

**EFIKASI KUERSETIN DERIVAT EKSTRAK BUNGA
KAMBOJA (*Adenium obesum*) TERHADAP TOTAL
HETEROFIL, LIMFOSIT DAN MONOSIT IKAN MAS
ORANDA (*Carassius auratus auratus*) MODEL
FURUNKULOSIS**

Yos Adi Prakoso¹; Siti Gusti Ningrum²; James Marchiano Suhargo³; Era Hari Mudji⁴

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas wijaya Kusuma Surabaya

Email: , Corresponding Author : sitiningrum@uwks.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efikasi kuersetin derivat ekstrak bunga Kamboja Jepang (*Adenium obesum*) terhadap jumlah heterofil, monosit dan limfosit ikan mas oranda (*Carassius auratus auratus*) dengan model Furunkulosis. Menggunakan metode penelitian eksperimental dan menggunakan 60 ekor ikan mas oranda (*Carassius auratus auratus*) dengan enam perlakuan yaitu P0 (sehat), P1 (sakit tanpa terapi), P2 (sakit dan terapi ciprofloxacin), P3 (sakit dan terapi ekstrak 1000 ppm), P4 (sakit dan terapi ekstrak 2000 ppm) dan P5 (sakit dan terapi ekstrak 4000 ppm). Ikan diberikan perlakuan selama 5 hari secara imersi. Pada hari ke 1 ikan mas oranda diinfeksi dengan *Aeromonas salmonicida* yang diberikan secara intraperitoneal (1 mL, 1 x 10⁶ CFU/mL). Pada hari ke 6 dilakukan pengambilan darah melalui intravena kemudian darah diperiksa menggunakan teknik apusan darah tepi. Data yang diperoleh dari penelitian dianalisis secara statistik menggunakan uji One Way ANOVA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah heterofil, monosit dan limfosit optimum ada pada konsentrasi 4000 ppm karena menunjukkan hasil yang paling mendekati kelompok P0 (sehat). Sehingga kuersetin derivat ekstrak Kamboja Jepang (*Adenium obesum*) berefikasi terhadap jumlah heterofil, monosit dan limfosit dalam darah ikan mas oranda dengan model furunkulosis.

Kata Kunci: Kuersetin, Furunkulosis, Heterofil, Monosit, Limfosit

Abstract

This study aims to determine the efficacy of quercetin derived from desert rose flower extract (*Adenium obesum*) on the number of heterophils, monocytes and lymphocytes of oranda goldfish (*Carassius auratus auratus*) using the furunculosis model. Using experimental research methods and 60 oranda goldfish (*Carassius auratus auratus*) with six treatments namely P0 (healthy), P1 (sick without therapy), P2 (sick and ciprofloxacin therapy), P3 (sick and 1000 ppm extract therapy), P4 (sick and 2000 ppm extract therapy) and P5 (sick and 4000 ppm extract therapy). Fish were given immersion treatment for 5 days. On day 1, oranda goldfish were infected with *Aeromonas salmonicida* which was administered intraperitoneally (1 mL, 1 x 10⁶ CFU/mL). On the 6th day, blood was taken intravenously and then the blood was examined using a peripheral blood smear technique. The data obtained from the study were statistically analyzed using the One Way ANOVA test. The results showed that the optimum number of heterophils, monocytes and lymphocytes was at a concentration of 4000 ppm because the results were closest to the P0 (healthy) group. So that quercetin derived of desert rose flower extract is effective on

number of heterophils, monocytes and lymphocytes in the blood of oranda goldfish with furunculosis model.

