan sebaliknya (Daskalov, 2006). Kondisi stres seperti kepadatan, oksigen terlarut rendah, kandungan organik lebih tinggi, cedera fisik, dan fluktuasi suhu menyebabkan infeksi *A. hydrophila* (Pippy & Hare, 1969; Shotts *et al.*, 1972)

3. Patogenisitas Bakteri *A. hydrophila*

Patogenisitas bakteri adalah kemampuan suatu bakteri patogen dalam menimbulkan penyakit (Iftitahiyaturrusyidah, 2018). Setiap agen patogen kemampuan patogenisitasnya berkaitan dengan kemampuannya dalam memproduksi enzim, toksin, dan dalam mengatasi sistem kekebalan inangnya (Russo & Pirlott, 2006). *A. hydrophila* adalah bakteri patogen oportunistik yang dimana dapat menginfeksi ikan dalam kondisi stres dan dapat berpotensi menimbulkan penyakit (Grizzle & Kiryu, 1993; Harikrishnan & Balasundaram, 2005).

Kemampuan *A. hydrophila* dalam melakukan infeksi pada ikan terkait dengan kemampuan bakteri dalam menghasilkan toksin (Mangunwardoyo *et al.*, 2016). *A. hydrophila* termasuk ke dalam kelompok bakteri patogen dengan virulensi yang tinggi (Chopra *et al.*, 2000). Tingkat virulensi bakteri tersebut ditentukan oleh kemampuan bakteri menghasilkan enzim dan toksin tertentu yang berperan dalam proses invasi dan infeksi. Sebagai faktor-faktor virulensi, kitinase, lesitinase, dan hemolisin yang dihasilkan oleh *A. hydrophila*, bekerja dengan mendegradasi jaringan dan menimbulkan luka serta pendarahan pada ikan inang (Del Corral *et*

al., 1990). *A. hydrophila* umumnya dianggap terkait dengan perubahan kerentanan inang yang disebabkan oleh perubahan lingkungan seperti suhu tinggi yang terkait dengan pembentukan elemen virulensi termasuk sitotoksik dan hemolisin serta peningkatan kadar nitrit pada ikan budidaya dan keadaan hipoksia (Qiao & Shao, 2010).

Virulensi *Aeromonas* adalah kompleks, karena beberapa faktor berkontribusi secara signifikan terhadap perkembangan proses infeksi (Pablos *et al.*, 2009) karena efektivitas sistem kekebalan inang menurun (Dallaire-Dufresne *et al.*, 2014). Komponen struktural, toksin dan produk ekstraseluler (Beaz-Hidalgo & Figueras, 2013), bekerja bersama-sama atau secara individu (Igbiosa *et al.*, 2017), memungkinkan mikroorganisme ini untuk berkolonisasi dan menginfeksi inang (Hoel *et al.*, 2017). Faktor virulensi utama yang mempengaruhi patogenisitas adalah toksin ekstraseluler (hemolisin, enterotoksin dan protease), sifat struktural (pilli, S-layer dan lipopolisakarida), adhesi dan invasi (Gonçalves Pessoa *et al.*, 2019).

C. Tanaman Patikan Kerbau

1. Klasifikasi Tanaman Patikan Kerbau

Menurut Tjitrosoepomo (2002) klasifikasi tanaman patikan kerbau sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Euphorbiales
Suku	: Euphorbiaceae
Marga	: <i>Euphorbia</i>
Jenis	: <i>Euphorbia hirta</i> L.



Gambar 3 Daun Patikan Kerbau (*E. hirta*)

Patikan kerbau (*Euphorbia hirta*) merupakan tanaman yang banyak ditemukan di daerah tropis (Karim *et al.*, 2015). Terdapat senyawa kimia yang terkandung di dalam *E. hirta* yang dapat bersifat antiseptik, anti-inflamasi, antifungal, dan antibakterial, seperti kandungan tanin, flavonoid (terutama quercitrin dan myricitrin), dan triterpenoid (terutama taraxerone dan

11a, 12 a – oxidotaraxterol) (Ekpo & Pretorius, 2007). Selain itu, terdapat pula kandungan senyawa aktif lainnya, seperti alkaloid dan polifenol (Yanti Hamdiyati, Kusnadi, 2008).

2. Morfologi Tanaman Patikan Kerbau

Tanaman patikan kerbau mempunyai batang yang lunak. Selain itu, flora ini mempunyai getah yang relatif kental. Tanaman patikan kerbau masih satu family menggunakan patikan cina, yaitu pada keluarga Euphorbiaceae (Nafisah, *et al.*, 2014). Batang flora patikan kerbau berwarna hijau kecoklatan, sedangkan daun yang bentuk bundar memanjang menggunakan taji-taji relatif ringkih berwarna hijau atau hijau kelabu. Tepi daun bergerigi, panjang helaian daun bisa mencapai 50 mm & lebarnya 25 mm. Bunga berbentuk bola keluar & ketiak daun bercagak pendek, berwarna merah kecoklatan. Bunga memiliki susunan satu bunga betina dilingkupi sang 5 bunga yang masing-masing terdiri atas empat bunga jantan & satu bunga betina tumbuhan patikan kerbau sanggup bertahan di hayati selama satu tahun & berkembang biak melalui biji (Dinas Kesehatan RI, 1979)

3. Kandungan senyawa aktif Tanaman Patikan Kerbau

Pada penelitian uji skrining fitokimia terhadap ekstrak heksana, kloroform dan metanol pada tanaman patikan kerbau (*E. hirta*) yang dilakukan (Nafisah *et al.*, 2014) memiliki kandungan senyawa fenolik, flavonoid, saponin, alkaloid, tanin dan steroid atau triterpenoid. Senyawa alkaloid bersifat antibakteri karena diduga dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga menyebabkan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Trevor Robinson, 1995). Pada penelitian yang dilakukan (Das *et al.*, 2022) menunjukkan bahwa *E. hirta* mengandung total alkaloid lebih tinggi pada ekstrak akar etanol (13,01 mg atropin/g).

Flavonoid dikenal sebagai agen antibakteri terhadap berbagai macam mikroorganisme patogen (Xie *et al.*, 2014). Berdasarkan penelitian yang dilakukan (Xie *et al.*, 2014) Mekanisme antibakteri flavonoid yang diusulkan adalah sebagai berikut: penghambatan sintesis asam nukleat, penghambatan fungsi membran sitoplasma, penghambatan metabolisme energi, penghambatan pembentukan ikatan dan biofilm, penghambatan porin pada membran sel, perubahan membran permeabilitas, dan pelemahan patogenesis. Pada penelitian yang dilakukan (Das *et al.*, 2022) menghasilkan jumlah total flavonoid dan menunjukkan lebih tinggi pada ekstrak daun etanol (87,53 mg QE/g. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah dengan cara menyebabkan sel *Porphyromonas gingivalis* menjadi lisis. Hal ini terjadi karena tanin memiliki target pada dinding polipeptida, dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna dan kemudian menyebabkan sel bakteri akan mati. Tanin juga memiliki kemampuan untuk menginaktifkan enzim bakteri serta mengganggu jalannya

protein pada lapisan dalam sel (Ngajow *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian yang dilakukan (Nafisah *et al.*, 2014) melaporkan terdapat kandungan senyawa tanin pada tumbuhan *E. hirta*.

4. Pemanfaatan Tanaman Patikan Kerbau Sebagai Obat Ikan

Penelitian yang dilakukan Patel & Patel, (2014) menunjukkan hasil bahwa ekstrak petroleum *E. hirta* menunjukkan zona inhibisi yang tinggi terhadap gram organisme negatif *P. vulgaris* (21,67 mm), ekstrak air menunjukkan zona inhibisi yang tinggi terhadap *P. aeruginosa* (15 mm), ekstrak metanol menunjukkan zona hambat yang tinggi terhadap *E. coli* (14 mm), sedangkan Konsentrasi hambat minimum (MIC) untuk aseton, air dan ekstrak petroleum eter Tanaman *Euphorbia hirta* menunjukkan aktivitas antibakteri yang sangat baik terhadap *K. pneumoniae* dengan nilai MIC 12,5µg/µl, ekstrak metanol menunjukkan aktivitas antibakteri yang sangat baik terhadap *P. aeruginosa* dan *K. pneumoniae* dengan nilai MIC 12.5µg/µl.

Hasil penelitian Assidqi *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa ekstrak daun patikan kerbau (*E. hirta*) memiliki khasiat berpotensi sebagai antibakteri terhadap *A. hydrophila* secara invitro. Hasil analisis data diketahui bahwa Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dari ekstrak daun patikan kerbau (*E. hirta*) terhadap *A. hydrophila* dengan konsentrasi 0,156 % dan Konsentrasi Bakterisida Minimum (MBC) dari ekstrak daun patikan kerbau (*E. hirta*) terhadap *A. hydrophila* dengan konsentrasi 0,312 %.

D. Madu

Madu merupakan zat manis yang dibuat oleh lebah madu dari nektar tumbuhan (Jaganathan & Mandal, 2009). Madu bermanfaat bagi kesehatan, diantaranya sebagai zat antibakteri. Kemampuan madu sebagai zat antibakteri tidak terlepas dari kandungan zat aktif yang ada didalamnya yang dimana aktivitas antibakteri pada madu dipengaruhi oleh hydrogen peroksida, senyawa flavonoid, minyak atsiri dan berbagai senyawa organik lainnya (Huda, 2019).

1. Kandungan Senyawa Aktif Madu

Madu adalah larutan gula jenuh yang sebagian besar terdiri dari fruktosa (~38%) dan glukosa (~31%) (Pascual-Maté *et al.*, 2018), dan lebih dari 200 zat lainnya (Da Silva *et al.*, 2016). Madu memiliki senyawa antioksidan, seperti fenol, flavonoid, karotenoid, dan senyawa enzimatik dan non-enzimatik lainnya (Bueno-Costa *et al.*, 2016; Da Silva *et al.*, 2016). Komposisi madu, termasuk kandungan antioksidan, bergantung pada sumber bunga dan asal geografisnya (Kavanagh *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2013), dimana sumber bunga dan kondisi geografis berpengaruh terhadap sifat fitokimia madu (García *et al.*, 2020).

Senyawa antioksidan madu dapat mengurangi efek reaksi oksidatif, seperti mengurangi kerusakan sel akibat produksi radikal bebas *secara in vitro* (Liu *et al.*, 2013). Selain itu,

senyawa bioaktif, terutama fenol, telah terbukti berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri madu (Combarros-Fuertes *et al.*, 2020). Sifat antibakteri madu juga dapat dikaitkan dengan sifat fisikokimianya, seperti pH dan osmolaritas (Combarros-Fuertes *et al.*, 2020) dan senyawa yang toksik terhadap sel bakteri *secara in vitro*, termasuk hidrogen peroksida, dan methylglyoxal dalam madu Manuka (Bang *et al.*, 2003; Deng *et al.*, 2018). Madu juga dikaitkan dengan penurunan peradangan *in vitro* melalui efek simultan dari sifat antioksidan dan antibakterinya (Ruiz-Ruiz *et al.*, 2017).

2. Penggunaan Madu Sebagai Bahan Antibakteri

Madu diketahui memiliki kemampuan sebagai efek antibakteri (Rio *et al.*, 2012). Kandungan antibakteri yang terdapat dalam madu ini dapat digunakan untuk mengatasi masalah kesehatan ikan akibat bakteri (Cunha *et al.*, 2020). Penelitian Salosso, (2019b) membuktikan bahwa madu semut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* dan *A. hydrophila* dengan zona hambat yang terbesar dihasilkan pada konsentrasi 50%. Ollin *et al.*, (2021) juga menyatakan madu dapat mengobati ikan kerapu cantang yang terinfeksi bakteri *Vibrio alginolyticus*. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa madu dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen lain seperti bakteri *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. faecalis* (Mustafa *et al.*, 2022).

3. Uji fitokimia bahan kombinasi Madu dan *E. hirta*

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Salosso *et al.*, (2023) terdapat bahan aktif kombinasi madu dan *E. Hirta*.

Tabel 1 Bahan aktif kombinasi madu dan *E. Hirta*

Senyawa Aktif		Hasil	Keterangan
Alkaloid	Mayer	Adanya endapan putih	+++
	Dragendrof	Adanya endapan orange	
	Bouchardat	Berwarna coklat	
Flavonoid		Orange, merah bata, merah lembut, merah tua	+
Saponin		Terdapat busa permanen	++
Terpenoid		Merah, merah jambu/ungu	+++
Steroid		Kuning bening	-
Fenol		Hijau kehitaman	++
Tannin		Coklat kehitaman, biru kehitaman	++

Turunan fenolik seperti flavanoid dan tanin bersifat antibakteri yang mekanismenya adalah merusak membran sel bakteri. Gugus hidroksil flavonoid dan tanin dapat berinteraksi

dengan protein membran sel melalui ikatan hidrogen, menyebabkan protein kehilangan fungsinya (Cowan, 1999)

Saponin memiliki efek antibakteri dengan cara mengganggu kestabilan membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis (Kurniawan & Ferly Aryana, 2015) . Selain itu, alkaloid juga bersifat antibakteri dengan cara mengganggu komponen pembangun peptidoglikan sel sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk sempurna dan membunuh sel bakteri (Ajizah, 2004). Menurut (Cowan, 1999) terpen dan terpenoid dengan gugus hidrofobik memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri melalui mekanisme penghancuran membran sel.

