

**Peningkatan Imunitas Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)
terhadap Serangan *Streptococciosis* Menggunakan Ekstrak *Sargassum* sp**

***Improving the Immunity of Nila Fish (*Oreochromis niloticus*)
on *Streptococciosis* Attacks by Using *Sargassum* sp.***

Ike Rustikawati ¹

Program Magister Perikanan, Universitas Padjadjaran

Email : ike_rustikawati@yahoo.com

ABSTRAK

Budidaya ikan nila secara intensif dapat meningkatkan prevalensi penyakit bakteri streptococciosis. Imunostimulan berperan mengaktifkan mekanisme pertahanan non spesifik, *cell mediated immunity* dan respon imun spesifik. Selain itu imunostimulan meningkatkan daya tahan terhadap penyakit infeksi dengan meningkatkan mekanisme pertahanan spesifik. *Sargassum* sp. termasuk jenis alga coklat sampai saat ini belum diketahui efektifitasnya sebagai imunostimulan pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak *Sargassum* sp yang efektif untuk meningkatkan pertahanan tubuh ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terhadap infeksi penyakit Streptococciosis. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak lengkap. Jumlah perlakuan pada penelitian ini sebanyak lima perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak *Sargassum* sp. dengan cara penyuntikan efektif dalam meningkatkan imunitas ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terhadap serangan streptococciosis yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus innae* dan berdasarkan hasil pengamatan terhadap parameter differensiasi leukosit, indeks fagositosis dan titer antibodi pemberian ekstrak *sargassum* sp pada dosis 75µg/gr merupakan dosis terbaik dengan tingkat kelangsungan hidup tertinggi yaitu sebesar 82,22%.

Kata kunci: efektivitas, ikan nila, *sargassum* sp, *streptococcus innae*.

ABSTRACT

Tilapia farming might increase the level of prevalence of streptococciasi. Immunostimulants can be used to enable non specific immune response. In addition defense mechanisms. Sargassum sp. including brown algae, has not ben known effectiveness as immunostimulan of tilapia (Oreochromis niloticus). The aim of this work was to obtain effective concentration of Sargassum sp extract in increasing the body defense of tilapia (Oreochromis niloticus) against streptococciosis. Research carried out experimentally by using a complete randomized design. There were five treatments and each treatment was repeated three times. The result concluded that application of Sargassum extract by injection was effective in inreasing the immunity of Nila fish against streptococciosis caused by the bacteria of Streptococcus innane. Observing on leucocyte difference parameters, phagocytic index and antibody titer the best application of Sargassum extract was at a dosage of 75 ug/g, leading to the highest survival level of 82.22 percents.

Keywords: effectivity, *sargassum* sp, *Streptococcus innae*, *Tilapia*

Pendahuluan

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di Indonesia pertama kali di datangkan dari Taiwan pada tahun 1969, merupakan salah satu ikan budidaya air tawar yang

mempunyai prospek yang baik, karena ikan nila memiliki sifat yang menguntungkan, antara lain mudah berkembang biak, pertumbuhannya relatif cepat dan toleran terhadap kondisi

lingkungan perairan yang kurang baik. Usaha budidaya ikan nila yang berkembang secara intensif menyebabkan munculnya perubahan lingkungan lahan budidaya akibat tingginya pencemaran dan kesalahan penanganan budidaya antara lain kurang efisiennya penggunaan pakan sehingga memicu timbulnya masalah penyakit. Menurut Supriyadi dan Bastiawan (2004) semakin intensif budidaya ikan semakin tinggi prevalensi infeksi penyakit bakteri.

Streptococcus sp. merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit streptococciasis. Penyakit ini banyak menyerang beberapa ikan budidaya air tawar maupun laut di beberapa negara cukup membahayakan dan menyebabkan kematian ikan. Streptococciasis merupakan penyakit yang menyebabkan kematian pada ikan nila, striped bass, rabbitfish, rainbow trout dan baramudi (Evans *et al.* 2000). Pada budidaya ikan nila secara intensif akan meningkatkan tingkat prevalensi penyakit bakteri streptococciasis (Supriyadi dan Bastiawan 2004). Berbagai cara telah dilakukan untuk menanggulangi serangan penyakit pada ikan budidaya antara lain dengan pemberian desinfektan dan antibiotic.

Salah satu upaya tersebut adalah dengan meningkatkan kekebalan tubuh (imunitas) pada ikan dari serangan penyakit. Imunostimulan berperan mengaktifkan mekanisme pertahanan non spesifik, *cell mediated immunity* dan respon imun spesifik. Selain itu imunostimulan meningkatkan daya tahan terhadap penyakit infeksi dengan meningkatkan mekanisme pertahanan spesifik (Sakai, 1999).

Bahan alami lain yang dapat digunakan sebagai imunostimulan adalah rumput laut (alga laut) antara *Hizikia fusiformis*, *Meristotheca papulosa*, alga merah (*Gracilaria verrucosa*) dan alga coklat (*sargassum* sp.) Alga coklat

dikenal mengandung berbagai trace elemen, kalsium, vitamin, mineral, alkohol dan polisakarida. Polisakarida berupa alginate, laminaran dan fucoidan (Rachmaniar, 1994). Alginat yang terkandung dalam alga coklat mampu meningkatkan sistem ketahanan udang vaname (*L. vannamei*) dan resistensinya terhadap bakteri patogen (Cheng *et al.* 2004). *Sargassum* sp. termasuk jenis alga coklat saat ini belum diketahui efektifitasnya sebagai imunostimulan pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*), maka dari itu perlu dilakukan penelitian mengenai Efektifitas ekstrak *Sargassum* sp. terhadap infeksi Streptococciasis. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak *Sargassum* sp yang efektif untuk meningkatkan pertahanan tubuh ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terhadap infeksi penyakit Streptococciasis.

