

**STUDI HEMATOLOGI DAN HISTOLOGI HATI INDUK LELE
MUTIARA *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) JANTAN DENGAN
PENAMBAHAN *Tribulus terrestris* (Linn, 1753) PADA PAKAN**

(Skripsi)

Oleh

ADIL FAADHILAH



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRACT

THE HEMATOLOGY AND HISTOLOGY FEATURES OF THE LIVER OF MALE BROODSTOCK AFRICAN CATFISH *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) FED *Tribulus terrestris* (Linn, 1753) EXTRACT

By

Adil Faadhilah

Chemicals that are very harmful to the environment and fish are susceptible to chemical resistance and can leave residues. The addition of natural phytochemicals containing steroid compounds, saponins, alkaloids, and flavonoids such as *Tribulus terrestris* as a substitute for chemicals is expected to boost the immune system non specific environmentally friendly. This research was conducted during 45 days of feeding maintenance using additional *T. terrestris* extracts to evaluate the hematology and histology profile of african catfish broodstock (*Clarias gariepinus*) male. The catfish used as many as 75 males which were divided into 5 treatments. Each treatment had three repeats. The treatments used were feed that was subjected to treatment A (alcohol 95%), B (metil testosterone of 60 mg/kg feed), C (*T. terrestris* extract of 250 mg/kg feed), D (*T.terrestris* extract of 500 mg/kg feed), and E (*T.terrestris* extract of 750 mg/kg feed). There was no significantly difference between hemoglobin, hematocrit levels, erythrocyte, monocytes, neutrophils and somatic hepato index. However, the total value of lymphocytes, phagocytosis activity, and leukocytes had a significantly different effect. The results showed that the male catfish were better with feeding containing extract of *T. terrestris* 250 mg/kg feed.

Keywords: *Tribullus terrestris* extract, hematology, histology, african catfish broodstock.

ABSTRAK

STUDI HEMATOLOGI DAN HISTOLOGI HATI INDUK LELE MUTIARA *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) JANTAN DENGAN PENAMBAHAN *Tribulus terrestris* (Linn, 1753) PADA PAKAN

Oleh

Adil Faadhilah

Bahan kimia sangat berbahaya bagi lingkungan, dan ikan yang rentan resistan terhadap bahan kimia, dan dapat meninggalkan residu. Penambahan fitobiotik bahan alami yang memiliki senyawa steroid, saponin, alkaloid, dan flavonoid seperti *Tribullus terrestris* sebagai pengganti bahan kimia di harapkan mampu meningkatkan sistem imun non spesifik yang ramah lingkungan. Penelitian ini dilakukan selama 45 hari pemeliharaan pemberian pakan menggunakan pakan tambahan ekstrak *T. terrestris* untuk mengevaluasi profil hematologi, dan histologi hati induk lele mutiara (*Clarias gariepinus*) jantan. Induk lele yang digunakan sebanyak 75 ekor, induk lele jantan dibagi menjadi 5 perlakuan. Setiap perlakuan terdapat 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan yang diberi perlakuan A (alkohol 95%), B (*metil testosterone* 60 mg/kg pakan), C (ekstrak *T. terrestris* 250 mg/kg pakan), D (ekstrak *T. terrestris* 500 mg/kg pakan), dan E (ekstrak *T. terrestris* 750 mg/kg pakan). Tidak ada perbedaan yang signifikan antara nilai hemoglobin, kadar hematokrit, total eritrosit, total monosit, total neutrofil, dan *indeks hepato somatik*. Namun demikian nilai total limfosit, aktivitas fagositosis, dan total leukosit berbeda nyata. Hasil penelitian menunjukkan bahwa induk lele mutiara jantan lebih baik dengan pemberian pakan yang mengandung ekstrak *T. terrestris* 250 mg/kg pakan.

Kata Kunci : Ekstrak *Tribullus terrestris*, hematologi, histologi, induk lele.

**STUDI HEMATOLOGI DAN HISTOLOGI HATI INDUK LELE
MUTIARA *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) JANTAN DENGAN
PENAMBAHAN *Tribulus terrestris* (Linn, 1753) PADA PAKAN**

Oleh

ADIL FAADHILAH

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERIKANAN**

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Skripsi : **STUDI HEMATOLOGI DAN HISTOLOGI HATI INDUK LELE MUTIARA *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) JANTAN DENGAN PENAMBAHAN *Tribulus terrestris* (Linn, 1753) PADA PAKAN**

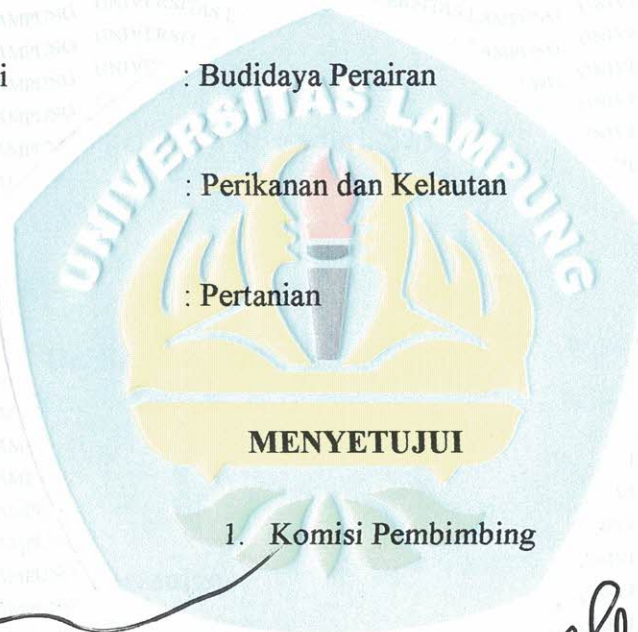
Nama Mahasiswa : **Adil Faadhilah**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1714111030

Program Studi : **Budidaya Perairan**

Jurusan : **Perikanan dan Kelautan**

Fakultas : **Pertanian**



1. **Komisi Pembimbing**

Munti Sarida, S.Pi., M.Si., Ph.D
NIP 198309232 00604 2 002

Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si
NIP 19900128 201903 2 018

2. **Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan**

Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si
NIP 19700815 199903 1 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

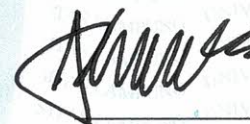
Ketua : Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.



Sekretaris : Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si.



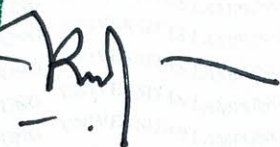
Anggota : Dr. Supono, S.Pi., M.Si.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 19611020 198603 1 00 2



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 09 Februari 2022

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapat gelar akademik (sarjana) di Universitas Lampung.
2. Skripsi ini murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan tim pembimbing.
3. Dalam skripsi ini tidak terdapat karya ataupun pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyempangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena skripsi ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Bandar Lampung, 06 Oktober 2022
Yang membuat pernyataan,



Adil Faadhilah
NPM. 1714111030

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Jakarta pada 9 Maret 1999, sebagai anak tunggal dari Bapak Iqbal Fu'adi dan Ibu Nuryanah. Penulis memulai pendidikan formal dari Taman Kanak-kanak (TK) Karya Mandiri II Kramatwatu diselesaikan pada tahun 2005, dilanjutkan ke Sekolah Dasar Negeri (SDN) III Kramatwatu Serang hingga tahun 2008 dan dilanjutkan ke Sekolah Dasar Negeri (SDN) Kebondalem Cilegon diselesaikan pada tahun 2011, Sekolah Menengah Pertama Negeri (SMPN) I Ciparay Bandung hingga tahun 2013 lalu dilanjutkan ke Sekolah Menengah Pertama Negeri (SMPN) III Pringsewu, Lampung diselesaikan pada tahun 2014, dan Sekolah Menengah Atas Negeri (SMAN) I Pringsewu, Lampung diselesaikan pada tahun 2017. Penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang S1 di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui Jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2017 dan menyelesaikan studinya pada tahun 2022. Selama menjadi mahasiswa penulis aktif di organisasi Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan Universitas Lampung (Himapik) sebagai anggota Bidang Kominfo pada tahun 2018/2019 dan menjadi bendahara Bidang Kominfo pada tahun 2019/2020.

Penulis pernah mengikuti magang di Balai Benih Ikan Bandung pada tahun 2018. Penulis mengikuti Praktik Umum (PU) di Joel Nararya Farm Sukarame, Bandar Lampung dengan judul “Pembenihan Ikan Discus (*Symphosodon discus*) di Joel Nararya Farm, Sukarame, Bandar Lampung” pada bulan Juni-Juli 2020. Penulis

telah melakukan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Rantau Fajar, Kecamatan Raman Utara, Kabupaten Lampung Timur selama 40 hari yaitu dari bulan Januari-Februari 2020. Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Kualitas Air Akuakultur, Avertebrata Akuatik, Limnologi, Fisiologi Reproduksi Hewan Air, Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan, Fisiologi Biota Laut, Fisiologi Hewan Air, dan Ikhtiologi. Penulis melakukan penelitian akhir pada bulan Februari-Maret 2021 di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian dan Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi, Universitas Lampung dengan judul “Studi Hematologi dan Histologi Hati Induk Lele Mutiara *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) Jantan dengan Penambahan *Tribulus terrestris* (Linn, 1753) pada Pakan” sebagai tugas akhir di Jurusan Perikanan dan Kelautan Universitas Lampung.

PERSEMBAHAN

Dengan beribu rasa syukur Alhamdulillah kupanjatkan atas berkat, rahmat dan karunia yang Allah SWT berikan kepadaku dan dengan penuh rasa cinta, kasih sayang serta dengan kerendahan hati, kupersembahkan imbuhan kecil di belakang namaku untuk Ayah dan Ibu tercinta sebagai bukti keseriusanku untuk membalas segala pengorbanan kalian selama ini.

Ayah dan Ibuku Tercinta (Iqbal Fuadi dan Nurjannah)

Yang telah tulus ikhlas membesarkan, mencintai, mengasihi, dan mendidikku dengan limpahan kasih sayang, memberikan pengorbanan, motivasi, nasihat serta doa di setiap sujudnya. Ayah yang tiada henti meneteskan keringat demi keberhasilan putra-putrinya. Ibu yang selalu menemani dan memberi semangat di saat hati bimbang.

Sahabat-sahabat dan teman-teman seperjuangan, terimakasih atas segala doa serta dukungan yang telah kalian berikan.

Almamater tercinta Universitas Lampung

MOTTO

Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.

(Q.S. Al-Baqarah: 286)

Setiap momen sangat berharga, setiap orang juga berharga, *be your self.*

(Adil Faadhilah)

Menjadi seseorang yang berbeda bukanlah suatu masalah, dan kita tidak perlu memaksakan diri menjadi orang lain agar dianggap dan diterima.

Cukup jadi versi terbaik dari diri kita.

(Whalien 52-BTS)

Pelan-pelan, satu per satu. Semua pasti akan jatuh tepat pada waktunya karena kamu bukan Tuhan yang dapat menyelesaikan semua hal sendirian.

