

EFEKTIVITAS EKSTRAK BAWANG PUTIH *Allium sativum* TERHADAP KETAHANAN TUBUH IKAN MAS *Cyprinus carpio* YANG DIINFEKSI KOI HERPES VIRUS (KHV)

The Effectiveness of Onion Extract *Allium sativum* to Prevent Koi Herpesvirus (KHV) Infection on Common Carp *Cyprinus carpio*

S. Nuryati, P. Giri dan Y. Hadiroseyani

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

ABSTRACT

Common carp is one of consumption fish that has delicious meat, high pritein level, and easy in farming. The serious problem in common carp farming is koi herpesvirus infection. Onion extract potency to improve immune system was estimated to prevent disease infection. The testing of the garlic extract through food could be used as efforts to increase endurance of common carp fish *Cyprinus carpio* to koi herpesvirus infection that was considered from blood parameter. Fish that was used was measuring 9-11 cm with the treatment of food containing 30, 50, and 70 gr/100 ml onion extract. Fish was acclimated for seven days in 60×30×30 cm³ aquarium before used. Garlic extract diet in food gave increasing of fish immune system that was infected by koi herpesvirus. The increased of leucocytes of blood fish with onion extract diet was faster than possitive control. The dose of B treatment (50 gr/100 ml) was the best dose gave short incubation periode comparing other treatment. Survival rate (SR) of this B treatment was highest, i.e. 91.7%, while survival rate of negative control was 50%.

Key word: common carp, *Cyprinus carpio*, onion, *Allium sativum*, koi herpesvirus

ABSTRAK

Salah satu jenis ikan konsumsi air tawar yang banyak digemari oleh masyarakat adalah ikan mas *Cyprinus carpio* karena rasa dagingnya gurih, memiliki kadar protein tinggi dan cukup mudah dalam pemeliharannya. Permasalahan yang muncul saat ini adalah wabah Koi Herpes Virus (KHV). Potensi ekstrak bawang putih sebagai anti mikroba spektrum luas, diduga dapat mengobati dan mencegah penyakit ikan. Pengujian bawang putih secara *in vivo* melalui pakan dapat digunakan sebagai upaya untuk meningkatkan ketahanan tubuh ikan mas *Cyprinus carpio* terhadap infeksi penyakit KHV yang ditinjau dari gambaran darahnya. Ikan uji yang digunakan adalah ikan mas berukuran 9-11 cm dengan perlakuan pakan yang mengandung bawang putih sebanyak 30, 50, dan 70 gr/100 ml. Sebelum dilakukan penelitian ikan diadaptasikan selama 7 hari pada akuarium berukuran 60×30×30 cm³. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih efektif untuk meningkatkan ketahanan tubuh ikan mas *Cyprinus carpio* yang diinfeksi oleh Koi Herpes Virus (KHV). Pengamatan gambaran darah ikan yang terinfeksi KHV setelah pemberian ekstrak bawang putih selama 30 hari dapat meningkatkan jumlah leukosit lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan kontrol positif. Peningkatan jumlah limfosit dalam darah mampu meningkatkan pertahanan tubuh. Peningkatan jumlah leukosit ditunjukkan dengan meningkatnya jumlah limfosit dan penurunan jumlah monosit. Perlakuan B (50 gr/100 ml) merupakan dosis yang paling baik karena masa inkubasi KHV terlewat lebih cepat dibanding perlakuan lain yang ditandai dengan penurunan jumlah leukositnya. Hal ini didukung oleh gejala klinis yang ringan dibandingkan kontrol positif dan tingkat kelangsungan hidup yang tinggi sebesar 91,7%. Sedangkan pada kontrol negatif kelangsungan hidupnya sebesar 50%.

Kata kunci: ikan mas, *Cyprinus carpio*, bawang putih, *Allium sativum*, KHV dan Herpes

PENDAHULUAN

Ikan mas *Cyprinus carpio* merupakan salah satu jenis ikan konsumsi air tawar yang

banyak digemari oleh masyarakat karena rasa dagingnya gurih dan memiliki kadar protein tinggi. Kelebihan lainnya adalah ikan ini cukup mudah dalam pemeliharannya.

Namun sejak bulan Maret 2002, pembudidaya ikan mas dan koi di Indonesia menghadapi masalah dengan munculnya wabah koi herpes virus (KHV) yang mengakibatkan penurunan produksi usaha budidaya ikan mas di pulau Jawa (Yuasa, 2003).

Koi Herpes Virus (KHV) merupakan penyakit viral yang menyerang ikan mas dan koi dan bersifat sangat menular. Penyakit ini dipicu oleh penurunan suhu lingkungan sehingga disebut sebagai virus yang menyerang saat dingin (*a cold virus*). Koi Herpes Virus dapat menyerang pada semua umur inang dan semua sistem budidaya (Taukhid *et al.*, 2004). Infeksi KHV pertama kali ditemukan di Israel pada tahun 1998 dan mulai menyebar ke berbagai negara di Eropa pada tahun 1999 (Denham *et al.*, 2004) kemudian Amerika dan Asia. Titik masuk KHV ke Indonesia berasal dari import ikan koi dari China yang masuk ke Surabaya melalui Hong Kong pada bulan Desember 2001 (Departemen Kelautan dan Perikanan, 2002). Infeksi ini bisa menyebabkan kematian yang tinggi mencapai 100% dalam waktu singkat (Wakita, 2005).

Upaya penanggulangan wabah KHV di daerah yang terserang telah dilakukan dengan menggunakan bahan-bahan kimia dan obat-obatan. Namun, pengobatan dengan obat-obatan tidak efektif, bahkan hanya membantu mengatasi infeksi sekunder oleh bakteri, fungi atau parasit. Ketidakefektifan pengobatan tersebut dikarenakan patogenitas KHV pada sel tubuh ikan yang tinggi dan kemampuan virus yang dapat pindah antar sel sehingga tidak dikenali oleh sistem pertahanan tubuh normal maupun obat. Virus golongan herpes bersifat laten, yaitu seumur hidup berada dalam tubuh inangnya (Arvin, 1996). Selain harganya mahal, penggunaan bahan-bahan kimia dan obat-obatan pada ikan diduga juga dapat berdampak negatif pada lingkungan. Oleh karena itu diperlukan alternatif pengobatan yang baik, murah dan ramah lingkungan.