Bahan dan Metode

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Akuakultur Program Studi Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Kabupaten Sumedang Jawa Barat. Penelitian dilaksanakan pada bulan November sampai akhir Desember 2010.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Bak fiber ukuran (100 cm x 100 cm x 40 cm) sebanyak 15 buah, Akuarium volume 200 liter untuk wadah aklimatisasi ikan uji sebanyak 5 buah, Blower sebanyak 1 buah, selang aerasi dan batu aerasi sebanyak 15 buah, Timbangan analitik Ohaus merk Pioneer, Timbangan analitik digital merk Boeco Germany, Peralatan isolasi dan pemurnian bakteri, Peralatan yang untuk uji Titer Antibodi, Cawan petri, Tabung ependrof 2,0 ml, Mikropipet, vortex, minicentrifuge, Peralatan untuk uji Diferensiasi leukosit, Staining jar, Slide glass, Mikroskop Photo merk Olympus, Hand counter, Alat-alat

untuk Uji Indeks Fagositosis adalah: Mikropate, Tabung Erlenmeyer, Gelas ukur, Cawan petri, Jarum ose. Mikroskop photo merk Olympus, Termometer air raksa, Thermo Stat, pH meter, DO meter.

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian adalah ikan nila berukuran panjang tubuh berkisar 8–10 cm dengan berat 30 gr sebanyak 500 ekor, Alga coklat *Sargassum* sp sebanyak 3 kg berat kering, Bakteri *Streptococcus iniae* sebanyak 2 buah tabung agar. Pakan ikan sebanyak 10 kg, Kristal $KMnO_4$ Bahan-bahan untuk uji titer antibody, Bahan-bahan untuk membuat apus darah, Akuades, Bahan untuk Indeks Fagositosis, Media selektif Brain Heart Infusion Broth (BHIB) dan Brain Heart Infusion Agar (BHIA), Alumunium foil, Kapas.

Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak lengkap. Jumlah perlakuan pada penelitian ini sebanyak lima perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Ekstrak *Sargassum* sp. yang digunakan setiap penyuntikan adalah sebagai berikut:

A = Tanpa perlakuan (kontrol) dengan dosis 0 $\mu\text{g/gr}$ ikan dengan ekstrak *Sargassum*

B = Penyuntikan dengan dosis 25 $\mu\text{g/gr}$ ikan dengan ekstrak *Sargassum*

C = Penyuntikan dengan dosis 50 $\mu\text{g/gr}$ ikan dengan ekstrak *Sargassum*

D = Penyuntikan dengan dosis 75 $\mu\text{g/gr}$ ikan dengan ekstrak *Sargassum*

E = Penyuntikan dengan dosis 100 $\mu\text{g/gr}$ ikan dengan ekstrak *Sargassum*

Model Matematika :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij},$$

Keterangan :

i = 1, 2, 3, 4, 5

J = 1, 2, 3

Y_{ij} = Peubah respon yang diukur

μ = Nilai tengah populasi (rata-rata yang sesungguhnya)

α_i = Pengaruh perlakuan ke i

ϵ_{ij} = Pengaruh komponen galat yang mendapatkan perlakuan ke -i dan ulangan ke-j

Parameter yang diuji secara statistik adalah kelangsungan hidup ikan nila. Data yang diperoleh akan dianalisis dengan analisis sidik ragam menggunakan uji F, apabila terdapat perbedaan antara perlakuan dianalisis dengan uji Duncan (Gasperz, 1991). Sedangkan hubungan kelangsungan hidup ikan nila dengan dosis ekstrak *Sargassum* sp. dalam penelitian ini dianalisis dengan analisa regresi (Sudjana, 1994). Parameter lain seperti diferensiasi leukosit, titer antibodi, indeks fagositosis, histopatologi dilakukan secara deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan terhadap kelangsungan hidup ikan nila, diperoleh berdasarkan data mortalitas ikan yang telah diberi ekstrak *Sargassum* sebagai imunostimulan sebanyak dua kali penyuntikan, kemudian diuji tantang dengan diinfeksi bakteri *streptococcus iniae* selama 14 hari. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa selama 14 hari pengamatan, ikan uji pada perlakuan A mengalami mortalitas tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pada akhir pengamatan (hari ke-14) semua ikan uji pada perlakuan A mengalami kematian total, sehingga kelangsungan hidupnya 0% (Tabel 1) .

Pada Tabel 1 terlihat bahwa mortalitas ikan uji yang diberi perlakuan ekstrak *Sargassum* sp. memberikan perbedaan pada setiap perlakuannya. Mortalitas terendah terjadi pada perlakuan D dan tertinggi terjadi pada perlakuan B, maka dari itu perlakuan B tingkat kelangsungan hidupnya terendah, yaitu sebesar 62,22% dan kelangsungan hidup tertinggi terdapat pada perlakuan D, yaitu

sebesar 82,22 %. Ikan uji pada perlakuan B, C, D, dan E sampai pengamatan hari ke-9 tidak terjadi lagi penurunan kelangsungan hidup. Sampai akhir

pengamatan, yaitu hari ke-14, kelangsungan hidup tertinggi diperoleh pada perlakuan D.