(Anonim)

Hidup bukan tentang kecepatan, tetapi tentang arah dan tujuan, dan tidak ada akhir dari sebuah harapan.

(Kim Namjoon)

SANWACANA

Bismillahirrahmaanirrahim,

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat, taufik, hidayah, dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Studi Hematologi dan Histologi Hati Induk Lele Mutiara *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) Jantan dengan Penambahan *Tribulus terrestris* (Linn, 1753) pada Pakan” yang merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Universitas Lampung sesuai dengan waktu yang telah ditentukan. Sholawat serta salam selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW yang selalu menjadi suri tauladan bagi kita semua.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Lampung, melalui pembiayaannya dalam skema riset unggulan atas nama Ir. Siti Hudaidah., M.Sc.
3. Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
4. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph. D. selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung sekaligus Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan serta saran dalam penyelesaian skripsi serta sebagai Dosen Pembimbing Akademik yang selalu memberikan arahan dan bimbingan yang sangat berarti dan bermanfaat.

5. Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P. selaku Ketua Komisi Skripsi.
6. Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan serta saran dalam penyelesaian skripsi.
7. Ir. Supono, S.Pi., M.T.A. selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan saran dalam penulisan skripsi.
8. Kedua orang tua, Bapak Iqbal Fu'adi dan Ibu Nurjannah, Mba Ka, Teh Hanna, Bi Husna, Bi Tika dan seluruh keluarga besar yang selalu luar biasa menyemangati dan senantiasa memberikan kasih sayang, perhatian, dukungan baik moril maupun materil serta doa yang tiada henti, serta kebersamaan sampai penulis menyelesaikan skripsi.
9. Mas Bambang dan Mba Dwi yang telah membantu serta mendampingi saya dalam proses penelitian dan penyelesaian skripsi penulis.
10. Dame Muna Safitri Turnip, teman dalam perjalanan menyelesaikan penelitian ini, serta Dhea Salsa, Tika, Titi dan Darmawan yang selalu mendampingi, membantu, serta memberikan semangat dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi penulis.
11. Sahabat seperjuanganku tercinta dari sekolah menengah atas, Fatma, Indri, Esa, Azmi, dan Ari yang selama ini berjuang untuk meraih cita-cita yang diharapkan, senantiasa semangat.
12. Sahabat-sahabatku tersayang, Dhea Aurelia Safitri, Pita Indriswari dan Lisa Silviana serta teman-teman Perikanan angkatan 2017 yang selama ini memberikan semangat.
13. Kakak-kakak tingkat serta adik-adik tingkat dan semua teman-teman yang turut memberikan semangat.

Penulis menyadari bahwa dalam pembuatan dan penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Bandar Lampung, 06 Oktober 2022
Penulis,

Adil Faadhilah

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	3
1.3 Manfaat	3
1.4 Kerangka Pikir	3
1.5 Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Klasifikasi, Morfologi dan Habitat Ikan Lele Mutiara	7
2.2 Reproduksi Ikan Lele Mutiara	8
2.3 <i>Tribulus terrestris</i>	9
2.4 Mekanisme <i>Tribulus terrestris</i> terhadap Stimulasi Imun Non Spesifik	10
2.5 Hematologi.....	12
2.6 Hormon-hormon yang Berperan Selama Reproduksi Ikan.....	13
III. METODOLOGI PENELITIAN	15
3.1 Waktu dan Tempat	15
3.2 Jenis Penelitian	15
3.3 Populasi dan Sampel.....	16
3.4 Variabel Penelitian.....	16

3.5 Metode Kerja	16
3.5.1 Alat dan Bahan	16
3.5.2 Parameter Penelitian	17
1. Hematologi.....	17
a) Hemoglobin	18
b) Total Eritrosit.....	18
c) Kadar Hematokrit	18
d) Total Leukosit	18
e) Diferensial Leukosit.....	19
f) Aktifitas Fagositosis	20
2. Preparasi Sampel Histologi.....	20
3. Kualitas Air	20
3.5.3 Pelaksanaan Penelitian.....	21
1. Pembuatan Ekstrak <i>Tribulus terrestris</i>	21
2. Pencampuran Ekstrak dengan Pakan Komersil	21
3. Pembuatan Media <i>Trypticase Soy Broth</i> (TSB)	21
4. Tahap Persiapan	22
5. Pemeliharaan Pemberian Pakan.....	22
6. Penggantian Air	22
3.6 Metode dan Teknik Pengumpulan Data.....	23
3.7 Analisis Data.....	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Hasil	24
4.1.1 Hematologi.....	24
A. Hemoglobin	25
B. Total Sel Darah Merah (Eritrosit).....	25
C. Total Sel Darah Putih (Leukosit).....	26
D. Diferensial Leukosit	27
E. Kadar Hematokrit.....	28
F. Aktifitas Fagositosis.....	29
4.1.2 <i>Indeks Hepato Somatik</i> (IHS)	30
4.1.3 Histologi Hati.....	31
4.1.4 Kualitas Air	33
4.2 Pembahasan.....	34
4.2.1 Hematologi.....	34
A. Hemoglobin	34
B. Total Sel Darah Merah (Eritrosit).....	36
C. Total Sel Darah Putih (Leukosit).....	37
D. Diferensial Leukosit	38
E. Kadar Hematokrit.....	39
F. Aktivitas Fagositosis	40
4.2.2 <i>Indeks Hepato Somatik</i> (IHS).....	40
4.2.3 Histologi Hati	41
4.2.4 Kualitas Air	41

V. SIMPULAN DAN SARAN	43
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir.....	4
2. Ikan lele mutiara.....	8
3. <i>Tribulus terrestris</i>	10
4. Mekanisme <i>Tribulus terrestris</i> terhadap stimulasi imun non spesifik.....	12
5. Desain penempatan bak fiber	15
6. Total hemoglobin	24
7. Total sel darah merah (eritrosit).....	26
8. Total sel darah putih (leukosit)	27
9. Differensial leukosit	28
10. Kadar hematokrit.....	29
11. Aktifitas fagositosis.....	30
12. <i>Indeks hepato somatik</i>	31
13. Histologi hati pada induk lele dengan perlakuan K(-) alkohol 95%	31
14. Histologi hati pada induk lele dengan perlakuan K (+) MT 90 mg/kg pakan	32
15. Histologi hati pada induk lele dengan perlakuan ETT 250 mg/kg pakan	32
16. Histologi hati pada induk lele dengan perlakuan ETT 500 mg/kg pakan	33
17. Histologi hati pada induk lele dengan perlakuan ETT 750 mg/kg pakan	33
18. Ekstraksi <i>Tribulus terrestris</i>	75
19. Pencampuran ekstrak dengan pakan komersil	76
20. Dokumentasi sampling.....	77
21. Dokumentasi pengamatan mikroskop.....	78

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kualitas air pemeliharaan induk lele mutiara	34
2. Total <i>means corpuscular volume</i> ikan lele mutiara pada masing-masing perlakuan.....	53
3. Total <i>means corpuscular haemoglobin</i> ikan lele mutiara pada masing-masing perlakuan	54
4. Total <i>means corpuscular haemoglobin Concent</i> ikan lele mutiara pada masing-masing perlakuan	55
5. Total eritrosit ikan lele mutiara pada masing-masing perlakuan	56
6. Total leukosit ikan lele mutiara pada masing-masing perlakuan.....	57
7. Total monosit ikan lele mutiara pada masing-masing perlakuan.....	58
8. Total limfosit ikan lele mutiara pada masing-masing perlakuan	59
9. Total neutrofil ikan lele mutiara pada masing-masing perlakuan.....	60
10. Total kadar hematokrit ikan lele mutiara pada masing-masing perlakuan ...	61
11. Total aktivitas fagositosis ikan lele mutiara pada masing-masing perlakuan.....	62
12. Total indeks hepato somatik ikan lele mutiara pada masing-masing perlakuan.....	63
13. Homogenitas <i>means corpuscular volume</i> (MCV)	64
14. Anova <i>means corpuscular volume</i> (MCV)	64
15. Duncan <i>means corpuscular volume</i> (MCV)	64
16. Homogenitas <i>means corpuscular haemoglobin</i> (MCH)	65
17. Anova <i>means corpuscular haemoglobin</i> (MCH).....	65
18. Duncan <i>means corpuscular haemoglobin</i> (MCH).....	65
19. Homogenitas <i>means corpuscular haemoglobin concent</i> (MCHC).....	66
20. Anova <i>means corpuscular haemoglobin concent</i> (MCHC).....	66
21. Duncan <i>means corpuscular haemoglobin concent</i> (MCHC).....	66

22. Homogenitas total sel darah merah (eritrosit).....	67
23. Anova total sel darah merah (eritrosit)	67
24. Duncan total sel darah merah (eritrosit).....	67
25. Homogenitas total sel darah putih (leukosit)	68
26. Anova total sel darah putih (leukosit).....	68
27. Duncan total sel darah putih (leukosit)	68
28. Homogenitas total monosit	69
29. Anova total monosit	69
30. Duncan total monosit	69
31. Homogenitas total limfosit.....	70
32. Anova total limfosit	70
33. Duncan total limfosit.....	70
34. Homogenitas total neutrofil	71
35. Anova total neutrofil	71
36. Duncan total neutrofil	71
37. Homogenitas kadar hematokrit	72
38. Anova kadar hematokrit.....	72
39. Duncan kadar hematokrit	72
40. Homogenitas aktifitas fagositosis	73
41. Anova aktifitas fagositosis	73
42. Duncan aktifitas fagositosis	73
43. Homogenitas <i>indeks hepato somatik</i> (IHS).....	74
44. Anova <i>indeks hepato somatik</i> (IHS)	74
45. Duncan <i>indeks hepato somatik</i> (IHS)	74

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Nilai total hematologi ikan lele mutiara pada masing-masing perlakuan.....	53
2. Analisis Sidik Ragam (Anova) Hematologi Induk Lele Mutiara <i>Clarias gariiepinus</i> Jantan dengan Pemberian Ekstrak <i>T. terrestris</i> selama 45 hari	64
3. Ekstraksi <i>Tribulus terrestris</i>	75
4. Pencampuran ekstrak dengan pakan komersil	76
5. Dokumentasi sampling.....	77
6. Dokumentasi pengamatan mikroskop.....	78

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lampung memiliki masyarakat yang gemar mengonsumsi ikan lele, yang didukung oleh tingginya produksi ikan lele di Lampung Berdasarkan Badan Pusat Statistik (2018) bahwa produksi ikan lele di Lampung pada tahun 2017 mencapai 753.076.403 ekor. Meningkatnya permintaan pasar dari ikan lele menyebabkan banyak pembudi daya yang membudidayakan ikan lele mutu tinggi tiada tara atau “mutiara”. Strain ini merupakan produk pemuliaan dari Balai Penelitian Pemuliaan Ikan (BPPI) Sukamandi yang memiliki keunggulan pertumbuhan cepat, efisiensi pakan tinggi, keseragaman ukuran, produktivitas tinggi serta toleransi terhadap penyakit, stress, dan lingkungan (Iswanto *et al.*, 2016). Namun, dalam proses budi daya ikan ini tidak luput dari masalah. Masalah dalam budi daya ikan pada umumnya adalah ketersediaan benih baik secara kualitas, kuantitas, dan kontinuitas yang belum terpenuhi. Hal ini karena dampak negatif dari penyakit. Adanya penyebaran penyakit yang cepat pada ikan menyebabkan kerugian ekonomi yang besar.