Bawang putih yang mengandung alisin merupakan salah satu tumbuhan yang banyak digunakan untuk pengobatan pada manusia. Senyawa alisin pada bawang putih berfungsi sebagai antimikroba spektrum luas dan mampu melawan infeksi yang disebabkan

oleh parasit, bakteri, jamur, atau virus. Pada manusia, alisin mampu menghambat virus yang menyebabkan bronkhitis, batuk rejan dan tuberkulosis. Bawang putih dapat dibudidayakan dengan mudah dan tumbuh baik di dataran rendah maupun dataran tinggi. Tanaman ini tumbuh dan berkembang sepanjang tahun, sehingga mudah diperoleh setiap waktu (Syamsiah, 2006). Penelitian ini bertujuan untuk melihat efektivitas dan menguji dosis ekstrak bawang putih terhadap ketahanan tubuh ikan mas yang diinfeksi Koi Herpes Virus (KHV).

BAHAN & METODE

Persiapan Wadah dan Ikan Uji

Akuarium yang digunakan untuk pemeliharaan sebanyak 15 buah dengan ukuran 60×30×30 cm³. Sebelum digunakan, akuarium dan tandon dibersihkan menggunakan sabun dan didesinfeksi menggunakan klorin dan kalium permanganat selama 24 jam, setelah itu dibilas sampai bersih dan dikeringkan.

Ikan uji yang digunakan adalah ikan mas *Cyprinus carpio* yang berukuran 9-11 cm sebanyak 135 ekor dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing 3 kali pengulangan. Ikan diadaptasi di akuarium selama 7 hari dan di uji dengan perlakuan sebagai berikut:

1. Kontrol negatif : pakan tanpa bawang putih dan ikan disuntik PBS 0,1 ml
2. Kontrol positif : pakan tanpa bawang putih dan ikan disuntik Virus 0,1 ml
3. Perlakuan A : pakan diberi bawang putih (30 gr/100 ml) dan ikan disuntik Virus 0,1 ml
4. Perlakuan B : pakan diberi bawang putih (50 gr/100 ml) dan ikan disuntik Virus 0.1 ml
5. Perlakuan C : pakan diberi bawang putih (70 gr/100 ml) dan ikan disuntik Virus 0,1 ml

Suspensi virus sebanyak 0,1 ml disuntikkan ke dalam tubuh ikan mas dilakukan pada hari ke-31 secara intramuskular.

Pembuatan Ekstrak Bawang Putih Cair (Nuryati, 2007)

Bawang putih sebanyak 30, 50 dan 70 gram diblender dalam 100 ml akuades. Hasil proses tersebut disaring sehingga didapat ekstrak bawang putih segar dengan konsentrasi 30 gr/100 ml (300 ppt), 50 gr/100 ml (500 ppt) dan 70 gr/100 ml (700 ppt).

Pemberian Pakan

Pakan ikan uji selama pemeliharaan berupa pelet apung komersial (kadar protein 28%) dengan frekuensi 2 kali/hari pada pagi dan sore hari yang diberikan secara *at satiation*. Sebelum diberikan ke ikan, pakan disemprot dengan ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 30, 50 dan 70 gr/100ml dan dikeringkan dengan cara diangin-angin selama \pm 30 menit. Penambahan ekstrak bawang putih pada pakan dilakukan setiap hari untuk menjaga kesegaran dan kualitas bahan. Pemberian pakan dilakukan selama 30 hari sebelum infeksi KHV. Untuk menjaga kualitas air dilakukan penyifonan setiap hari.

Penyediaan Suspensi KHV (Hameed *et al.*, 1997)

Sebanyak 2 gram organ insang, hati atau ginjal dari ikan mas yang terinfeksi KHV digerus sampai halus dan disuspensikan dalam 8 ml larutan fisiologis. Suspensi organ disaring dengan kain kasa dan disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit, kemudian disentrifuse lagi dengan kecepatan 8000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang dihasilkan disaring dengan kertas milipore 0,45 μ g sehingga didapat konsentrasi virus dengan konsentrasi 20%.

Pengamatan

a. Kelangsungan Hidup Ikan

Perhitungan jumlah ikan yang mati dilakukan pada awal infeksi KHV sampai akhir penelitian. Tingkat kelangsungan hidup ikan dihitung dengan menggunakan rumus:

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

Keterangan :

SR : Tingkat kelangsungan hidup (%)

N_t : Jumlah ikan yang hidup pada akhir pengamatan (ekor)

N_o : Jumlah ikan yang hidup pada awal infeksi KHV (ekor)

b. Gambaran Darah

Pasca infeksi virus, darah ikan diambil dari vena caudal setiap dua hari untuk pengamatan gambaran darah. Sebelumnya jarum suntik dan Eppendorf dibilas dengan Natrium sitrat untuk menghindari penggumpalan darah. Ikan disuntik dari belakang anal ke arah tulang sampai menyentuh tulang vertebrae dan dihisap perlahan, kemudian dimasukkan kedalam Eppendorf (Svobodova, 1991). Darah dihisap dengan pipet berskala sampai skala 0,5 kemudian ditambah larutan Turk's sampai skala 11. Pipet digoyangkan agar darah bercampur merata. Tetesan pertama dibuang dan tetesan berikutnya dimasukkan ke dalam *hemocytometer neubaur improved* dan ditutup dengan kaca penutup. Penghitungan dilakukan pada 64 kotak besar hemositometer dengan rumus (Nabib dan Pasaribu, 1989):

$$\Sigma \text{leukosit} = \text{rata-rata} \Sigma \text{ sel terhitung} \times \frac{1}{\text{volume kotak besar}} \times \text{pengenceran}$$

Pembuatan Preparat Ulas Darah (Svobodova 1991)