Tabel 1. Rata-rata Mortalitas (ekor) dan Kelangsungan Hidup Ikan Nila Setelah Diuji Tantang (%)

P	Mortalitas Ikan Uji Pengamatan Hari ke -															KH (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	total	
A	0	4	9	6	15	10	1								45	0
B	0	0	2	4	3	4	2	1	0	0	0	0	0	0	16	62.22
C	0	0	1	3	1	1	2	2	0	1	0	0	0	0	11	73.33
D	0	0	3	1	0	3	0	1	0	1	0	0	0	0	9	82.22
E	0	0	4	2	1	3	0	3	0	0	0	0	0	0	13	71.11

Keterangan: P (perlakuan),
KH (Kelangsungan Hidup)
A (kontrol),
B (ekstrak *Sargassum* 25µg/gr),
C (ekstrak *Sargassum* 50 µg/gr) dan
D (ekstrak *Sargassum* 75 µg/gr),
E (ekstrak *Sargassum* 100µg/gr)

Rendahnya kelangsungan hidup ikan uji pada perlakuan A (kontrol) mengindikasikan bahwa kekebalan alami yang terdapat dalam tubuh ikan tersebut rendah. Hal ini terjadi karena ikan pada perlakuan A kekebalan alami tubuhnya tidak distimulasi oleh bahan stimulan yang terdapat dalam ekstrak *Sargassum* sp., yaitu *alginat*, akibatnya ikan tersebut tidak mampu melawan serangan patogen dari bakteri *Streptococcus innae*. Sebagaimana hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Cheng *et al.* (2004) membuktikan bahwa *alginat* yang terkandung dalam alga coklat (*Sargassum* sp.) mampu meningkatkan sistem ketahanan tubuh udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dan resistensinya terhadap bakteri patogen. Menurut Ivanova *et al.* (1994) beberapa jenis rumput laut diantaranya alga coklat (*Sargassum* sp.) dapat digunakan sebagai immunostimulan, yaitu bahan yang mempunyai efek menstimulasi perkembangan limfosit secara *in vivo* dan *in vitro*.

Kelangsungan hidup ikan uji yang diberi ekstrak *Sargassum* bervariasi. Semakin tinggi ekstrak *Sargassum* yang diberikan, sampai pada dosis 75µg/g memberikan kelangsungan hidup yang semakin tinggi. Pemberian ekstrak *Sargassum* yang berlebih dapat menurunkan kelangsungan hidup. Hal ini mengindikasikan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak *Sargassum*, semakin besar bahan immunostimulan yang dikandungnya, namun bahan immunostimulan yang terlalu tinggi dapat berdampak negatif bagi ikan.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Sargassum* sp. pada ikan nila setelah dilakukan uji tantang dengan bakteri *Streptococcus innae* berpengaruh terhadap kelangsungan hidup ikan. Hasil uji jarak berganda Duncan memperlihatkan bahwa kelangsungan hidup ikan pada perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan B, C, D dan E, sedangkan perlakuan B, C, D dan E tidak

memperlihatkan perbedaan yang nyata. Kelangsungan hidup ikan nila yang diberi perlakuan ekstrak *Sargassum* dengan dosis 25 µg/g (B), 50 µg/g (C), 75µg/g(D) dan 100µg/g (E) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan A, yaitu tanpa pemberian ekstrak *Sargassum* (0 µg/g). Hal ini memperlihatkan bahwa ekstrak *Sargassum* dapat sebagai imunostimulan, yang mampu menstimulasi peningkatan sistem pertahanan alami tubuh ikan, terbukti dengan meningkatnya kadar limfosit ikan uji.

Limfosit sebagai salah satu indikator pertahanan alami tubuh dan merupakan sistem kekebalan non spesifik yang dapat melindungi tubuh dari serangan mikroba, diantaranya bakteri *S. iniae*. Menurut Moyle dan Cech (2004), limfosit yang terbentuk oleh imunostimulan membantu dalam mensintesa antibodi dan memfagosit bakteri. Hal ini terbukti dari hasil pengamatan indeks fagosit dan titer antibodi, dimana ikan uji yang telah diberi ekstrak *Sargassum* mempunyai indeks fagosit yang lebih besar dan kadar antibodi yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan uji yang tidak diberi ekstrak *Sargassum* (perlakuan A).

Menurut Tizard (1987) imunostimulan dapat meningkatkan limfosit sel T yang terdapat dalam peredaran darah hewan tinggi yang berperan penting sebagai imunitas selluler yang penting untuk memproteksi tubuh dari bakteri dan virus intraseluler. Limfosit sel B juga meningkat untuk menambah imunitas humoral dan serum antibodi, dimana serum ini berfungsi untuk menetralkan endotoksin maupun eksotoksin. Sehingga pemberian

imunostimulan mampu meningkatkan melawan bakteri dan menurunkan waktu yang diperlukan untuk memperbanyak antibodi.

Menurut Castro *et al* (2006) fucoidan yang berasal dari alga coklat yang merupakan polisakarida kompleks pada dinding sel alga coklat tersebut dan merupakan komponen terbesar yang mampu meningkatkan imunitas dengan merangsang produksi sel-sel imun, sehingga membantu dalam melawan bakteri patogen dan virus. Adapun mekanisme kerja dari polisakarida dalam meningkatkan sel immune yaitu dengan menginduksi sel pembentuk leukosit, untuk menghasilkan lebih banyak sel-sel yang terdapat dalam leukosit yaitu limfosit, monosit dan neutrofil. Limfosit berperan dalam menginduksi limfosit B, kemudian limfosit B akan merangsang limfosit T untuk menghasilkan sel-sel fagosit. Sel-sel fagosit yang terbentuk diantaranya monosit dan neutrofil akan memfagosit benda asing atau pathogen yang masuk. Neutrofil selain memfagosit benda asing juga mengeluarkan senyawa oksidatif yang akan menghancurkan atau mematikan patogen tersebut yang dikenal dengan istilah respiratory burst ([www.wisegeek.com diakses 11 April 2011](http://www.wisegeek.com/diakses%2011April2011)).