Key Words: Quercetin, Furunculosis, Heterophiles, Monocytes, Limphocytes

PENDAHULUAN

Usaha perikanan ikan hias air tawar merupakan alternatif usaha perekonomian yang populer. Salah satu ikan hias yang banyak dibudidayakan adalah ikan mas oranda (*Carassius auratus auratus*). Salah satu kendala dalam budidaya ikan adalah penyakit. Inang, agen penyakit, dan lingkungan merupakan komponen yang mempengaruhi munculnya suatu penyakit. Kemungkinan besar terjadi penyakit jika ketiga elemen ini tidak seimbang (Riantono *et al.*, 2016). Analisis hematologi seperti perhitungan sel darah lengkap diterapkan untuk penilaian kesehatan ikan dan status fisiologis. Analisis hematologi digunakan untuk mengetahui adanya indikator penyakit, defisiensi nutrisi atau stres (Arnold *et al.*, 2014). Indikator hematologi yang digunakan untuk mengevaluasi kesehatan fisiologi adalah jumlah total leukosit dan diferensial leukosit. Diferensial leukosit yaitu evaluasi persentase atau jumlah berbagai jenis leukosit yaitu limfosit, neutrofil atau heterofil dan monosit (Witeska *et al.*, 2022). Perhitungan leukosit mengindikasikan aktivitas seluler pada hewan (Riantono *et al.*, 2016). Leukosit berfungsi melindungi tubuh dari agen infeksi, termasuk bakteri. Jumlah leukosit ikan normal adalah $2-5 \times 10^4$ sel/mm³ (Hartika *et al.*, 2014). Indikator penting status kekebalan ikan terlihat dari jumlah leukosit (Lugowska *et al.*, 2017). Peningkatan jumlah sel darah putih terjadi karena pertahanan tubuh ikan dari infeksi bakteri, sehingga leukosit

bergerak aktif menuju tempat infeksi (A'yunin *et al.*, 2020). Salah satu penyakit yang sering terjadi pada ikan yaitu penyakit furunkulosis. Penyakit furunkulosis disebabkan oleh bakteri *Aeromonas salmonicida* yang menyebabkan ikan mengalami perdarahan, kerusakan pada sirip, hilang nafsu makan, berenang dengan lambat, luka terbuka, dan akhirnya mati dalam jangka waktu 2-3 hari dengan gejala klinis yang tidak tampak. *A.salmonicida* merupakan bakteri yang bisa menyerang ikan salmonid dan non salmonid dan dapat dengan mudah menyebar melalui lingkungan, peralatan budidaya, dan kontak langsung. Bakteri ini ditetapkan sebagai hama penyakit ikan karantina jenis bakteri golongan II berdasarkan Keputusan Menteri No.03/MEN/2010.

Salah satu upaya yang dilakukan yaitu dengan pemberian antibakteri alami. Senyawa antibakteri alami terdapat dalam rempah-rempah, cokelat, biji-bijian, sayuran, buah dan juga terdapat pada tanaman hias. Salah satu tanaman hias yaitu tumbuhan kamboja (*Adenium obesum*) mengandung senyawa flavonoid (Shofi *et al.*, 2020). Salah satu golongan flavonoid yaitu kuersetin dari subkelas flavonol. Kuersetin adalah kelompok flavonoid berasal dari bahan alam yang memiliki senyawa fenol yang berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri. Kuersetin merupakan antibakteri yang kuat. Kuersetin menghambat proses awal peradangan dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Khoirunnisa dan Sumiwi, 2019). Kuersetin memiliki

karakteristik anti-peradangan dengan mempengaruhi sistem enzim yang terlibat dalam pembentukan proses peradangan (Tiwari dan Husain, 2017). Penelitian mengenai kuersetin derivat dari ekstrak kamboja jepang (*Adenium obesum*) terhadap jumlah total heterofil, limfosit, dan monosit masih belum banyak dilakukan khususnya di Indonesia. Oleh karena itu, peneliti mencoba melakukan penelitian untuk melihat efikasi kuersetin derivat ekstrak bunga kamboja (*Adenium obesum*) terhadap jumlah total heterofil, limfosit dan monosit ikan mas oranda (*Carassius auratus auratus*) dengan model furunkulosis akibat bakteri *Aeromonas salmonicida*.

MATERI DAN METODE

Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), pengelompokan perlakuan dengan metode Random Sampling dan pengambilan sampel di akhir periode penelitian. Ikan mas oranda yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor dan 36 ekor ikan cadangan untuk menghindari resiko kematian hewan coba. Variabel penelitian terdiri dari tiga variabel, yaitu variabel bebas, variabel terikat, variabel control. Variabel Bebas yaitu konsentrasi ekstrak bunga kamboja, konsentrasi ciprofloxacin. Variabel Terikat yaitu jumlah heterofil, monosit, dan limfosit ikan mas oranda. Variabel Kontrol yaitu jenis ikan, isolat bakteri *Aeromonas salmonicida*, umur ikan, kualitas air, lama imersi. Sebelum dilakukan penelitian, ikan diadaptasi selama 7 hari. Semua diberikan perlakuan yang sama mulai dari media filter (kapas dan bioball), suhu air 28°C, pH air 7,0 dan kadar garam 0,1%.

