

JURNAL TEKNOLOGI DAN MANAGEMEN PENGELOLAAN LABORATORIUM



Jurnal
Teknologi Dan Manajemen Pengelolaan Laboratorium
(Temapela)

Titin Yuniastutik	Penentuan Konsentrasi Pewarna Giemsa, Waktu Dan Suhu Inkubasi Pada Aktifitas Fagositosis Ikan Lele (<i>Clarias Sp.</i>) Yang Diinfeksi Bakteri <i>Aeromonas Hydrophila</i> Dan <i>Vibrio Harveyi</i>	Hal 52 - 58
-------------------	--	----------------

**PENENTUAN KONSENTRASI PEWARNA GIEMSA, WAKTU
DAN SUHU INKUBASI PADA AKTIFITAS FAGOSITOSIS
IKAN LELE (*Clarias sp.*) YANG DIINFEKSI BAKTERI
Aeromonas hydrophila DAN *Vibrio harveyi***

Titin Yuniastutik

Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit Dan Kesehatan Ikan
Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya, Malang, 65145

ti2nyunias@gmail.com

Abstrak

Permasalahan yang sering terjadi di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit Dan Kesehatan Ikan adalah praktikum hematologi darah terutama uji fagositosis tentang konsentrasi giemsa, waktu inkubasi dan suhu inkubasi sampel darah masih menggunakan perkiraan. Sehingga menyebabkan hasil pemeriksaan tidak akurat, tidak optimal, kurang dapat dipercaya untuk menjawab pertanyaan riset dan mempersulit didalam menegakkan diagnosa suatu penyakit ikan. Diperlukan pemilihan terhadap durasi yang tepat pada proses pewarnaan giemsa. Ketelitian dan ketepatan sangat diperlukan dalam setiap tahap pembuatan sediaan preparat apusan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi pewarna giemsa yang digunakan, waktu inkubasi dan suhu inkubasi darah yang optimal dalam metode aktifitas fagositosis. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen, dengan menerapkan waktu inkubasi, suhu inkubasi, dan variasi konsentrasi giemsa. Kemudian dilakukan pengamatan dan masing masing hasil pengamatan dibandingkan untuk mengetahui hasil terbaik. Berdasarkan hasil dari penelitian yang divisualisasikan melalui pengamatan mikroskop, maka dapat disimpulkan bahwa pada metode aktifitas fagositosis didapatkan suhu inkubasi sampel darah adalah 30°C, waktu inkubasi sampel darah adalah 40 menit, konsentrasi giemsa yang digunakan adalah 100% dan secara signifikan berpengaruh terhadap kualitas gambaran sel darah ikan. Hal tersebut sangat bermanfaat untuk menunjang proses praktikum mahasiswa, membantu para peneliti untuk menjawab permasalahan yang timbul serta sangat diperlukan dalam menunjang diagnosa ikan.

Kata kunci : fagositosis, konsentrasi pewarna giemsa, waktu inkubasi, suhu inkubasi, penyakit dan kesehatan ikan

Abstract

Problems that often occur in the laboratory are blood hematology practicums, especially phagocytosis tests about the giemsa concentration used, the incubation time of blood samples and the incubation temperature of blood samples that still use estimates. This causes the results of the examination to be inaccurate, not optimal and less reliable to answer research questions and make it difficult in diagnosing a fish disease. The use of the standard procedure does not guarantee that good results will be obtained, so that the selection of the right duration for the coloring process requires giemsa dyes. Accuracy and accuracy are needed in each stage of making preparations for blood smear preparations. The aim of this study was to determine the concentration of giemsa dyes used, the incubation time of blood samples, and the optimal incubation temperature of blood samples in the phagocytic activity method. The method used in this study was the experimental method, by applying variations in giemsa concentration, incubation time, and incubation temperature in the process of making blood samples for phagocytosis, then observing fish blood cells and each observation result compared to find out the best results. Data retrieval is done by observation and documentation from the author's routine work in the laboratory. Based on the results of the study through microscope observation, it can be concluded that the method of phagocytosis of giemsa concentration used was 100%, the best incubation time for blood samples was 40 minutes, and the best incubation temperature for blood samples was 30°C and significantly affected the quality of blood cell images. fish. It is very useful to support teaching materials and student practicum, helping researchers to answer problems that arise and are very necessary in supporting the diagnosis of fish.