Jenis dan jumlah leukosit dihitung dengan cara membuat sediaan ulas darah. Darah diteteskan pada gelas objek, diratakan dan dikeringkan udara kemudian difiksasi dengan metanol selama 5 menit. Selanjutnya dibilas dengan akuades, dikeringkan dan diwarnai menggunakan pewarna Giemsa selama 15 menit. Kelebihan pewarna dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan kertas tisu. Diferensial leukosit (limfosit, monosit, neutrofil dan trombosit) dihitung sampai 100 sel leukosit, kemudian dihitung jumlah sel limfosit, monosit, neutrofil dan trombosit dengan rumus berikut:

$$1. \text{ Limfosit} = \frac{L}{100} \times 100\%$$

$$2. \text{ Monosit} = \frac{M}{100} \times 100\%$$

$$3. \text{ Neutrofil} = \frac{N}{100} \times 100\%$$

$$4. \text{ Trombosit} = \frac{T}{100} \times 100\%$$

Keterangan :

L : Jumlah Sel Darah Putih Limfosit

M : Jumlah Sel Darah Putih Monosit

N : Jumlah Sel Darah Putih Neutrofil

T : Jumlah Sel Darah Putih Trombosit

$L + M + N + T = 100$ sel

$L\% + M\% + N\% + T\% = 100\%$

Penghitungan Jumlah Eritrosit (Svobodova, 1991)

Darah dihisap dengan pipet berskala sampai skala 0.5 dan ditambah larutan Hayem sampai skala 101 dan dihomogenkan. Larutan darah diteteskan ke dalam haemositometer dan ditutup dengan kaca penutup. Perhitungan dilakukan pada 5 kotak besar *hemocytometer neubauer improved* yang jumlahnya dihitung dengan rumus (Nabib dan Pasaribu, 1989):

$$\Sigma \text{eritrosit} = \text{rata-rata} \Sigma \text{ sel terhitung} \times \frac{1}{\text{volume kotak besar}} \times \text{pengenceran}$$

Pengukuran Kadar Hemoglobin

Kadar hemoglobin diukur menurut metode Sahli (Wedemeyer dan Yasutake, 1977) yaitu dengan cara mengisi tabung haemometer dengan larutan HCl 0,1 N sampai skala 10. Kemudian tabung tersebut ditempatkan diantara 2 tabung dengan warna standar. Darah ikan dari tabung eppendrof diambil dengan pipet Sahli sebanyak 0,02 ml, dimasukkan ke dalam tabung haemometer dan diaduk selama 3 menit. Akuades ditambahkan dengan pipet tetes sedikit demi sedikit dengan diaduk sampai warnanya tepat sama dengan warna standar. Kadar hemoglobin dinyatakan dalam gr%.

Pengukuran Kadar Hematokrit (Chinabut et al., 1991)

Kadar hematokrit menggambarkan banyaknya sel darah yang digambarkan dengan padatan/endapan dalam cairan darah.

Kadar hematokrit diukur dengan cara menyelupkan salah satu ujung tabung mikrohematokrit kedalam tabung yang berisi darah. Darah akan merambat secara kapiler sampai $\frac{3}{4}$ bagian tabung. Ujung tabung yang berisi darah ditutup menggunakan cryoclean dan disentrifuse dengan kecepatan 5000. Ukur panjang bagian darah yang mengendap (a) serta panjang total volume darah yang terdapat dalam tabung (b). Rumus kadar hematokrit :

$$\text{Kadar Hematokrit} = \frac{\text{panjang darah yang mengendap (a)}}{\text{panjang total darah dalam tabung (b)}} \times 100\%$$

Pengamatan Histopatologi

Pengambilan sampel ikan mas dilakukan pada hari ke-6 pasca infeksi KHV sebanyak 3 ekor setiap perlakuan. Organ insang yang dibuat preparat histologinya, difiksasi dalam larutan Bouin's selama 24 jam dan diganti dengan alkohol sebagai tahap awal dari histologi. Preparasi meliputi fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, *blocking*, pemotongan serta pewarnaan Hematoksin Eosin. Histologi diamati dengan mikroskop dengan pembesaran 100×, 400× dan 1000×.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelangsungan Hidup

Nilai kelangsungan hidup tertinggi terjadi pada perlakuan B yaitu sebesar 91,7%. Penambahan ekstrak bawang putih pada pakan diduga dapat meningkatkan ketahanan tubuh ikan mas terhadap infeksi KHV. Sedangkan pemberian ekstrak bawang putih pada pakan dengan dosis 30 gr/100ml belum mampu meningkatkan ketahanan tubuh ikan mas terhadap serangan KHV yang didukung dengan terjadinya peningkatan jumlah leukosit dari hari ke-2 sampai hari ke-10. Dosis 50 gr/100ml dan 70 gr/100ml diduga sudah dapat meningkatkan daya tahan tubuh ikan mas terhadap KHV yang ditandai dengan tingginya nilai kelangsungan hidup ikan uji. Ikan yang bisa melewati masa-masa kritis terinfeksi KHV dan masih bertahan akan menjadi *carrier* dan *resistant*. Ikan yang bersifat *carrier* akan menunjukkan gejala

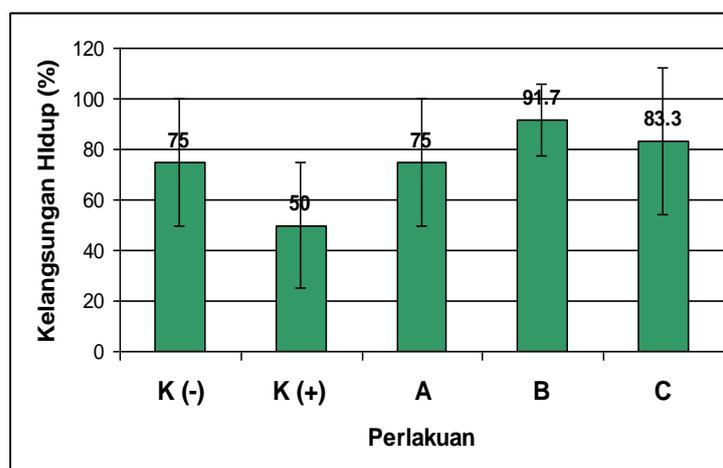
terserang KHV apabila terjadi penurunan kondisi tubuh (Davenport, 2001) dan terjadi fluktuasi suhu (OATA, 2001). Nilai kelangsungan hidup pada perlakuan C lebih kecil dibandingkan perlakuan B. Hal ini diduga karena ekstrak bawang putih yang diberikan tidak optimal sehingga bersifat *immunosupresant* dan sistem kekebalan ikan menjadi tertekan. Menurut Irianto (2005), pemberian imunostimulan dalam jumlah yang tidak optimal dapat memberikan efek yang bersifat *immunosupresant*, sehingga mengurangi atau bahkan menghilangkan efektivitasnya, meskipun imunostimulan tersebut memiliki potensi imunogenik yang tinggi.

