

## **Efektivitas Diet *Gracilaria verrucosa* terhadap Respon Imun Non-Spesifik pada Ikan *Cyprinus carpio* dan *Oreochromis niloticus***

*Effectiveness of Gracilaria verrucosa Diet on Non-Specific Immune Responses in Cyprinus carpio and Oreochromis niloticus*

**Cahyono Purbomartono<sup>1\*</sup>, Wildan Ahid Mujamal<sup>2</sup>, Dwi Ma'rifatun Khasanah<sup>3</sup>, Dini Siswani Mulia<sup>4</sup>, Suwarsito<sup>5</sup>**

<sup>1,5</sup>*Program Studi Akuakultur, Fakultas Pertanian dan Perikanan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto*

<sup>2,3,4</sup>*Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto*

\*corr\_author: [cpurbomartono@yahoo.com](mailto:cpurbomartono@yahoo.com)

### **ABSTRAK**

Ikan mas (*Cyprinus carpio*) dan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan ikan air tawar yang digemari masyarakat. Kebutuhan ikan yang meningkat menuntut adanya sistem budidaya intensif. Namun budidaya intensif memiliki kendala mudah terserang penyakit. Pengendalian penyakit ikan selama ini menggunakan obat kimia maupun antibiotik. Pemberian antibiotik yang kurang tepat dapat menyebabkan resistensi, pencemaran lingkungan dan residu dalam tubuh ikan yang membahayakan konsumen. Perlu upaya meningkatkan imunitas yang lebih aman dengan pemberian imunostimulan herbal, salah satunya rumput laut merah *Gracilaria verrucosa*. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan pengaruh penggunaan *G. verrucosa* dalam meningkatkan imun non-spesifik ikan mas dan nila serta menemukan dosis yang tepat. Penelitian menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap, menerapkan 4 perlakuan, 1 kontrol, masing-masing diulang 3 kali. Dosis ekstrak *G. verrucosa* yang digunakan 0 g; 0,5 g; 1 g; 1,5 g; dan 2 g ( $\text{kg}^{-1}$  pakan). Parameter yang diamati adalah persentase hematokrit, leukokrit, limfosit dan monosit. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan *Analisis of Varian* (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95%. Jika hasil analisis tersebut menunjukkan hasil yang berbeda nyata, dilakukan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan diet *G. verrucosa* meningkatkan imun non-spesifik pada ikan mas dan ikan nila. Diet gracilaria lebih efektif pada ikan nila daripada ikan mas dengan dosis optimal 1,5 g  $\text{kg}^{-1}$  pakan. Respon imun ditandai dengan meningkatnya persentase leukokrit sebesar 3,62% dan limfosit sebesar 73,57% pada ikan nila. Oleh karena itu, diet *Gracilaria verrucosa* berpotensi digunakan untuk meningkatkan imunitas non-spesifik pada budidaya ikan.

**Kata-kata kunci:** *Gracilaria verrucosa*, Imun Non-Spesifik, Ikan Mas, Ikan Nila

## ABSTRACT

*Carp (Cyprinus carpio) and tilapia (Oreochromis niloticus) are freshwater fish that are popular with the community. The increasing demand for fish demands an intensive aquaculture system. However, intensive cultivation has obstacles that are susceptible to disease. Fish disease control has been using chemical drugs and antibiotics. Inappropriate administration of antibiotics can cause resistance, environmental pollution, and residues in fish bodies that harm consumers. Efforts are needed to improve immunity that is safer by giving herbal immunostimulants of red seaweed Gracilaria (G) verrucosa. This research aims to find the effect of using Gracilaria verrucosa in increasing the non-specific immunity of goldfish and tilapia and to find the right dose. The study used an experimental with a completely randomized design, applying 4 treatments, 1 control, each repeated 3 times. The doses of G. verrucosa used were 0 g, 0.5 g, 1 g, 1.5 g, and 2 g (kg<sup>-1</sup> feed). Parameters observed were the percentage of hematocrit, leukocrit, lymphocytes, and monocytes. The research data were analyzed using ANOVA with a 95% confidence level. The results showed that dietary of gracilaria increased non-specific immunity in carp and tilapia. Gracilaria diet was more effective in tilapia than carp with an optimal dose of 1.5 g kg<sup>-1</sup> feed. The immune response was characterized by an increase in the percentage of leukocrit by 3.62% and lymphocytes by 73.57% in tilapia. Therefore, G. verrucosa extract has the potential to be used to increase non-specific immunity in fish culture.*