Keywords: *phagocytosis, concentration giemsa, incubation time, incubation temperature, fish disease*

I. Pendahuluan

Darah ikan terdiri dari komponen cairan (plasma) dan komponen seluler (sel-sel darah). Sel-sel darah terdiri dari eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih) dan trombosit (keping darah), yang diedarkan ke seluruh tubuh melalui sistem sirkulasi tertutup (Wedemeyer *et al.*, 1990). Fungsi darah ikan yaitu mengedarkan sari makanan dan oksigen ke seluruh tubuh (Lagler *et al.* 1977). Leukosit berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh yang akan dikirim secara khusus ke daerah yang terinfeksi dan mengalami peradangan yang serius (Moyle dan Chech, 1988). Peningkatan jumlah total leukosit terjadi akibat adanya respon dari tubuh ikan terhadap kondisi lingkungan pemeliharaan yang buruk, faktor stres dan infeksi penyakit (Arry, 2007).

Peningkatan monosit pada leukosit merupakan indikator peningkatan sistem imun non spesifik yang fungsinya sebagai sel fagosit (makrofag), dapat membantu melindungi ikan dari serangan bakteri (Anderson, 1992).

Pengamatan terhadap imun dapat diketahui dengan menggunakan metode uji fagositosis. Metode fagositosis terdapat beberapa tahapan yaitu proses membuat apusan darah, proses fiksasi dengan methanol dan proses pewarnaan dengan pewarna giemsa. Pada proses pewarnaan, penggunaan konsentrasi giemsa kurang tepat sehingga apusan darah yang diperoleh kurang bagus yang akan mempengaruhi pengamatan sel darah ikan dengan menggunakan mikroskop. Menurut Wulandari *et al.* (2009), uji aktifitas fagositosis dalam proses pewarnaan dapat menggunakan pewarna giemsa 7%. Waktu inkubasi dan suhu inkubasi sampel darah yang diinfeksi bakteri juga harus tepat karena akan mempengaruhi aktifitas fagositosis dalam sel darah. Menurut Resmawati *et al.* (2016), campuran darah dan bakteri dihomogenkan dan dapat dilakukan diinkubasi dalam suhu ruang selama 20 menit.

Permasalahan tersebut menyebabkan hasil pemeriksaan menjadi tidak akurat, tidak optimal dan kurang dapat dipercaya untuk menjawab pertanyaan riset dan mempersulit dalam menegakkan diagnosa suatu penyakit ikan, sehingga perlu dilakukan eksperimen penentuan pewarna giemsa, waktu inkubasi, dan suhu inkubasi pada uji aktifitas fagositosis. Lamanya proses fiksasi dan proses

pewarnaan dengan giemsa sangat berpengaruh terhadap kualitas sel darah ikan. Menurut Houwen (2000), fiksasi sebaiknya dilakukan <1 jam setelah kering angin karena apabila tidak dilakukan fiksasi maka akan memberikan latar belakang biru. Fiksasi berfungsi agar apusan darah melekat pada obyek glass sehingga yakin bahwa sel-sel di dalamnya strukturnya tetap normal dan mampu menyerap cat dengan sempurna. Fiksasi yang tidak baik menyebabkan perubahan morfologi dan warna sediaan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi giemsa terhadap kualitas apusan darah ikan dalam aktifitas fagositosis. Mengetahui pengaruh lama waktu inkubasi sel darah ikan terhadap aktifitas fagositosis. Mengetahui pengaruh suhu inkubasi sel darah ikan terhadap aktifitas fagositosis.

II. Metode Penelitian

1. Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nampan, jarum spuit 1 cc, eppendorf, obyek glass, cover glass, cawan petri, ose, bunsen, mikropipet, *blue tip*, *yellow tip*, tabung reaksi, beker glass 250 mL dan mikroskop. Ikan lele sehat sebanyak 1 ekor dengan panjang kurang lebih 15 cm berumur 2-3 bulan sebagai sampel yang akan diambil darahnya. Bahan untuk proses pengambilan darah yaitu minyak cengkeh dan EDTA 2,7% sebagai anti koagulan. Bahan yang digunakan untuk membuat inokulan bakteri yaitu bakteri *Aeromonas hydrophila*, bakteri *Vibrio harveyi*, media *Nutrient Agar*, media *Nutrient Broth*, media *Thiosulfate Citrate Bile Sucrose*, dan NaCl. Bahan untuk membuat apusan darah yaitu, alkohol 70%, methanol pa sebagai bahan untuk fiksasi, pewarna giemsa dengan konsentrasi perlakuan (5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%), aquades, minyak imersi, dan darah yang telah diinfeksi oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* dan bakteri *Vibrio harveyi* dengan kepadatan masing-masing bakteri 10^8 .