Kondisi klinis ikan yang terjadi setelah infeksi KHV adalah pergerakan yang melemah dan terjadi penurunan nafsu makan. Sedangkan ikan yang mati memiliki ciri-ciri kulit melepuh, tubuh kesat, insang berwarna pucat (kecoklatan), dan terdapat partikel putih pada insang. Rendahnya nilai kelangsungan hidup pada kontrol negatif dikarenakan ikan sudah bersifat *carrier* KHV. Menurut Davenport (2001), ikan yang bersifat *carrier* KHV akan terjangkit lagi apabila terjadi penurunan kondisi tubuh. Fluktuasi suhu 24,5-28°C termasuk ke dalam rentang yang optimal untuk pertumbuhan KHV (OATA 2001).

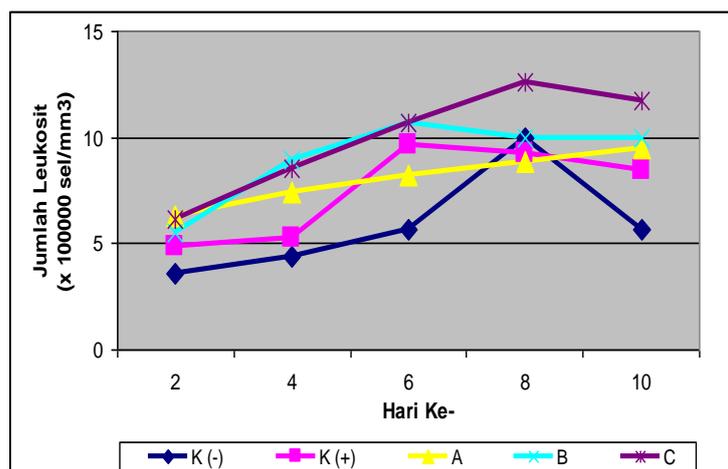
Leukosit

Pada ke-4 sampai hari ke-8, terjadi peningkatan jumlah leukosit pada kontrol

negative. Hal ini terjadi karena ikan uji sudah bersifat *carrier* KHV, terjadi stres akibat penyuntikan dan terjadi fluktuasi suhu yang berkisar antara 24,5-28°C sehingga tubuh memproduksi leukosit sebagai respon pertahanannya. Menurut OATA (2001) suhu pertumbuhan optimal KHV berkisar antara 22-27°C. Kisaran suhu pada kontrol negatif merupakan kisaran pertumbuhan optimal virus sehingga dapat memicu peningkatan leukosit di daerah infeksi untuk melawan virus. Pada kontrol positif, perlakuan A, B dan C jumlah leukositnya meningkat dari hari ke-2 hingga hari ke-6. Peningkatan leukosit tersebut membuktikan bahwa KHV bersifat patogen pada ikan mas. Pada kontrol positif dari hari ke-6 sampai hari ke-10, jumlah leukosit relatif stabil, diduga kemampuan tubuh untuk memproduksi leukosit telah mencapai posisi yang optimal. Pada hari ke-4, perlakuan B dan C berbeda nyata dengan kontrol positif. Diduga pemberian ekstrak bawang putih pada pakan dosis 50 dan 70 g/100ml mampu meningkatkan jumlah leukosit dalam darah lebih cepat ketika terjadi infeksi. Hal ini diduga peran dari zat aktif utama dalam bawang putih yaitu *diallyl disulfida* yang memiliki kemampuan sebagai anti mikroba spektrum luas untuk melawan infeksi yang disebabkan oleh amuba, bakteri, jamur, atau virus. Selain itu juga adanya Scordinin dan vitamin C yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh terhadap serangan penyakit (Syamsiah 2006) sehingga kelangsungan hidup ikan menjadi meningkat.



Gambar 1. Kelangsungan hidup (%) ikan mas *Cyprinus carpio*



Gambar 2. Grafik jumlah leukosit ($\times 10^5$ sel/mm³) ikan mas *Cyprinus carpio*

Penurunan jumlah leukosit pada perlakuan B dan C menunjukkan masa inkubasi KHV telah terlewati. Pada perlakuan A, terjadi peningkatan jumlah leukosit dari hari ke-2 sampai hari ke-10, diduga masih terjadi infeksi KHV dan ekstrak bawang putih dosis 30 gr/100ml belum mampu meningkatkan jumlah leukosit dalam darah lebih cepat ketika ada infeksi serta pertahanan tubuh ikan.

Diferensial Leukosit

Diferensial leukosit meliputi limfosit, monosit, neutrofil dan trombosit. Limfosit adalah sel penghasil antibodi, berbentuk bundar dengan sejumlah kecil sitoplasma tidak bergranula dan inti sel hampir memenuhi seluruh sel. Fungsi utama limfosit adalah membentuk sel memori terhadap antigen (Robert, 1989). Pada hari ke-10 jumlah limfosit kontrol positif berbeda nyata secara statistik dengan perlakuan B dan C pada taraf 95%. Hal ini diduga bahwa ekstrak bawang putih mampu meningkatkan jumlah limfosit dalam darah lebih cepat ketika ada infeksi sehingga dapat meningkatkan ketahanan tubuh terhadap infeksi KHV. Rata-rata persentase limfosit ikan mas pada kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan A, perlakuan B dan perlakuan C, disajikan pada Gambar 3.

Dari hari ke-2 sampai hari ke-10 pasca penyuntikan, persentase limfosit ikan mas cenderung tinggi dan hampir stabil pada semua perlakuan. Dari hari ke-4 sampai hari ke-8 semua perlakuan tidak berbeda nyata

($P > 0,05$). Pada hari ke-10 kontrol positif berbeda nyata dengan perlakuan B dan C. Diduga bahwa penambahan ekstrak bawang putih sebanyak 50 gr/100ml dan 70 gr/100ml mampu meningkatkan jumlah limfosit pasca infeksi KHV sehingga mampu meningkatkan ketahanan tubuh ikan.

