

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

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 dari pengamatan yaitu,

4.1.1 Jumlah Limfosit

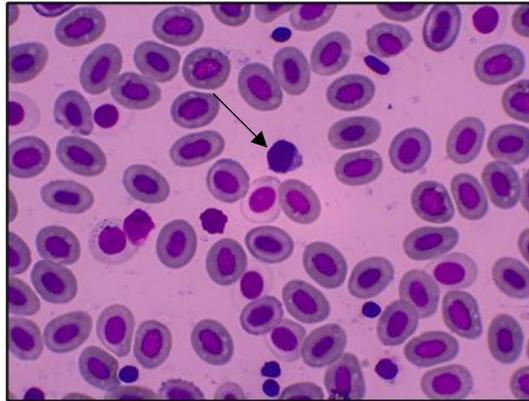
Hasil perhitungan jumlah limfosit pada hasil penelitian pada tabel 1

Tabel 1 Rata-Rata dan Standar Deviasi Jumlah Limfosit Ikan Mas Oranda (*C. auratus auratus*) Hasil Penelitian

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

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

Tabel 1 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah limfosit tertinggi ada pada kelompok P0 atau kelompok tanpa perlakuan (sehat) yaitu sebesar 78,20 dan jumlah rata-rata limfosit terendah ada pada kelompok P1 atau kelompok yang hanya diinfeksi furunkulosis tanpa pemberian terapi. Hasil analisis superskrip tabel menunjukkan bahwa jumlah limfosit pada kelompok P0 berbeda nyata terhadap P1, P2, P3, P4 dan P5, kelompok P1 berbeda nyata dengan P2, P3, P4 dan P5, kelompok P2 tidak berbeda nyata dengan kelompok P3 dan P4, tetapi berbeda nyata dengan kelompok P5.



Gambar 10 Limfosit Ikan Mas Oranda

4.1.2 Jumlah Monosit

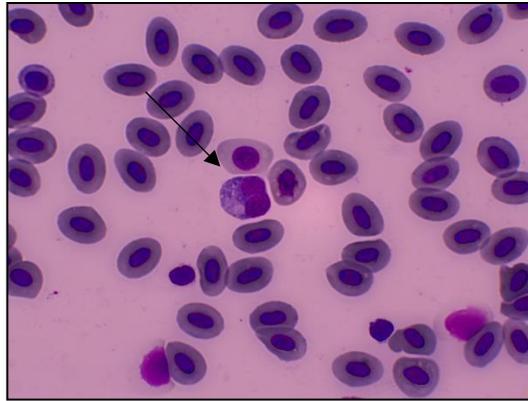
Hasil perhitungan jumlah monosit pada hasil penelitian pada tabel 2

Tabel 2 Rata-rata dan Standar Deviasi Jumlah Monosit Ikan Mas Oranda (*C. 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 table diatas menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,5$)

Tabel 2 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah monosit tertinggi ada pada kelompok P1 atau kelompok yang hanya diinfeksi furunkulosis tanpa pemberian terapi yaitu sebesar 7,90 dan jumlah rata-rata monosit terendah ada pada kelompok P0 atau kelompok tanpa perlakuan (sehat). Hasil analisis superskrip tabel menunjukkan bahwa jumlah monosit pada kelompok P0 berbeda nyata terhadap P1, P2 dan P4, tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok P3 dan P5, sedangkan kelompok P1 berbeda nyata terhadap kelompok P0, P3 dan P5, tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok P2 dan P4.



Gambar 11 Monosit Ikan Mas Oranda

4.1.3 Jumlah Heterofil

Hasil perhitungan jumlah monosit pada hasil penelitian pada tabel 3

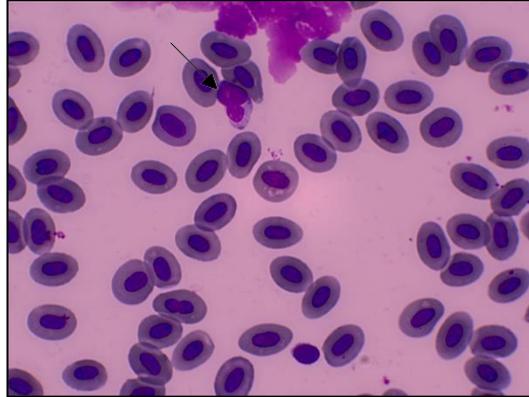
Tabel 3 Rata-Rata dan Standart Deviasi Jumlah Heterofil Ikan Mas Oranda (*C. auratus auratus*) Hasil Penelitian

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

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

Tabel 3 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah heterofil tertinggi ada pada kelompok P1 atau kelompok yang hanya diinfeksi furunkulosis tanpa pemberian terapi yaitu sebesar 26,70 dan jumlah rata-rata heterofil terendah ada pada kelompok P0 atau kelompok tanpa perlakuan (sehat). Hasil analisis superskrip tabel

menunjukkan bahwa jumlah limfosit pada kelompok P0 berbeda nyata terhadap P1, P2, P3, P4, dan P5. Kelompok P1 berbeda nyata terhadap P2, P3, P4 dan P5. Kelompok P2 berbeda nyata terhadap P5, tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok P3, dan P4.



Gambar 12 Heterofil Ikan Mas Oranda

4.2 Pembahasan

Penelitian ini berhasil membuktikan efikasi dari Kuersetin derivat ekstrak bunga kamboja (*A. obesum*) terhadap peningkatan jumlah sel limfosit serta penurunan jumlah sel monosit dan heterofil dalam darah ikan mas Oranda (*C. auratus auratus*) dengan model Furunkulosis akibat *Aeromonas salmonicida*. Hasil ini sesuai dengan penelitian Herslambang, dkk, 2015 yang menyatakan fungsi kuersetin sebagai antibakteri pada manusia terhadap bakteri *Staphylococcus sp.* Sehingga kuersetin juga memiliki manfaat antibakteri bagi hewan.