Penularan penyakit juga dialami oleh induk lele mutiara. Penularan dapat dipengaruhi oleh kualitas lingkungan buruk, inang yang lemah, dan adanya mikroorganisme patogen (Azhar *et al.*, 2020). Upaya yang dapat dilakukan untuk pencegahan penularan penyakit ini adalah dengan mengontrol kualitas air dan jumlah bakteri yang biasanya dilakukan dengan pemberian probiotik dan imunostimulan (Fidyandini *et al.*, 2020). Namun, penggunaan bahan kimia dapat berdampak

kurang baik bagi ikan dan lingkungan serta dapat menyebabkan bakteri resisten terhadap bahan kimia yang diberikan (Azhar *et al.*, 2020). Banyak upaya yang dilakukan untuk meningkatkan imunitas menggunakan bahan alami yang lebih ramah lingkungan, yaitu fitobiotik ekstrak tumbuhan seperti *Tribulus terrestris*. Ghosal *et al.* (2016), menyatakan bahwa *T. terrestris* dapat membalikkan kelamin dan induksi pertumbuhan pada ikan nila serta dapat meningkatkan kelangsungan hidup ikan nila. *T. terrestris* juga dapat meningkatkan pertumbuhan karena androgen yang memiliki efek *sex reversal* dan antibiotik (Omitoyln *et al.*, 2013). *T. Terrestris* diketahui dapat meningkatkan kematangan gonad pada ikan, peningkatan kadar testosteron secara alami, dan peningkatan persentase kelangsungan hidup yang tidak berbahaya (Janallazadeh *et al.*, 2018). Hassona *et.al.* (2020), menyatakan bahwa 17 α -metil testosteron dan ekstrak *T. terrestris* pada parameter hematologi menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($P > 0,5$) di antara kelompok eksperimen, kecuali untuk hemoglobin, sel darah merah, ukuran rata-rata sel darah merah (*means corpuscular volume* MCV) dan total sel darah putih. Ekstrak *T. terrestris* (ETT) meningkatkan imunitas ikan nila yang ditunjukkan pada peningkatan neutrofil dan hemoglobin. Dosis ekstrak *T. terrestris* yang paling berpengaruh ada pada dosis 750 mg/kg pakan.

Alternatif yang aman bagi ikan dan lingkungannya dapat dilakukan dengan optimalisasi peningkatan imunitas menggunakan ekstrak tanaman herbal *T. terrestris*. Masih minimnya riset efektivitas pemberian *T. terrestris* terhadap ikan lele, khususnya pengaruh terhadap hematologi dan histologi hati pada ikan lele sehingga perlu dilakukan adanya riset yang lebih mendalam untuk mengevaluasi efektivitas *T. terrestris* dalam pakan komersil pada induk lele jantan ini. Oleh karena itu peningkatan imunitas induk lele melalui pemberian *T. terrestris* di dalam pakan perlu dilakukan untuk meningkatkan keberhasilan budi daya sehingga memperoleh benih yang cukup untuk kegiatan budi daya.

1.2 Tujuan Penelitian

Dari latar belakang yang sudah diuraikan, secara umum tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengevaluasi profil hematologi induk lele mutiara jantan setelah diberi ekstrak *T. terrestris*.
2. Mengevaluasi *indeks hepato somatik* induk lele mutiara jantan setelah diberi ekstrak *T. terrestris*.
3. Mengevaluasi gambaran morfologi organ hati induk lele mutiara jantan setelah diberi ekstrak *T. terrestris*.

1.3 Manfaat Penelitian

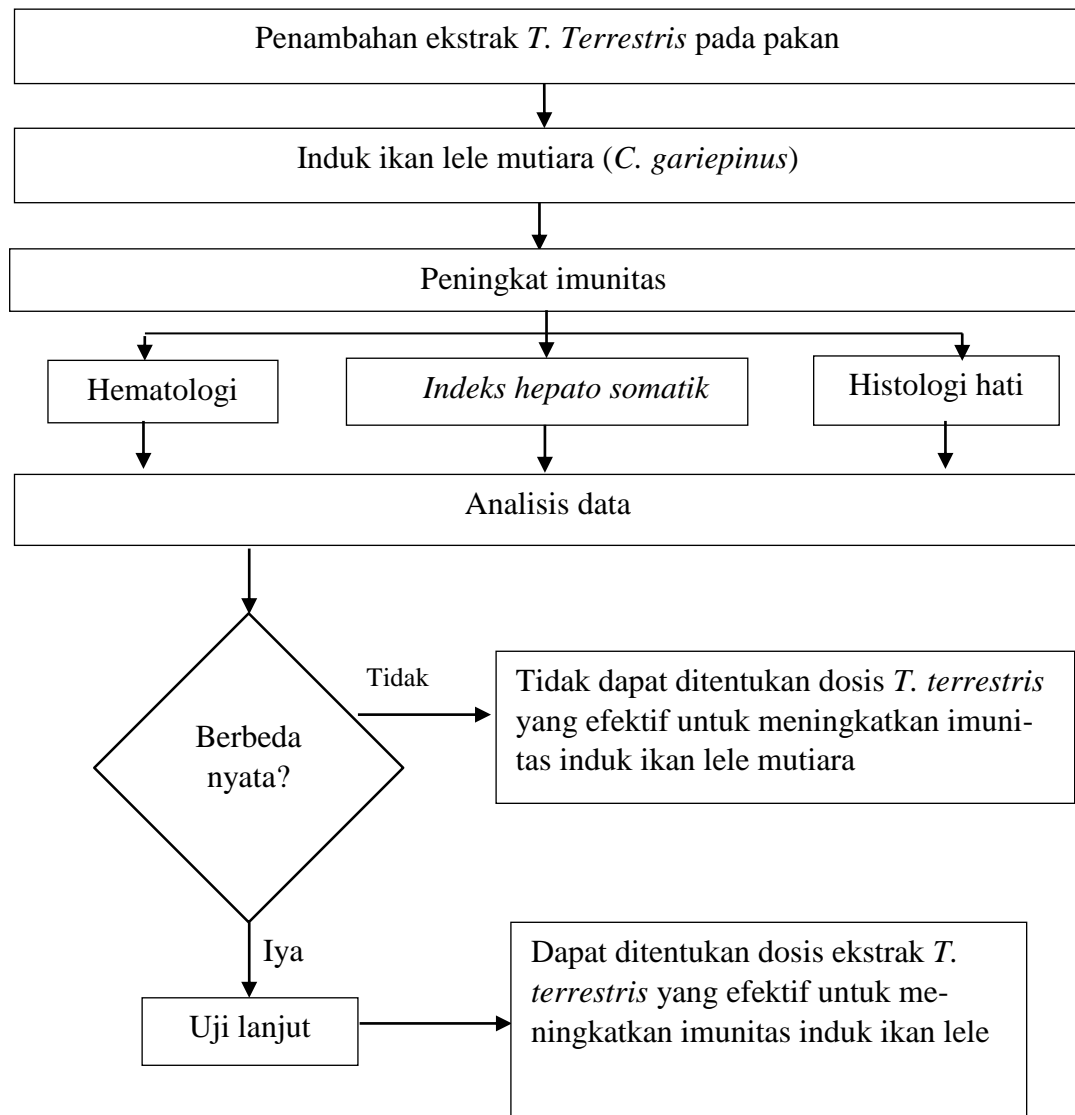
Berdasarkan tujuan yang telah disebutkan, penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Pengembangan ilmu pengetahuan tentang peningkatan imunitas ikan yang ramah lingkungan serta dengan mendapatkan bahan yang mudah dicari dan murah.
2. Acuan penelitian selanjutnya dalam penelitian peningkatan imunitas menggunakan ekstrak *T. terrestris* pada pakan komersil.
3. Sebagai media informasi aplikatif yang mudah diaplikasikan oleh para pembudi daya.

1.4 Kerangka Pikir

Tingginya tingkat permintaan masyarakat pada ikan lele mutiara mengharuskan pembudi daya untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas pada benih ikan. Namun kendala yang sering dihadapi pembudi daya adalah masih rendahnya imun pada benih ikan lele sehingga perlu dilakukan peningkatan respon imun nonspesifik (imunitas) pada induk lele untuk mendapatkan benih dengan kualitas yang tinggi. Salah satu upaya yang dapat dilakukan yaitu dalam peningkatan kualitas nutrisi pakan induk. *T. terrestris* merupakan suplemen herbal yang mampu meningkatkan imunitas induk jantan. Ekstrak *T. terrestris* sebagai tumbuhan fitobiotik memiliki kandungan berupa saponin, flavonoid, dan alkaloid yang memiliki aktivitas anti-inflamasi, antitumor dan imunomodulator yang dapat mempertahankan tubuh dari benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Efek androgen dari *T. terrestris* dapat

meningkatkan pertumbuhan dan nafsu makan. Saat ini studi dan informasi tentang pengaruh *T. terrestris* dalam optimalisasi penanganan penyakit dan peningkatan imunitas ikan konsumsi masih sedikit, untuk itu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam upaya peningkatan imunitas induk lele mutiara (*C. gariepinus*) dengan pemberian *T. terrestris* melalui pakan dengan dosis yang berbeda.



Gambar 1. Kerangka pikir

1.5. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut ;

1. Hemoglobin

H0 : Semua $\tau_i=0$. Pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda pada pakan, tidak berbeda nyata terhadap hemoglobin induk ikan lele mutiara.

H1 : Minimal ada satu $\tau_i \neq 0$. Minimal ada satu pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda pada pakan, tidak berbeda nyata terhadap hemoglobin induk ikan lele mutiara.

2. Total eritrosit

H0 : Semua $\tau_i=0$. Pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda pada pakan, tidak berbeda nyata terhadap total eritrosit induk ikan lele mutiara.

H1 : Minimal ada satu $\tau_i \neq 0$. Minimal ada satu pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda pada pakan, tidak berbeda nyata terhadap total eritrosit induk ikan lele mutiara.

3. Total leukosit

H0 : Semua $\tau_i=0$. Pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda pada pakan, tidak berbeda nyata terhadap total leukosit induk ikan lele mutiara.

H1 : Minimal ada satu $\tau_i \neq 0$. Minimal ada satu pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda pada pakan, tidak berbeda nyata terhadap total leukosit induk ikan lele mutiara.

4. Kadar hematokrit

H0 : Semua $\tau_i=0$. Pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda pada pakan, tidak berbeda nyata terhadap kadar hematokrit induk ikan lele mutiara.