Persentase monosit antar perlakuan dari hari ke-2 sampai hari ke-8 tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Namun pada hari ke-10 kontrol negatif, positif dan perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan A dan B pada taraf 95%. Pada dasarnya semua perlakuan mengalami peningkatan jumlah monosit dari hari ke-4 sampai hari ke-8. Angka 2004 menyatakan bahwa monosit akan meningkat jumlahnya ketika ada radang. Rendahnya jumlah monosit pada perlakuan A dan B diduga akibat monosit sudah mulai masuk ke dalam jaringan dan berdiferensiasi menjadi sel makrofag (Nabib dan Pasaribu, 1989). Monosit dalam darah berumur pendek sehingga terjadi fluktuasi jumlah monosit. *Diallil disulfida* dalam bawang putih mampu menguraikan protein pada sel yang rusak sehingga protein tersebut mudah dicerna oleh tubuh (Syamsiah, 2006) dan mampu meningkatkan kekebalan non-spesifik melalui aktivitas fagositosis dan merangsang aktifitas sel yang berperan dalam respon imunitas (Nuryati, *et al.*, 2007)

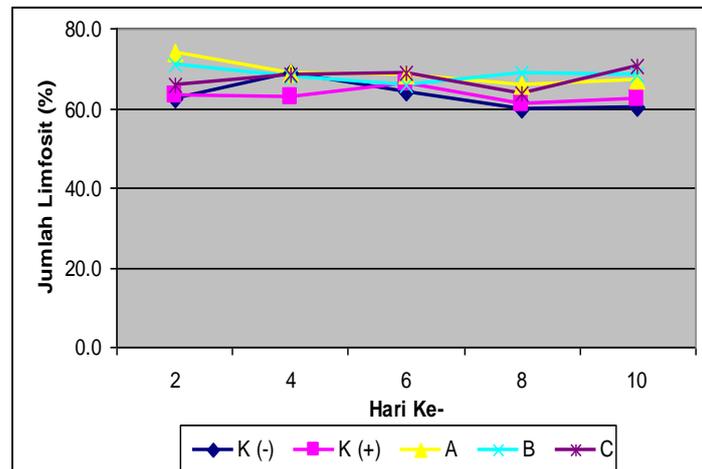
Persentase neutrofil pada hari ke-4 perlakuan B (50 gr/100ml) menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) dengan perlakuan kontrol negatif, kontrol positif,

perlakuan A dan C. Sedangkan pada hari ke-2, 6, 8 dan 10 semua perlakuan tidak memberikan perbedaan yang nyata ($P>0,05$). Jumlah neutrofil tertinggi didapat pada hari ke-4 pada ikan perlakuan 50g/100ml sebesar 14% (Gambar 5).

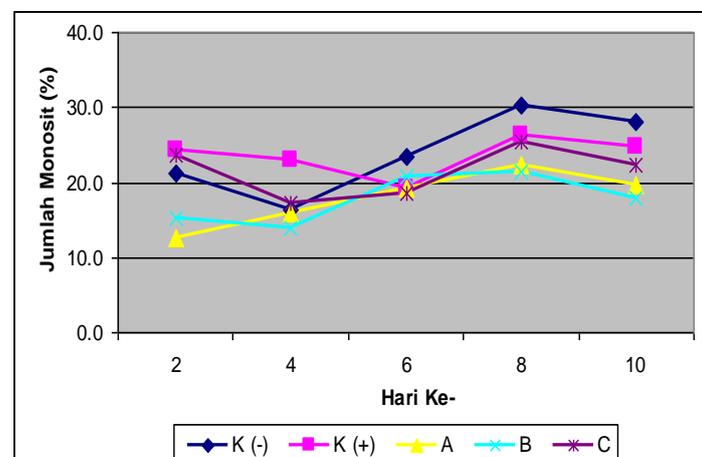
Jumlah neutrofil pada perlakuan B hari ke-4 berbeda nyata dengan 4 kelompok lainnya. Hal ini disebabkan oleh adanya infeksi KHV yang semakin virulen sehingga mengakibatkan terjadinya penurunan kondisi tubuh dan terjadi infeksi sekunder (Nuryati, *et al.*, 2007). Jumlah neutrofil pada semua perlakuan masih berada dalam kisaran normal. Menurunnya jumlah neutrofil dalam darah disebabkan oleh neutrofil yang sudah melakukan aktivitas fagositik di dalam sel dan

berumur pendek (Tizard, 1988). Guyton and Hall (1997) menyatakan bahwa sebelum mati, neutrofil dapat memfagositosis 5-20 bakteri.

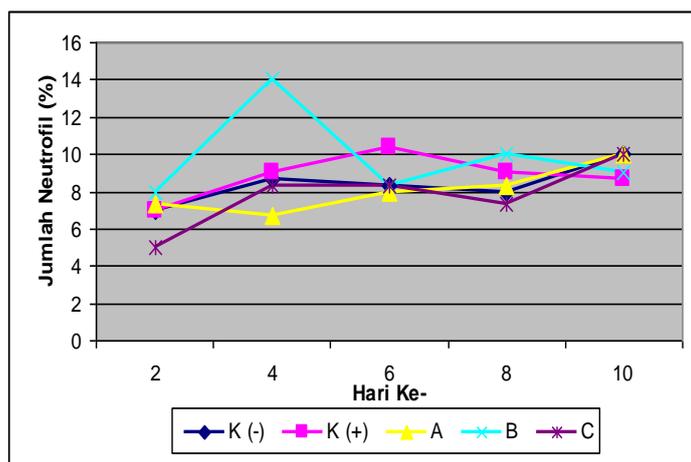
Menurut Angka (2004) trombosit berfungsi untuk proses pembekuan darah guna mencegah terjadinya pendarahan (hemorrhagi dan tukak) lebih lanjut. Jumlah trombosit menurun seiring dengan proses penyembuhan luka bekas suntikan. Pasca infeksi, jumlah trombosit secara umum pada ikan uji mengalami penurunan. Jumlah trombosit menurun seiring dengan proses penyembuhan luka bekas suntikan. Jumlah trombosit tertinggi sebesar 9,3% dan terendah 1,7% namun tidak menunjukkan perbedaan yang nyata secara statistik ($P>0,05$) (Gambar 6).