Hasil pengamatan diferensial leukosit yang dilakukan pada awal pengamatan (saat aklimatisasi), pada akhir pemberian ekstrak *Sargassum* dan pada masa ujiantang (minggu pertama dan kedua). Nilai diferensial leukosit yang diambil merupakan rata-rata persentase tiga jenis sel leukosit yaitu limfosit, monosit dan neutrofil (Tabel 2).

Tabel 2. Rata-rata Persentase Nilai Diferensial Leukosit (Limfosit, Monosit dan Neutrofil) Darah Ikan Nila Uji

Sampling	Perlakuan	Limfosit(%)	Monosit(%)	Neutrofil(%)
----------	-----------	-------------	------------	--------------

Aklimatisasi		76.50	3.50	20.00
Setelah diberi	A	76.50	3.50	20.00
Ekstraks	B	78.00	4.00	18.00
<i>Sargassum</i>	C	84.00	5.20	10.30
(masa induksi)	D	87.00	5.00	8.00
	E	83.50	5.50	11.00
Setelah Uji	A	53.00	4.50	42.50
Tantang	B	60.40	4.60	35.00
Minggu 1	C	72.00	10.00	18.00
	D	80.00	8.00	12.00
	E	75.00	5.00	20.00
Setelah Uji	A	-	-	-
Tantang	B	77.00	5.33	17.67
Minggu 2	C	82.00	6.67	11.33
	D	85.67	5.33	9.00
	E	81.33	6.00	12.67

Pada Tabel 2 terlihat, bahwa jumlah sel darah putih yang terdiri dari sel limfosit, monosit dan neutrofil menunjukkan nilai yang bervariasi, dan dari ketiga jenis sel darah putih terlihat bahwa jumlah sel limfosit paling banyak, kemudian sel neutrofil dan jumlah yang paling sedikit adalah sel monosit. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Moyle dan Cech (2004), bahwa jumlah sel limfosit pada ikan lebih banyak dibandingkan dengan neutrofil maupun monosit, sedangkan menurut Jain (1993) limfosit berperan utama dalam pembentukan kekebalan humoral dan seluler untuk menyerang dan menghancurkan agen penyakit.

Jumlah sel limfosit meningkat setelah diberi ekstrak *Sargassum* (perlakuan B,C,D dan E), sedangkan jumlah sel monosit dan neutrofil memberikan nilai yang lebih rendah dibandingkan sebelum pemberian ekstrak *Sargassum*. Adanya peningkatan jumlah sel limfosit di dalam sel darah putih diduga karena masuknya ekstrak *Sargassum* (makro alga) yang berperan sebagai immunostimulan, sehingga mampu merangsang pembentukan kekebalan tubuh

non-spesifik ikan. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Ivanova *et al* (1994) bahwa banyak terdapat laporan penelitian yang berhubungan dengan aktivitas dari makro alga seperti *Hizkia fusiformis*, *Meristotheca papulosa* dan *Sargassum* sp. sebagai immunostimulan dalam upaya melawan serangan penyakit pada manusia dan hewan darat lainnya. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa ketiga jenis makro alga tersebut dapat merangsang perkembangan limfosit secara *invivo* dan *invitro*.

Pada saat uji tantang minggu pertama, terjadi penurunan jumlah sel limfosit, baik pada perlakuan yang diberi ekstrak *Sargassum* (perlakuan B, C, D dan E) maupun tanpa pemberian ekstrak (perlakuan A), hal ini terjadi karena antibodi yang terbentuk digunakan untuk menyerang bakteri *Streptococcus iniae*, peningkatan aktivitas perlawanan tersebut menyebabkan pengurangan jumlah sel penyedia zat kebal tubuh yaitu limfosit. Sebagaimana pendapat Verlhac dan Gabaudan (2006) bahwa adanya peningkatan intensitas infeksi oleh patogen tertentu akan memicu kebutuhan sel darah putih (limfosit) dan peningkatan kebutuhan

tersebut mengakibatkan pengurangan jumlah sel agen penyedia zat kebal tubuh yaitu sel limfosit. Sedangkan menurut Jain (1993) penurunan jumlah limfosit di dalam darah perifer terjadi karena sebagian besar limfosit ditarik ke dari sirkulasi dan berkompetisi ke dalam jaringan dimana terdapat peradangan.

Peningkatan jumlah sel neutrofil ikan pada semua perlakuan (A, B, C, D dan E) saat uji tantang minggu pertama menunjukkan adanya aktivitas sel neutrofil dalam mencapai dan menyerang antigen (partikel asing) masuk ke dalam tubuh yang menunjukkan terjadinya proses fagositosis. Menurut Fletcher (1982) dan Walczak (1985) fagositosis merupakan mekanisme yang paling penting dan merupakan fungsi utama sel leukosit pada saat terjadi peradangan. Selanjutnya Delman dan Brown (1989) menyatakan bahwa peningkatan jumlah sel neutrofil juga mengindikasikan adanya peningkatan kegiatan pengumpulan makrofag di tempat terjadinya infeksi, sehingga makrofag akan lebih mudah untuk menghancurkan partikel asing. Adanya peningkatan aktivitas pergerakan sel neutrofil diduga distimulasi oleh adanya ekstrak *Sargassum* yang berfungsi sebagai imunostimulan, sehingga aktivitas produksi oleh organ pembentuk sel tersebut semakin meningkat. Hal ini sesuai dengan pendapat Fujaya (2004) bahwa keluarnya sel neutrofil dari pembuluh darah pada saat terjadinya infeksi yang disebabkan oleh adanya pengaruh rangsangan kimiawi eksternal atau kemotaksis diantaranya distimulasi oleh imunostimulan.