E. Hematologi Ikan

Parameter hematologi sering digunakan untuk menilai status kesehatan dan sebagai indikator stres pada ikan (Satheeshkumar *et al.*, 2012). Darah berfungsi membawa substansi dari tempatnya dibentuk ke seluruh bagian tubuh dan menjaga tubuh untuk dapat melakukan fungsinya dengan baik yang dimana eritrosit (sel darah merah) berfungsi membawa oksigen dengan fungsi utama sebagai transportasi oksigen, yang besarnya tergantung pada jumlah konsentrasi hemoglobin dalam sel dan mekanisme pertukaran gas (Fazio, 2019), leukosit (sel darah putih) berfungsi menjaga tubuh dari serangan Fujaya, 2004 dalam (Lusiastuti &Hardi, 2010). Oksigen dalam darah akan dialirkan oleh hemoglobin ke seluruh tubuh. Oksigen dilepaskan pada sel dan mengikat karbondioksida (Holeton, 1972).

Perbedaan antara nilai-nilai hematologi dipengaruhi oleh banyak faktor (Clauss *et al.*, 2008). Perubahan parameter ini tergantung pada beberapa faktor seperti spesies (Ikechukwa & Obinnaya, 2010; Ranzani-Paiva *et al.*, 2003), suhu (Langston *et al.*, 2002; Magill & Sayer, 2004), umur (Jamalzadeh *et al.*, 2009), stres (Cnaani *et al.*, 2004), penyinaran (Leonardi & Klempau, 2003),keadaan gizi (Svetina *et al.*, 2002), siklus kematangan seksual,kondisi kesehatan (Rey Vázquez & Guerrero, 2007) kualitas air (Fazio *et al.*, 2012) , jenis kelamin (Lusková, 1998), daninfeksi mikroba dan parasitisme (Pegado De Azevedo *et al.*, 2006)

Variasi parameter hematologi konsentrasi hemoglobin, jumlah leukosit dan eritrosit telah digunakan sebagai indikator fisiologis disfungsi organik baik dalam studi lingkungan maupun akuakultur (Burgos-Aceves *et al.*, 2019). Parameter ini umumnya digunakan sebagai alat prognostik dan diagnostik dalam status kesehatan ikan (Burgos-Aceves *et al.*, 2019).

Pemeriksaan darah dapat dilakukan secara lengkap dengan menggunakan Hematology Analyzer dengan cara menghitung dan mengukur sel darah secara otomatis berdasarkan impedansi aliran listrik atau berkas cahaya terhadap sel-sel yang dilewatkan (Bagas Priambodo, 2018). Quintus menggunakan teknologi pengukuran paling akurat dan

andal yang tersedia saat ini; metode optik berbasis laser untuk diferensial WBC 5 bagian, impedansi untuk RBC, PLT dan total WBC, spektrofotometri untuk HGB dan volume sampel yang digunakan adalah 100 μ l.

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 2 bulan terhitung dari September-Oktober 2022, bertempat di Liliba, Jln. Fatudela 1 dan pemeriksaan hematologi akan dilaksanakan di UPT Laboratorium Kesehatan Provinsi Nusa Tenggara Timur.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut akuarium, aerator HI blower, batu aerator, selang aerasi, ember, bak fiber, saringan air, gelas ukur, selang sipon, gunting, panci, kompor, pipa aerator, toples, timbangan analitik, jarum suntik 1 mm/cc, kamera, alat tulis, vacutainer.

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lele, tanaman patikan kerbau, madu, bakteri *A. hydrophila*, minyak cengkeh, pellet, Na Citrat 3,8.

C Prosedur Penelitian

1. Aklimatisasi dan Pemeliharaan Ikan

Alat-alat yang akan digunakan sebelumnya harus disterilkan, dengan tujuan untuk membersihkan alat dan bahan dari mikroorganisme (Meliawaty, 2012). Ikan lele yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari lahan kering Fakultas Peternakan Kelautan Dan Perikanan Universitas Nusa Cendana dengan ukuran 18- 21 cm. Ikan dipelihara dalam wadah akuarium ukuran 60 x 40 x 40 cm³ dengan jumlah aquarium 15 buah. Ikan lele diaklimatisasi selama 5 hari agar ikan dapat menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan perairan yang baru agar ikan tidak stress. Ikan lele dipelihara didalam aquarium dengan padat tebar 7 ekor/aquarium. Ikan diberi pakan pelet dengan frekuensi tiga kali dalam sehari secara ad libitum pada jam 08.00 WITA, 13.00 WITA, dan 18.00 WITA. Penggantian air dan penyiponan dilakukan untuk tetap menjaga kualitas air.

2. Pembuatan Air Rebusan Tanaman Patikan Kerbau

Tanaman patikan kerbau (*E.hirta*) yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari Kelapa Lima, Kota Kupang, Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT), tanaman yang dipilih adalah tanaman yang segar dan sehat. Tanaman patikan kerbau dibersihkan dan dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Tanaman kering dihaluskan menjadi serbuk (Puspitasari *et al.*, 2022). Dalam penelitian ini konsentrasi air rebusan patikan kerbau yang digunakan adalah 3% yang artinya 3 gram patikan kerbau dalam 100 ml air. Pembuatan air rebusan patikan kerbau mengikuti metode Dawan *et al.*, (2021) yaitu serbuk tanaman patikan kerbau ditimbang

sesuai perlakuan yaitu 90 gram/3000 ml air, kemudian direbus sampai mendidih dengan suhu 100°C , lalu diendapkan selama satu malam dan airnya disaring untuk digunakan sebagai bahan pengobatan ikan.

3. Pengenceran Madu

Madu yang digunakan kemudian diencerkan menggunakan aquades hingga diperoleh konsentrasi 50% (Salosso, 2019b). Setelah dilakukan pengenceran pada madu selanjutnya madu 50% dan air rebusan patikan kerbau 3 % dikombinasikan sesuai dengan masing-masing perlakuan yaitu 2 : 1 (1 liter madu & 500 ml air rebusan patikan kerbau), 1,5 : 1,5 (750 ml madu & 750 ml air rebusan patikan kerbau), 1 : 2 (500 ml madu & 1 liter air rebusan patikan kerbau).

4. Kultur Bakteri

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *A. hydrophila* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu (SKIPM) Kelas 1 Kupang.

5. Infeksi Bakteri Pada Ikan Lele

Ikan lele yang telah di aklimatisasi selama lima hari selanjutnya diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Metode yang digunakan dalam menginfeksi bakteri adalah metode serupa yang dilakukan oleh Bandeira Junior *et al.*, (2019) yaitu secara injeksi intramuskular dengan 0,1 mg suspensi *A. hydrophilu* 1×10^8 cfu/ml.

6. Pengobatan Ikan Patin Menggunakan Patikan Kerbau dan Madu Hutan Kefa

Ikan yang telah diinfeksi menunjukkan gejala, dapat dilakukan pengobatan dengan menggunakan kombinasi madu dengan air rebusan patikan kerbau. Pemberian kombinasi madu dan patikan kerbau secara bergantian dengan metode perendaman dengan dosis pengobatan ikan sesuai dengan perlakuan yaitu 2 : 1 (1 liter madu & 500 ml air rebusan patikan kerbau), 1,5 : 1,5 (750 ml madu & 750 ml air rebusan patikan kerbau), 1 : 2 (500 ml madu & 1 liter air rebusan patikan kerbau). Setiap 7 ekor ikan direndam didalam toples berukuran 3 liter yang telah di isi kombinasi madu dan *E. hirta*. Ikan direndam selama 2-3 menit dan dilakukan pengamatan selama 10 hari .

7. Pengambilan Darah

Metode yang digunakan dalam pengambilan darah menggunakan metode yang dilakukan Manna *et al.*, (2021) yang telah dimodifikasi. Ikan dari masing-masing akuarium ditangkap secara acak dan lembut dengan bantuan jaring genggam dan dibius dengan penggunaan minyak cengkeh 0,1 ml dalam 2 liter air. Sampel darah diambil dari vena caudal

menggunakan spuit yang telah diisi larutan Na-citrat 3,8%. Setelah darah diambil darah ikan kemudian dimasukkan didalam tabung pengumpul darah vacutainer.

D. Parameter Yang Diamati

1. Gejala klinis

Bentuk gejala klinis yang akan diamati pada ikan lele setelah diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* yaitu perilaku abnormal, kehilangan nafsu makan, terdapat cairan pada bagian perut, luka borok pada bekas suntikan, kemerahan pada tubuh ikan.

2. Hematologi

Untuk melihat tingkat kesehatan ikan dapat dilakukan pemeriksaan parameter hematologi meliputi pemeriksaan eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih), dan hemoglobin. Pemeriksaan hematologi ikan lele dapat dilakukan pada sebelum ikan diinfeksi, setelah diinfeksi, dan setelah pengobatan di setiap wadah perlakuan.

Perhitungan eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih), dan hemoglobin menggunakan hematology analyzer (Quintus 5 part) yang dimana segala proses pemeriksaan darah akan terjadi secara otomatis dimulai dari proses difusi, hemolisis, perhitungan jumlah sel, display, serta print out. Sampel darah sebanyak 3 ml yang telah dicampur reagen dilakukan hemolyzing dan dipilih tujuan pemeriksaan selanjutnya sampel darah diproses pada mikroprosesor dan data hasil perhitungan akan ditampilkan pada layar monitor.

3. Kelulushidupan

Menurut Effendie (2002) dalam (Firmantin *et al.*, 2015) pengamatan tingkat kelangsungan hidup ikan lele dapat dihitung dengan persamaan berikut

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100$$

Keterangan:

SR :Tingkat Kelangsungan hidup (%)

N_t : Jumlah individu pada akhir penelitian (ekor)

N_o : Jumlah individu pada awal penelitian (ekor)

E. Rancangan Penelitian

Penelitian ini akan menggunakan rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan

Perlakuan A : 2 : 1 (1 liter madu & 500 ml air rebusan patikan kerbau),

Perlakuan B : 1,5 : 1,5 (750 ml madu & 750 ml air rebusan patikan kerbau)

- Perlakuan C : 1 : 2 (500 ml madu & 1 liter air rebusan patikan kerbau).
- Kontrol Negatif : Ikan yang diinfeksi *A. hydrophila* tanpa perlakuan pengobatan
- Kontrol Positif : Ikan yang tidak diinfeksi *A. hydrophila* dan tidak diberi perlakuan pengobatan

F. Analisis Data

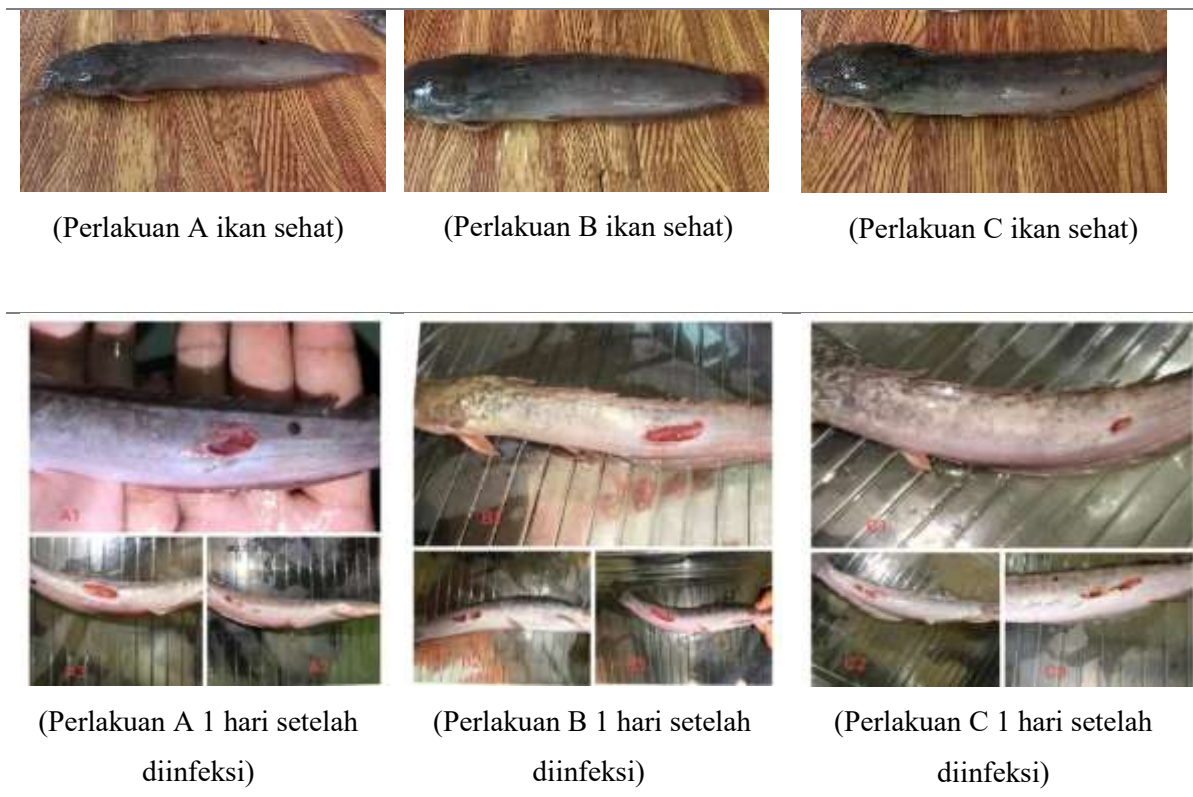
Data pemberian kombinasi madu dan tanaman patikan kerbau (*Euphorbia hirta*) pengamatan akan dianalisa dengan menggunakan metode ANOVA (analisis ragam). Apabila berpengaruh nyata maka dapat dilakukan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Gaspersz, 1991).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis pada ikan lele (*Clarias sp.*) dilakukan setelah penginfeksi bakteri *A. hydrophila*. Pengamatan gejala klinis dilakukan setiap 6 jam selama 3 hari. Gejala klinis muncul pada semua perlakuan 6 jam setelah penginfeksi bakteri *A. hydrophila* yaitu terjadi pembengkakan pada bekas suntikan pada semua perlakuan. 18 jam setelah penginfeksi bakteri *A. hydrophila* muncul luka pada bekas suntikan dan berwarna merah terang, terdapat luka pada sirip dan ekor, nafsu makan menurun dan ikan tidak aktif berenang. Hal tersebut sesuai dengan yang dilaporkan Mulia & Vauziyyah, (2021) yaitu pada hari pertama setelah penginfeksi bakteri akan muncul gejala dimana terjadi depigmentasi dan erosi pada bekas suntikan, penurunan nafsu makan pada ikan, dan ikan kurang aktif berenang. Pada hari kedua dan ketiga kondisi ikan semakin parah pada semua perlakuan yaitu kondisi luka semakin melebar dan berwarna merah baik itu pada bekas suntikan, sirip dan ekor. Ikan yang sakit semuanya menunjukkan sirip yang memerah, septikemia eksternal/internal, dan perdarahan iridial (Zhang *et al.*, 2016).