Pengambilan darah ikan dilakukan pada hari ke- 6 pasca perlakuan. Sebelum

darah ikan diambil, ikan dianestesi dengan cara memasukkan pada air dingin (suhu 4- 5 °C), suhu air yang rendah dapat menurunkan aktifitas dan tingkat konsumsi oksigen ikan sehingga menimbulkan efek pemingsanan (Hermawan *et al.*, 2014), dibiarkan 5 menit sampai ikan teranestesi, bagian kepala ditutup serbet basah sambil ikan diposisikan rebah lateral. Pengambilan darah ikan dilakukan secara intravena pada vena lateralis dan disimpan dalam tabung EDTA. Sampel dibawa menuju laboratorium dalam cooling box suhu 4° C dengan waktu kurang dari 12 jam.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: mikroskop, mortar, stamper, timbangan, pipet tetes, blender, evaporator, akuarium, filter akuarium, jam, object glass, dan rak pewarnaan.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: Ikan mas oranda sebanyak 60 ekor, bunga kamboja, alkohol 70%, isolat murni *Aeromonas salmonicida*, tissue, spidol, masker, kapas steril, buku tulis, minyak cengkeh, pakan ikan saki hikary fancy, pewarna Giemsa 10%, methanol, aquades, spuit 1cc, dan tabung EDTA.

Pemeriksaan jumlah darah dilakukan menggunakan cara manual apusan darah tepi diamati dibawah mikroskop dengan metode analisis persentase diferensial leukosit (DLC). Pemeriksaan dilakukan pada apusan darah dengan menghitung semua sel yang terlihat hingga 100 sel. Hasil hitung berupa satuan persen (nilai relatif) yang selanjutnya data hasil akan dianalisis secara statistik.

Data yang diperoleh dari pengamatan dianalisis secara statistik menggunakan uji One Way ANOVA dikarenakan skala variabel penelitian adalah skala numerik, data tidak berpasangan dan lebih dari dua kelompok. Adapun syarat dari uji One Way ANOVA adalah skala numerik,

homogen, dan sebaran data normal. Jika uji One Way ANOVA menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan LSD Post Hoc Test.

HASIL

Berdasarkan Hasil penelitian dari pemeriksaan sampel darah yang berasal dari intravena ikan mas oranda

yang terbagi atas 6 kelompok perlakuan dengan total sampel yaitu 60 ekor ikan mas oranda. Hasil yang didapat yaitu berupa jumlah limfosit, jumlah monosit dan jumlah heterofil dengan pengolahan data statistik ANOVA dan tes non parametrik Kruskal Wallis dilanjutkan Mann Whitney. Hasil terlampir pada tabel 1, tabel 2, dan tabel 3.

Tabel 1 Rata-Rata Dan Standart Deviasi Jumlah Limfosit ikan mas oranda (*Carassius auratus auratus*) hasil penelitian

| No | Kelompok | Jumlah Limfosit (Rerata \pm SD) |
|----|-------------------------|-----------------------------------|
| 1 | P0 Sehat | 78.2 \pm 1.62 ^a |
| 2 | P1 Sakit | 65.4 \pm 3.86 ^b |
| 3 | P2 Ciprofloxacin 55 ppm | 71.4 \pm 1.77 ^c |
| 4 | P3 Dosis 1 (1000 ppm) | 72.2 \pm 1.31 ^c |
| 5 | P4 Dosis 2 (2000 ppm) | 70.3 \pm 1.49 ^c |
| 6 | P5 Dosis 3 (4000 ppm) | 75.7 \pm 1.70 ^d |

Keterangan: Notasi superskrip pada tabel diatas menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0.05$)