2. Metode yang digunakan

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, dengan menerapkan variasi konsentrasi pewarna giemsa, waktu inkubasi, suhu inkubasi, dan bakteri yang menginfeksi berbeda. Kemudian

dilakukan proses pengamatan sel darah ikan dan masing masing hasil pengamatan dibandingkan untuk mengetahui hasil yang terbaik. Pengambilan data dilakukan dengan cara observasi dan dokumentasi dari pekerjaan rutin penulis di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit Dan Kesehatan Ikan.

3. Prosedur Penelitian

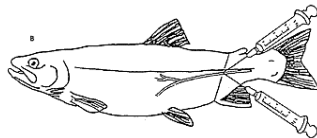
a. Persiapan Peralatan dan Bahan

Peralatan yang akan digunakan disiapkan terlebih dahulu yaitu spuit 1 cc dibilas dengan EDTA 2,7% (anti koagulan), ikan lele direndam terlebih dahulu dengan minyak cengkeh sampai ikan lele pingsan. Obyek glass dibersihkan terlebih dahulu dari lemak yang menempel dengan menggunakan alkohol 70%.

b. Proses Pengambilan Darah Ikan

Pengambilan darah dilakukan dengan perbandingan anti koagulan (EDTA 2,7%) dan darah yaitu 1 : 9, hal ini dilakukan untuk memperoleh kualitas darah yang bagus. Darah yang diperoleh dimasukkan ke dalam eppendorf dan siap dilakukan untuk uji apusan darah.

Teknik pengambilan darah menggunakan teknik *puncturing the caudal vessel* (pembuluh darah bagian caudal). Teknik ini biasa dipakai untuk pengambilan sampel darah ikan berukuran besar (> 10 cm). Teknik ini mempunyai kelebihan yaitu bisa dipergunakan berulang pada satu ikan, dengan menggunakan teknik ini dari seekor ikan dengan berat 200 gr dapat diperoleh darah sebanyak 0,5 -1 ml dalam setiap minggunya tanpa mengakibatkan kelemahan dan kematian pada ikan. Pengambilan darah dengan cara tusukkan jarum spuit pada garis tengah tubuh ikan di belakang sirip anal, masukkan jarum kedalam musculus sampai mencapai tulang belakang (*columna spinalis*). Pastikan tidak ada gelembung air yang masuk dalam spuit, kemudian tarik perlahan-lahan sampai darah masuk kedalam spuit. Ilustrasinya ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Teknik *puncturing the caudal vessel*

c. Proses Pembuatan Sampel Darah Fagositosis

Pembuatan sampel fagositosis yang pertama dilakukan yaitu menyiapkan media untuk kultur inokulan bakteri. Media yang digunakan untuk kultur bakteri *Aeromonas hydrophila* yaitu *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 20 g/L dari volume media yang dibutuhkan, kemudian disterilisasi. Kultur bakteri *Vibrio harveyi* menggunakan media *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose* (TCBS) sebanyak 88 g/L dari volume media yang dibutuhkan dan ditambahkan NaCl 2% dari volume media yang dibutuhkan, kemudian disterilisasi. Setelah media *Nutrient Agar* dan media *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose* siap, kemudian masing-masing dituang dalam cawan petri steril sebanyak 20 mL, jika sudah membentuk agar dilakukan *streak quadrant* 4. Kultur bakteri tersebut dilakukan di dalam LAF (*Laminar Air Flow*) dan dilakukan di dekat bunsen agar tidak terjadi kontaminasi. Kemudian bakteri tersebut diinkubasi selama 18-24 jam. Bakteri yang telah siap digunakan, akan ditanam pada media cair dengan cara bakteri yang telah ditanam pada media agar diambil sebanyak satu ose, untuk bakteri *Aeromonas hydrophila* ditanam di media *Nutrient Broth* sebanyak 8 g/L dari volume media yang dibutuhkan, sedangkan untuk bakteri *Vibrio harveyi* ditanam pada media *Nutrient Broth* sebanyak 8 g/L dari volume media yang dibutuhkan dan ditambahkan NaCl 2% dari volume media yang dibutuhkan. Kemudian bakteri tersebut diinkubasi selama 18-24 jam.