Tabel 2 Gambaran gejala klinis ikan lele *Clarias sp.*





(Perlakuan A setelah 12 hari pengobatan)

(Perlakuan B setelah 12 hari pengobatan)

(Perlakuan C setelah 12 hari pengobatan)

Setelah hari ketiga pengamatan gejala klinis dilakukan sekali dalam sehari. Terjadi perubahan secara bertahap pada kondisi ikan di hari ke-4 sampai hari ke-12 dimana pada perlakuan A (2:1), B (1,5:1,5), dan C (2:1) kondisi ikan semakin membaik dengan gejala klinis luka tidak lagi berwarna merah, luka mulai mengecil dan menghilang, nafsu makan perlahan meningkat, dan ikan sudah aktif berenang. Pada perlakuan A dan B jumlah ikan yang masih memiliki bekas luka pada bekas suntikan dan bagian tubuh lainnya yaitu 2 ekor. Sedangkan pada perlakuan C jumlah ikan yang masih memiliki bekas luka pada bekas suntikan dan bagian tubuh lainnya yaitu 3 ekor.

Menurut Carnwath *et al.*, (2014) dan Di Ianni *et al.*, (2015) madu telah digunakan untuk mengobati lesi kulit pada hewan maupun manusia, dikarenakan pH yang rendah (3,5-4), dapat melakukan perbaikan jaringan yang menyebabkan pengurangan dalam aktivitas protease di lokasi luka, meningkatkan pelepasan oksigen dari hemoglobin dan merangsang fibroblas dan aktivitas makrofag. Selain itu, H_2O_2 memiliki efek antiseptik, dan mendesinfeksi situs luka dan merangsang produksi endotel vascular faktor pertumbuhan (VEGF) (Minden-Birkenmaier & Bowlin, 2018; Molan & Rhodes, 2015). Konsentrasi gula yang tinggi pada madu menyebabkan air keluar dari sel bakteri sehingga menghambat pertumbuhan atau menyebabkan plasmolisis bakteri (Molan & Rhodes, 2015). Selain itu, senyawa fenolik, asam organik, vitamin, dan flavonoid dalam madu memiliki potensi antioksidan dan antimikroba. Flavonoid menghilangkan radikal bebas yang dihasilkan oleh H_2O_2 (Minden-Birkenmaier & Bowlin, 2018; Molan & Rhodes, 2015). Selain itu, terdapat senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan membentuk kompleks dinding sel kompleks yang menghambat adhesi pertumbuhan mikroba lebih lanjut (Magozwi *et al.*, 2021).

Alkaloid memiliki potensi antimikroba dengan cara merusak konstituen dinding sel seperti peptidoglikan melalui komponen akselerator DNA dan menghambat enzim topoisomerase menyebabkan terganggu replikasi DNA didalam sel bakteri. Saponin adalah

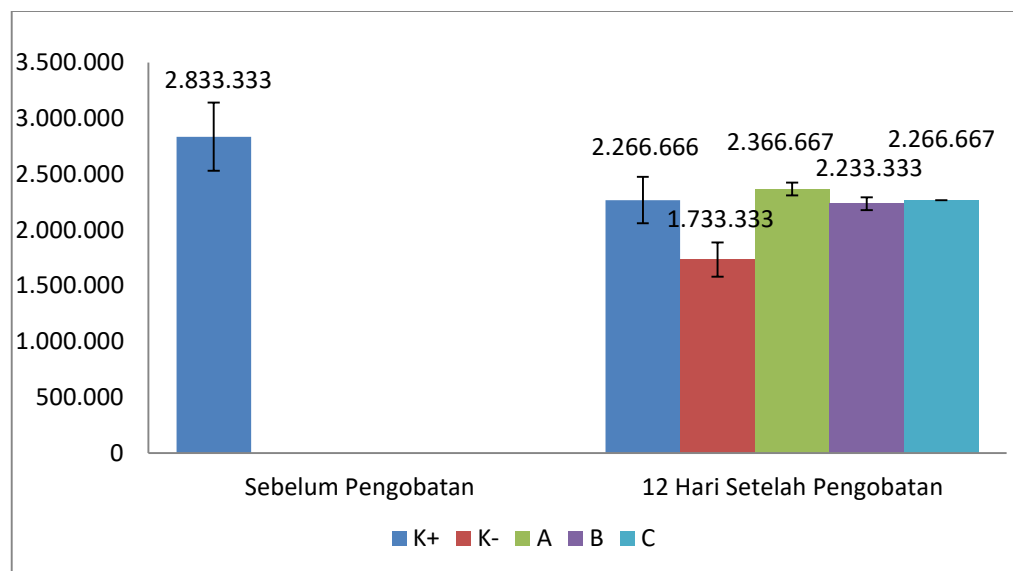
glikosida tanaman yang memiliki efek antimikroba. Saponin menyebabkan lisis sel bakteri (Anjelina, 2020; Simanjuntak & Gurning, 2020). Senyawa triterpenoid dalam ekstrak patikan kerbau telah diisolasi yaitu triterpenoid tetrasiklik dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri (Shih & Cherng, 2012).

B. Hematologi

Analisis hematologi umumnya digunakan untuk mengevaluasi status fisiologi kesehatan ikan. Analisis hematologi rutin meliputi evaluasi jumlah sel darah dan parameter terkait sel lainnya, konsentrasi atau aktivitas senyawa plasma, seperti eritrosit, hemoglobin, dan leukosit (Witeska *et al.*, 2022)

1. Eritrosit

Fungsi utama sel darah merah adalah pertukaran gas, namun banyak fungsi biologis lainnya untuk sel darah merah yang nukleusnya terkait dengan respons imun (Nombela & Ortega-Villaizan, 2018; Puente-Marin *et al.*, 2018). Diagram rata-rata eritrosit selama penelitian dapat dilihat pada gambar 5.



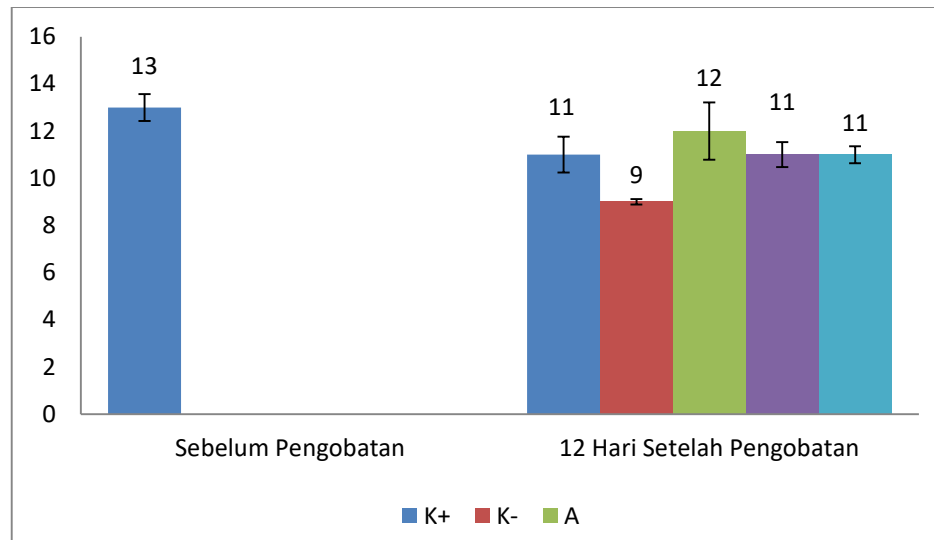
Gambar 4 Diagram rata-rata eritrosit selama penelitian

Pada diagram rata-rata eritrosit menunjukkan penurunan jumlah total eritrosit pada setiap perlakuan. Total eritrosit ikan lele menurun secara signifikan setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* pada perlakuan kontrol negatif ($1,73 \pm 1,5$ sel/ μ l) setelah dipelihara selama 12 hari. Penurunan total eritrosit pada ikan yang telah diinfeksi bakteri terjadi karena toksin bakteri yaitu hemolisin yang dimana hemolisin ini memiliki kemampuan untuk melisis sel darah merah, menyebabkan kurangnya jumlah sel darah merah pada pembuluh darah (Pridgeon *et al.*, 2011; Sutuli *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2013).

Nilai total eritrosit meningkat secara signifikan ($p < 0,05$) setelah perlakuan kombinasi madu dan patikan kerbau (*E. hirta*) dibandingkan dengan ikan lele yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Total eritrosit pada perlakuan A ($2,37 \pm 5,7$ sel/ μ l), B ($2,23 \pm 5,7$ sel/ μ l), dan C ($2,27 \pm 1,5$ sel/ μ l) sama dengan total eritrosit kontrol positif yang dipelihara selama 12 hari ($2,26 \pm 2$ sel/ μ l) dan ($p < 0,05$) dengan total eritrosit kontrol negatif ($1,73 \pm 1,5$ sel/ μ l). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Dawan et al., (2021) bahwa total eritrosit akan turun jika ikan terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan akan kembali naik setelah diberi pengobatan menggunakan daun patikan kerbau (*E. hirta*). Hal serupa juga dilaporkan El-Asely et al., (2014) bahwa ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* akan mengalami penurunan total eritrosit dan total eritrosit kembali naik setelah diobati dengan menggunakan madu. Salosso, et al., (2023) dalam penelitiannya menyatakan bahwa kombinasi madu dan *E. hirta* dapat meningkatkan eritrosit pada ikan yang terinfeksi bakteri (*A. hydrophila*). Hal tersebut disebabkan oleh kandungan flavonoid pada madu dan patikan kerbau yang memiliki efek antiinflamasi dimana dapat memperbaiki jaringan tubuh ikan yang rusak sehingga dapat mengurangi peradangan dan meningkatkan kerja organ penghasil darah (Hakim et al., 2016). Selain itu senyawa antibakteri yang terkandung dalam madu dan patikan kerbau juga dapat menyebabkan kematian pada bakteri (Salosso, et al., 2023) sehingga menghambat proses infeksi yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* karena dapat dibuktikan dari meningkatnya jumlah sel darah merah (Emilianus et al., 2023). Pada perlakuan kontrol positif terjadi penurunan total eritrosit setelah 12 hari pemeliharaan dikarenakan disebabkan ikan mengalami stres dikarenakan perubahan suhu air dan kepadatan (Witeska et al., 2022).

2. Hemoglobin

Hemoglobin merupakan bagian dari plasma darah yang berfungsi dalam sistem peredaran darah dimana Hb memiliki peranan penting dalam pengangkutan gas oksigen dari insang yang dipompakan jantung ke seluruh sel dan organ tubuh, pengangkutan nutrisi ke dalam sel dan sebagainya (Yanto et al., 2015). Kadar hemoglobin dalam darah memiliki hubungan dengan sel darah merah (eritrosit) (Royan et al., 2014). Diagram rata-rata hemoglobin dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 5 Rata-rata jumlah hemoglobin selama penelitian

Pada diagram rata-rata hemoglobin menunjukkan penurunan jumlah total hemoglobin pada setiap perlakuan. Total hemoglobin ikan lele menurun secara signifikan setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* pada kontrol negatif ($9 \pm 0,11$ g/dL) setelah dipelihara selama 12 hari. Penurunan jumlah hemoglobin berkaitan dengan penurunan jumlah sel darah merah yang disebabkan karena ikan mengalami lisis dalam darah yang dimana lisis yang disebabkan adanya toksin bakteri didalam darah yang disebut hemolisis dan mengakibatkan pecahnya sel darah merah (Minaka *et al.*, 2012).