Jumlah sel monosit pada saat uji tantang minggu ke1 untuk semua perlakuan A, B, C, D dan E meningkat, dibandingkan pada masa induksi (pemberian ekstrak *Sargassum*) berkisar 3.5 – 5.5 %. Meningkatnya kadar monosit diduga karena ikan mengalami infeksi bakteri *Streptococcus iniae*. Menurut

Affandi dan Tang (2002), pada saat terjadi infeksi oleh benda asing, maka monosit akan bergerak cepat meninggalkan pembuluh darah menuju daerah yang terinfeksi untuk melakukan fagositosis. Monosit memiliki kemampuan menembus dinding pembuluh darah kapiler, kemudian masuk ke jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag.

Pada masa uji tantang minggu kedua, jumlah sel limfosit ikan yang diberi perlakuan ekstrak *Sargassum* (perlakuan B, C, D dan E) mengalami peningkatan. Diperkirakan pada saat akhir masa uji tantang kondisi pertahanan tubuh ikan telah membaik dan ikan telah berhasil bertahan dari serangan bakteri *Streptococcus iniae*. Hal ini diduga sebagai aktivitas ekstrak *Sargassum* sebagai imunostimulan dalam memberikan kekebalan tubuh pada ikan.

Jumlah sel neutrofil pada akhir uji tantang (minggu kedua) mengalami penurunan dibandingkan dengan minggu pertama uji tantang. Penurunan jumlah sel neutrofil diperkirakan berkurangnya infeksi akibat aktivitas serangan antigen. Hal ini sesuai dengan pendapat Guyton dan Hall (1988) bahwa setelah proses infeksi jumlah sel neutrofil dapat ditekan, sel-sel mati dan jaringan nekrotik yang salah satunya mengandung neutrofil yang telah mati secara bertahap akan mengalami autolisis dalam beberapa hari. Selain itu proporsi jumlah sel monosit pada akhir uji tantang minggu kedua mengalami penurunan juga, hal ini karena adanya respon keseimbangan darah terhadap peningkatan proporsi sel leukosit jenis yang lainnya (limfosit dan neutrofil). Proporsi sel darah putih yang memiliki indeks diferensial leukosit yang berbeda sedikit pada perlakuan C dan D memberikan ketahanan tubuh ikan terbaik terhadap serangan bakteri *Streptococcus iniae*.

Fagositosis merupakan respon seluler suatu organisme terhadap adanya benda asing atau antigen. Mekanisme fagositosis melalui pendekatan benda asing,

penempelan kemudian menghancurkannya atau opsonisasi. Hasil pengamatan indeks fagositosis dalam darah ikan uji bervariasi (Tabel 3).

Tabel 3. Indeks Fagositosis Darah Ikan Nila Selama Pemeliharaan, Masa Induksi *Sargassum* dan Setelah di Uji Tantang (%)

Pengamatan	Indeks Fagositosis pada tiap perlakuan				
	A	B	C	D	E
Aklimatisasi	20	20	20	20	20
Setelah diberi ekstrak <i>Sargassum</i>	23	40	73	88	85
Pada Saat akhir Uji Tantang	-	50	64	75	71

Pada Tabel 3, terlihat bahwa indeks fagositosis setelah diberi perlakuan ekstrak *Sargassum* yaitu perlakuan B, C, D dan E lebih tinggi dibandingkan perlakuan A. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Sargassum* mampu meningkatkan indeks fagositosis. Meningkatnya indeks fagositosis mengindikasikan adanya peningkatan kekebalan tubuh. Menurut Cheng *et. al.* (2004) peningkatan kekebalan tubuh tersebut terjadi karena adanya alginat yang terkandung dalam alga coklat yang merupakan heteropolisakarida. Dibuktikan dengan meningkatnya ketahanan udang vaname terhadap bakteri patogen. Selain itu menurut Chotigeat *et. al.* (2004) alga coklat mengandung fucoidan (polisakarida sulfat) mampu meningkatkan respon immune pada *Penaeus monodon*.

Menurut Irianto (2005) monosit atau makrofag pada ikan teleostei berperan dalam pertahanan seluler, dimana pelekatan dan penelanan antigen diperantarai oleh beragam reseptor permukaan membran, termasuk lipopolisakarida yang merupakan komponen karbohidrat penyusun dinding