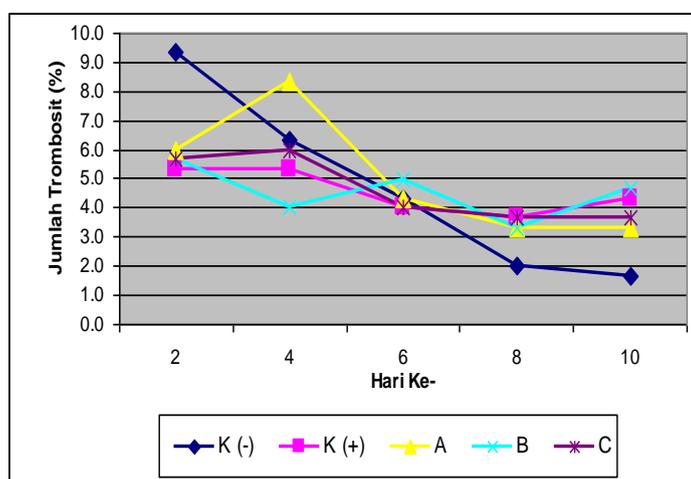
Gambar 3. Grafik jumlah limfosit (%) ikan mas *Cyprinus carpio*



Gambar 4. Grafik jumlah monosit (%) ikan mas *Cyprinus carpio*



Gambar 5. Grafik jumlah neutrofil (%) ikan mas *Cyprinus carpio*



Gambar 6. Jumlah trombosit (%) ikan mas *Cyprinus carpio*

Pengamatan Histopatologi

Hasil pengamatan histopatologi insang pada kontrol negatif (A), kontrol positif (B), perlakuan A (C), Perlakuan B(D), dan perlakuan C (E), perbesaran 400x disajikan pada Gambar 7. Pengamatan gambaran darah ikan selama penelitian meliputi jumlah eritrosit, hemoglobin hematokrit, jumlah leukosit dan diferensial leukosit.

Hasil pengamatan histopatologi insang, pada kontrol negatif (disuntik PBS) terdapat hiperplasia sel lendir dan ditemukan badan inklusi. Terjadinya kelainan pada kontrol negatif karena ikan uji yang digunakan sudah bersifat *carrier* KHV. Menurut Utari (2007), hampir semua ikan mas di pulau Jawa telah membawa (*carrier*) KHV. Walaupun mengalami perubahan yang sama secara

histopatologis, gejala klinis yang terjadi di kontrol negatif lebih ringan dibanding kontrol positif dan perlakuan. Pengamatan histopatologi insang ikan uji yang diinfeksi KHV menunjukkan pada semua perlakuan terdapat hiperplasia sel lendir, dan ditemukan badan inklusi (*intranuclear inclusion body*) yang disertai hipertropi.

Eritrosit

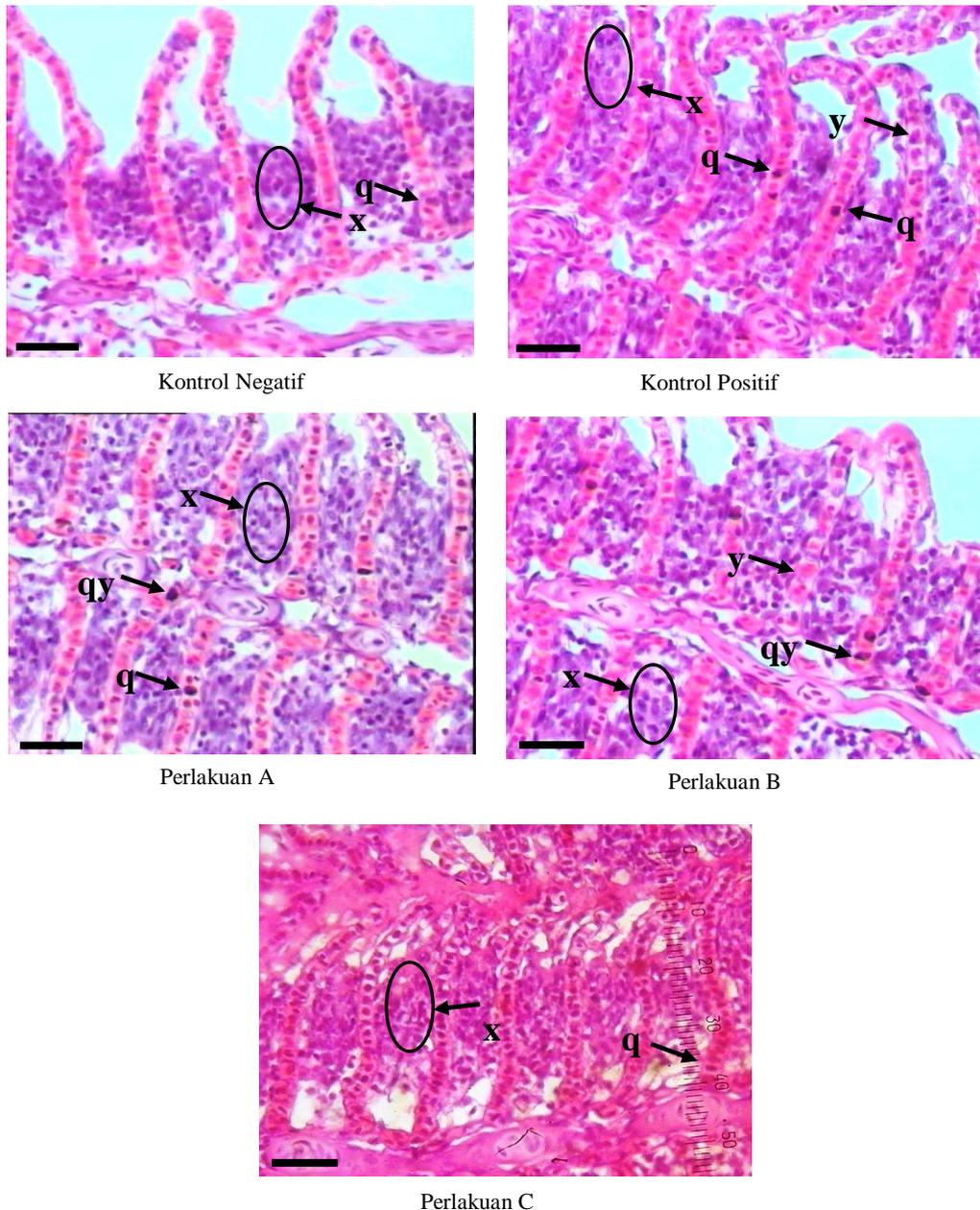
Jumlah eritrosit normal pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) adalah $1,43 \times 10^6$ sel/mm³ dengan diameter 7-36 μ m (Sjafei *et al.*, 1989). Walaupun terjadi penurunan sel darah merah, nilai sel darah ikan uji masih berada di atas nilai standarnya. Tingginya jumlah eritrosit menandakan ikan dalam keadaan stres (Nabib dan Pasaribu, 1989). Hal ini dapat disebabkan