Tabel 2 Rata-Rata Dan Standart Deviasi Jumlah Monosit ikan mas oranda (*Carassius auratus auratus*) hasil penelitian

| No | Kelompok | Jumlah Monosit (Rerata \pm SD) |
|----|-------------------------|----------------------------------|
| 1 | P0 Sehat | 5.9 \pm 0.74 ^a |
| 2 | P1 Sakit | 7.9 \pm 1.73 ^b |
| 3 | P2 Ciprofloxacin 55 ppm | 6.7 \pm 0.48 ^b |
| 4 | P3 Dosis 1 (1000 ppm) | 6.8 \pm 1.14 ^a |
| 5 | P4 Dosis 2 (2000 ppm) | 7.1 \pm 1.10 ^b |
| 6 | P5 Dosis 3 (4000 ppm) | 6.4 \pm 0.69 ^a |

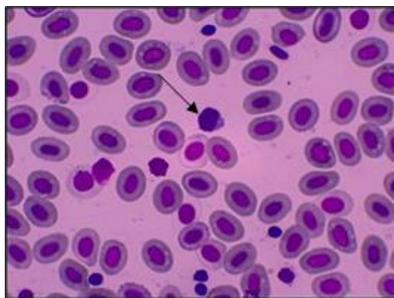
Keterangan: Notasi superskrip pada tabel diatas menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0.05$)

Tabel 3 Rata-Rata Dan Standart Deviasi Jumlah Heterofil ikan mas oranda (*Carassius auratus auratus*) hasil penelitian

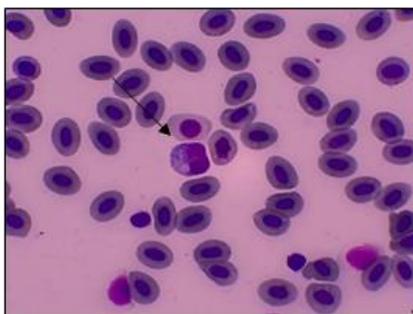
| No | Kelompok | Jumlah Heterofil (Rerata ± SD) |
|----|-------------------------|--------------------------------|
| 1 | P0 Sehat | 15.9 ± 1.59 ^a |
| 2 | P1 Sakit | 26.7 ± 2.83 ^b |
| 3 | P2 Ciprofloxacin 55 ppm | 21.9 ± 1.66 ^c |
| 4 | P3 Dosis 1 (1000 ppm) | 21.0 ± 1.05 ^c |
| 5 | P4 Dosis 2 (2000 ppm) | 22.6 ± 1.35 ^c |
| 6 | P5 Dosis 3 (4000 ppm) | 17.9 ± 1.45 ^d |

Keterangan: Notasi superskrip pada tabel diatas menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0.05$)

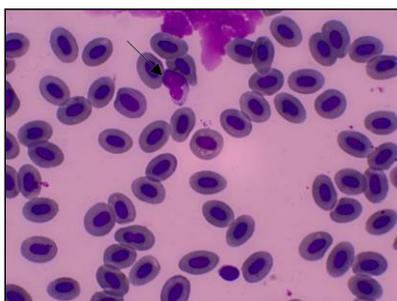
Gambar 1 Limfosit Ikan Mas Oranda



Gambar 2 Monosit Ikan Mas Oranda



Gambar 3 Heterofil Ikan Mas Oranda



Hasil penelitian pada perhitungan limfosit didapat hasil 78,2 pada kelompok P0 (sehat) dan pada kelompok P5 (konsentrasi ekstrak 4000 ppm) didapat hasil 75,7. Pada perhitungan monosit didapat hasil 5,9 pada kelompok P0 (sehat) dan pada kelompok P5 (konsentrasi ekstrak 4000 ppm) didapat hasil 6,4. Pada perhitungan heterofil didapat hasil 15,9 pada kelompok P0 (sehat) dan pada kelompok P5 (konsentrasi ekstrak 4000 ppm) didapat hasil 17,9. Hal ini menunjukkan kelompok P5 (dosis ekstrak 4000 ppm) memberikan hasil yang paling mendekati hasil dari kelompok P0 (sehat). Hasil perhitungan menunjukkan efikasi dari pemberian kuersetin derivat ekstrak bunga kamboja (*Adenium obesum*) peningkatan jumlah limfosit serta penurunan jumlah monosit dan heterofil. Perubahan jumlah tersebut pada dosis ekstrak 4000 ppm