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, tahap pertama untuk menentukan waktu inkubasi dan suhu inkubasi yang terbaik dengan konsentrasi giemsa 5%. Tahap kedua dilakukan untuk menentukan konsentrasi giemsa dengan menggunakan waktu dan suhu inkubasi terbaik pada penelitian tahap pertama.

Metode fagositosis dilakukan dengan cara diambil 100µL darah dan dimasukkan ke dalam eppendorf. Disiapkan bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyi* dengan kepadatan masing-masing 10^8 dan dicampurkan ke PBS (*Phosphate Buffered Saline*) dengan perbandingan bakteri dan PBS yaitu 1:1. Bakteri yang telah tercampur dengan PBS diambil 100µL dan ditambahkan ke

dalam darah sebanyak 100µL yang ada di eppendorf. Dilakukan inkubasi sesuai dengan perlakuan yaitu pada suhu ruang 25°C dan suhu inkubator 30°C dan dilakukan selama waktu sesuai perlakuan yaitu 40 menit dan 50 menit, selanjutnya dilakukan membuat apusan darah. Pembuatan sediaan apus darah menggunakan dua object glass yang sangat bersih dan bebas dari lemak. Object glass pertama digunakan untuk tempat tetes darah yang akan diperiksa dan object glass kedua untuk meratakan tetes darah agar didapatkan lapisan tipis. Object glass untuk meratakan darah diletakan miring dengan sudut kira-kira 45° dan digerakan secara cepat sehingga terbentuklah selapis tipis. Kemudian sampel darah dikeringkan pada suhu ruang dan dilakukan fiksasi menggunakan methanol pa (absolute) yaitu dengan cara meneteskan methanol ke seluruh apusan darah, selanjutnya apusan darah dibiarkan sampai kering pada suhu ruang. Setelah kering, apusan darah diwarnai dengan pewarna giemsa menurut metode Giemsa dan Wright yang merupakan modifikasi metode Romanosky (Maskoeri, 2008).

Menurut Wulandari *et al.* (2009), uji aktifitas fagositosis dalam proses pewarnaan dapat menggunakan pewarna giemsa 7%. Berdasarkan literatur tersebut digunakan konsentrasi perlakuan dibawah 7% dan diatas 7%. Selanjutnya digunakan konsentrasi perlakuan (5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%). Pewarnaan giemsa dilakukan dengan cara memberi beberapa tetes giemsa diatas apusan darah dan didiamkan selama 20 menit. Tujuan pewarnaan pada pembuatan apusan darah adalah untuk mempertajam atau memperjelas berbagai elemen sel, terutama sel-selnya sehingga dapat dibedakan dan ditelaah dengan mikroskop.


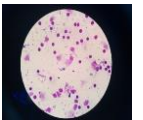
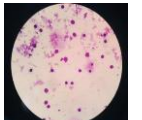
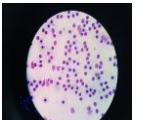
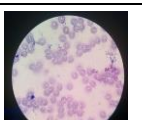
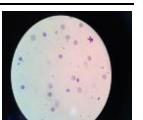
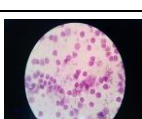

Apusan darah kemudian dibilas dengan aquades mengalir dan dikeringkan pada suhu ruang. Selanjutnya apusan darah siap untuk dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran sesuai yang diinginkan. Untuk pengamatan dengan perbesaran 1000 x menggunakan minyak imersi. Kemudian dilakukan pengamatan dengan cara membandingkan semua preparat apusan darah dengan macam variasi waktu. Pengamatan tersebut dilakukan dengan melihat bentuk sel darah ikan, warna sel darah

ikan dan kemudian dipilih preparat apusan darah yang terbaik.