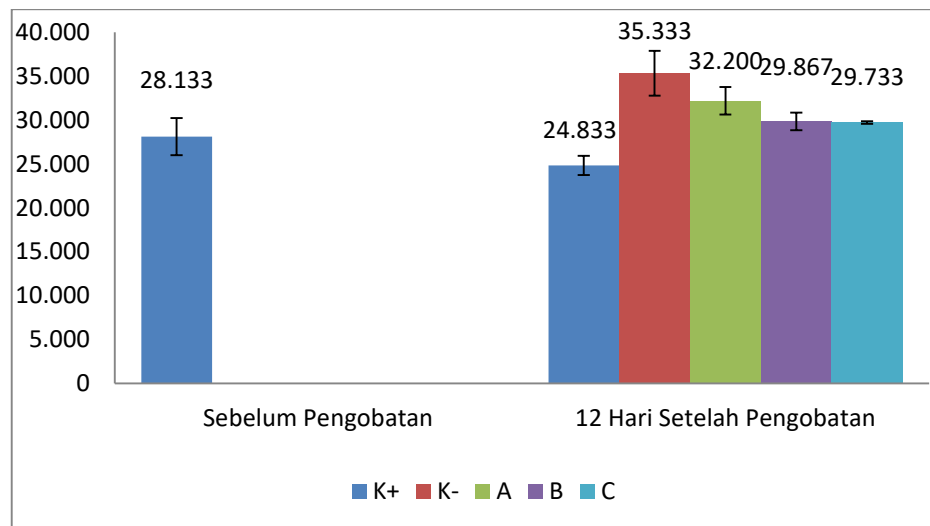
Nilai total hemoglobin meningkat secara signifikan ($p < 0,05$) setelah perlakuan kombinasi madu dan patikan kerbau (*E. hirta*) dibandingkan dengan ikan lele yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Pada perlakuan A ($12 \pm 0,11$ g/dL), B ($11 \pm 0,52$ g/dL), dan C ($11 \pm 0,36$ g/dL) sama dengan total hemoglobin kontrol positif ($11 \pm 0,75$ g/dL) yang dipelihara selama 12 hari dan ($p < 0,05$) total hemoglobin kontrol negatif ($9 \pm 0,11$ g/dL). Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan Dawan *et al.*, (2021) bahwa ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* akan mengalami peningkatan total hemoglobin setelah diobati dengan menggunakan *E. hirta*. Hal serupa juga dilaporkan El-Asely *et al.*, (2014) bahwa total hemoglobin akan kembali naik jika ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* diobati menggunakan madu. Salosso, *et al.*, (2023) melaporkan dalam penelitiannya bahwa kombinasi madu dan *E. hirta* dapat meningkatkan hemoglobin pada ikan lele yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

Berdasarkan data nilai hemoglobin pada perlakuan A, B, dan C dan dibandingkan dengan nilai hemoglobin pada ikan sehat maka ikan kembali pada kondisi normal. Normalnya nilai hemoglobin terjadi karena adanya aktivitas kandungan flavonoid dan tanin yang berfungsi

sebagai antioksidan sehingga melindungi hemoglobin dari oksidasi dan menyebabkan terjadinya peningkatan kadar hemoglobin (Cerlina *et al.*, 2022), selain itu senyawa antibakteri yang terkandung dalam madu dan patikan kerbau juga dapat menyebabkan kematian pada bakteri (Salosso, *et al.*, 2023) sehingga menghambat proses infeksi yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* karena dapat dibuktikan dari meningkatnya jumlah sel darah merah (Emilianus *et al.*, 2023). Menurut Suhermanto *et al.*, (2011), bahwa kadar hemoglobin memiliki hubungan yang erat dengan jumlah eritrosit dalam darah.

3. Leukosit

Leukosit memainkan peran penting dalam imunitas nonspesifik atau bawaan dan jumlahnya dapat dianggap sebagai indikator status kesehatan ikan (Harikrishnan *et al.*, 2003). Diagram rata-rata leukosit dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6 . Diagram rata-rata leukosit selama penelitian

Pada diagram rata-rata leukosit menunjukkan peningkatan jumlah total leukosit pada setiap perlakuan. Total leukosit ikan lele meningkat secara signifikan setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* ($35,3 \pm 2,5$ sel/ μ l) setelah dipelihara selama 12 hari. Peningkatan kadar leukosit ini terjadi karena ikan menghasilkan banyak leukosit sebagai pertahanan untuk memfagositosis bakteri dan mensintesis bakteri hal ini menandakan bahwa ikan lele menunjukkan respon perlawanan tubuh terhadap agen penyakit (Mahasri *et al.*, 2011).

Nilai total leukosit menurun secara signifikan ($p < 0,05$) setelah perlakuan kombinasi madu dan patikan kerbau (*E. hirta*) dibandingkan dengan ikan lele yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Total leukosit pada perlakuan A ($32,2 \pm 1,5$ sel/ μ l), B ($29,87 \pm 1,0$ sel/ μ l), dan C ($29,7 \pm 1,5$ sel/ μ l) ($p < 0,05$) dengan total leukosit kontrol negatif ($35,3 \pm 2,5$ sel/ μ l) akan tetapi nilainya tidak sama dengan total leukosit kontrol positif ($24,8 \pm 1,1$ sel/ μ l). Namun total

leukosit pada perlakuan pengobatan menuju pada kondisi normal. Hal tersebut sesuai yang dilaporkan Dawan *et al.*, (2021) bahwa total leukosit mengalami penurunan setelah ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* setelah ikan diobati menggunakan (*E. hirta*). Hal serupa juga dilaporkan El-Asely *et al.*, (2014) bahwa ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* total leukositnya akan mengalami penurunan setelah diobati madu. Salosso, *et al.*, (2023) melaporkan dalam penelitiannya bahwa kombinasi madu dan *E. hirta* dapat menurunkan leukosit pada ikan lele yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

C. Tingkat Kelangsungan Hidup

Tingkat kelangsungan hidup ikan lele (*clarias sp.*) selama penelitian dapat dilihat pada tabel 2

Tabel 3 Tingkat kelangsungan hidup ikan lele (*Clarias sp*) selama penelitian

Perlakuan (Madu : Patikan Kerbau)	Total Awal (Ekor)	Total Akhir (Ekor)	Sintasan (%)
A (2 : 1)	21	18	86% ± 0 ^c
B (1,5 : 1,5)	21	18	86% ± 0 ^c
C (1 : 2)	21	14	67% ± 0,5 ^b
K+	21	21	100% ± 0 ^c
K-	21	7	33% ± 0,1 ^a

Selama penelitian tingkat kelangsungan hidup ikan lele setiap perlakuannya berbeda. Kelangsungan hidup tertinggi pada perlakuan kontrol positif sebesar 100 % sedangkan kelangsungan hidup terendah terdapat pada perlakuan K- sebesar 33%, hal tersebut disebabkan ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* terus berkembang sehingga menghasilkan gejala klinis yang semakin parah. Berkembangnya gejala klinis ini karena sistem imun yang ada pada ikan lele sudah tidak mampu membunuh bakteri yang ada pada tubuhnya (Haditomo, 2017). Kondisi ikan yang semakin parah dapat mengakibatkan kematian pada ikan (Al-Khalafah *et al.*, 2020).

Tingkat kelangsungan hidup ikan lele ($p < 0,05$) pada perlakuan A, B, dan kontrol positif. Tingkat kelangsungan hidup ikan lele pada perlakuan C ($p < 0,05$) pada kontrol negatif. Perlakuan A dan B tingkat kelangsungan hidup ikan lele sebesar 86%. Sedangkan pada perlakuan C tingkat kelangsungan hidup sebesar 67%. Salosso, *et al.*, (2023) melaporkan dalam penelitiannya melaporkan bahwa kematian tertinggi pada ikan terinfeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan yang tidak diberi perlakuan pengobatan. Tingkat kelangsungan hidup ikan lele pada perlakuan A, B, dan C lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan ikan sakit dikarenakan

kandungan senyawa pada kombinasi madu dan patikan kerbau (*Euphorbia hirta*) dapat melindungi ikan dari patogen penyakit (*A. hydrophila*) (El-Asely *et al.*, 2014; Pratheepa & Sukumaran, 2014). Pada kombinasi madu dan patikan kerbau (*Euphorbia hirta*) terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, fenol, dan tanin yang senyawa antimikroba dan mampu membunuh bakteri (Salosso *et al.*, 2023) yang dimana mampu meningkatkan respon imun non-spesifik dan efek antioksidan sehingga mampu mempertahankan tingkat kelangsungan hidup ikan lele yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* (El-Asely *et al.*, 2014). Salosso, *et al.*, (2023) dalam penelitiannya menyatakan bahwa selain perlakuan kontrol ikan kombinasi madu dan *E. hirta* dapat meningkatkan kelangsungan hidup ikan lele (*Clarias sp.*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

Saponin bersifat antibakteri yang dapat merusak sel bakteri karena permeabilitas membran sel terganggu sehingga menyebabkan berbagai komponen yang ada pada bakteri seperti protein, asam nukleat, dan nukleotida keluar (Hardianti, 2015). Triterpenoid dapat merusak membran sel oleh senyawa lipofilik (Setyowati *et al.*, 2014). Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan mengganggu integritas membran sel bakteri karena flavonoid dapat membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang berakhir pada kematian sel bakteri (Hakim *et al.*, 2016; K.G. Wiryawan *et al.*, 2007). Fenol dapat merusak membran sitoplasma bakteri dan mengakibatkan ketidakstabilan fungsi pengendalian susunan protein dari sel bakteri (Mubarak *et al.*, 2016). Alkaloid bersifat basa sehingga dapat mempengaruhi tekanan osmotik antara bakteri dan lingkungan hidupnya (Haryani *et al.*, 2012). Senyawa tanin dapat membuat proses replikasi bakteri terhambat dan juga senyawa tanin mempunyai mekanisme mempresipitasi protein bakteri dan menginaktivasi protein transpor pada dinding sel bakteri dan menyebabkan rusaknya dinding sel bakteri (Adrianto, 2012; Hakim *et al.*, 2016).

Selama penelitian pada setiap perlakuan terdapat ikan yang mati. Kematian terjadi karena sistem imun setiap ikan berbeda hal ini dikarenakan mekanisme sistem imun pada ikan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu genetik, metabolik hormon, lingkungan, gizi, anatomi, fisiologi, umur, mikroba, temperatur, kebiasaan hidup ikan cell mediated immunity (Ani *et al.*, 2021).

V. PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut

1. Penggunaan kombinasi madu dan patikan kerbau (*Euphorbia hirta*) dapat mengobati ikan lele (*Clarias* sp.) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dilihat dari gejala klinis, hematology, dan kelulushidupan.
2. Perbandingan kombinasi madu dan patikan kerbau (*E. hirta*) yang tepat dalam mengobati ikan lele yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* adalah perlakuan A: 2 : 1 (1 liter madu & 500 ml air rebusan patikan kerbau) dan perlakuan B: 1,5 : 1,5 (750ml madu & 750 ml air rebusan patikan kerbau) dilihat dari gejala klinis, hematology, dan kelulushidupan.