H1 : Minimal ada satu $\tau_i \neq 0$. Minimal ada satu pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda pada pakan, tidak berbeda nyata terhadap kadar hematokrit induk ikan lele mutiara.

5. Differensial leukosit

H0 : Semua $\tau_i=0$. Pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda pada pakan, tidak berbeda nyata terhadap differensial leukosit induk ikan lele mutiara.

H1 : Minimal ada satu $\tau_i \neq 0$. Minimal ada satu pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda pada pakan, tidak berbeda nyata terhadap differensial leukosit induk ikan lele mutiara.

6. Aktivitas fagositosis

H0 : Semua $\tau_i=0$. Pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda pada pakan, tidak berbeda nyata terhadap aktivitas fagositosis induk ikan lele mutiara.

H1 : Minimal ada satu $\tau_i \neq 0$. Minimal ada satu pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda pada pakan, tidak berbeda nyata terhadap aktivitas fagositosis induk ikan lele mutiara.

7. Indeks Hepato Somatik

H0 : Semua $\tau_i=0$. Pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda pada pakan, tidak berbeda nyata terhadap *indeks hepato somatik* induk ikan lele mutiara.

H1 : Minimal ada satu $\tau_i \neq 0$. Minimal ada satu pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda pada pakan, tidak berbeda nyata terhadap *indeks hepato somatik* induk ikan lele mutiara.

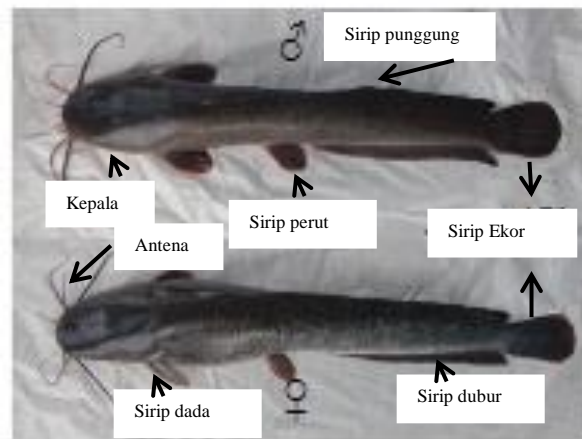
II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi, Morfologi dan Habitat Ikan Lele Mutiara

Ikan lele mutiara adalah ikan hasil persilangan antara ikan lele mesir, paiton, sangkuriang, dan dumbo. Persilangan ini memerlukan penyeleksian selama 3 generasi. Klasifikasi ikan lele mutiara berdasarkan data Froese, R dan Pauly, D., 2022 adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Pisces
Sub Kelas	: Teleostei
Ordo	: Actinopteri
Sub Ordo	: Siluriformes
Famili	: Clariidae
Genus	: <i>Clarias</i>
Spesies	: <i>Clarias gariepinus</i>

Ikan lele mutiara bernapas menggunakan insang dan memiliki labirin yang mampu membantu ikan lele bernafas di air yang memiliki kondisi oksigen rendah. Ikan ini diketahui memiliki 72 jari sirip punggung, 55 jari sirip anal (Iswanto *et al.*, 2019). Ikan lele jantan memiliki tulang kepala lebih pipih, berwarna dasar tubuh hitam dengan alat reproduksi urogenital berbentuk runcing dan berwarna merah ketika sudah matang gonad. Adapun lele betina memiliki tulang kepala lebih cekung, warna dasar tubuh lebih cerah, perut lebih bulat dari ikan jantan, bentuk urogenital membulat dan berwarna merah ketika sudah matang gonad (Ardyanti *et al.*, 2017).



Gambar 2. Ikan lele mutiara
Sumber: Iswanto *et al.* (2016)

Ikan lele mutiara dapat hidup di perairan tawar dengan arus yang tidak terlalu deras, danau dan kolam, serta memilih daerah yang agak dangkal dan berawa dengan substrat berlumpur lembut. Ikan lele dapat bertahan hidup terhadap lingkungan yang ekstrim. Umumnya ikan lele hidup pada perairan dengan suhu 8-35°C, pH 6,5-8, dan dengan kedalaman 0-80 m. Ikan lele adalah hewan nokturnal yang mencari makan dan beraktivitas di malam hari. Ikan lele mutiara bereproduksi dengan cara bertelur, pemijahan terjadi saat musim hujan (Froese, R dan Pauly, D., 2022).

2.2 Reproduksi Ikan Lele Mutiara

Reproduksi adalah kemampuan untuk menghasilkan keturunan untuk melestarikan jenisnya. Proses reproduksi meliputi fertilisasi, strategi reproduksi, hermaphrodit, dan adaptasi. Proses reproduksi terjadi karena adanya pemijahan. Berlangsungnya pemijahan ikan dipengaruhi oleh kondisi lingkungan hidup ikan dan kondisi fisiologis ikan (Munakata dan Kobayashi, 2010). Keadaan lingkungan yang sesuai dengan habitat aslinya akan mempercepat proses pemijahan. Kondisi fisiologis juga dapat berpengaruh terhadap proses pemijahan ikan karena kondisi fisiologis yang buruk dapat menyebabkan ikan tidak dapat memijah. Kondisi fisiologis ini dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan hidup ikan. Dalam proses reproduksi ikan terdapat suatu proses fertilisasi yang disebut juga pembuahan, yaitu penyatuan sel gamen jantan dengan sel gamet betina untuk membentuk satu sel (zigot). Pemberian hormon dapat mempercepat ovulasi sehingga meningkatkan

kematangan gonad pada ikan. Fertilisasi dapat dipengaruhi oleh nutrisi skim kuning telur sebagai sumber energi metabolisme spermatozoa (Fariedah *et al.*, 2018).

Bagian organ reproduksi pada ikan adalah gonad. Perkembangan gonad bagian dari reproduksi ikan sebelum terjadinya pemijahan (Gani *et al.*, 2015). Pengamatan kematangan gonad dapat dilakukan dengan pengamatan secara histologi dan morfologi. Pengamatan gonad secara morfologi hanya dapat mengetahui bentuk, ukuran panjang dan berat, warna serta perkembangan isi gonad. Tingkat kematangan gonad dapat dilihat secara morfologi melalui warna, bentuk, dan ukuran gonad. Reproduksi pada ikan diawali dengan perkembangan telur yaitu proses pembuahan sel telur oleh spermatozoa. Perkembangan telur melalui beberapa tahap seperti pra blastula-blastula-grastula-neurola-embrio-penetasan yang dimulai dari adanya satu sel sehingga menjadi beberapa sel telur (Lismawati *et al.*, 2016).

2.3 *Tribulus terrestris*

T. terrestris adalah tanaman yang hidup di daerah beriklim tropis. Tanaman ini adalah tanaman obat untuk berbagai macam penyakit, seperti hipertensi dan jantung koroner. Tanaman ini dapat dijadikan obat karena tanaman ini sebagai tanaman fitobiotik yang memiliki senyawa saponin, asam amino, dan flavonoid (Samanhudi *et al.*, 2018). Kandungan saponin dalam *T. terrestris* dapat meningkatkan kadar hormon testosteron, *luteinizing hormone* (LH), *dehydroepiandrosterone* (Dhea), *dihydrotestosterone* (Dht), dan *dehydroepiandrosterone sulphate* (Pelealu *et al.*, 2015). Diketahui bahwa hormon testosteron adalah hormon pada testis yang digunakan untuk perkembangan karakteristik seks sekunder pria dan produksi sperma. Ghosal *et al.* (2016), menyatakan bahwa *T. terrestris* dapat membalikkan kelamin dan induksi pertumbuhan pada ikan nila. *T. terrestris* juga dapat meningkatkan pertumbuhan karena androgen yang memiliki efek *sex reversal* dan antibiotik (Omitoyln *et al.*, 2013).



Gambar 3. *Tribulus terrestris*
Sumber: Persi (2015)

Komponen bioaktif fitobiotik dari tumbuhan *T. terrestris* dapat memberikan banyak keuntungan pada kesehatan ikan. Komponen tersebut seperti minyak esensial adalah senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dan antifungi dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen dalam tubuh, alkaloid, flavoloid, felonik, dan steroid yang menyebabkan peningkatan pertumbuhan, nafsu makan, peningkatan sekresi enzim pencernaan, imunitas, dan aktivitas antimikroba (Janallazadeh *et al.*, 2018). Efek androgenik yang berada pada *T. terrestris* adalah peran utama dalam peningkatan kinerja pertumbuhan dan daya tetas. Kandungan bioadiktif lainnya, seperti saponin, steroid, dan protodioscin memiliki peran peningkatan produksi testosteron (Hassona *et al.*, 2020).

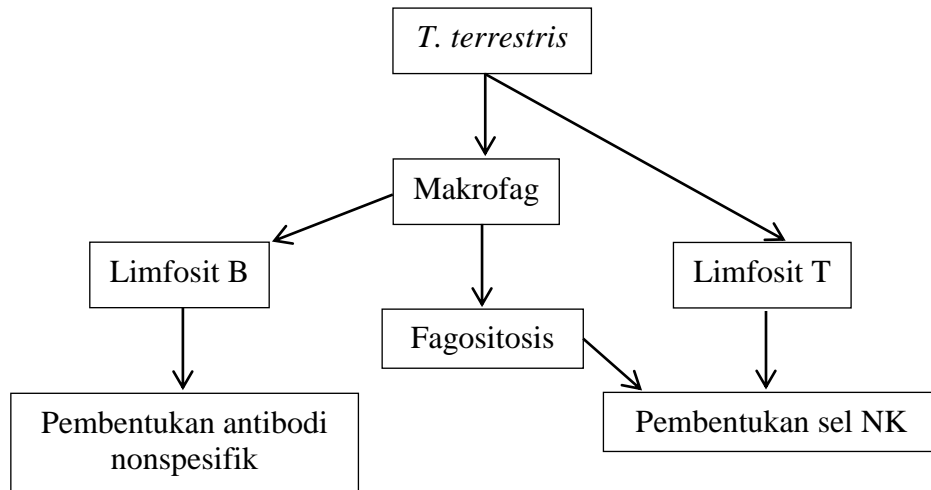
2.4 Mekanisme *Tribulus terrestris* terhadap Stimulasi Imun Nonspesifik

Immunomodulator adalah senyawa yang dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun nonspesifik. Induksi nonspesifik terjadi baik mekanisme pertahanan seluler maupun humoral. Pertahanan nonspesifik terhadap antigen disebut paramunitas. Sel tujuan adalah makrofag, granulosit, limfosit T dan B, karena induktor paraimunitas ini terutama menstimulasi mekanisme pertahanan seluler (Devagaran dan Diantini, 2017).