III. Hasil dan Pembahasan

Penelitian dilakukan dalam 2 tahap, tahap pertama untuk menentukan waktu inkubasi dan suhu inkubasi yang terbaik dengan menggunakan konsentrasi giemsa 5 %. Tahap kedua dilakukan untuk menentukan konsentrasi giemsa dengan menggunakan waktu dan suhu inkubasi terbaik pada penelitian tahap pertama. Digunakan 2 jenis bakteri yaitu *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyi* bertujuan untuk membandingkan pengaruh perlakuan terhadap 2 jenis bakteri yang berbeda.

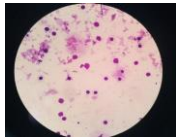
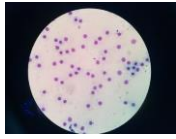
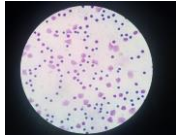
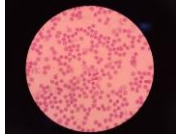
Hasil dari pengamatan penelitian tahap 1 aktifitas fagositosis sel darah ikan lele yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyi* dibawah mikroskop perbesaran 1000x dengan perlakuan waktu inkubasi 40 menit dan 50 menit dan dengan suhu inkubasi 25°C dan 30°C. Dari hasil pengamatan penelitian tahap 1 diperoleh bahwa waktu inkubasi yang terbaik adalah 40 menit dan suhu inkubasi terbaik adalah 30°C. Aktifitas fagositosis maksimal pada waktu inkubasi 40 menit dan suhu inkubasi 30°C. Dan jenis bakteri yang berbeda tidak berpengaruh pada perlakuan penelitian tahap 1. Sehingga hasil penelitian tahap 1 bisa digunakan untuk semua jenis bakteri yang berbeda. Hasil penelitian tahap 1 ditunjukkan pada gambar sebagai berikut.

No	Kegiatan	Diinfeksi <i>Aeromonas hydrophila</i>	Diinfeksi <i>Vibrio harveyi</i>
1	Gambar sel darah hasil pewarnaan giemsa 5%, waktu inkubasi 40 menit, suhu inkubasi 25°C		
2	Gambar sel darah hasil pewarnaan giemsa 5%, waktu inkubasi 40 menit, suhu inkubasi 30°C		
3	Gambar sel darah hasil pewarnaan giemsa 5% waktu inkubasi 50 menit, suhu inkubasi 25°C		
4	Gambar sel darah hasil pewarnaan giemsa 5% waktu inkubasi 50 menit, suhu inkubasi 30°C		

Dari tahap pertama penelitian diatas diperoleh hasil bahwa suhu inkubasi terbaik adalah 30°C dan waktu inkubasi terbaik yaitu 40 menit. Pada hasil tersebut juga diperoleh bahwa dengan jenis bakteri yang berbeda tidak mempengaruhi hasil aktifitas fagositosis. Kemudian dilanjutkan penelitian tahap kedua untuk menentukan konsentrasi giemsa, konsentrasi giemsa yang digunakan adalah 5%, 10%, 20%, 40%, 60%, 80%,100%. Dan penelitian tahap kedua dilakukan dengan satu jenis bakteri yaitu bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Penentuan konsentrasi giemsa pada penelitian tahap 2 ditunjukkan pada tabel sebagai berikut :

Tabel 2. Penelitian Tahap 2

No	Kegiatan	Gambar
1	Gambar sel darah hasil pewarnaan giemsa 5%, waktu inkubasi 40 menit, suhu inkubasi 30°C	
2	Gambar sel darah hasil pewarnaan giemsa 10%, waktu inkubasi 40 menit, suhu inkubasi 30°C	
3	Gambar sel darah hasil pewarnaan giemsa 20%, waktu inkubasi 40 menit, suhu inkubasi 30°C	
4	Gambar sel darah hasil pewarnaan giemsa 40%, waktu inkubasi 40 menit, suhu inkubasi 30°C	

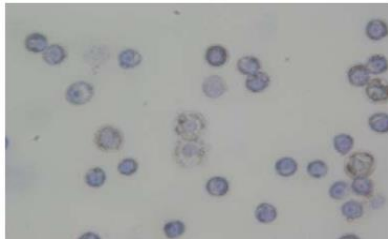
Dari penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa, suhu inkubasi terbaik adalah 30°C dan waktu inkubasi terbaik adalah 40 menit. Dengan suhu dan waktu tersebut aktifitas fagositosis maksimal. Fagositosis merupakan proses penyerapan dan eliminasi mikroba atau partikel lain oleh sel-sel khusus yang disebut sel fagosit. Yang berperan sebagai sel fagosit yaitu sel-sel darah (leukosit) dan yang berperan sebagai sel yang terserap dan tereleminasi adalah bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyi*.