oleh infeksi PBS dan KHV, produksi lendir di insang yang berlebih, terjadi nekrosis pada insang sehingga sulit dalam mengambil oksigen serta patogenitas KHV mulai menyerang pada ikan.

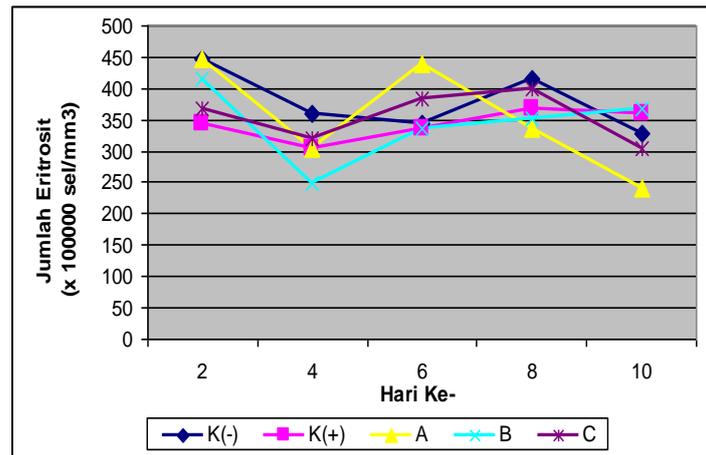
Hemoglobin

Kadar hemoglobin menurun disebabkan oleh menurunnya kadar oksigen dalam darah.

Hemoglobin berfungsi mengikat oksigen yang digunakan untuk proses katabolisme sehingga menghasilkan energi (Lagler *et al.*, 1977). Kadar hemoglobin terkait dengan jumlah eritrosit, akan tetapi belum tentu berkorelasi sama dengan jumlah eritrosit. Hal tersebut dikarenakan hemoglobin merupakan kandungan pigmen sel darah merah.



Gambar 7. Histologi insang ikan mas *Cyprinus carpio* dengan pewarnaan Hematoxilin-Eosin. Hiperplasia (x); badan inklusi (*intranuclear inclusion body*) (q) serta hipertropi (y). (1 bar = 24 μm)



Gambar 8. Jumlah eritrosit ($\times 10^5$ sel/ mm^3) ikan mas *Cyprinus carpio*

Kadar hemoglobin pada semua perlakuan rata-rata nilainya berada di atas nilai standar normalnya (6,40 g%) yang berarti ikan dalam keadaan stres (Anderson dan Siwicki 1993). Ikan yang terserang KHV mengalami produksi lendir yang berlebih dan nekrosis di insang sehingga menjadi stress karena pengambilan oksigen pada ikan menjadi terganggu.

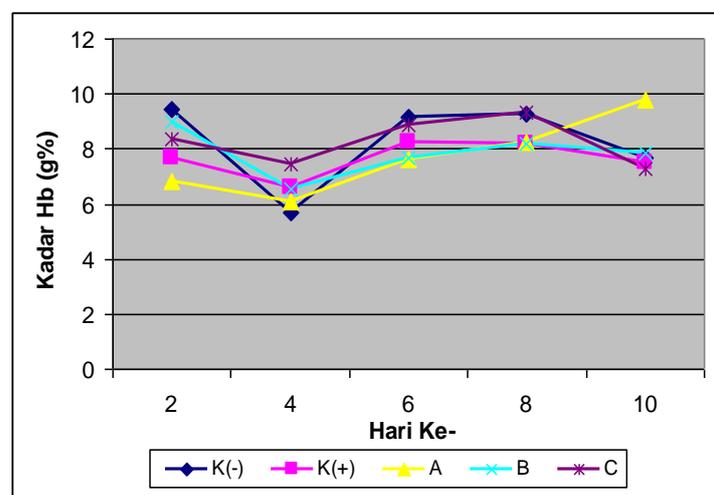
Hematokrit

Pasca penyuntikan, semua perlakuan umumnya mengalami penurunan kadar hematokrit. Kadar hematokrit tertinggi terdapat pada kontrol negatif di hari ke-2 yaitu sebesar 32,4%. Sedangkan kadar hematokrit terendah terdapat pada perlakuan C yaitu

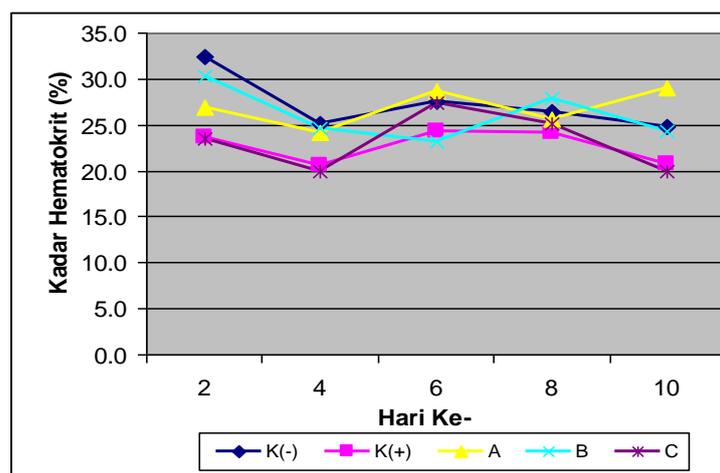
sebesar 20%. Pada hari ke-2, secara statistik perlakuan C dan kontrol positif berbeda yang nyata ($P > 0,05$) dengan kontrol negatif. Pada hari ke-4 dan hari ke-8, semua perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$). Pada hari ke-6 dan hari ke-10 terjadi perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) secara berturut-turut yaitu perlakuan A dengan B dan perlakuan A dengan C.

Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur pada penelitian ini adalah suhu, karena merupakan faktor pemicu terjadinya serangan KHV dibandingkan dengan parameter kualitas air yang lain (OATA, 2001). Kisaran suhu selama penelitian disajikan pada Tabel 1.



Gambar 9. Grafik kadar hemoglobin (g%) ikan mas *Cyprinus carpio*



Gambar 10. Grafik kadar hematokrit (%) ikan mas *Cyprinus carpio*

Tabel 1. Kisaran suhu selama penelitian

| Perlakuan | Parameter |
|-----------|-------------|
| | Suhu (°C) |
| K (-) | 24,5 – 30,0 |
| K (+) | 25,0 – 31,0 |
| A | 24,5 – 31,5 |
| B | 24,5 – 31,0 |
| C | 24,5 – 31,5 |

Suhu

Koi herpesvirus memiliki karakter terinduksi menjadi penyakit apabila temperatur tertekan sehingga berada pada level 18-24 °C, (Hutoran *et al.*, 2005). Pada waktu penelitian selang suhu pemeliharaan adalah 24,5 °C dan paling tinggi 31,5 °C. Kondisi suhu ini ternyata masih memungkinkan virus untuk tumbuh dan menyebabkan kematian 50% pada kontrol positif sedangkan perlakuan yang lain mengalami kematian yang bervariasi. Kematian ini jelas disebabkan oleh virus, justru pada kisaran suhu antara 24,5 dan 31,5 °C masih memungkinkan virus untuk hidup sehingga infeksi virus ini yang menyebabkan kematian pada perlakuan.

KESIMPULAN

Ekstrak bawang putih efektif dalam meningkatkan ketahanan tubuh ikan mas yang

diinfeksi KHV dengan nilai kelangsungan hidup yang tinggi pada kelompok perlakuan B (50 gr/100ml) sebesar 91.7%.

Pemberian ekstrak bawang putih dalam pakan untuk pakan ikan mas dapat digunakan sebagai pencegahan terhadap KHV sehingga kematian ikan mas dapat dikurangi. Diperlukan suatu kajian mengenai frekuensi pemberian ekstrak bawang putih yang tepat, sehingga pemberian ekstrak bawang putih dalam penanggulangan KHV bersifat efisien dan efektif.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson DP. 1974. Fish Immunology. TFH Publication Ltd. Hongkong. 239.
- Arvin A. 1996. Varicella zoster virus. J.Clin.Micro. 9:361-381.
- Chinabut S., Limsuwan C and Kitsawat C.

1991. Histology of the walking catfish (*Clarias batracus*). Department of Fisheries. Thailand.
- Denham, Kevin, P. Dixon, D. Stone and K. Way. 2004. International Workshop on Koi Herpesvirus, Fisheries Resource Management Ltd. London.
- Departemen Kelautan dan Perikanan. 2002. SK No.: 1874/DPB.4/IK.225. D4/V/2002. Wabah penyakit pada budidaya ikan mas. Jakarta.
- Guyton AC and Hall JE. 1997. Buku ajar fisiologi kedokteran Edisi 9 (terjemah). Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hameed ASS, Anilkumar M.L, Raj S. and Jayaraman K. 1997. Studies on the pathogenicity of systemic ectodermal and mesodermal baculovirus and its detection on shrimp by immunological methods. *Aquaculture* 160:31-35.
- Hutoran, M., A. Ronen, A. Parelberg, M. Llouze, A. Dishon, T. Bejerano, N. Chen and M. Kotler. 2005. Description of an as yet unclassified DNA virus from diseased *Cyprinus carpio* species. *Journal of Virology*, Feb. 2005. P. 1983-1991. American Society Microbiology.
- Lagler K.F, Bardach J.E, Miller R.R, and Passino DRM. 1977. *Ichthyology*. John Wiley and Sons Inc. New York. 506 p.
- Nabib R dan Pasaribu FH. 1989. *Patologi dan penyakit ikan*. Pusat Antar Universitas. IPB. Bogor.
- Nuryati S, D. Puspitaningtyas dan D. Wahjuningrum. 2007. Potensi ekstrak bawang putih *Allium sativum* untuk menginaktivasi koi herpesvirus (KHV) pada ikan mas *Cyprinus carpio*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 6(2): 147-154.
- [OATA] Ornamental Aquatic Trade Association. 2001. *Koi Herpesvirus*. United Kingdom.
- Robert, JR. 1989. *Fish pathology*. Bailliere Tindall. London. 318 p.
- S.I. Siti dan Tajudin. 2006. *Khasiat dan manfaat bawang putih raja antibiotik alami*. PT. Agromedia Pustaka. Depok.
- Svobodova Z, and Vykusova B. 1991. *Diagnostic prevention and therapy of fish disease and intoxication*. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology Vodnany, Czechoslovakia. <http://www.fao.org/docrep/field/003/AC160E00.htm#TOC>. (4 April 2007).
- Taukhid, A. Sunarto, I. Koesharyanti, H. Supriyadi dan L. Gardenir. 2004. Strategi pengendalian penyakit Koi Herpes Virus (KHV) pada ikan mas dan koi. *Dalam Makalah workshop pengendalian penyakit Koi Herpes Virus (KHV) pada budidaya ikan air tawar*. Bogor. 24 September 2004. 17 hal.
- Utari Heni Budi. 2007. *Ditunggu Realisasi Vaksin KHV*. Artikel. *Trobos*, No.91 April 2007, tahun VIII. Bogor.
- Wakita Kunika, K. Yuasa, N. Panigoro, M. Bahnan, Salfira, I. Astuti dan E.B.kholidin. 2005. *Collected cases of fish diseases in Sumatra, Indonesia, During 2002-2004*. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan, Jambi.
- Yuasa K, N. Panigoro, M. Bahnan dan E.B.kholidin. 2003. *Panduan diagnosa penyakit ikan*. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan, Jambi.