Innate immunity adalah mekanisme pertahanan tubuh nonspesifik yang mencegah masuk dan menyebarnya mikroorganisme dan mencegah terjadinya kerusakan jaringan, dalam artian bahwa respons terhadap zat asing dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar oleh zat tersebut melalui proses fagositosis (Munasir, 2001). Sel-sel fagositosis harus berada dalam jarak yang dekat dengan partikel bakteri. Hal ini dapat terjadi karena dilepaskannya zat atau mediator tertentu yang disebut dengan faktor leukotaktik atau kemotaktik yang berasal dari

bakteri maupun yang dilepaskan oleh neutrofil, makrofag, atau komplemen yang telah berada di lokasi bakteri (Hariyanti *et.al.*, 2015). Selanjutnya partikel bakteri masuk ke dalam sel dengan cara endositosis dan oleh proses pembentukan fagosom, ia terperangkap dalam kantong fagosom, seolah-olah ditelan dan kemudian dihancurkan baik dengan proses oksidasi-reduksi maupun oleh derajat keasaman yang ada dalam fagosit atau penghancuran oleh lisozim dan gangguan metabolisme bakteri (Devagaran dan Diantini, 2017). Manifestasi lain dari respons imun nonspesifik adalah reaksi inflamasi. Reaksi ini terjadi akibat dilepaskannya mediator-mediator tertentu oleh beberapa jenis sel. Respon imun seluler telah banyak diketahui bahwa mikroorganisme yang hidup dan berkembang biak secara intra seluler, antara lain di dalam makrofag sehingga sulit untuk dijangkau oleh antibodi. Untuk melawan mikroorganisme intraseluler tersebut diperlukan respon imun seluler, yang diperankan oleh limfosit T. Subpopulasi sel T yang disebut dengan sel T penolong (*T-helper*) akan mengenali mikroorganisme atau antigen bersangkutan melalui *major histocompatibility complex* (MHC) kelas II yang terdapat pada permukaan sel makrofag. Sinyal ini menyulut limfosit untuk memproduksi berbagai jenis limfokin, termasuk di antaranya interferon, yang dapat membantu makrofag untuk menghancurkan mikroorganisme tersebut (Faradilla, 2013).

Respons imun humoral, diawali dengan diferensiasi limfosit B menjadi satu populasi (klon) sel plasma yang melepaskan antibodi spesifik ke dalam darah. Pada respons imun humoral juga berlaku respons imun primer yang membentuk klon sel B memori. Setiap klon limfosit diprogramkan untuk membentuk satu jenis antibodi spesifik terhadap antigen tertentu (*Clonal selection*). Antibodi ini akan berikatan dengan antigen membentuk antigen antibodi yang dapat mengaktivasi komplemen dan mengakibatkan hancurnya antigen tersebut. Limfosit B akan berdiferensiasi dan membentuk antibodi yang dibantu oleh limfosit T-penolong (*T-helper*), yang atas sinyal-sinyal tertentu baik melalui MHC maupun sinyal yang dilepaskan oleh makrofag, merangsang produksi antibodi. Selain oleh sel T-penolong, produksi antibodi juga diatur oleh sel T penekan (*T-supresor*), sehingga produksi antibodi seimbang dan sesuai dengan yang dibutuhkan (Munasir, 2001).



Gambar 4. Mekanisme *Tribulus terrestris* terhadap respon imun non spesifik
Sumber: Munasir (2001)

Oleh sebab itu, peningkatan persentase limfosit dapat mengindikasikan adanya patogen yang masuk ke dalam tubuh sehingga senyawa flavonoid merangsang aktivitas sel T dan sel B. Peranan limfosit adalah sebagai sistem pertahanan tubuh dari masuknya benda asing (Syaieba *et al.*, 2019). Flavonoid dapat meningkatkan aktivitas interleukin (IL-12) dan proliferasi limfosit yang menyebabkan sel T helper I teraktivasi yang akan memengaruhi interferon gamma (IFN- γ) yang dapat mengaktifkan makrofag dengan ditandai meningkatnya aktivitas fagositosis secara cepat dan lebih efisien dalam membunuh antigen (Patroni dan Yuniarti, 2003). *Antibody dependent cellmediated cytotoxicity* (ADCC) yaitu interaksi antara respon imun seluler dengan humoral, karena sitolisis baru terjadi bila dibantu oleh antibodi. Antibodi berfungsi melapisi antigen sasaran, sehingga sel *natural killer* (NK) mempunyai reseptor terhadap fragmen Fc antibodi dapat melekat erat pada sel atau antigen sasaran, sehingga mengakibatkan sel NK dapat menghancurkan sel sasaran (Ahsani, 2014).

2.5 Hematologi

Hematologi adalah studi mengenai darah dengan metode pemeriksaan yang digunakan untuk mengetahui perubahan dalam tubuh ikan, sistem imun efek pemberian suatu dosis obat ataupun kesehatan ikan melalui darah. Hematologi menyangkut ke dalam beberapa hal seperti eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih), hemoglobin, dan kadar hematokrit. Eritrosit dengan jumlah sel darah yang

paling banyak di dalam darah, berbentuk lonjong dan berinti jernih pada pewarnaan Giemsa. Eritrosit berfungsi mengangkut oksigen ke seluruh tubuh dan mengangkut karbondioksida dari sel ke paru-paru (Rahma *et.al.*, 2015). Pada penelitian Putra *et al.* (2019), diketahui bahwa kadar eritrosit pada ikan lele pada hari ke-30 sebesar $1,85-1,95 \times 10^6$ sel/mm³ setelah pemberian tumbuhan lamtoro pada pakan. Kadar leukosit pada ikan lele normal dapat berkisar 20.000-150.000 sel/mm³. Kadar hemoglobin dipengaruhi oleh protein pada pakan, kualitas air, stres, dan patogen pada ikan (Ratna, 2018).

Pengukuran tingkat stres pada ikan dapat dilakukan dengan pengamatan gambaran darah ikan. Stres pada ikan disebabkan oleh adanya sekresi kortisol di dalam tubuh sehingga memengaruhi gambaran darah. Pengamatan yang biasanya digunakan adalah pengamatan hemoglobin, eritrosit, leukosit, kadar hematocrit, dan diferensial leukosit (Gbore *et al.*, 2006). Hematologi adalah salah satu indikator fisiologis yang signifikan terhadap kesehatan, stres, dan kesejahteraan ikan. Pada penelitian Gultepe *et al.* (2014), diketahui bahwa tidak adanya perbedaan yang signifikan terhadap semua parameter profil hematologi *T. terrestris* yang diberikan pada ikan nila. Dalam penelitian ini nilai hemoglobin, hematokrit, rata-rata hemoglobin korpuskular, rata-rata volume korpuskular, dan konsentrasi hemoglobin sel rata-rata tidak dipengaruhi oleh *T. terrestris* meskipun suplemen lain meningkatkan rata-rata volume korpuskular. Ekstrak *T.terrestris* pada parameter hematologi *Oreochromis niloticus* jantan menunjukkan efek positif yang besar terhadap kesehatan dan kekebalan ikan secara umum melalui peningkatan neutrofil dan hemoglobin dengan cara yang berhubungan dengan dosis yang mencapai nilai yang lebih tinggi daripada *metil testosterone* (MT) (Hassona *et al.*,2020).

2.6 Hormon-Hormon yang Berperan Selama Reproduksi Ikan

Hormonal pada ikan mengacu pada pertumbuhan gonad ikan seperti selisih bobot gonad awal dan akhir penelitian. Peningkatan bobot gonad dapat mengindikasikan adanya pengaruh perlakuan yang diberikan pada ikan. Bobot gonad akan berpengaruh pada fekunditas telur, yaitu jumlah telur yang dihasilkan induk jantan yang akan dihasilkan karena adanya peningkatan ovarium pada gonad. Pertumbuhan gonad akan dipengaruhi oleh kandungan pakan yang diberikan. Pakan yang mengandung

protein tinggi serta terdapat hormon yang dapat meningkatkan kinerja pematangan gonad, seperti *T. Terrestris*, dapat mempengaruhi reproduksi ikan antara lain tingkat kematangan gonad (Fadhilah, 2017). *Metil testosteron* dapat meningkatkan pematangan gonad saat musim pemijahan. Peningkatan pematangan gonad dapat memengaruhi peningkatan reproduksi ikan dan dapat meningkatkan produksi benih ikan. Pada penelitian Sularto *et al.* (2010), menyatakan bahwa *metil testosteron* meningkatkan kerja hormonal yang terjadi di dalam testes. Pematangan sperma yang dipengaruhi sinyal lingkungan akan ditangkap oleh hipotalamus, kemudian akan merangsang kerja organ untuk melakukan pematangan gonad.

Fungsi sistem reproduksi dipengaruhi oleh adanya sistem hormonal (hipotalamus-hipofisis anterior-gonad). Hipotalamus yang bertugas menyekresikan hormon melalui darah akan memberikan sinyal pada target yang kemudian teraktivasi untuk menyintesis hormon gonadotropin FSH dan LH yang disekresikan melalui sistem endokrin. Sekresi hormon gonadotropin dapat menstimulasi sel sertoli yang berperan sebagai pengaturan spermatogenesis dalam tubulus semiferus. Tubulus semiferus menyintesis androgen dan menghasilkan molekul penting dalam menstimulasi respon imun di testis. Sel sertoli mensintesis molekul yang menghambat fungsi imun seperti testosteron, *fasligand*, dan protein s (plasma glikoprotein) yang berperan melindungi sel spermatogenetik yang berkembang di tubulus semiferus yang sedang berkembang (Hayati, 2019).

Androgen adalah jaringan yang terkait dengan respon imun bawaan dan terpengaruh dalam pengobatan. Pemberian androgen secara negatif memodulasi ekspresi imun gen dan mengganggu kekebalan fungsi sistem seperti penekanan fagositosis dan peningkatan aktivitas lisozim, komplemen dan aktivitas peroksidase. Pernyataan ini didukung oleh penelitian Abo-Al-Ela (2017), bahwa *metil testosterone* adalah pengganggu endokrin yang dapat menyebabkan efek genotoksik pada limfosit manusia, sedangkan steroid lain seperti 11-ketotestosteron diketahui dapat menekan respon imun bawaan. Kadar testosteron yang tinggi dapat menyebabkan immunosupresi dan mengganggu respon imun sel T.

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2021 – Maret 2021 selama 45 hari, bertempat di Laboratorium Terpadu dan Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Universitas Lampung.