Dari apusan darah ikan lele yang teramati, diperoleh konsentrasi pewarna giemsa yang paling mudah dalam proses pengamatan adalah 100%. Tujuan pewarnaan giemsa pada pembuatan apusan darah adalah untuk mempertajam atau memperjelas berbagai elemen sel terutama, sehingga dapat dibedakan dan ditelaah dengan mikroskop.

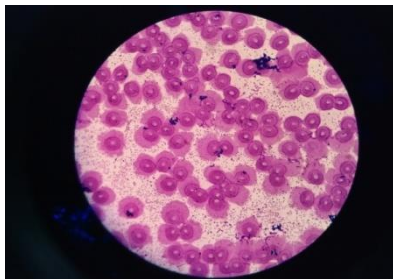
Pada pewarnaan tersebut aktifitas fagositosis sel darah terbentuk secara maksimal, sehingga mudah dalam hal pengamatan dan perhitungan aktifitas fagositosis. Pada apusan darah teramati warna eritrosit berwarna ungu muda dan leukosit berwarna merah keunguan. Jumlah eritrosit dalam apusan darah ikan sangat banyak dibanding dengan jumlah leukosit. Eritrosit berbentuk bulat dengan sitoplasma berwarna sangat ungu muda dengan inti yang berwarna ungu tua kebiruan. Inti sel eritrosit terwarnai dengan kuat karena pewarna giemsa yang merupakan zat warna basa dapat terikat dengan baik oleh khromatin khromatin dalam inti sel leukosit yang bersifat asam dan padat. Neutrofil termasuk ke dalam jenis leukosit granulosit namun dalam butir butir dalam sitoplasmanya tidak dapat teramati. Neutrofil berfungsi dalam sistem pertahanan karena mempunyai kemampuan fagositosis dan menghancurkan partikel partikel yang difagositosis dengan enzim enzim yang ada (Subowo, 2002). Granula dari leukosit eosinofil berwarna ungu tua, granula dari leukosit neutrofil dan leukosit basofil berwarna ungu. Sel darah dengan pewarnaan giemsa konsentrasi 100% memiliki ukuran sel yang lebih besar saat teramati dalam mikroskop. Hal tersebut dapat terjadi karena pewarna giemsa mampu terserap baik dalam sel darah akibat peristiwa osmosis. Osmosis merupakan perpindahan cairan melalui selaput semipermeabel. Cairan akan bergerak dari daerah yang mempunyai konsentrasi larutan rendah ke daerah yang mempunyai konsentrasi tinggi. Membran plasma akan mengembang jika berada pada lingkungan yang mempunyai konsentrasi larutan lebih rendah (Roza *et al.*, 2013). Waktu inkubasi terbaik yaitu 40 menit dan suhu inkubasi terbaik yaitu 30°C. Pada waktu dan suhu tersebut sel leukosit berfungsi secara maksimal untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yaitu bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyi*. Pada waktu

inkubasi 50 menit dan suhu inkubasi 25°C didapatkan hasil sel darah mengalami lisis yang artinya sel darah mengalami kerusakan sehingga sel darah tidak mampu berfungsi sebagai sel fagosit saat diberikan benda asing. Sel darah yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio* yang diberikan perlakuan sama tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal tersebut berarti bahwa metode tersebut dapat digunakan untuk uji aktifitas fagositosis dengan berbagai bakteri yang menginfeksi darah ikan.

Berikut merupakan perbandingan gambar fagositosis dari literatur dengan perlakuan pewarna giemsa dengan konsentrasi 7%, waktu inkubasi 30 menit, dan suhu inkubasi suhu ruang yang ditunjukkan pada Gambar 2. Sedangkan gambar hasil penelitian dengan perlakuan pewarna giemsa dengan konsentrasi 100%, waktu inkubasi 40 menit, dan suhu inkubasi 30°C ditunjukkan pada gambar berikut.