B. Saran

Diharapkan kedepannya pada penelitian yang sama dapat menggunakan ekstrak tumbuhan patikan kerbau (*E. hirta*) yang dikombinasikan dengan madu untuk membandingkan keefektifannya dalam mengobati ikan lele yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* serta dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan skala yang lebih besar dilapangan dan dengan waktu yang lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrianto, A. W. D. (2012). Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Eugenia Polyantha Wight*) Dalam Pasta Gigi Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus Mutans*. *Skripsi*, 12.
- Agustin, P. D. (2016). Pengaruh Enzim Ekstraseluler Terhadap Virulensi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Pada Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*). <http://repository.ub.ac.id/id/eprint/134993>
- Ait Abderrahim, L., Taïbi, K., Ait Abderrahim, N., Boussaid, M., Rios-Navarro, C., & Ruiz-Saurí, A. (2019). *Euphorbia* Honey And Garlic: Biological Activity And Burn Wound Recovery. *Burns*, 45(7), 1695–1706. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2019.05.002>
- Ajizah, A. (2004). Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L . 1, 31–38.
- Al-Khalaifah, H. S., Khalil, A. A., Amer, S. A., Shalaby, S. I., Badr, H. A., Farag, M. F. M., Altohamy, D. E., & Abdel Rahman, A. N. (2020). Effects Of Dietary Doum Palm Fruit Powder On Growth, Antioxidant Capacity, Immune Response, And Disease Resistance Of African Catfish, *Clarias gariepinus* (B.). *Animals*, 10(8), 1–18. <https://doi.org/10.3390/ani10081407>
- Ali, M. F., Rashid, D. M. M., Rahman, M. M., & Haque, M. N. (2014). Pathogenicity Of *Aeromonas hydrophila* In Silver Carp Hypophthalmichthys Molitrix And Its Control Trial. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 7(6), 21–24. <https://doi.org/10.9790/2380-07612124>
- Almasaudi, S. (2021). The Antibacterial Activities Of Honey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(4), 2188–2196. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017>
- Ani, M., Astuti, E. D., Nardina, E. A., Azizah, N., Hutabarat, J., & Cintika Yorinda Sebtalesty (2021). Biologi Reproduksi Dan Mikrobiologi. *Yayasan Kita Menulis*.
- Anis, M. Y., & Hariani, D. (2019). Pemberian Pakan Komersial dengan Penambahan EM4 (Effective Microorganisme 4) untuk Meningkatkan Laju Pertumbuhan Lele (*Clarias* sp.). *Jurnal Riset Biologi Dan Aplikasinya*, 1(1), 1–8. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/risetbiologi>
- Anjelina, S. H. (2020). Antibacterial Activity of Ethanolic Extract of Kitolod (*Hippobromalongiflora*) Leaf Against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 8(1), 92–96.
- Araujo, R. M., Arribas, R. M., & Pares, R. (1991). Distribution of *Aeromonas* species in waters with different levels of pollution. *Journal of Applied Bacteriology*, 71(2), 182–186. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1991.tb02976.x>
- ASSIDQI, K. (2021). Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro.
- Assidqi, K., Tjahjaningsih, W., & Sigit, S. (2012). Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas hydrophila* Secara In Vitro. *Journal of Marine and Coastal Science*, 1(2), 113–124.

- Astriana, W., Dwi Apriani, Y., Rahmawati, N., Fatiqin, A., (2021). Kebiasaan Makan dan Fekunditas Ikan Lele Lokal (*Clarias batrachus*) Di Perairan Sawah SP. Padang Kab. Ogan Komering Ilir SUM-SEL. *Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Teknologi Terapan*, 4(1), 434–445.
- Austin B & Austin D. (2007). Bacterial Fish Pathogens 2007. In *Springer-praxis books in aquatic and marine sciences*.
- Bagas Priambodo. (2018). Analisa Perbandingan Hasil Pemeriksaan Hematology Analyzer Tipe 3 Part Diff dan 5 Part Diff Di Tinjau Dari Aspek Prinsip Kerja Alat. https://perpus.poltekkesjkt2.ac.id/setiadi/index.php?p=show_detail&id=962&keywords=
- Bandeira Junior, G., de Freitas Souza, C., Descovi, S. N., Antoniazzi, A., Cargnelutti, J. F., & Baldisserotto, B. (2019). *Aeromonas hydrophila* Infection In Silver Catfish Causes Hyperlocomotion Related To Stress. *Microbial Pathogenesis*, 132(May), 261–265. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.05.017>
- Bang, L. M., Bunting, C., & Molan, P. (2003). The Effect of Dilution on the Rate of Hydrogen Peroxide Production in Honey and Its Implications for Wound Healing. *Journal of Alternative & Complementary Medicine*, 9(2), 267–273.
- Beaz-Hidalgo, R., & Figueras, M. J. (2013). *Aeromonas* spp. Whole Genomes And Virulence Factors Implicated In Fish Disease. *Journal of Fish Diseases*, 36(4), 371–388. <https://doi.org/10.1111/jfd.12025>
- Bueno-Costa, F. M., Zambiasi, R. C., Bohmer, B. W., Chaves, F. C., Silva, W. P. da, Zanusso, J. T., & Dutra, I. (2016). Antibacterial And Antioxidant Activity Of Honeys From The State Of Rio Grande Do Sul, Brazil. *Lwt*, 65, 333–340. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.018>
- Burgos-Aceves, M. A., Lionetti, L., & Faggio, C. (2019). Multidisciplinary Haematology As Prognostic Device In Environmental And Xenobiotic Stress-Induced Response In Fish. *Science of the Total Environment*, 670, 1170–1183. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.275>
- Carnwath, R., Graham, E. M., Reynolds, K., & Pollock, P. J. (2014). The Antimicrobial Activity Of Honey Against Common Equine Wound Bacterial Isolates. *Veterinary Journal*, 199(1), 110–114. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.07.003>
- Caruso, D., Lusiastuti, A. M., Taukhid, Slembrouck, J., Komarudin, O., & Legendre, M. (2013). Traditional Pharmacopeia In Small Scale Freshwater Fish Farms In West Java, Indonesia: An Ethnoveterinary Approach. *Aquaculture*, 416–417, 334–345. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.048>
- Cerlina, M., Riauwaty, M., & Syawal, H. (2022). Description of Erythrocyte of *Clarias gariepinus* Infected by *Aeromonas hydrophila* and Treated with Bay Leaf Extract (*Syzygium polyantha*). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 27(1), 105. <https://doi.org/10.31258/jpk.27.1.105-113>
- Chang, J. (2000). Medicinal herbs: Drugs or dietary supplements? *Biochemical Pharmacology*, 59(3), 211–219. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(99\)00243-9](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(99)00243-9)

- Chopra, A. K., Xu, X. J., Ribardo, D., Gonzalez, M., Kuhl, K., Peterson, J. W., & Houston, C. W. (2000). The Cytotoxic Enterotoxin Of *Aeromonas hydrophila* Induces Proinflammatory Cytokine Production And Activates Arachidonic Acid Metabolism In Macrophages. *Infection and Immunity*, 68(5), 2808–2818. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.5.2808-2818.2000>
- Clauss, T. M., Dove, A. D. M., & Arnold, J. E. (2008). Hematologic Disorders of Fish. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 11(3), 445–462. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.007>
- Cnaani, A., Tinman, S., Avidar, Y., Ron, M., & Hulata, G. (2004). Comparative Study Of Biochemical Parameters In Response To Stress In *Oreochromis aureus*, *O. Mossambicus* And Two Strains Of *O. niloticus*. *Aquaculture Research*, 35(15), 1434–1440. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01167.x>
- Combarros-Fuertes, P., Fresno, J. M., Estevinho, M. M., Sousa-Pimenta, M., Tornadizo, M. E., & Estevinho, L. M. (2020). Honey: Another Alternative In The Fight Against Antibiotic-Resistant Bacteria? *Antibiotics*, 9(11), 1–21. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110774>
- COWAN, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Current Oncology*, 12(4), 564–582. <https://doi.org/10.3390/curroncol14040004>
- Cunha, Y. V. Y. da, Salosso, Y., & Liufeto, F. C. (2020). Eksplorasi Aktivitas Antibakteri Madu Hutan Asal Pulau Timor Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus* Secara In Vitro. *Jurnal Aquatik*, 3(November 2019), 79–85.
- Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Honey: Chemical Composition, Stability And Authenticity. *Food Chemistry*, 196(April), 309–323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051>
- Dallaire-Dufresne, S., Tanaka, K. H., Trudel, M. V., Lafaille, A., & Charette, S. J. (2014). Virulence, genomic features, and plasticity of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, the causative agent of fish furunculosis. *Veterinary Microbiology*, 169(1–2), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.06.025>
- Dar, G. H., Bhat, R. A., Kamili, A. N., Chishti, M. Z., Qadri, H., Dar, R., & Mehmood, M. A. (2020). Correlation Between Pollution Trends of Freshwater Bodies and Bacterial Disease of Fish Fauna. *Fresh Water Pollution Dynamics and Remediation*, 51–67. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8277-2_4
- Das, K., Asdaq, S. M. B., Khan, M. S., Amrutha, S., Alamri, A., Alhomrani, M., Alsanie, W. F., Bhaskar, A., Chandana shree, G., & Harshitha, P. (2022). Phytochemical Investigation And Evaluation Of In Vitro Anti-Inflammatory Activity Of *Euphorbia hirta* Ethanol Leaf And Root Extracts: A Comparative Study. *Journal of King Saud University - Science*, 34(7), 102261. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102261>
- Daskalov, H. (2006). The Importance Of *Aeromonas hydrophila* In Food Safety. *Food Control*, 17(6), 474–483. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.02.009>
- Dawan, G., Salosso, Y., & Jasmanindar, Y. (2021). Pengaruh Penggunaan Ekstrak Daun Patikan Kerbau (*Euphorbia hirta*) Dalam Pencegahan Dan Pengobatan Bakteri *Aeromonas hydrophilla* Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Akuatik*, 4, 42–52. issn: 2301-

5381

- Del Corral, F., Shotts, E. B., & Brown, J. (1990). Adherence, Haemagglutination And Cell Surface Characteristics Of Motile Aeromonads Virulent For Fish. *Journal of Fish Diseases*, 13(4), 255–268. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1990.tb00782.x>
- Deng, J., Liu, R., Lu, Q., Hao, P., Xu, A., Zhang, J., & Tan, J. (2018). Biochemical Properties, Antibacterial And Cellular Antioxidant Activities Of Buckwheat Honey In Comparison To Manuka Honey. *Food Chemistry*, 252(January), 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.115>
- Di Ianni, F., Merli, E., Burtini, F., Conti, V., Pelizzone, I., Di Lecce, R., Parmigiani, E., Squassino, G. P., Del Bue, M., Lucarelli, E., Ramoni, R., & Grolli, S. (2015). Preparation And Application Of An Innovative Thrombocyte/Leukocyte-Enriched Plasma To Promote Tissue Repair In Chelonians. *PLoS ONE*, 10(4), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122595>
- Dinas Kesehatan RI. (1979). Farmakope Indonesia JILID Iii. Dirjen POM.
- Dra. Ny. S. Rachmatum Suyanto. (2007). Budidaya Ikan Lele. PT. Niaga Swadaya. <https://books.google.co.id/books?id=SEFjcIpP20wC&lpg=PA3&ots=iZuoK8KJes&dq=taksonomi ikan lele &lr&hl=id&pg=PA1#v=onepage&q=taksonomi ikan lele&f=false>
- Ekpo, O. E., & Pretorius, and E. (2007). Asthma, *Euphorbia hirta* And Its Anti-Inflammatory Properties. 29, 189–198.
- El-Asely, A. M., Abbass, A. A., & Austin, B. (2014). Honey Bee Pollen Improves Growth, Immunity And Protection Of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) Against Infection With *Aeromonas Hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 40(2), 500–506. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.07.017>
- Emilianus, V., Jasmanindar, Y., & Santoso, P. (2023). Efektivitas Daun Nangka (*Artocarpus Heterophyllus*) Untuk Pengobatan Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila*. 13(1), 289–298.
- Fazio, F. (2019). Fish Hematology Analysis As An Important Tool Of Aquaculture: A Review. *Aquaculture*, 500, 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030>
- Fazio, F., Faggio, C., Marafioti, S., Torre, A., Sanfilippo, M., & Piccione, G. (2012). Comparative Study Of Haematological Profile On Gobius Niger In Two Different Habitat Sites: Faro Lake And Tyrrhenian Sea [Etude Comparative Du Profil Hématologique De Gobius Niger Dans Deux Habitats Différents: Le Lac De Faro Et La Mer Tyrrhénienne]. *Cahiers de Biologie Marine*, 53(2), 213–219. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84860448171&partnerID=40&md5=1e57c9f5979089d827f56739a72c3190>
- Firmantin, I. T., A. Sudaryono, A., & Nugroho, R. A. (2015). Pengaruh Kombinasi Omega-3 Dan Klorofil Falam Pakan Terhadap Fekunditas, Derajat Penetasan Dan Kelulushidupan Benih Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L). *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 4(4), 95–100.
- Ganjewala, D., Mittal, R., Gupta, A. K., Premlatha, M., & Dawar, R. (2014). Antibacterial