3.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah jenis penelitian eksperimen, yaitu metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lainnya dengan kondisi terkendali. Penelitian ini menggunakan desain penelitian dengan menggunakan teknik pengambilan data secara observasi langsung di adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut:

Perlakuan A : Kontrol (-) (alkohol 95%)

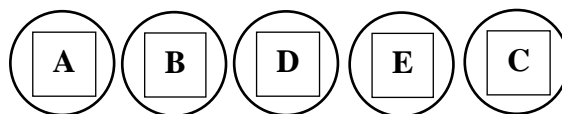
Perlakuan B : Kontrol (+) *metil testosterone* (MT) 60 mg/kg pakan

Perlakuan C : Ekstrak *T.terrestris* (ETT) 250 mg/kg pakan

Perlakuan D : Ekstrak *T.terrestris* (ETT) 500 mg/kg pakan

Perlakuan E : Ekstrak *T.terrestris* (ETT) 750 mg/kg pakan

Penempatan bak fiberbulat pemeliharaan ditentukan secara acak. Desain penempatan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Desain penempatan bak fiber

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi dan sampel dalam penelitian ini adalah ikan lele mutiara jantan berumur 9 bulan dengan bobot rata-rata 600 g yang berjumlah 75 ekor ikan lele mutiara jantan yang ditempatkan dalam bak fiber bulat. Bak fiber yang digunakan sebanyak 5 bak fiber yang berisi 15 ekor ikan lele mutiara jantan untuk setiap 1 bak fiber.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah *T. terrestris*. Variabel terikat adalah ikan lele mutiara jantan, sedangkan variabel kontrolnya adalah suhu dan pH air.

3.5 Metode Kerja

3.5.1 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 bak fiber berbentuk bulat, mikroskop, mikropipet, plastisin, baskom, waring, *scoopnet*, *yellow tip*, *cool box*, label, alat bedah, pH meter, gelas ukur, botol *spray*, lap, timbangan duduk 15 kg, timbangan digital 0,001 g, parafilm, tisu, lap kain, sarung tangan latex, *petri-dish*, spatula, botol sampel, inkubator, *autoclave*, plastik zip, toples kaca, botol ge-lap, panci, kompor, erlenmeyer, tabung reaksi, kasa, kapas, *baker glass*, kertas sa-ring, jarum ose, saringan santan, corong, pipet tetes, plastik *wrap*, aluminium foil, bunsen, spidol permanen, *vortex*, *centrifuge*, set haemometer sahli, tabung hema-tokrit, tabung *ethylen diamine tetra acetic acid* (EDTA), *syringe*, tube, set hema-sitometer, *hot plate*, kaca penutup preparat, *magnetic stirrer*, kaca preparat, termo-meter, dan timbangan. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah induk ikan lele mutiara jantan, pakan komersil PF-128 protein 38%, methanol, alkohol teknis, akuades, minyak cengkeh, NaCl fisiologis, Na-sitrat, alkohol absolut, la-rutan Giemsa, larutan turks, larutan hayem, larutan PBS, HCl 0,1 N, formalin, *metil testosterone*, isolat bakteri *Aeromonas hydrohila*, *tripticase soy broth* (TSB), bubuk *T. terrestris*, dan air.

3.5.2 Parameter Penelitian

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah hematologi, hormonal, dan histologi hati.

1. Hematologi

Sebelum dan setelah masa pemeliharaan selama 45 hari sampel darah diambil untuk dievaluasi pengaruh *T. terrestris* pada variabel hematologi dan tingkat hormon. Sampel darah ikan (6 ikan per perlakuan) diambil dari bagian *vena caudal* dekat ekor menggunakan *syringe* 3 ml, kemudian sampel darah 1,5 ml dimasukkan ke dalam tabung EDTA. Hematologi yang mencakup hemoglobin, total eritrosit, total leukosit, kadar hematokrit, aktivitas fagositosis, Indeks sel darah merah *red blood cell* (RBC), ukuran rata-rata sel darah merah (*means corpuscular volume* (MCV)), jumlah rata-rata hemoglobin sel darah merah (*means corpuscular hemoglobin* (MCH)), dan kepadatan rata-rata hemoglobin sel darah merah (*means corpuscular hemoglobin concent* (MCHC)).

a) Hemoglobin

Kadar hemoglobin diukur menggunakan metode sahli dengan cara tabung sahli haemometer yang telah diisi larutan HCl 0,1 N sampai angka 10 (garis skala paling bawah pada tabung sahli haemometer) ditempatkan di antara 2 tabung dengan warna standar. Kemudian sampel darah sebanyak 0,02 ml diambil dari *microtube* dengan pipet sahli haemometer yang telah dibersihkan, dimasukkan ke tabung sahli haemometer, dan didiamkan selama 3 menit. Sampel yang telah diisi HCl ditambahkan akuades dengan pipet tetes sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan gelas pengaduk sampai memperoleh warna yang sama dengan warna standar. Selanjutnya dilakukan pembacaan kadar Hb yang dinyatakan dalam g/dl. indeks hemoglobin dihitung menurut persamaan sebagai berikut:

$$MCHC = \frac{\text{Hemoglobin}}{\text{Hematokrit}} \times 10$$

$$MCV = \frac{\text{Hematokrit}}{\text{Eritrosit}} \times 10$$

$$MCH = \frac{\text{Hemoglobin}}{\text{Eritrosit}} \times 10$$

Keterangan:

MCHC: *Means corpuscular haemoglobin concentration*

MCV : *Means corpuscular volume*

MCH : *Means corpuscular haemoglobin*

b) Total Eritrosit

Pengamatan total eritrosit menurut Blaxhall dan Daisley (1973) dilakukan dengan cara darah ikan diambil sebanyak 1 ml menggunakan *syringe* telah dibilas anti koagulan. Kemudian sampel darah dihisap hingga skala 0,5 lalu ditambahkan larutan Hayem hingga skala 101 lalu dihomogenkan. Setelah sampel darah homogen, darah diteteskan dalam *hemacytometer* dan ditutup dengan *cover glass*. Pengamatan dihitung pada kotak kecil *hemacytometer* menggunakan mikroskop perbesaran 40x. Total eritrosit yang didapat dari hasil penghitungan dikalikan 10^4 .

$$\Sigma \text{ eritrosit} = a \times Fp \times 10^4 \text{ sel/mm}^3$$

Keterangan:

a : Σ sel terhitung

Fp : Faktor pengenceran

c) Kadar Hematokrit

Pengukuran kadar hematokrit menurut Anderson dan Siwicki (1993) dilakukan dengan cara sampel darah diambil dengan ujung pipa kapiler hematokrit sebanyak 4/5 bagian tabung, disumbat ujung tabung (bertanda merah) dengan plastisin. Kemudian sampel darah disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 3.500 rpm. Kadar hematokrit dinyatakan sebagai % volume padatan sel darah. Kadar hematokrit dihitung dengan persamaan:

$$\text{Kadar hematokrit(\%)} = \frac{\text{volume padatan sel eritrosit mengendap}}{\text{volume darah}} \times 100\%$$

d) Total Leukosit

Pengamatan total leukosit menurut Rosita, *et.al.*, (2015) dilakukan dengan cara sampel darah dihisap sampai skala 0,5 dilanjutkan dengan menambahkan larutan

Turks hingga skala 11. Kemudian sampel darah dan larutan dihomogenkan. Setelah sampel darah homogen, sampel diteteskan di atas *haemocytometer* dan ditutup dengan *cover glass*, selanjutnya dibiarkan agar leukosit mengendap. Kemudian diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400 x, sel pada empat kotak besar dihitung. Jumlah leukosit yang di dapat dari hasil penghitungan dikalikan 50 untuk mengetahui jumlah leukosit dalam 1 mm³ volume darah

$$\Sigma \text{ leukosit} = a \times Fp \times 50 \text{ sel/mm}^3$$

Keterangan:

a : Σ sel terhitung

Fp : Faktor pengenceran

e) **Diferensial Leukosit**

Diferensiasi leukosit menurut Blaxhall (1972) untuk menentukan persentase setiap jenis leukosit dalam darah dilakukan dengan cara sampel darah diteteskan pada kaca preparat, biarkan darah mengalir ke sisi kanan dan kiri kaca preparat, kemudian dilakukan dorongan ke bagian depan menggunakan kaca preparat lain hingga terbentuk lapisan film darah pada kaca preparat, lalu dikeringkan. Setelah kering preparat ulas darah kering difiksasi dengan metanol selama 5 menit. Kemudian preparat ulas darah diwarnai menggunakan Giemsa 10% dan dibiarkan mengering. Diferensial leukosit diamati menggunakan mikroskop dihitung dengan perbesaran 100 x hingga mencapai jumlah 100 sel leukosit. Diferensial leukosit dihitung dengan persamaan (Rahma *et.al.*, 2015):

$$\text{Persentase limfosit} = \frac{L}{100} \times 100\%$$

$$\text{Persentase monosit} = \frac{M}{100} \times 100\%$$

$$\text{Persentase neutrofil} = \frac{N}{100} \times 100\%$$

Keterangan:

L : Jumlah sel darah putih limfosit

M : Jumlah sel darah putih monosit

N : Jumlah sel darah putih neutrophil

L + N + M : 100 sel

L% + N% + M% : 100%

f) Aktivitas Fagositosis

Perhitungan aktivitas fagositosis menurut Haugland (2012) dilakukan dengan cara sampel darah dimasukkan ke dalam microplate sebanyak 50 μ l. Kemudian bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan kepadatan 10^7 cfu/ml sebanyak 50 μ l dalam *phosphate buffer saline* ditambahkan dalam sampel darah, dan diinkubasi selama 10 menit. Sampel hasil inkubasi diambil 5 μ l dan diletakkan pada gelas objek untuk dibuat preparat ulas dan dikeringkan. Kemudian sampel difiksasi menggunakan alkohol 95% selama 5 menit, dilanjutkan pewarnaan Giemsa selama 10 menit lalu diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 1.000 x.

$$\text{Aktivitas fagosit (\%)} = \frac{\text{Jumlah sel yang memfagositosis}}{\text{Total leukosit}} \times 100\%$$

$$\text{Indeks fagosit} = \frac{\text{Jumlah bakteri yang difagosit}}{\text{Jumlah sel yang memfagosit}}$$

8. Preparasi Sampel Histologi

Analisis histologi hati berdasarkan menurut Thonhboon *et.al* (2016) dilakukan dengan cara ikan uji diambil lalu dipingsankan. Setelah pingsan, ikan uji dibedah lalu diambil hatinya. Organ hati yang sudah diambil ditimbang beratnya, kemudian dipotong 1/3 bagian lalu dimasukkan ke dalam botol sampel yang berisi formalin 10%. Setelah 24 jam, organ hati dilakukan dehidrasi dengan cara mengganti rendaman larutan formalin dengan larutan alkohol 70% lalu sampel dibawa ke Balai Veteriner Lampung untuk dilakukan pembuatan preparat histologi. Selanjutnya preparat histologi diamati menggunakan mikroskop.

5. Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diamati antara lain adalah suhu dan pH. Alat yang digunakan untuk pengukuran kualitas air tersebut adalah termometer dan pH meter.