PEMBAHASAN

Sel pertama yang bereaksi terhadap infeksi yang masuk ke tubuh ikan yaitu heterofil (Afiyanti *et al.*, 2018). Heterofil memasuki area infeksi sebagai respons terhadap infeksi bakteri, dan timus melepaskan reservoirnya, menyebabkan peningkatan granulopoiesis. Infeksi bakteri menyebabkan produksi heterofil karena fungsi utamanya adalah fagositosis, yang melibatkan pembunuhan dan pencernaan mikroorganisme. Nilai heterofil yang meningkat karena adanya infeksi bakteri. Jumlah heterofil di dalam sirkulasi darah akan meningkat saat terjadi infeksi bakteri. Heterofil mempunyai aktivitas amuboid dan sifat fagositosis untuk pertahanan tubuh melawan infeksi benda asing seperti bakteri. Invasi bakteri pada jaringan mengakibatkan heterofil bergerak ke daerah infeksi. Untuk memfagosit bakteri dan partikel asing lainnya, heterofil ditarik ke tempat invasi oleh faktor kemotaktik dari sel yang rusak (Saputro *et al.*, 2016). Mekanisme pertahanan heterofil merupakan lini pertahanan pertama sehingga memiliki peranan penting pada ketahanan terhadap penyakit. Rata – rata hasil jumlah heterofil disebabkan oleh kandungan zat antimikroba yang dapat dilepaskan melalui degranulasi untuk membunuh bakteri melalui proses fagositosis.

Jumlah monosit meningkat karena ada zat asing (bakteri) yang harus dihilangkan sebelum menjadi makrofag dan terjadi perjalanan ke tempat infeksi untuk fagositosis. Produksi monosit akan meningkat selama proses inflamasi yang berhubungan dengan kerusakan jaringan akibat infeksi atau reaksi antigen-antibodi. Pematangan monosit menjadi makrofag terjadi lebih cepat dan segera mengakibatkan kerusakan jaringan (Afiyanti *et al.*, 2018). Leukosit memiliki proporsi monosit yang sangat rendah, tetapi saat terjadi infeksi, jumlah monosit meningkat dengan cepat (Afiyanti *et al.*,

2018). Monosit adalah makrofag dengan kemampuan memfagositosis bakteri dan mikroorganisme lainnya. Rendahnya nilai monosit karena hewan dalam kondisi sehat, sehingga tidak diperlukan sel monosit untuk fagositosis (Kurniawan, 2020). Peningkatan monosit disebabkan karena monosit memiliki peranan sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC) yang mengenali dan menyerang mikroba serta menghasilkan sitokin, pertahanan sebagai respon infeksi. Monosit berpindah ke lokasi tujuan dan berubah menjadi makrofag jaringan. Respon monosit menjadi makrofag terjadi saat infeksi. Monosit merupakan sel darah terbesar. Fungsi monosit yaitu sebagai lapis kedua pertahanan tubuh yang memfagositosis dan termasuk kelompok makrofag. Peningkatan persentase jumlah monosit pada hitung jenis leukosit menandakan adanya proses inflamasi. Sel monosit paling efektif pada proses fagositosis, karena monosit merupakan sel fagosit dengan umur yang panjang. Bakteri, virus, dan kompleks antigen-antibodi dapat difagosit oleh monosit yang beredar di pembuluh darah. Ketika agen infeksi menyerang tubuh, lebih banyak sel monosit akan terlibat dalam proses fagositosis. Bertambahnya sel monosit menunjukkan peningkatan aktivitas sel fagosit dari monosit.

Limfosit adalah sel yang berfungsi menghasilkan antibodi dan merespon antigen makrofag (Afiyanti *et al.*, 2018). Limfosit sel T, bertanggung jawab atas respons imun seluler dan memiliki reseptor yang dapat mendeteksi antigen asing. Dalam aliran darah, limfosit sel B membuat antibodi humoral yang mengikat secara khusus antigen asing dan menyebabkan fagositosis, lisis sel, dan sel pembunuh (sel K). Sel T dan sel B dapat dibedakan secara morfologis ketika antigen diaktifkan.

Penurunan persentase limfosit disebabkan migrasi limfosit dari darah ke jaringan. Persentase limfosit meningkat akibat adanya infeksi. Beberapa kondisi

lain, seperti radang dan konsumsi obat tertentu, juga menyebabkan kadar limfosit meningkat. Peningkatan persentase limfosit terjadi apabila ada kerusakan sel-sel pada jaringan atau organ tubuh yang memerlukan adanya respon destruksi sel-sel yang rusak atau apoptosis. Limfosit berperan dalam respon imunitas untuk melawan infeksi. Pada keadaan normal umur limfosit yaitu 100-300 hari, peningkatan jumlah limfosit absolut (limfositosis) terjadi pada kasus infeksi akibat bakteri.