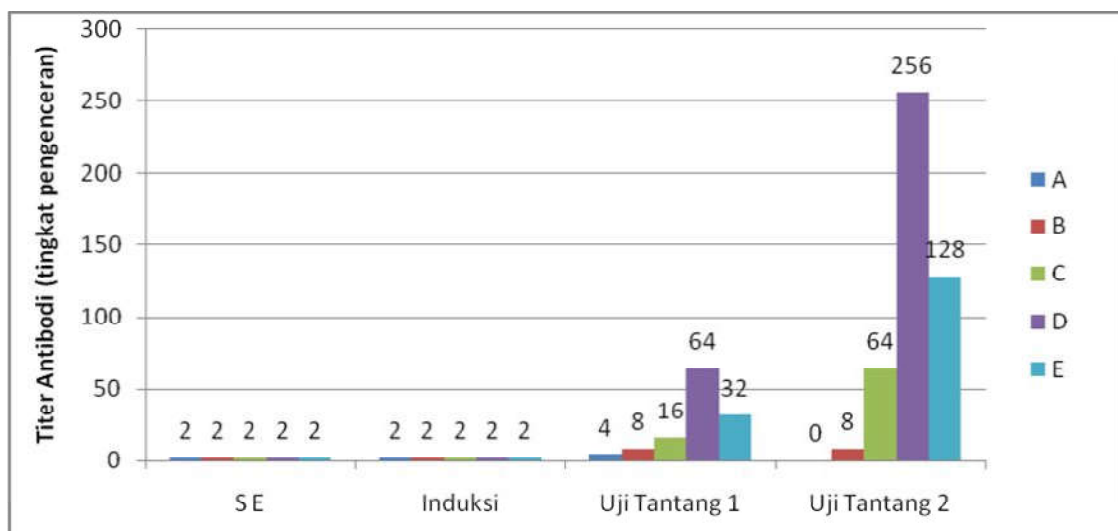
sel bakteri gram negatif. Selanjutnya setelah penelanan suatu patogen tipikal, vakuola yang baru bergabung atau fagosom yaitu vesicula membran yang dihasilkan pada proses endositosis atau penelanan partikel (misalnya sel bakteri) oleh sel fagosit akan mengalami asidifikasi dan kemudian bergabung dengan satu atau beberapa lisosom membentuk fagolisosom atau vakuola pencernaan. Lisosom adalah granula-granula sitoplasmik pada sel hemosit yang mengandung berbagai enzim pencernaan dan senyawa bakterisidal dan menghancurkan sel bakteri. Terbentuknya fagolisosom memungkinkan enzim-enzim lisosom secara langsung mendegradasi partikel-partikel yang ditelan. *Sargassum* atau heteropolisakarida merupakan salah satu reseptor permukaan membran yang berperan dalam pelekatan dan penelanan antigen.

Setelah uji tantang indeks fagositosis mengalami penurunan pada setiap perlakuan dan pada perlakuan kontrol (tanpa pemberian ekstrak) indeks fagosit bernilai 0, artinya tidak terjadi proses fagositosis, karena ikan pada perlakuan tersebut semua mati. Penurunan aktivitas

fagosit diduga karena adanya infeksi bakteri *Streptococcus iniae* yang menyebabkan kerja sel fagositik menjadi lebih besar, sehingga kemampuan memfagositosis bakteri secara invitro menurun. Selain itu penurunan aktivitas fagositik juga diduga karena jumlah sel neutrofil yang aktif mengalami penurunan. Menurut Tizard (1988) kerja neutrofil cepat tapi tidak tahan lama, sedangkan fagositik mononuklear kerjanya lambat,

dapat memfagosit berulang-ulang dan dapat mengolah antigen yang tanggap kebal.

Pengamatan titer antibodi pada ikan nila untuk setiap perlakuan dilakukan pada saat aklimatisasi(sebelum diberi ekstrak *Sargassum*) setelah pemberian ekstrak *Sargassum* (masa induksi) dan pada saat uji tantang dengan bakteri *Streptococcus iniae* (Gambar 1).



Gambar 1. Titer antibodi pada ikan nila untuk setiap perlakuan sebelum, setelah dan saat uji tantang

Pada Gambar 1, terlihat bahwa ikan nila pada saat sebelum pemberian ekstrak *Sargassum* sudah positif memiliki antibodi terhadap bakteri *Streptococcus iniae* sampai pengenceran dua. Adanya antibodi pada ikan sebelum pemberian ekstrak hal ini disebabkan ikan nila yang digunakan sebagai bahan penelitian diduga berasal dari bawaan induknya (innate) yang pernah terpapar atau terinfeksi oleh bakteri *Streptococcus iniae*. Hasil pengamatan pada akhir minggu ke III masa induksi (masa pemberian ekstrak *Sargassum*) tidak memperlihatkan adanya peningkatan titer antibodi pada perlakuan yang diberi ekstrak *Sargassum* maupun pada perlakuan tanpa ekstrak (SE).

Pada masa uji tantang minggu I dengan bakteri *Streptococcus iniae* menunjukkan peningkatan titer antibodi pada semua perlakuan. Perlakuan D menunjukkan titer antibodi dengan pengenceran tertinggi yaitu sebesar 64 dan titer antibodi terendah pada perlakuan A (kontrol) sebesar empat. Hal ini menunjukkan bahwa antibodi terbentuk setelah terjadi pemaparan atau infeksi oleh antigen dan dapat semakin meningkat apabila terjadi infeksi sekunder. Keadaan ini akan menguntungkan bagi organisme yang bersangkutan karena akan meningkatkan resistensi terhadap organisme patogen tersebut.

Menurut Rijkers *et al.* (1981) pemberian antigen pada ikan mas dengan

dosis rendah akan menimbulkan respon kekebalan primer dan bila diberi infeksi lanjutan akan memberikan kekebalan sekunder yang tinggi yaitu antibodinya akan meningkat. Pada pemberian ekstrak *Sargassum* terlihat antibodi terdeteksi setelah uji tantang, keadaan ini sesuai dengan pendapat Raa *et al.* (1992) bahwa pemberian imunostimulan glukon dapat merangsang dan meningkatkan makrofag untuk memberi signal kepada limfosit sel B untuk memproduksi antibodi.