3.5.3 Pelaksanaan Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak *Tribulus terrestris*

Pembuatan ekstrak *T. terrestris* dilakukan di Laboratorium Budidaya Perikanan Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak *T. terrestris* dilakukan dengan cara bubuk *T. terrestris* diayak hingga menghasilkan 100 g bubuk *T. terrestris* halus, kemudian dimasukkan ke dalam toples kaca dan ditambahkan 1.000 ml alkohol 90% sambil diaduk perlahan, kemudian dimaserasi dengan teknik panas sambil diaduk selama 2 jam dengan suhu 70-80°C, diangkat lalu dibiarkan hingga dingin. *T. terrestris* yang sudah berubah warna menjadi pekat (hijau kecoklatan) dan sedikit mengental, kemudian disaring dengan kertas *whatman* pada botol gelap, lalu dievaporasi hingga menjadi lebih kental seperti pasta. Setelah dievaporasi lalu dimasukkan ke dalam botol sampel gelap yang dilapisi parafilm pada bagian penutup dan sedikit dilubangi dengan jarum, kemudian disimpan pada suhu -20°C.

2. Pencampuran Ekstrak dengan Pakan Komersil

Pencampuran ekstrak dilakukan sesuai dengan masing-masing perlakuan dengan cara pakan komersil 1 kg ditimbang sebanyak perlakuan yang digunakan lalu diletakkan di baskom. Untuk kontrol positif, *metil testosterone* 60 mg dilarutkan ke dalam 100 ml alkohol 95% di botol spray sampai homogen. Untuk perlakuan lainnya dilakukan langkah sebelumnya, yaitu masing-masing mengandung *T. Terrestris* 250 mg, 500 mg dan 750 mg. Adapun untuk perlakuan kontrol negatif hanya menggunakan 100 ml alkohol 95% yang disemprotkan pada pakan. Larutan yang sudah disiapkan di-semprotkan sebanyak 5-10 semprotan pada pakan yang ada di dalam baskom, lalu diaduk hingga homogen. Dilakukan langkah tersebut hingga larutan habis. Pakan yang sudah diberi perlakuan dijemur dan didiamkan selama 12 jam di ruangan gelap, kemudian dimasukkan ke dalam plastik zip yang sudah diberi tanda, lalu disimpan di dalam kulkas -20°C.

3. Pembuatan Media *Trypticase Soy Broth* (TSB)

Pembuatan media *tripticase soy broth* (TSB) mengikuti Purwanti dan Susanti (2016) dengan cara 7,5 g bubuk TSB dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* yang berisi 250 ml akuades, lalu dipanaskan menggunakan *hot plate* sampai mendidih sambil dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Kemudian media

yang sudah homogen didiamkan sampai hangat kuku untuk disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah media disterilisasi lalu didinginkan pada suhu kamar dan dimasukkan ke dalam kulkas 4°C serta dihindari dari cahaya. Media yang akan digunakan dari dalam kulkas sebaiknya dihangatkan terlebih dahulu pada suhu kamar.

4. Tahap persiapan

Persiapan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu wadah hewan uji dan alat-alat yang digunakan selama penelitian berlangsung dicuci untuk menjaga kebersihan serta agar wadah tetap steril terhindar dari berbagai macam patogen. Setelah dicuci, kemudian dibilas dengan larutan kalium permanganat (PK) dan dibiarkan kering, setelah itu dilakukan pengisian air pada wadah hewan uji sebanyak 80% dari volume wadah. Lalu EM4 dan urea ditambahkan dan diaerasi kuat hingga air berwarna hijau, kemudian hewan uji dapat dimasukkan ke dalam wadah. Sebelum induk jantan ikan lele mutiara dimasukkan ke dalam wadah pemeliharaan, induk ikan diaklimatisasi terlebih dahulu lalu ditimbang bobotnya untuk mengetahui total bobot ikan per wadah dalam menentukan jumlah pakan yang harus diberikan dengan metode sekenyangnya.

5. Pemeliharaan pemberian pakan

Induk lele jantan diberi pakan menggunakan pakan komersil yang telah diperkaya dengan ekstrak *T. terrestris*. Pemeliharaan dilakukan selama 45 hari. Selama pemeliharaan, ikan uji akan diberi pakan menggunakan pelet apung yang sudah diberi dengan ekstrak *T. terrestris* dengan dosis yang berbeda sesuai perlakuan. Frekuensi pemberian pakan dua kali sehari, yaitu pada pukul 09:00 dan 17:00 WIB.

6. Penggantian air

Selama pemeliharaan ikan pergantian air dilakukan pada wadah ikan uji sebanyak 2x seminggu dengan 30% dari volume keseluruhan air. Pergantian air dilakukan untuk tetap menjaga kualitas air. Penggantian air secara rutin dapat mengurangi tingkat stres pada ikan (Tarigan *et.al.*, 2017).

3.6 Metode dan Teknik Pengumpulan Data

Pengambilan data dilakukan dengan pengambilan sampel pada awal dan akhir penelitian. Untuk mengetahui hematologi, *indeks hepato somatik* dan morfologi hati pada induk ikan lele mutiara jantan, dilakukan pengambilan sampel pada awal penelitian sebanyak 10 sampel dan pada akhir penelitian sebanyak 9 sampel setiap perlakuan dengan cara pengamatan terhadap analisis hematologi, *indeks hepato somatik* dan histologi hati.

3.7 Analisis Data

Analisis data yang diperoleh pada penelitian ini adalah analisis data kuantitatif, yaitu parameter hematologi yang ditabulasikan menggunakan aplikasi IBM SPSS 25 yaitu analisis sidik ragam satu arah atau anova dan untuk melihat perbedaan nyata antar perlakuan diuji lanjut dengan uji lanjut Duncan dengan selang kepercayaan $P < 0,5$. Data kualitatif yang diperoleh yakni parameter histologi hati dan kualitas air ditabulasi menggunakan microsoft excel, dibandingkan dengan referensi berupa baku mutu kualitas air dan hasil penelitian tentang akuakultur lele sebelumnya secara deskriptif.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak *T. terrestris* dapat memengaruhi perubahan pada profil hematologi induk lele mutiara *C. gariepinus*, yaitu pada uji sel darah putih aktivitas fagositosis.
2. Pemberian ekstrak *T. terrestris* dapat memengaruhi *indeks hepato somatik* pada induk lele mutiara (*C. gariepinus*) jantan.
3. Pemberian ekstrak *T. terrestris* juga dapat memengaruhi kondisi hati induk lele mutiara (*C. gariepinus*) jantan yang dapat dilihat pada keadaan histologi hati.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan pada pembudidaya bahwa ekstrak *T. terrestris* dapat digunakan sebagai bahan tambahan pada pakan bukan sebagai pakan utama yang diberikan pada induk lele mutiara (*C. gariepinus*) jantan dengan dosis yang sesuai untuk mendapatkan hasil yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abo-Al-Ela, H.G. 2017. Hormones and fish monosex farming: a spotlight on immunity. *Journal Fish and Shelfish Immunology*. 72 : 23-30.
- Affandi, R., D.S. Sjafei, M.F. Rahardjo, dan Sulistiono. 2005. *Fisiologi Ikan, Pencernaan dan Penyerapan Makanan*. IPB Press. Bogor. 250 hlm
- Ahsani, D. N. 2014. Respon imun pada infeksi jamur. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 6(2): 55-66.
- Amrullah, R., Rosmawati, dan Mulyana. 2015. Gula darah dan mortalitas benih ikan nilam (*Osteochilus hasselti*) yang dipelihara pada media salinitas berbeda. *Jurnal Mina Sains*. 1(2): 49-57.
- Anderson, D.P. dan Siwicki, A.K. 1993. Basic hematology and serology for fish health programs. *Aquatic Animal Health and the Environment*. 185-202.
- Ardyanti, R., Nindarwi, D.D., Sari, L.A., dan Sari, P.D.W. 2017. Manajemen pembenihan lele mutiara (*Clarias sp.*) dengan aplikasi probiotik di unit pelayanan teknis pengembangan teknologi perikanan budidaya (UPT PTPB) Kepanjen, Malang, Jawa Timur. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. 7(2):84-89.
- Ayuningtyas, N.A., Trianto, H.F., dan Fitrianingrum, I. 2015. Efek nefrotoksik pemberian ekstrak etanol 70% daun kara munting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) terhadap ureum dan kreatinin serum tikus galur wistar. *Jurnal Cerebellum*. 1 (4):293-305.
- Azhar, F., Junaidi, M., Muklis, A., dan Scabra, A.R. 2020. Penanggulangan penyakit mas (*Motile Aeromonas septicemia*) pada ikan nila menggunakan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). *Jurnal Abdi Insani Universitas Mataram*. 7 (3): 320-324.
- Azhari, N., dan Hidayaturrahmah. 2020. Profil darah ikan glodok (*Periophthalmodon schlosseri*) dan (*Boleophthalmus boddarti*) di Desa Kuala Tamangan Pelaihari, Kalimantan Selatan. *Jurnal Pharmascience*. 07 (02): 176-186.

- Bastiawan, D., Wahid, A., Alifudin M., dan Agustiawan, I. 2001. Gambaran darah lele dumbo (*Clarias spp.*) yang diinfeksi cendawan *Aphanomyces sp* pada pH yang berbeda. *Jurnal Penelitian Indonesia*. 7 (3) :44-47.
- Bertha, P.D., Junior, M.Z., dan Soelistiyowati, D.T. 2016. Spermatogenesis ikan lele *Clarias sp.* jantan yang diberi pakan mengandung ekstrak purwo-ceng. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 15(1):49-55.
- Blaxhall, P.C. 1972. The haematological assesment of the health of freshwater fish. *Journal of Fish Biology*. 4(4): 593-604.
- Blaxhall, P.C. dan Daisley, K.W. 1973. Routine haemotological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*. 5(6): 771-781.
- Devagaran, T., dan Diatini, A. 2017. Senyawa immunomodulator dari tanaman. *Journal BMC Public Health*. (5)1:1-8.
- Dewi, N.K.N.L., Winaya, I.B.O., dan Dharmawan, N.S. 2017. Gambaran histopatologi hati dan ginjal babi landrace yang diberi pakan eceng gondok dari perairan tercemar timbal. *Jurnal Buletin Veteriner Udayana*. 9(1):1-8.
- Effendie, M.I. 1997. *Metoda Biologi Perikanan*. Yayasan Dewi Sri. Bogor. 112 hlm.
- Fadhilah, R. 2017. Peningkatan produksi telur ikan nilam (*Osteochilus hasselti* CV) melalui terapi hormon dan nutrisi. *Jurnal Akuakultura*. 1(2): 37-43.
- Faradilla, M. 2013. Efek imunomodulator polisakarida rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Chrtetm) Roscoe). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 12(2):273-278.
- Fariedah, F., Inalya, I., Rani, Y., A'yunin, Q., dan Evi, T. 2018. Penggunaan tanah liat untuk keberhasilan pemijahan ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 10(2): 91-94.
- Fidyandini, H.P., Elisdiana, Y., dan Kartini, N. 2020. Pelatihan penggunaan probiotik dan imunostimulan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit ikan lele pada kelompok pembudidaya ikan Ulam Adi Jaya Kabupaten Mesuji. *Jurnal Sinergi*. 1 : 50-54.
- Froese, R., dan Pauly, D. 2022. *Clarias gariepinus*. *Fishbase: World Wide Web Electronic Publication, Version 09/2022*. <http://www.fishbase.in/Summary/SpeciesSummary/catfish>. (diakses pada 28 September 2022)
- Gani, A., Nilawati, J. dan Rizal, A. 2015. Studi habitat dan kebiasaan makanan (*food habit*) ikan rono lindu (*Oryzias sarasinorum* Popta, 1905). *Jurnal Sains dan Teknologi Tadulako*. 4(3):9-18.