Perubahan jumlah limfosit, monosit dan heterofil pada kelompok P5 yang sudah diinfeksi furunkulosis dan diberi terapi 4000ppm hingga mendekati kelompok P0 (sehat) menunjukkan bahwa senyawa kuersetin derivat yang terkandung dalam ekstrak bunga kamboja jepang (*Adenium obesum*) berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Senyawa flavonoid yang terdapat dalam bunga kamboja jepang (*Adenium obesum*) berfungsi sebagai antibakteri dan imunomodulator yang menghasilkan molekul sitokin sebagai respons terhadap invasi bakteri patogen, kerusakan sel, dan regenerasi sel. Penggunaan bahan alami menjadi semakin populer karena cenderung sedikit efek samping dan lebih murah daripada bahan sintetis (Ariami, 2021).

Flavonoid membantu melawan serangan bakteri, virus, dan mikroba lainnya dengan memperkuat sistem kekebalan tubuh. Sistem kekebalan juga dimodifikasi oleh flavonoid dengan merangsang sel fagosit. Flavonoid memiliki kekuatan untuk meningkatkan pertahanan inang dengan merangsang produksi monosit. Flavonoid dapat meningkatkan pembelahan limfosit sel B dan limfosit sel T (Ariami, 2021). Flavonoid sebagai imunostimulan dapat memperbaiki proses biokimia dan farmakologis sistem imun.

Kuersetin termasuk kelompok polifenol flavonoid. Kuersetin terdapat dalam berbagai buah, sayuran, minuman serta bunga, daun, biji (Nguyen dan Bhattacharya, 2022). Aktivitas farmakologi kuersetin yaitu sebagai antimikroba (Osonga *et al.*, 2019). Studi sifat farmasi kuersetin telah terbukti jika kuersetin dapat digunakan sebagai agen antimikroba alami yang efektif mengatasi mikroorganisme patogen.

Kuersetin bersifat antibakteri terhadap berbagai strain bakteri, terutama yang mempengaruhi sistem pencernaan, pernafasan, sistem perkemihan, dan struktur integumen (Nguyen dan Bhattacharya, 2022). Kemampuan antibakteri kuersetin dikaitkan dengan kelarutan (Hooda *et al.*, 2020) dan interaksinya dengan membran sel bakteri (Nguyen dan Bhattacharya, 2022), yang sebagian besar ditentukan oleh gugus hidroksil kuersetin (Osonga *et al.*, 2019). Efek bakterisidal kuersetin lebih efektif pada bakteri Gram-positif dibandingkan bakteri Gram- negatif (Wang *et al.*, 2018). Perbedaan keefektifan kuersetin disebabkan oleh perbedaan komposisi membran sel antara kedua jenis gram bakteri (Osonga *et al.*, 2019). Pada beberapa turunan kuersetin, menunjukkan kemampuan antibakteri yang juga efektif terhadap bakteri Gram-negatif (Osonga *et al.*, 2019).

Bakteri *Aeromonas salmonicida* bersifat Gram negatif, berbentuk batang lurus dengan ujung sel membulat yang mendekati bentuk speris, berdiameter 0,3- 1,0 μm dan panjang 1,0-3,5 μm . Bakteri bersifat anaerob fakultatif, kemoorganotrof yang mempunyai tipe metabolisme respirasi dan fermentasi. Fosforilasi dan sulfasi kuersetin pada gugus hidroksil yang berbeda mampu meningkatkan atau mengurangi kelarutannya, dan dengan demikian mengubah potensi antibakterinya terhadap jenis bakteri tertentu (Osonga *et al.*, 2019).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat efikasi kuersetin derivat ekstrak bunga Kamboja Jepang (*Adenium obesum*) terhadap penurunan jumlah heterofil dan monosit serta peningkatan jumlah limfosit dalam darah ikan mas oranda (*Carassius auratus auratus*) yang diinfeksi *Aeromonas salmonicida*. Pada heterofil, monosit dan limfosit didapat hasil konsentrasi optimum terapi yaitu pada 4000ppm. Seluruh pengamatan didapat hasil yaitu pemberian ekstrak dengan konsentrasi 4000 ppm berefikasi terhadap jumlah heterofil, limfosit dan monosit ikan mas oranda (*Carassius auratus auratus*) dengan model furunkulosis..