Sel pertama yang bereaksi terhadap infeksi yang dibawa oleh benda asing 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. Banyak heterofil imatur yang memasuki aliran darah dikaitkan dengan peningkatan granulopoiesis. Infeksi bakteri menyebabkan meningkatnya produksi heterofil karena fungsi utamanya adalah fagositosis mikroorganisme asing.

Rata-rata jumlah heterofil terendah ada pada kelompok P0 atau kelompok tanpa perlakuan (sehat) yaitu sebesar 15,90 dan jumlah heterofil tertinggi pada kelompok P1 atau kelompok yang hanya diinfeksi furunkulosis tanpa pemberian terapi yaitu sebesar 26,70. Jumlah heterofil mengalami penurunan pada kelompok perlakuan P2 atau kelompok terapi ciprofloxacin 55 ppm yaitu sebesar 21,90 dan pada kelompok perlakuan P3 atau kelompok terapi ekstrak bunga kamboja jepang 1000 ppm yaitu sebesar 21,00. Pada kelompok perlakuan P5 atau kelompok terapi ekstrak bunga kamboja jepang 4000 ppm jumlah monosit mengalami penurunan hingga mendekati P0 yaitu sebesar 17,90.

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 adalah garis pertahanan pertama dan karena itu berperan penting dalam resistensi terhadap penyakit. Rata – rata hasil jumlah heterofil disebabkan oleh kandungan zat antibakteri yang dilepaskan dengan degranulasi dan dapat membunuh bakteri dengan fagositosis.

Jumlah monosit meningkat karena ada 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. Sirkulasi monosit darah menjadi lebih cepat. 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).

Rata-rata jumlah monosit tertinggi ada pada kelompok P1 atau kelompok yang hanya diinfeksi furunkulosis tanpa pemberian terapi yaitu sebesar 7,90 dan jumlah monosit mulai menurun pada kelompok P2 yang diberikan terapi ciprofloxacin 55ppm yaitu sebesar 6,70. Jumlah monosit kembali mengalami kenaikan pada kelompok perlakuan P3 atau kelompok terapi ekstrak bunga kamboja jepang 1000 ppm yaitu sebesar 6,80 dan pada kelompok perlakuan P4 atau kelompok terapi ekstrak bunga kamboja jepang 2000 ppm yaitu sebesar 7,10. Pada kelompok perlakuan P5 atau kelompok terapi ekstrak bunga kamboja jepang 4000 ppm jumlah monosit mengalami penurunan yaitu sebesar 6,40.

Monosit adalah makrofag dengan kemampuan memfagositosis bakteri dan mikroorganisme lainnya, sehingga perubahan jumlahnya terkait dengan kemampuan ini. 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 (Mentari, 2022). 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 (Giyartika, 2020).

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 (Asti, 2015).

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.

Rata-rata jumlah limfosit tertinggi ada pada kelompok P0 atau kelompok tanpa perlakuan (sehat) sebesar 78,20 dan jumlah limfosit terendah pada P1 atau kelompok yang hanya diinfeksi furunkulosis tanpa pemberian terapi yaitu sebesar 65,40. Peningkatan jumlah limfosit mulai terjadi pada kelompok P2, P3, P4, P5. Pada kelompok P5, peningkatan jumlah limfosit mulai mendekati rata-rata tertinggi pada kelompok P0 yaitu sebesar 75,70. Kadar limfosit dipengaruhi oleh aktivitas fisik, pengobatan, dan penyakit (Tiara, 2016).

Penurunan persentase limfosit disebabkan migrasi limfosit dari darah ke jaringan. Stres juga menyebabkan menurunnya antibodi dan penurunan fungsi limfosit. 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 (Tiara, 2016).

Peningkatan jumlah limfosit pada kelompok P5 yang sudah diinfeksi furunkulosis dan diberi terapi 4000 ppm menunjukkan bahwa senyawa kuersetin derivat yang terkandung dalam ekstrak bunga kamboja jepang (*Adenium obesum*) berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. 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 (Giyartika, 2020). Peningkatan jumlah limfosit setelah pemberian terapi karena limfosit masih aktif melakukan penyembuhan jaringan yang terinfeksi (Prakoso dan Wijayanti, 2022).

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 (Hanifah, 2020). 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 (Salsabila, 2021).

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). Mekanisme kerja kuersetin sebagai antibakteri yaitu mengkoagulasi protein dengan cara menonaktifkan enzim-enzim dan mengganggu dinding sel (Fauzan *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).

A. salmonicida merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang lurus dengan ujung sel membulat, berdiameter 0,3–1,0 μm dan panjang 1,0–3,5 μm . Bakteri anaerob fakultatif adalah organisme kemoorganotrofik dengan beberapa bentuk respirasi dan metabolisme fermentasi. (Olga *et al.*, 2019). Patogenesis bakteri yang menginfeksi dapat meningkatkan leukositosis. 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).

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi alternatif pengobatan oleh infeksi agen bakteri, sehingga tidak hanya mengandalkan pengobatan antibiotic sintetis yang memiliki efek samping jangka Panjang dalam penggunaannya. Penelitian sebelumnya tentang efek antibakteri kuersetin dilakukan pada pasien manusia dan terbukti berefikasi terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* (Herslambang, *et al.*, 2015), sehingga dengan penelitian ini maka dapat diketahui jika kuersetin juga bersifat antibakteri bagi pasien hewan. Sesuai dengan Lesjak, dkk, 2018 yang menyatakan aktivitas farmasi dari kuersetin, sehingga selanjutnya dapat diproduksi sebagai obat antibiotika alami yang dapat digunakan pada hewan.