- Gbore, F.A., Oginni, O., Adewole, A.M., dan Aladetan, J.O. 2006. The effect of transportation and handling stress on haematology and plasma biochemistry in fingerlings of *Clarias gariepinus* and *Tilapia zillii*. *World Journal of Agricultural Science*. 2: 208-212.
- Gultepe, N., Acar, U., Kesbic, O.S., Yilmaz, S., Yildirim, O., dan Turker A. 2014. Effects of dietary *Tribulus terrestris* extract supplementation on growth, feed utilization, hematological, immunological, and biochemical variables of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *The Israel Journal of Aquaculture*. 1:1-8.
- Ghosal, I., Mukherjee, D., Hanez, G., dan Chakraborty, S.B. 2016. Production of monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* by dietary and immersion treatment with *Basella alba* leaves and *Tribullus terrestris* seeds. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 4(1):358-363.
- Hariyanti., Sunaryo, H., dan Nurlaily, S. 2015. Efek imunomodulator fraksi etanol dari ekstrak etanol 70% kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) berdasarkan peningkatan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum mencit secara *in vitro*. *Jurnal Pharmacy*. 12(1):58–69.
- Hassona, N.N., Zayed, M.M., Eltras, W.F. dan Mohamed, R.A. 2020. Dietary supplementation of *Tribulus terrestris* extract improves growth and reproductive performances of the male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal Aquaculture Riset*. 0(0):1-10.
- Hastuti, S., dan Subandiyono. 2011. Performa hematologis ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) dan kualitas air media pada sistem budidaya dengan penerapan kolam biofiltrasi. *Jurnal Saintek Perikanan*. 6(2):1-5.
- Haugland, G.T., Jakobsen, R.A., Ulven, K., Stokka, L. dan Wergeland, H.I. 2012. Phagocytosis and respiratory burst activity in lumpsucker (*Cyclopterus lumpus* L.) leucocytes analysed by flow cytometry. *Journal Plus One*. 7(10): 1-11.
- Hardi, E.H., E, Sukenda, Harris dan A. M. Lusiastuti. 2011. Karakteristik dan patogenitas *Streptococcus agalactiae* tipe β -hemolitik dan non hemolitik pada ikan nila. *Jurnal Veteriner*. 12 (2): 152-164.
- Hayati, A. 2019. *Biologi Reproduksi Ikan*. Airlangga University Press: Surabaya. 111 hlm.
- Iswanto, B., Suprpto, R., Marnis, H. dan Imron. 2016. Performa reproduksi ikan lele mutiara (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Media Akuakultur*. 11(1):1-9.

- Iswanto, B., Imron., Suprpto, R., dan Marnis H. 2019. Perbandingan karakterisasi biometrik ikan lele dumbo dengan ikan lele afrika (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822). *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*. 18(2): 223-232.
- Jamin dan Erlangga. 2016. Pengaruh insektisida golongan organofosfat terhadap benih ikan nila gift (*Oreochromis niloticus*, Bleeker) analisis histologi hati dan insang. *Acta Aquatica*. 3(2):46-53.
- Janallazadeh, E., Moanoucherl, H., and Changzi, R. 2018. A comparison with *Tribullus terrestris* extract fish immersion and bioencapsulation of enriched artemia on sex reversing of fighter fish (*Betta splendens*). *International Journal of Ornamental Aquatics Research*. 1(1):9-17.
- Lavabetha, A.R.R., Hidayaturrahmah., Muhamat., dan S. Budi, H. 2015. Profil darah ikan timpakul (*Periophthalmodon schlosseri*) dari muara sungai Barito Kalimantan Selatan. *Bioscientiae*. 12(1): 78-89.
- Lestari, E., Setyawati, T.R., dan Yanti, A.H. 2017. Profil hematologi ikan gabus (*Channa striata* Bloch, 1793). *Jurnal Protoblont*. 6 (3) : 283-289.
- Lismawati, N., Hendri, A., dan Mahendra. 2016. Fertilisasi dan daya tetas telur ikan tawes (*Puntius javanicus*) dari sperma pasca penyimpanan pada temperatur 4°C. *Jurnal Perikanan Tropis*. 3(1): 77-84.
- Mahasri, G., Pristita, W., dan Laksmi, S. 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
- Mehrim, A.I., Abdelhamid, A.M., Radwan, I.A., dan Abdelhamid, A.F. 2014. Comparative study for different sources of reproductive stimulating materials and their effects on the reproductive performances of african catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 9 (7): 414-427.
- Munakata, A. dan Kobayashi, M. 2010. Endocrine control of sexual behavior in teleost fish. *General and Comparative Endocrinology*. 165(3): 456-468.
- Munasir, Z. 2001. Respons imun terhadap infeksi bakteri. *Sari Pediatri*. 2(4): 193-197.
- Nainggolan, T.N., Harpeni, E., dan 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). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 26(2):102-114.

- Norum, B., dan Dalmo. 2005. Isolation and characterication of spotted wolfish (*Anarhichas minor* Olaten) macrophages. *Journal Fish and Shellfish Immunology*. 18 (5): 381-391.
- Omitoyln, B.O., Anjani, E.K., dan Sadiq, H.O. 2013. Preliminary investigation of *Tribullus terrestris* (Linn, 1753) extracts as natural sex reversal agent in *Oreochromis niloticus* (Linn, 1758) larvae. *International Journal of Aquaculture*. 4(23): 133-137.
- Palealu, D., Tendean, L., dan Wantouw, B. 2015. Pengaruh jamu dengan *Tribulus terrestris* terhadap kualitas sperma tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. 3(2): 661-665.
- Patroni, R., dan Yuniarti, A. 2003. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (Merremiaa mammosa) Terhadap Fagositosis Makrofag dan Produksi NO Makrofag Studi Eksperimental Infeksi Salmonela Typhimurium pada Mencit Balb/C*. Universitas Diponegoro Press. Semarang. 51 hlm.
- Persatuan Rumah Sakit Seluruh Indonesia (Persi). 2015. Infertilitas Pada Pasangan Usia Subur. Persi. Jakarta. 132 hal.
- Putra, A.N., Pradana, A.C., Novriansyah D. dan Mustahal. 2019. Effect of dietary fermented lamtoro (*Leucaena leucocephala*) leaves flour in feed on digestibility and hematological parameters of cathfish (*Clarias* sp.). *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 8(1): 951-963.
- Purwanti, N.U. dan Susanti, R. 2016. Uji aktivitas antibakteri dan antifungal ekstrak etanol rimpang *Acorus* sp. *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa*. 2 (1): 256-268.
- Purwanti, S.C., Suminto., dan Sudaryono, A. 2014. Profil darah ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diberi pakan dengan kombinasi pakan buatan dan cacing tanah (*Lumbricus rubellus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*.3(2): 53-60.
- Preanger, C., Utama, I.H. dan Kardena, I.M. 2016. Gambaran ulas darah ikan lele di Denpasar Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*. 5(2):96-103.
- Rahma, F.W., Mahasri, G., dan Surmartiwi, L. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak *Sargassum* sp. dengan pelarut metanol pada pakan terhadap jumlah eritrosit dan diferensial leukosit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 7(2): 213-218.
- Ratna. 2018. *Studi Hematologi Ikan Nila Merah yang Dipelihara di Karamba Sepanjang Aliran Sungai Kakap*. Universitas Muhammadiyah Pontianak Press. Pontianak. 50 hal.

- Rosita, E., Permana, I.G., Toharmat, T. dan Despal. 2015. Kondisi fisiologis, profil darah dan status mineral pada induk dan anak kambing peranakan etawah (PE). *Jurnal Buletin Makanan Ternak*. 102(1): 9-18.
- Safitri, D., Sugito., dan Sumatri, S. 2013. Kadar hemoglobin ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi cekaman panas dan pakan yang disuplementasikan tepung daun jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb.). *Jurnal Medika Veterina*. 7(1): 39-41.
- Samanhudi, Yunus, A., Pujiasmanto, B., Widijanto, H., dan Widi, T.A. 2018. Respon pertumbuhan *Tribullus terrestris* terhadap intensitas cahaya dan kadar NaCl. *Jurnal Fakultas Pertanian Universitas Negeri Semarang*. 2(1):1-9.
- Samsiko, R.L.W., Suprpto, H., dan Sigar, S. 2014. Respon hematologis ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) pada suhu media pemeliharaan yang berbeda. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. 3(1):36-43.
- Shah, S.L. 2006. Hematological parameters in *tench tinca tinca* after short term exposure to lead. *Journal of Applied Toxicology*. 26(3):223–228.
- Sularto., Dewi, R.R.S.P.S., dan Khasani, I. 2010. Pengaruh implementasi hormon 17α -metil testosteron terhadap pematangan gonad dan fertilisasi sperma ikan baung (*Mystus nemurus*). *Jurnal Riset Akuakultur*. 5(1): 53-57.
- Syaieba, M., Lukistyowati, I., dan Syawal, H. 2019. Description of leukocyt of siam patin fish (*Pangasius hypopphthalmus*) that feed by addition of humanis mango seeds (*Mangifera indica* L.). *Asian Journal of Aquatic Sciences*. 2(3):235-246.
- Tarigan, N., Supriatna, I., Setiadi, M.A., dan Affandi, R. 2017. Pengaruh vitamin e dalam pakan terhadap pematangan gonad ikan nilam (*Osteochilus ha-sselti*, CV). *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*. 19(1):1-9.
- Thonhboon, L., Senarat, S., Kettard, J., Tunmore, M., Poolprasert, P., Wangkulangkul, S., Yenchun, W. dan Jiraungkoorskul, W. 2016. Hearth histology of the four chambers in the spotted scat, *Scatophagus argus*, during the juvenile stage. *Journal Science Technology*. 23(4): 429-433.
- Valsan, A., dan Raphael, R.K. 2016. Pharmacognostic profile of *Averrhoa bilimbi* Linn. leaves. *South Indian Journal of Biological Science*. 2 (1):75-80.
- Zissalwa, F., Syawal, H., dan Lukistyowati, I. 2020. Profil eritrosit ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang diberi akan mengandung ekstrak daun mangrove (*Rhizophora apiculata*) dan dipelihara dalam keramba. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 25 (1): 70-78.

Zulfahmi, I., Muliari., dan Akmal, Y. 2017. Indeks hepasomatik dan histologi hati ikan nila (*Oreochromis niloticus* Linnaeus 1758) yang dipapar limbah cair kelapa sawit. *Prosiding Seminar Nasional Multidisiplin Ilmu Abulyatama (Semdi Unaya)*. 301-314 hal.