- Properties of Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus Steud*) Wats Essential Oils in Single form and Combination of Honey Against Drug Resistant Pathogenic Bacteria. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 4(4), 278–285. <https://doi.org/10.1080/22311866.2014.933083>
- García, S., Troncoso, J. M., & Rondanelli-Reyes, M. (2020). Study Of Honey According To Botanical Origin And Physicochemical Parameters In The Biobío Region, Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 80, 675–685. https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-58392020000400675&script=sci_arttext&tlng=en
- Gaspersz, V. (1991). Metode Rancangan Percobaan. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. http://perpustakaan.krbogor.lipi.go.id/buku/index.php?p=show_detail&id=1856
- Gonçalves Pessoa, R. B., de Oliveira, W. F., Marques, D. S. C., dos Santos Correia, M. T., de Carvalho, E. V. M. M., & Coelho, L. C. B. B. (2019). The Genus *Aeromonas*: A General Approach. *Microbial Pathogenesis*, 130(March), 81–94. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.036>
- Grizzle, J. M., & Kiryu, Y. (1993). Histopathology of Gill, Liver, and Pancreas, and Serum Enzyme Levels of Channel Catfish Infected with *Aeromonas hydrophila* Complex. *Journal of Aquatic Animal Health*, 5(1), 36–50. [https://doi.org/https://doi.org/10.1577/1548-8667\(1993\)005<0036:HOGLAP>2.3.CO;2](https://doi.org/https://doi.org/10.1577/1548-8667(1993)005<0036:HOGLAP>2.3.CO;2)
- Haditomo, A. H. C. (2017). Pemberian Ekstrak Bawang Putih Dalam Pakan Sebagai Imunostimulan Terhadap Kelulushidupan Dan Profil Darah Ikan Patin (*Pangasius* sp.). 6(treatment C), 234–241.
- Hakim, R. F., Fakhurrrazi, & Ferisa, W. (2016). Pengaruh Air Rebusan Daun Salam (*Eugenia polyantha wight*) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *J Syiah Kuala Dent Soc*, 2(1), 21–28.
- Hardianti, Y. M. (2015). Pengaruh Air Rebusan Daun Salam (*Eugenia polyantha wight*) Sebagai Bahan Desinfeksi Dengan Teknik Semprot Terhadap Jumlah Koloni Bakteri Rongga Mulut Pada Cetakan Alginat. *Pustaka Kesehatan*, 3(3), 555–559.
- Harikrishnan, R., & Balasundaram, C. (2005). Modern Trends In *Aeromonas hydrophila* Disease Management With Fish. *Reviews in Fisheries Science*, 13(4), 281–320. <https://doi.org/10.1080/10641260500320845>
- Harikrishnan, R., Rani, M. N., & Balasundaram, C. (2003). Hematological And Biochemical Parameters In Common Carp, *Cyprinus carpio*, following Herbal Treatment For *Aeromonas hydrophila* Infection. *Aquaculture*, 221(1–4), 41–50. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00023-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00023-1)
- Haryani, A., Grandiosa, R., & Santika, A. (2012). Uji Efektivitas Daun Pepaya (*Carica papaya*) Untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonashydrophila* Pada Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 3(3), 213–220.
- Hoel, S., Vadstein, O., & Jakobsen, A. N. (2017). Species Distribution And Prevalence Of Putative Virulence Factors In Mesophilic *Aeromonas* spp. Isolated From Fresh Retail Sushi. *Frontiers in Microbiology*, 8(MAY), 1–11.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00931>

- Holeton, G. F. (1972). Gas Exchange In Fish With And Without Hemoglobin. *Respiration Physiology*, 14(1–2), 142–150. [https://doi.org/10.1016/0034-5687\(72\)90024-2](https://doi.org/10.1016/0034-5687(72)90024-2)
- Huda, M. (2019). Pengaruh Madu terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) dan Bakteri Gram Negatif (*Escherichia coli*) Effect on the Growth of Honey Gram-Positive Bacteria (*Staphylococcus aureus*) and Gram-Negative Bacteria (*Escherichia coli*). *Jurnal Analis Kesehatan*, 2(1), 250–259.
- Iftitahiyaturrusyidah. (2018). Patogenisitas, Bakteri *Streptococcus iniae*, Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus*). <http://repository.unair.ac.id/id/eprint/71695>
- Igbinosa, I. H., Beshiru, A., Odjadjare, E. E., Ateba, C. N., & Igbinosa, E. O. (2017). Pathogenic Potentials Of *Aeromonas* Species Isolated From Aquaculture And Abattoir Environments. *Microbial Pathogenesis*, 107, 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.03.037>
- Ikechukwa, O. a, & Obinnaya, C. L. (2010). Haematological Profile Of The African Lung Fish, Protopterus Annectens (*Owen*) Of Anambra River, Nigeria. *Journal of American Science*, 6(2), 123–130. http://www.sciencepub.net/american/am0602/21_1201_Haematological_am0602.pdf
- Jaganathan, S. K., & Mandal, M. (2009). Antiproliferative Effects of Honey and of Its Polyphenols : A Review *Chemistry of Honey*. 2009. <https://doi.org/10.1155/2009/830616>
- Jamalzadeh, H. R., Keyvan, A., Ghomi, M. R., & Gherardi, F. (2009). Comparison Of Blood Indices In Healthy And Fungal Infected Caspian Salmon (*Salmo trutta caspius*). *African Journal of Biotechnology*, 8(2), 319–322.
- Jatnika, D., Sumantadinata, K., & Pandjaitan, N. H. (2014). Pengembangan Usaha Budidaya Ikan Lele (*Clarias* sp.) di Lahan Kering di Kabupaten Gunungkidul, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta.: *Jurnal Manajemen Pengembangan Industri Kecil Menengah*, 9(1), 96–105. <https://doi.org/10.29244/mikm.9.1.96-105>
- K.G. Wiryawan, Luvianti, S., Hermana, W. and, & Suharti, S. (2007). Peningkatan Performa Ayam Broiler dengan Suplementasi Daun Salam *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp Sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. *Media Peternakan*, 30(1), 55–62.
- Karim, K., Jura, M. R., & Sabang, S. M. (2015). Antioxidant Activity Test of Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.). *Jurnal Akademik Kimia*, 4(2), 56–63.
- Kavanagh, S., Gunnoo, J., Marques Passos, T., Stout, J. C., & White, B. (2019). Physicochemical Properties And Phenolic Content Of Honey From Different Floral Origins And From Rural Versus Urban Landscapes. *Food Chemistry*, 272(August 2018), 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.035>
- Kurniawan, B., & Ferly Aryana, W. (2015). Binahong (*Cassia Alata* L) as Inhibitor of *Escherichiacolli* Growth. *Escherichia Coli J MAJORITY*, 4, 100–104.
- Langston, A. L., Hoare, R., Stefansson, M., Fitzgerald, R., Wergeland, H., & Mulcahy, M.

- (2002). The Effect Of Temperature On Non-Specific Defence Parameters Of Three Strains Of Juvenile Atlantic Halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Fish and Shellfish Immunology*, 12(1), 61–76. <https://doi.org/10.1006/fsim.2001.0354>
- Leonardi, M. O., & Klempau, A. E. (2003). Artificial Photoperiod Influence On The Immune System Of Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) In The Southern Hemisphere. *Aquaculture*, 221(1–4), 581–591. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00032-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00032-2)
- Liu, J. R., Ye, Y. L., Lin, T. Y., Wang, Y. W., & Peng, C. C. (2013). Effect Of Floral Sources On The Antioxidant, Antimicrobial, And Anti-Inflammatory Activities Of Honeys In Taiwan. *Food Chemistry*, 139(1–4), 938–943. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.015>
- Lusiastuti, A. M., & Hardi, E. H. (2010). Gambaran Darah Sebagai Indikator Kesehatan Pada Ikan Air Tawar. *Prosiding Seminar Nasional Ikan*, 1, 65–69.
- Lusková, V. (1998). Factors Affecting Haematological Indices In Free-Living Fish Populations. *Acta Veterinaria Brno*, 67(4), 249–255. <https://doi.org/10.2754/avb199867040249>
- Magill, S. H., & Sayer, M. D. J. (2004). Abundance Of Juvenile Atlantic Cod (*Gadus morhua*) In The Shallow Rocky Subtidal And The Relationship To Winter Seawater Temperature. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 84(2), 439–442. <https://doi.org/10.1017/S0025315404009415h>
- Magozwi, D. K., Dinala, M., Mokwana, N., Siwe-Noundou, X., Krause, R. W. M., Sonopo, M., McGaw, L. J., Augustyn, W. A., & Tembu, V. J. (2021). Flavonoids From The Genus Euphorbia: Isolation, Structure, Pharmacological Activities And Structure–Activity Relationships. *Pharmaceuticals*, 14(5). <https://doi.org/10.3390/ph14050428>
- Mahasri, G., Widyastuti, P., & Sulmartiwi, L. (2011). Gambaran Leukosit Darah Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang Terinfestasi Ichthyophthirius multifiliis pada Derajat Infestasi yang Berbeda dengan Metode Kohabitasi. *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 3(1), 91–96.
- Mahmud, F. I., (2016). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Patikan Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Skripsi Fakultas Kedokteran* . 4, 3–7.
- Mangunwardoyo, W., Ismayasari, R., & Riani, E. (2016). Uji Patogenesis Dan Virulensi *Aeromonas Hydrophila* Stanier Pada Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus* Lin.) Melalui Postulat Koch. *Jurnal Riset Akuakultur*, 5(2), 145. <https://doi.org/10.15578/jra.5.2.2010.145-255>
- Manna, S. K., Das, N., Bera, A. K., Baitha, R., Maity, S., Debnath, D., Panikkar, P., Nag, S. K., Das Sarkar, S., Das, B. K., & Patil, P. K. (2021). Reference Haematology And Blood Biochemistry Profiles Of Striped Catfish (*Pangasianodon Hypophthalmus*) In Summer And Winter Seasons. *Aquaculture Reports*, 21, 100836. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100836>
- Manurung, U. N., & Susantie, D. (2017). Identifikasi Bakteri Patogen Pada Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Di Lokasi Budidaya Ikan Air Tawar Kabupaten Kepulauan Sangihe. *E-Journal Budidaya Perairan*, 5(3), 186–193. <https://doi.org/10.35800/bdp.5.3.2017.17609>

- Martínez-Murcia, A. J., Saavedra, M. J., Mota, V. R., Maier, T., Stackebrandt, E., & Cousin, S. (2008). *Aeromonas* Aquariorum Sp. Nov., Isolated From Aquaria Of Ornamental Fish. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(5), 1169–1175. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65352-0>
- Matyar, F., Kaya, A., & Dinçer, S. (2007). Distribution And Antibacterial Drug Resistance Of *Aeromonas* spp. From Fresh And Brackish Waters In Southern Turkey. *Annals of Microbiology*, 57(3), 443–447. <https://doi.org/10.1007/BF03175087>
- Meliawaty, F. (2012). Efisiensi Sterilisasi Alat Bedah Mulut melalui Inovasi Oven dengan Ozon dan Infrared. *Maranatha J. of Medicine and Health*, 11(2), 147–167.
- Minaka, A., Sarjito, & Hastuti, S. (2012). Identifikasi Agenia Penyebab dan Profil Darah Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*) yang Terserang Penyakit Bakteri. 1(1), 249–263.
- Minden-Birkenmaier, B. A., & Bowlin, G. L. (2018). Honey-Based Templates In Wound Healing And Tissue Engineering. *Bioengineering*, 5(2). <https://doi.org/10.3390/bioengineering5020046>
- Molan, P., & Rhodes, T. (2015). Honey: A Biologic Wound Dressing. 27(6), 141–151.
- Mubarak, Z., Chrismirina, S., & Qamari, C. A. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. 8(1), 1–10.
- Mulia, D. S., & Vauziyyah, S. (2021). Pengobatan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus* L.) yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila* di Kabupaten Banyumas dengan Menggunakan Ekstrak Daun Api-Api (*Avicennia marina*). *Sainteks*, 18(1), 9. <https://doi.org/10.30595/sainteks.v18i1.10650>
- Muslikha, Pujiyanto, S., Jannah, S. N., & Novita, H. (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.
- Mustafa, G., Iqbal, A., Javid, A., Manzoor, M., Aslam, S., Ali, A., Muhammad Azam, S., Khalid, M., Farooq, M., Al Naggar, Y., Ali Alharbi, S., Ali El Enshasy, H., Abd Malek, R., Qamer, S., & Hussain, A. (2022). Antibacterial Properties Of Apis Dorsata Honey Against Some Bacterial Pathogens. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 730–734. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.09.059>
- Mutalib, Y. (2017). Analysis of Bacteria Attack Level on Dumbo Catfish (*Clarias gariepinus*) in Pond Cultivation of Campuss II Muhammadiyah Luwuk University. *Jurnal SAINTEK Peternakan Dan Perikanan*, 1(1), 57–64.
- Nafisah, Minhatun, Suyatno Tukiran, and N. H. (2014). Uji Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Heksan, Kloroform Dan Metanol Dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*.
- Nafisah, M., Tukiran, Suyatno, & Hidayati, N. (2014). Uji Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Heksan, Kloroform Dan Metanol Dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia, September*, 279–286. <http://tarmiziblog>.