Hasil pengamatan masa uji tantang minggu ke-II (14 hari setelah uji tantang), titer antibodi menunjukkan peningkatan dibandingkan masa uji tantang minggu ke-I. Perlakuan D memberikan titer antibodi tertinggi dengan pengenceran 256 sedangkan perlakuan A (kontrol) nilai titer antibodi adalah nol (0), karena ikan nila mati semua. Hal ini sesuai dengan pendapat Anderson *et al.* (1978) bahwa antibodi dapat terdeteksi dengan metode hemaglutinase, 17 hari setelah pemberian injeksi bakterial atau viral secara subcutan dan titernya tetap ada sampai beberapa hari tergantung umur ikan dan lingkungannya.

Sargassum sp. merupakan salah satu jenis rumput laut yang berperan sebagai imunostimulan, yang dapat menstimulasi ketahanan non spesifik pada tubuh ikan. Dengan meningkatnya ketahanan tubuh ikan, maka Differensiasi Leukosit, Indeks Fogositosis dan Titer Antibodi yang merupakan indikator pertahanan tubuh non spesifik ikan akan meningkat, sehingga ikan tahan terhadap serangan patogen dan kelangsungan hidup akan meningkat.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan pemberian ekstrak *Sargassum* sp. sebanyak dua kali melalui penyuntikan dengan interval waktu penyuntikan dua minggu efektif dalam penanggulangan serangan bakteri *Streptococcus iniae*.

Pemberian ekstrak *Sargassum* pada dosis D, E, C dan B memberikan kelangsungan hidup yang tidak berbeda nyata, namun jika dilihat dari indikator ketahanan tubuh, yaitu Differensiasi Leukosit, Indeks Fogositosis dan Titer Antibodi, dosis ekstrak *sargassum* 75µg/gr (perlakuan D) lebih efektif dalam menaggulangi serangan bakteri *Streptococcus iniae* (Tabel 4).

Tabel 4. Efektivitas Dosis Ekstrak *Sargassum* sp Terhadap Kelangsungan Hidup, Differensiasi Leukosit, Indeks Fogositosis dan Titer Antibodi Ikan Nila yang Diinfeksi *Streptococcus iniae*.

Perlakuan	Parameter					
	Kelangsungan hidup (%)	Differensiasi Leukosit (%)			Indeks Fogositosis (%)	Titer Antibodi (Jumlah pengenceran)
		limfosit	monosit	neutrofil		
A (0 µg/gr)	0	0	0	0	0	0
B (25µg/gr)	62,22	77,00	5,33	17,67	50	8
C (50µg/gr)	71,11	82,00	6,67	11,33	64	64
D (75µg/gr)	82,22	85,67	5,33	9,00	75	256
E (100µg/gr)	73,33	81,33	6,00	12,67	71	128

Pada Tabel 4 terlihat bahwa dosis ekstrak *Sargassum* sp. terbaik untuk meningkatkan ketahanan tubuh ikan nila terhadap serangan bakteri *Streptococcus iniae* adalah 75µg/gr (perlakuan D), karena

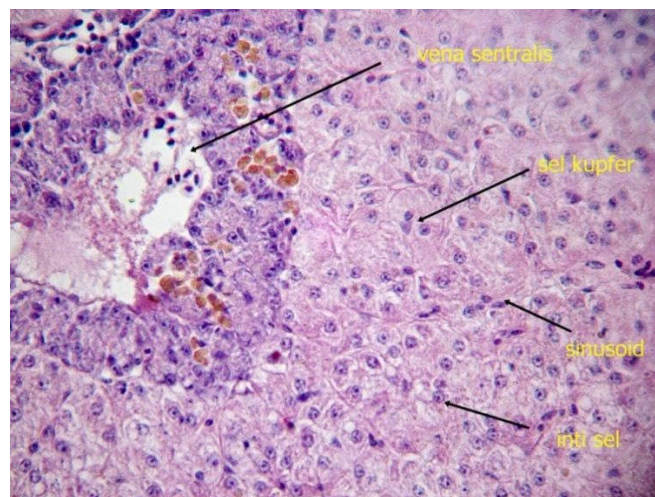
pada dosis tersebut memberikan tingkat kelangsungan hidup, jumlah sel limfosit, indeks Fagositosis dan titer antibodi tertinggi, masing-masing sebesar 82,22, 85,67, 75 dan 256.

Limfosit yang tinggi mengindikasikan tingginya kadar antibodi yang terdapat dalam tubuh ikan, karena limfosit yang terbentuk akan menginduksi pembentukan antibodi, terbukti dari titer antibodi yang tinggi. Tingginya titer antibodi mengindikasikan tingginya kadar antibodi di dalam tubuh ikan.

Setelah di uji tantang indeks fagositosis pada perlakuan D tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya (B,C, dan E), hal ini menunjukkan bahwa *Sargassum* sp. pada dosis 75µg/gr efektif dalam mempertahankan serangan bakteri *Streptococcus iniae*.