REFERENSI

- Afiyanti, A., Yuliani, M. and Handijatno, D. 2018. Leukocyte Count and Differential Leukocyte Count of Carp (*Cyprinus carpio Linn*) after Infected by *Aeromonas salmonicida*. In Proceedings of the 2nd International Conference Postgraduate School, pages 545-549.
- Arnold, J. E., Matsche, M. A., Rosemary, K. 2014. Preserving Whole Blood in Formalin Extends the Specimen Stability Period for Manual Cell Counts in Fish. *Veterinary Clinical Pathology* 43: 613-620.
- A'yunin, Q., Budianto, Andayani, S., Pratiwi, D. C. 2020. Analisis Kondisi Kesehatan Ikan Patin *Pangasius sp.* yang Terinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*. *Journal of Aquaculture and Fish Health* 9(2): 164-172.
- Hartika, R., Mustahal, M., Putra, A. N. 2014. Gambaran Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Penambahan Dosis Prebiotik yang Berbeda dalam Pakan. *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 4(4).
- Hooda, H., Singh, P., Bajpai, S. 2020. Effect of Quercetin Impregnated Silver Nanoparticle on Growth of Some Clinical Pathogens. *Mater. Today Proc.*, 31: 625–630.
- Khoirunnisa, I., Sumiwi, S. A. 2019. Review Artikel: Peran Flavonoid pada Berbagai Aktivitas Farmakologi. *Farmaka* 17 (2): 131-142.
- Kurniawan, R., Syawal, H., dan Effendi, I. 2020. Pengaruh Penambahan Suplemen Herbal Pada Pakan Terhadap Diferensiasi Leukosit Ikan Dan Sintasan Ikan Patin (*Pangasionodon Hypophthalmus*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 8(2): 150-163.
- Lugowska, K., Kondera, E., Witeska, M. 2017. Leukocyte Count in Fish – Possible Sources of Discrepancy. *Bulletin-European Association of Fish Pathologists* 37(3): 94-99.
- Nguyen, T.L.A., Bhattacharya, D. 2022. Antimicrobial Activity of Quercetin: An Approach to Its Mechanistic Principle. *Molecules* 27 (2494).

- Osonga, F.J., Akgul, A., Miller, R.M., Eshun, G.B., Yazgan, I., Akgul, A., Sadik, O.A. 2019. Antimicrobial Activity of a New Class of Phosphorylated and Modified Flavonoids. *ACS Omega* 4: 12865–12871.
- Riantono, F., Kismiyati, Sulmartiwi, L. 2016. Perubahan Hematologi Ikan Mas Komet (*Carassius auratus auratus*) Akibat Infestasi *Argulus japonicus* Jantan dan *Argulus japonicus* Betina. *Journal of Aquaculture and Fish Health* 5 (2): 28-35.
- Saputro B.E., Sutrisna R., Santosa P.E., Fathul F. 2016. Pengaruh Ransum yang Berbeda pada Itik Jantan Terhadap Jumlah Leukosit dan Diferensial Leukosit. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu* 4(3): 176-181. Lampung.
- Shofi, M., Suwitasari, F., Istiqomah, N. 2020. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kamboja Jepang (*Adenium obesum*) dan Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*). *Al-Kaunyah: Jurnal Biologi* 13(2): 167-178.
- Tiwari, S. C., Husain, N. 2017. Biological Activities and Role of Flavonoids in Human Health-A Review. *Indian J.Sci.Res.* 12 (2): 193-196.
- Wang, S., Yao, J., Zhou, B., Yang, J., Chaudry, M.T., Wang, M., Xiao, F., Li, Y., Yin, W. 2018. Bacteriostatic effect of quercetin as an antibiotic alternative in vivo and its antibacterial mechanism in vitro. *J. Food Prot.*, 81, 68–78.
- Witeska, M., Kondera, E., Ługowska, K., Bojarski, B. 2022. Hematological Methods in Fish – Not Only for Beginners. *Aquaculture* 547 (2022) 737498.