- Naomi Nainggolan, T., Harpeni, E., & Santoso, L. (2021). Respon Imun Non-Spesifik dan Performa Pertumbuhan Lele *Clarias gariepinus* (Burchell , 1822) yang Diberi Pakan dengan Suplementasi Tepung Daun Kelor *Moringa oleifera* (Lamk , 1785) Non-Specific Immune Response and Growth Performance of *Clarias gariepinus*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 26(2), 102–114.
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA*, 2(2), 128. <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3121>
- Nofian, W., & Andriyanto, S. (2006). Manajemen Budidaya Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Di Kampung Lele, Kabupaten Boyolali, Jawa Tengah. *Media Akulakultur*, 8(1), 63–72.
- Nombela, I., & Ortega-Villaizan, M. del M. (2018). Nucleated red blood cells: Immune cell mediators of the antiviral response. *PLoS Pathogens*, 14(4), 6–11. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006910>
- Olga, Aisiah, S., & Mailani, D. (2020). Isolasi, Karakterisasi Dan Identifikasi Bakteri *Aeromonas Spp* Pada Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) Berpenyakit Di Kabupaten Banjar. *Prosiding Seminar Nasional Perikanan Dan Kelautan*, 1–9.
- Ollin, N. S., Salosso, Y., & Jasmanindar, Y. (2021). Pengobatan Ikan Kerapu Cantang Yang Terinfeksi Bakteri *Vibrio alginolyticus* Menggunakan Madu Dengan Frekuensi Yang Berbeda. *Jurnal Akuatik*, 4(2), 38–45.
- Oluyeye, J. O., Orjiakor, P. I., Olowe, B. M., Miriam, U. O., & Oluwasegun, O. D. (2019). Antimicrobial Potentials of *Vernonia amygdalina* and Honey on Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Clinical and Environmental Sources. *OALib*, 06(05), 1–13. <https://doi.org/10.4236/oalib.1105437>
- Pablos, M., Rodríguez-Calleja, J. M., Santos, J. A., Otero, A., & García-López, M. L. (2009). Occurrence Of Motile *Aeromonas* In Municipal Drinking Water And Distribution Of Genes Encoding Virulence Factors. *International Journal of Food Microbiology*, 135(2), 158–164. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.08.020>
- Pasaribu, W., & Djonu, A. (2021). Kajian Pustaka : Penggunaan Bahan Herbal Untuk Pencegahan Dan Pengobatan Penyakit Bakterial Ikan Air Tawar. *Bahari Papadak*, 2021(April), 41–52.
- Pascual-Maté, A., Osés, S. M., Marcazzan, G. L., Gardini, S., Fernández Muiño, M. A., & Teresa Sancho, M. (2018). Sugar Composition And Sugar-Related Parameters Of Honeys From The Northern Iberian Plateau. *Journal of Food Composition and Analysis*, 74, 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.08.005>
- Patel, N. B., & Patel, K. C. (2014). Antibacterial Activity of *Euphorbia hirta* L. Ethanomedicinal Plant Against Gram Negative UTI Pathogens. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, 3(2), 24–29. www.ijpras.com
- Pegado De Azevedo, T. M., Martins, M. L., Bozzo, F. R., & De Moraes, F. R. (2006). Haematological And Gill Responses In Parasitized Tilapia From Valley of Tijucas River, SC, Brazil. *Scientia Agricola*, 63(2), 115–120. <https://doi.org/10.1590/s0103->

90162006000200002

- Pękala-Safińska, A. (2018). Contemporary Threats Of Bacterial Infections In Freshwater Fish. *Journal of Veterinary Research (Poland)*, 62(3), 261–267. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2018-0037>
- Piotrowska, M., & Popowska, M. (2014). The Prevalence Of Antibiotic Resistance Genes Among *Aeromonas* Species In Aquatic Environments. *Annals of Microbiology*, 64(3), 921–934. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0911-2>
- Pippy, J. H. C., & Hare, G. M. (1969). Relationship of River Pollution to Bacterial Infection in Salmon (*Salmo salar*) and Suckers (*Catostomus commersoni*). *Transactions of the American Fisheries Society*, 98(4), 685–690. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1969\)98\[685:rorptb\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1969)98[685:rorptb]2.0.co;2)
- Pratheepa, V., & Sukumaran, N. P. (2014). Effect of *Euphorbia hirta* Plant Leaf Extract On Immunostimulant Response of *Aeromonas hydrophila* infected *Cyprinus carpio*. *PeerJ*, 2014(1), 1–17. <https://doi.org/10.7717/peerj.671>
- Preena, P. G., Swaminathan, T. R., Kumar, V. J. R., & Singh, I. S. B. (2020). Antimicrobial Resistance In Aquaculture: A Crisis For Concern. *Biologia*, 75(9), 1497–1517. <https://doi.org/10.2478/s11756-020-00456-4>
- Pridgeon, J. W., Klesius, P. H., Mu, X., Carter, D., Fleming, K., Xu, D., Srivastava, K., & Reddy, G. (2011). Identification Of Unique DNA Sequences Present In Highly Virulent 2009 Alabama Isolates Of *Aeromonas hydrophila*. *Veterinary Microbiology*, 152(1–2), 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.04.008>
- Puente-Marin, S., Nombela, I., Ciordia, S., Mena, M. C., Chico, V., Coll, J., & Ortega-Villaizan, M. del M. (2018). In Silico Functional Networks Identified In Fish Nucleated Red Blood Cells By Means Of Transcriptomic And Proteomic Profiling. *Genes*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/genes9040202>
- Purnamasari, L., Sasanti, A. D., & Yulisman. (2015). Perendaman Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias* sp.) Dalam Sari Buah Belimbing Wuluh Untuk Mengobati Infeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 3(1), 82–93.
- Puspitasari, M., Abun, Rochana, A., & Widjastuti, T. (2022). The Potential Of Young And Old *Euphorbia hirta* Leaves Extract As Antibacterial Against *Escherichia coli* And Antihelminthic Against *Ascaridia Galli* Obtained In Sentul Chickens. *Biodiversitas*, 23(6), 3243–3250. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230652>
- Qiao, N., & Shao, Z. (2010). Isolation And Characterization Of A Novel Biosurfactant Produced By Hydrocarbon-Degrading Bacterium *Alcanivorax dieselolei* B-5. *Journal of Applied Microbiology*, 108(4), 1207–1216. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04513.x>
- Raffi, S. M. & Suresh, T. V. (2011). Screening Of Chloramphenicol In Wild And Cultured Shrimp *Penaeus Monodon* By Competitive Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *International Conference on Chemical, Biological and Environment Sciences (ICCEBS'2011)*, 313–317.

- Rahman, M. H., Kawai, K., & Kusuda, R. (1997). Virulence Of Starved *Aeromonas hydrophila* To Cyprinid Fish. *Fish Pathology*, 32(3), 163–168. <https://doi.org/10.3147/jsfp.32.163>
- Rahman, M., Huys, G., Rahman, M., Albert, M. J., Kühn, I., & Möllby, R. (2007). Persistence, Transmission, And Virulence Characteristics Of *Aeromonas* Strains In A Duckweed Aquaculture-Based Hospital Sewage Water Recycling Plant In Bangladesh. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(5), 1444–1451. <https://doi.org/10.1128/AEM.01901-06>
- Ranzani-Paiva, M. J., Rodrigues, E. L., Veiga, M. L., Eiras, A. C., & Campos, B. E. (2003). Differential Leukocyte Counts In “Dourado”, *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840, From The Mogi-Guaçu River, Pirassununga, sp. *Brazilian Journal of Biology = Revista Brasileira de Biologia*, 63(3), 517–525. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842003000300018>
- Rattanata, N., Daduang, S., Phaetchanla, S., Bunyatratthata, W., Promraksa, B., Tavichakorntrakool, R., Uthaiwat, P., Boonsiri, P., & Daduang, J. (2014). Antioxidant And Antibacterial Properties Of Selected Thai Weed Extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(11), 890–895. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0422>
- Report, T. (2015). Epizootic Ulcerative Syndrome In Fishes. *January 1990*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4806.9604>
- Rey Vázquez, G., & Guerrero, G. A. (2007). Characterization Of Blood Cells And Hematological Parameters In *Cichlasoma Dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Tissue and Cell*, 39(3), 151–160. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2007.02.004>
- Rio, Y. B. P., Djamal, A., & Asterina, A. (2012). Perbandingan Efek Antibakteri Madu Asli Sikabu dengan Madu Lubuk Minturun terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 1(2), 59–62. <https://doi.org/10.25077/jka.v1i2.15>
- 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. <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jfpik>
- Ruiz-Ruiz, J. C., Matus-Basto, A. J., Acereto-Escoffié, P., & Segura-Campos, M. R. (2017). Antioxidant And Anti-Inflammatory Activities Of Phenolic Compounds Isolated From *Melipona Beecheii* Honey. *Food and Agricultural Immunology*, 28(6), 1424–1437. <https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1347148>
- Russo, N. F., & Pirlott, A. (2006). Gender-Based Violence Concepts, Methods, And Findings. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1087, 178–205. <https://doi.org/10.1196/annals.1385.024>
- Salosso, Y. (2019a). The Potential Of Forest Honey (*Apis* spp.) From Timor Island As Antibacterial Against Pathogenic Bacteria In Fish Culture. *Indonesian Aquaculture Journal*, 14(2), 63–68. <https://doi.org/10.15578/iaj.14.2.2019.63-68>
- Salosso, Y. (2019b). Uji Antibakteri Madu Semut Asal Pulau Semau Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio alginolitycus*. *Journal of Fishery Science and Innovation*, 3(2), 68–72. <http://dx.doi.org/10.33772/jspi.v1n1>

- Salosso, Y., Ressie, J. D., Ridwan, Foes, Y. W., & Pasaribu, W. (2023). Bacteria *Aeromonas hydrophilla*-induced Disease Treatment In Catfish (*Clarias* sp.) Culture, With A Combination Of Honey And Asthma Plant *Euphorbia hirta*. *AAFL Bioflux*, 16(2), 878–886.
- Salosso, Y., Tjendanawangi, A., Lopez, S., & Pasaribu, W. (2023). Effect of The Combination of Kefa Forest Honey and *Euphorbia hirta* as a Curative agent of *Vibrio alginolyticus* in the Hybrid Grouper *Epinephelus fuscoguttatus*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1147(1), 012006. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1147/1/012006>
- Satheeshkumar, P., Ananthan, G., Senthilkumar, D., Khan, A. B., & Jeevanantham, K. (2012). Comparative Investigation On Haematological And Biochemical Studies On Wild Marine Teleost Fishes From Vellar Estuary, Southeast Coast Of India. *Comparative Clinical Pathology*, 21(3), 275–281. <https://doi.org/10.1007/s00580-010-1091-5>
- Semwal, A., Kumar, A., & Kumar, N. (2023). A Review On Pathogenicity Of *Aeromonas hydrophila* And Their Mitigation Through Medicinal Herbs In Aquaculture. *Heliyon*, 9(3), e14088. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14088>
- Setyowati, E., Prayitno, S. B., & Sarjito. (2014). Pengaruh Perendaman Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*. L) Terhadap Kelulushidupan Dan Histologi Hati Ikan Patin (*Pangasius hypophtalamus*) Yang Diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 3(4), 174–182.
- Sheas, M. N., Rasool, H., Rafique, M. N., Tariq, M. R., Muhammad, A., & Ali, K. (2019). Exploring The Potential Of Honey And Curcumin As Antidepressent. *Punjab University Journal of Zoology*, 34(1), 89–95. <https://doi.org/10.17582/journal.pujz/2019.34.1.89.95>
- Shih, M. F., & Cherng, J. Y. (2012). Potential Applications of *Euphorbia hirta* in Pharmacology. In O. Vallisuta & S. M. Olimat (Eds.), *Drug Discovery Research In Pharmacognosy* (pp. 165–180). Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia.
- Shotts, E. B., Gaines, J. L., Martin, L., & Prestwood, A. K. (1972). *Aeromonas*-induced Deaths Among Fish And Reptiles In An Eutrophic Inland Lake. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 161(6), 603–607.
- Simanjuntak, H. A., & Gurning, K. (2020). The Effect of Infusion Breadfruit Leaves (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) On Blood Glucose Levels in Male Mice (*Mus musculus*) Diabetes Mellitus Type 2. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 8(6), 92–96.
- Suhermanto, A., Andayani, S., & Maftuch. (2011). Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Untuk Meningkatkan Leukosit Dan Diferensial Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Kelautan*, 4(2), 150–157.
- Sutuli, F. J., Kreutz, L. C., Noro, M., Gressler, L. T., Heinzmann, B. M., de Vargas, A. C., & Baldisserotto, B. (2014). The Use Of Eugenol Against *Aeromonas hydrophila* And Its Effect On Hematological And Immunological Parameters In Silver Catfish (*Rhamdia quelen*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 157(3–4), 142–148.