Gambar 2. Pengamatan fagositosis
(Lusiastuti *et al.*, 2013)



Gambar 3. Pengamatan fagositosis ikan

Dari hasil proses membandingkan gambar fagositosis literatur dengan gambar hasil penelitian didapatkan perlakuan pewarna giemsa dengan konsentrasi 100%, suhu inkubasi terbaik 30°C, waktu inkubasi terbaik 40 menit. Dari hasil suhu dan waktu inkubasi tersebut diperoleh hasil fagositosis yang maksimal. Dan pewarna giemsa dengan konsentrasi 100% diperoleh gambar lebih

bagus dan jelas sehingga memudahkan pengamatan dan perhitungan aktifitas fagositosis, sedangkan dengan konsentrasi giemsa dibawah 100% diperoleh gambar yang kurang jelas sehingga mempersulit proses pengamatan.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian yang divisualisasikan melalui pengamatan mikroskop, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian konsentrasi pewarna giemsa yang digunakan 100%, waktu inkubasi terbaik selama 40 menit, dan suhu inkubasi terbaik yaitu 30°C dan secara signifikan berpengaruh terhadap kualitas gambaran sel darah ikan. Hal tersebut sangat bermanfaat untuk menunjang bahan pengajaran dan praktikum mahasiswa, membantu para peneliti untuk menjawab permasalahan yang timbul serta sangat diperlukan dalam menunjang diagnosa ikan.

V. Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat diberikan saran untuk mencoba metode ini pada jenis ikan yang berbeda dan ukuran ikan yang berbeda.

Daftar Pustaka

Amrullah, 2004. Penggunaan Immunostimulan Spirulina Platensis Untuk Meningkatkan Ketahanan Tubuh Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) Terhadap Virus Herpes. IPB. Bogor.

Anderson DP and Siwicki Ak, 1990. *Basic Hematology and Serology for Fish Health Programs In Disease*. In Asia Aquaculture II. Eds Syarif. M Arthur J.K and R.P Subanghe J. Asian Fisheries.

Anderson DP. 1992. Immunostimulants, adjuvants and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. *Annual Rev. of Fish Diseases*. 2 : 281-307.

Arry. 2007. *Pengaruh Suplementasi Zat Besi (Fe) Dalam Pakan Buatan Terhadap Kinerja Pertumbuhan dan Imunitas Ikan Kerapu Bebek *Cromileptes Altivelis**. Skripsi Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.

- Baratawidjaja, K. G. 2006. *Imunologi Dasar Edisi Ke Tujuh*. Balai Penerbit FKUI : Jakarta.
- Brown. 2000. *Applied Fish Pharmacology*. Kluwer Academic Publisher : Netherland, 309 pp.
- Hendriyanto, D.A, Martono, Setyawan, D.A, Lilianti & Damayanti R, 2007. Aplikasi Vitamin C Pada Kasus Infeksi KHV Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Di Sumatra Utara. Uji Coba Balai Karantina Ikan Polonia
- Irianto, A. 2005. *Patologi Ikan Teleostei*. Gadjah Mada University Press : Yogyakarta.
- Juharni dan F. Muchdar. 2013. Peningkatan aktivitas fagositosis pada ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) dengan pemberian imunostimulan (β -GLUCAN) yang diekstrak dari jamur tiram putih (*Plerotus ostreatus*). *Prosiding Seminar Nasional Kemaritiman dan Sumberdaya Pulau-Pulau Kecil*. 1 (1) : 62-70.
- Lagler KF, Bardach JE, RR Miller, Passino DRM. 1977. *Ichthyology*. Inc. new York-London. Hlm 506.
- Lusiastuti, A. M., S. D. Maryanti dan U. Purwaningsih. 2013. Probiotik *Bacillus cereus* untuk pengendalian penyakit *Streptococcus* pada ikan nila, *Oreochromis niloticus*. *J. Ris. Akuakultur*. 8 (1) : 109-119.
- Malole MB, 2006. *Virologi Pusat Antar Universitas*. IPB. Bogor
- Moyle PB, Cech Jr JJ. 1988. *Fishes An Introduction to Ichthyology*. Prentice Hall, Inc. USA. hlm 559.
- Nasib, R dan F.H Pasaribu, 1989. *Patologi Dan Penyakit Ikan*. Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Bioteknologi. IPB. Bogor

ISSN 2621-0878