Berdasarkan uji histopatologis, ikan nila yang tidak terserang bakteri *Streptococcus iniae* organ hatinya tidak

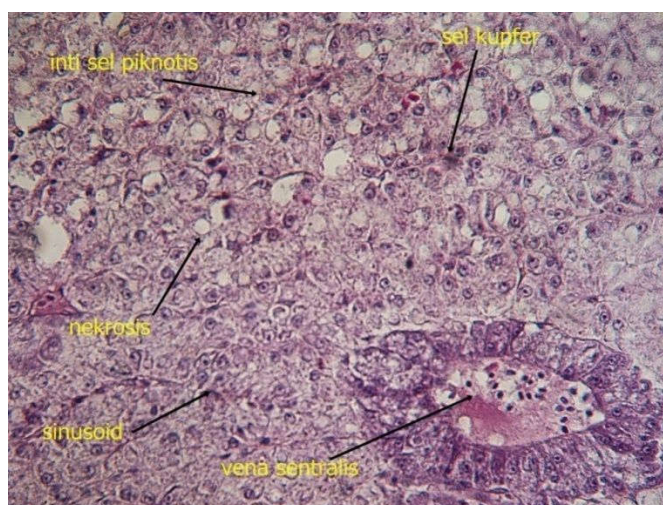
menunjukkan adanya kerusakan jaringan (Gambar 2). Sedangkan organ hati ikan nila yang terserang *Streptococcus iniae* menunjukkan adanya kerusakan, berupa peradangan jaringan (Gambar 3). Menurut Supriyadi dkk (2003) ikan nila yang terkena infeksi akut streptococciasis akan menyebabkan pembengkakan pada organ dalam, yaitu hati, ditandai dengan hati berwarna pucat kebiruan. Hal yang sama dikemukakan oleh Huizinga *et al.* dalam Bullock (1971) bahwa ikan yang terserang streptococciasis akan mengalami kelainan fisik pada organ tubuh ditandai dengan kehilangan struktur organ tubuh yang sempurna akibat toksin yang dikeluarkan oleh bakteri.



Gambar 2. Organ Hati Ikan Nila Sebelum Terinfeksi *Streptococcus iniae*

Kandungan ekstrak *Sargassum* mampu meningkatkan daya tahan tubuh ikan nila dibandingkan tanpa perlakuan, hal ini terlihat dari organ hati yang memperlihatkan perbaikan jaringan, namun belum terlihat normal seperti organ

hati ikan nila yang tidak terserang *Streptococcus iniae* (Gambar 3). Ekstrak *Sargassum* mengandung alginat terdiri dari asam D-Manuronik dan L-Glukoronik yang berperan dalam penghambatan bakteri (Mulyo,2009).



Gambar3. Organ Hati Ikan Nila Yang Diberi Ekstrak *Sargassum* dan Diinfeksi *Streptococcus iniae*

Selanjutnya menurut Spector (1993) proses fagositosis terjadi apabila kontak antara partikel dengan permukaan sel fagositosis. Membran sel mengalami invaginasi dimana dua lengan sitoplasma menelan partikel sehingga terkurung dalam sitoplasma sel, dimana terletak dalam vakuola yang dilapisi fagosom (membran). Lisosom yang ada didekatnya melebur kedalam fagosom dan mengeluarkan enzim-enzim membentuk lisosom sekunder sehingga bakteri akan lisis atau mati.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak *Sargassum* sp. dengan cara penyuntikan efektif dalam meningkatkan imunitas ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terhadap serangan streptococciasis yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus innae* dan berdasarkan hasil pengamatan terhadap parameter differensiasi leukosit, indeks fagositosis dan titer antibodi pemberian ekstrak sargassum sp pada dosis 75µg/gr merupakan dosis terbaik dengan tingkat kelangsungan hidup tertinggi yaitu sebesar 82,22%.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada para pembimbing yang telah membantu dalam penyusunan karya ilmiah ini, Dekan FPIK, Rektor Unpad, Dede Hermawan SPi., MS dan semua pihak-pihak yang membantu dalam pengerjaan penelitian ini dari awal sampai dengan selesainya penelitian.

Pustaka

- Affandi R dan Tang U.M. 2002. *Fisiologi Hewan Air*. Riau: Uni press
- Amri, K., dan Khairuman, 2007 *Budidaya Ikan Nila Secara Intensif*. Agromedia Pustaka, Jakarta.145 hlm.
- Affandi R dan Tang U.M. 2002. *Fisiologi Hewan Air*. Riau: Uni press
- Anderson,D.P., and Siswicki, A.K. 1993. Basic Hematology and Serology for Fish Health Programs.*Second Symposium on Desease in Asiaan Aquaculture*
- Chotigeat W., Tongsupa, S., Supamataya, K and Phengdora, A. 2004. Effect of fucoidan on disease resistance of black tiger shrimp. *Aquaculture* 233:23-30. Colwell RR.

- Cheng W., Liu, CH., Yeh, ST and Chen, JC. 2004. The immune stimulatory effect of sodium alginate on the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology* 17:41-51.
- Effendie, M. 1997. Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusantara, Yogyakarta. 155 hlm
- Evans, J.J., Shoemaker, C.A., Klesius, P.H. 2000. *Experimental Streptococcus agalactiae Infection Of Hybrid Striped Bass (Morone chrysops-M. saxatilis) and Tilapia (Oreochromis niloticus)* by Nares Aquakulture 198 : 197 - 210.
- Irianto, A. 2005. *Patologi Ikan Teleostei*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta. 256 hlm.
- Supriyadi, H., Sugiani, D. U. dan Purwaningsih. 2003. Peningkatan Kekebalan Spesifik Anti Streptococcus Pada Budidaya Ikan Nila. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. Volume 9. No 4. Hlm 29-40.
- Tizard, I. 1988. *An introduction to Veterinary Immunology*. Penerjemah : Masduki, P dan S. Hadjoswono. Pengantar Immunologi veteriner . Universitas Airlangga Surabaya. 197 hlm.