<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2013.11.009>

- Svetina, A., Matašin, Ž., Tofant, A., Vučemilo, M., & Fijan, N. (2002). Haematology and Some Blood Chemical Parameters Of Young Carp Till The Age Of Three Years. *Acta Veterinaria Hungarica*, 50(4), 459–467. <https://doi.org/10.1556/AVet.50.2002.4.8>
- Tariq, M., Gore, M., & Aruna, K. (2014). Antibacterial And Synergistic Activity Of Ethanolic Ajwain (*Trachyspermum ammi*) Extract On ESBL And MBL Producing Uropathogens. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(6), 278–284.
- Trevor Robinson. (1995). Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. itb.
- Ture, M., Cebeci, A., Altinok, I., Aygur, E., & Caliskan, N. (2022). Isolation and Characterization of *Aeromonas hydrophila*-Specific Lytic Bacteriophages. *Aquaculture*, 558, 738371. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738371>
- Witeska, M., Kondera, E., Ługowska, K., & Bojarski, B. (2022). Hematological Methods In Fish – Not Only For Beginners. *Aquaculture*, 547. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737498>
- Wulandari, T., Indrawati, A., & Pasaribu, F. H. (2019). Isolasi dan Identifikasi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) Pertambakan Muara Jambi, Provinsi Jambi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 89. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.89-95>
- Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., & Ren, L. (2014). Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Current Medicinal Chemistry*, 22(1), 132–149. <https://doi.org/10.2174/0929867321666140916113443>
- Yanti Hamdiyati, Kusnadi, I. R. (2008). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia Hirta*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Epidermidis*. *Jurnal Pengajaran MIPA*, 12(2), 1–10.
- Yanto, H., Hasan, H., & Sunarto. (2015). Studi Hematologi Untuk Diagnosa Penyakit Ikan Secara Dini di Sentra Produksi Budidaya Ikan Air Tawar Sungai Kapuas Kota Pontianak. 6(1), 11–20.
- Yuliana, S. (2018). Pemanfaatan Daun Miana yang Dicampur Madu dalam Pengobatan Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Prosiding Simposium Nasional Kelautan Dan Perikanan V, 2010*, 313–322. <http://journal.unhas.ac.id/index.php/proceedingsimnaskp/article/view/4663>
- Zhang, D., Pridgeon, J. W., & Klesius, P. H. (2013). Expression And Activity Of Recombinant Proaerolysin Derived From *Aeromonas hydrophila* Cultured From Diseased Channel Catfish. *Veterinary Microbiology*, 165(3–4), 478–482. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.04.023>
- Zhang, D., Xu, D. H., & Shoemaker, C. (2016). Experimental Induction Of Motile *Aeromonas* Septicemia In Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) by Waterborne Challenge With Virulent *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Reports*, 3, 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2015.11.003>

LAMPIRAN

1. Lampiran 1 Hasil Uji

- Eritrosit

Descriptives								
ERITROSIT								
	N	Rerata	Simpan- gan baku	Std. Error	Interval kepercayaan 95%		Minimum	Maximum
					Batas bawah	Batas atas		
A	3	2.37	.0577	.03333	2.22	2.51	2.30	2.40
B	3	2.23	.0577	.03333	2.08	2.37	2.20	2.30
C	3	2.27	.1527	.08819	1.88	2.64	2.10	2.40
D	3	2.27	.2081	.12018	1.74	2.78	2.10	2.50
E	3	1.73	.1527	.08819	1.35	2.11	1.60	1.90
Total	15	2.17	.2609	.06723	2.02	2.31	1.60	2.50

Asumsi homogenitas varians					
		Uji levene	df1	df2	Sig.
ERITROSIT	Berdasarkan rata-rata	2.000	4	10	.171
	Berdasarkan nilai tengah	.600	4	10	.671
	Berdasarkan nilai tengah dan derajat kebebasan	.600	4	6.522	.676
	Rata-rata	1.857	4	10	.195

ANOVA					
ERITROSIT					
	Jumlah kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antara ke- lompok	.756	4	.189	9.776	.002
Dalam ke- lompok	.193	10	.019		
Total	.949	14			

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: ERITROSIT							
	(I) PERLAKUA N	(J) PERLAKUAN	Beda re- rata (I-J)	Std. Error	Sig.	95% selang ke- percayaan	
						Batas bawah	Batas atas
LSD	A	B	.13333333 3	.11352924 2	.267	-.1196255 8	.386292 25
		C	.10000000 0	.11352924 2	.399	-.1529589 2	.352958 92
		D	.10000000 0	.11352924 2	.399	-.1529589 2	.352958 92
		E	.63333333 3	.11352924 2	.000	.3803744 2	.886292 25

B	A	- .13333333 3	.11352924 2	.267	- .3862922 5	.119625 58
	C	- .03333333 3	.11352924 2	.775	- .2862922 5	.219625 58
	D	- .03333333 3	.11352924 2	.775	- .2862922 5	.219625 58
	E	.50000000 0	.11352924 2	.001	.2470410 8	.752958 92
C	A	- .10000000 0	.11352924 2	.399	- .3529589 2	.152958 92
	B	.03333333 3	.11352924 2	.775	- .2196255 8	.286292 25
	D	.00000000 0	.11352924 2	1.00 0	- .2529589 2	.252958 92
	E	.53333333 3	.11352924 2	.001	.2803744 2	.786292 25
D	A	- .10000000 0	.11352924 2	.399	- .3529589 2	.152958 92
	B	.03333333 3	.11352924 2	.775	- .2196255 8	.286292 25
	C	.00000000 0	.11352924 2	1.00 0	- .2529589 2	.252958 92
	E	.53333333 3	.11352924 2	.001	.2803744 2	.786292 25
E	A	- .63333333 3	.11352924 2	.000	- .8862922 5	- .380374 42
	B	- .50000000 0	.11352924 2	.001	- .7529589 2	- .247041 08
	C	- .53333333 3	.11352924 2	.001	- .7862922 5	- .280374 42
	D	- .53333333 3	.11352924 2	.001	- .7862922 5	- .280374 42

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ERITROSIT					
PERLAKUAN	N	Subset = 0.05			
		1		2	
Duncan ^a	E	3	1.73333333		
	B	3		2.23333333	
	C	3		2.26666667	
	D	3		2.26666667	
	A	3		2.36666667	
	Sig.		1.000		.299
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.					

Deskripsi								
HEMOGLOBIN								
	N	Rerata	Simpan- gan baku	Std. Error	Interval kepercayaan 95%		Minimum	Maximum
					Batas bawah	Batas atas		
A	3	11.700	1.2124	.7000	8.688	14.712	10.3	12.4
B	3	10.700	.5292	.3055	9.386	12.014	10.3	11.3
C	3	11.400	.3606	.2082	10.504	12.296	11.0	11.7
D	3	11.233	.7572	.4372	9.352	13.114	10.7	12.1
E	3	8.767	.1155	.0667	8.480	9.054	8.7	8.9
Total	15	10.760	1.2368	.3193	10.075	11.445	8.7	12.4

Asumsi homogenitas varians					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
HEMOGLOBIN	C	5.192	4	10	.016
	Berdasarkan nilai tengah	.404	4	10	.802
	Berdasarkan nilai tengah dan derajat kebebasan	.404	4	3.847	.799
	Rata-rata	4.253	4	10	.029

ANOVA					
HEMOGLOBIN					
	Jumlah kuadrat	df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Antara ke- lompok	16.483	4	4.121	8.353	.003
Dalam ke- lompok	4.933	10	.493		
Total	21.416	14			

Uji perbandingan							
Variabel terikat: HEMOGLOBIN							
	(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Beda re- rata (I-J)	Std. Error	Sig.	95% selang kepercayaan	Beda rerata (I-J)
						Batas bawah	
LSD	A	B	1.0000	.5735	.112	-278	2.278
		C	.3000	.5735	.612	-978	1.578
		D	.4667	.5735	.435	-811	1.744
		E	2.9333	.5735	.000	1.656	4.211
	B	A	-1.0000	.5735	.112	-2.278	.278
		C	-.7000	.5735	.250	-1.978	.578
		D	-.5333	.5735	.374	-1.811	.744

	E	1.9333	.5735	.007	.656	3.211
C	A	-.3000	.5735	.612	-1.578	.978
	B	.7000	.5735	.250	-.578	1.978
	D	.1667	.5735	.777	-1.111	1.444
	E	2.6333	.5735	.001	1.356	3.911
D	A	-.4667	.5735	.435	-1.744	.811
	B	.5333	.5735	.374	-.744	1.811
	C	-.1667	.5735	.777	-1.444	1.111
	E	2.4667	.5735	.002	1.189	3.744
E	A	-2.9333	.5735	.000	-4.211	-1.656
	B	-1.9333	.5735	.007	-3.211	-.656
	C	-2.6333	.5735	.001	-3.911	-1.356
	D	-2.4667	.5735	.002	-3.744	-1.189

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

- Hemoglobin**

HEMOGLOBIN				
PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	
Duncan ^a	E	3	8.767	
	B	3		10.700
	D	3		11.233
	C	3		11.400
	A	3		11.700
	Sig.		1.000	.135

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Deskripsi								
LEUKOSIT								
	N	Rerata	Simpan- gan baku	Std. Error	Interval kepercayaan 95%		Minimu m	Maximu m
					Batas bawah	Batas atas		
A	3	32.2000 0	1.558846	.900000	28.3276 1	36.0723 9	30.400	33.100
B	3	29.8666 7	1.001665	.578312	27.3783 9	32.3549 4	29.100	31.000
C	3	29.7333 3	.152753	.088192	29.3538 8	30.1127 9	29.600	29.900
D	3	24.8333 3	1.096966	.633333	22.1083 2	27.5583 5	24.200	26.100
E	3	35.4000 0	2.551470	1.47309 2	29.0618 0	41.7382 0	32.800	37.900
Total	15	30.4066 7	3.800464	.981275	28.3020 4	32.5112 9	24.200	37.900

Uji homogenitas varian					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
LEUKOSIT	Berdasarkan rata-rata	2.091	4	10	.157
	Berdasarkan nilai tengah	.795	4	10	.555
	Berdasarkan nilai tengah dan derajat kebebasan	.795	4	6.622	.566
	Rata-rata	1.987	4	10	.173

Variable terikat : LEUKOSIT							
Multiple Comparisons							
(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Beda rerata (I-J)	Std. Error	Sig.	95% selang kepercayaan		
					Batas bawah		
LSD	A	B	2.333333	1.220382	.085	-.38585	5.05251
		C	2.466667	1.220382	.071	-.25251	5.18585
		D	7.366667	1.220382	.000	4.64749	10.08585
		E	-3.200000	1.220382	.026	-5.91918	-.48082
	B	A	-2.333333	1.220382	.085	-5.05251	.38585
		C	.133333	1.220382	.915	-2.58585	2.85251
		D	5.033333	1.220382	.002	2.31415	7.75251
		E	-5.533333	1.220382	.001	-8.25251	-2.81415
	C	A	-2.466667	1.220382	.071	-5.18585	.25251
		B	-.133333	1.220382	.915	-2.85251	2.58585
		D	4.900000	1.220382	.002	2.18082	7.61918
		E	-5.666667	1.220382	.001	-8.38585	-2.94749
	D	A	-7.366667	1.220382	.000	-	-4.64749
		B	-5.033333	1.220382	.002	-7.75251	-2.31415
		C	-4.900000	1.220382	.002	-7.61918	-2.18082
		E	-10.566667	1.220382	.000	-	-7.84749
	E	A	3.200000	1.220382	.026	.48082	5.91918
		B	5.533333	1.220382	.001	2.81415	8.25251
		C	5.666667	1.220382	.001	2.94749	8.38585
		D	10.566667	1.220382	.000	7.84749	13.28585

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

- Leukosit

LEUKOSIT					
PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	
Duncan ^a	D	3	24.83333		
	C	3		29.73333	
	B	3		29.86667	
	A	3		32.20000	
	E	3			35.40000
	Sig.		1.000	.082	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

ANOVA					
Kelulushidupan					
Jumlah kuadrat	Jumlah kuadrat	Df	Rata-rata kuadrat	F	Sig.
Jumlah kuadrat	39.067	4	9.767	29.300	.000
Jumlah kuadrat	3.333	10	.333		
Jumlah kuadrat	42.400	14			









Multiple Comparisons							
Dependent Variable: Kelulushidupan							
(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
LSD	A	B	.000	.471	1.000	-1.05	1.05
		C	1.333	.471	.018	.28	2.38
		D	-1.000	.471	.060	-2.05	.05
		E	3.667	.471	.000	2.62	4.72
	B	A	.000	.471	1.000	-1.05	1.05
		C	1.333	.471	.018	.28	2.38
		D	-1.000	.471	.060	-2.05	.05
		E	3.667	.471	.000	2.62	4.72
	C	A	-1.333	.471	.018	-2.38	-.28
		B	-1.333	.471	.018	-2.38	-.28
		D	-2.333	.471	.001	-3.38	-.128
		E	2.333	.471	.001	1.28	3.38
	D	A	1.000	.471	.060	-.05	2.05
		B	1.000	.471	.060	-.05	2.05
		C	2.333	.471	.001	1.28	3.38
		E	4.667	.471	.000	3.62	5.72
	E	A	-3.667	.471	.000	-4.72	-.262
		B	-3.667	.471	.000	-4.72	-.262
		C	-2.333	.471	.001	-3.38	-.128
		D	-4.667	.471	.000	-5.72	-.362

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Kelulushidupan				
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a	E	3	2.33	
	C	3		4.67
	A	3		6.00
	B	3		6.00
	D	3		7.00
	Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

2. Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian

 <p>Aquarium tempat pemeliharaan ikan</p>	 <p>proses pengambilan darah ikan lele</p>	 <p>Kondisi ikan setelah penelitian pada perlakuan A 1</p>
 <p>Kondisi ikan setelah penelitian pada perlakuan A 2</p>	 <p>Kondisi ikan setelah penelitian pada perlakuan A 3</p>	 <p>Kondisi ikan setelah penelitian pada perlakuan B 1</p>
 <p>Kondisi ikan setelah penelitian pada perlakuan B 2</p>	 <p>Kondisi ikan setelah penelitian pada perlakuan B 3</p>	 <p>Kondisi ikan setelah penelitian pada perlakuan C 1</p>
 <p>Kondisi ikan setelah penelitian pada perlakuan C 2</p>	 <p>Kondisi ikan setelah penelitian pada perlakuan B 1</p>	