**Keywords:** *Carp, Gracilaria verrucosa, Non-Specific Immunity, Tilapia*

## PENDAHULUAN

Kegiatan perikanan budidaya ikan mas berkembang pesat dan menjadi sektor perikanan yang penting dalam mendukung perekonomian. Budidaya ikan mas dilakukan antusias oleh petani pembudidaya, khususnya masyarakat di sekitar waduk Cirata Jawa barat dengan sistem budidaya aliran air intensif menggunakan jaring apung (Putri *et al.*, 2016). Selain ikan mas, masyarakat Jawa Barat juga membudidayakan strain baru ikan nila yang berasal dari pengembangan Balai Besar Pengembangan Sumber Daya Air Tawar (BBPAT) Sukabumi yaitu ikan sultana. Ikan sultana mempunyai banyak keunggulan sehingga potensial untuk dikembangkan dengan pakan berbahan baku lokal (Sinaga *et al.*, 2021). Namun demikian, budidaya ikan air tawar rentan terhadap serangan penyakit, salah satunya disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Infeksi *Aeromonas hydrophila* menimbulkan penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) pada ikan. Penggunaan antibiotik yang kurang tepat dapat menyebabkan resistensi, deposit residu pada tubuh ikan, dan mencemari lingkungan. Untuk menghadapi ancaman penyakit, diperlukan alternatif dalam budidaya melalui pemberian suplemen untuk meningkatkan imunitas ikan.

Penyediaan suplemen alami sangat dianjurkan dalam budidaya untuk menghasilkan ikan yang sehat dengan pertumbuhan optimal sehingga dihasilkan produk perikanan yang berkualitas. Rumput laut merupakan sumber bahan alami yang potensi bioaktivitasnya belum sepenuhnya dimanfaatkan secara optimal. Di antara beberapa bioaktivitas ekstrak rumput laut adalah untuk meningkatkan imun non-spesifik pada ikan sebagai imunostimulan. Ekstraksi dari rumput laut cokelat *Padina boergesenii* diketahui dapat meningkatkan imun non-spesifik pada lele dumbo (Purbomartono *et al.*, 2019). Rumput laut yang tumbuh di Indonesia banyak jenisnya, selain rumput laut cokelat juga terdapat rumput laut merah yang tumbuh melimpah di sebagian pesisir Indonesia. Salah satu rumput laut merah yang populer adalah *Gracilaria (G) verrucosa*. *G. verrucosa* dapat digunakan sebagai alternatif untuk meningkatkan kekebalan non-spesifik. Penelitian yang dilakukan

oleh Jasmanindar *et al.* (2018) menunjukkan, diet *G. verrucosa* pada udang dapat meningkatkan imun non-spesifik serta resistensi terhadap *Vibrio harveyi*. Beberapa indikator seperti total hemosit, aktivitas *phenol oxidase* (PO), aktivitas fagositosis dan aktivitas bakterisida meningkat dengan pemberian diet *G. verrucosa*. Dosis ekstrak *G. verrucosa* sebesar 2 g kg<sup>-1</sup> pakan merupakan dosis optimal dalam meningkatkan respon imun non-spesifik. Ditambahkan oleh Zahra *et al.* (2019), diet ekstrak *G. verrucosa* dapat meningkatkan aktivitas *respiratory burst*, fenoloksidase, fagositik dan jumlah hemosit pada udang secara signifikan dibanding kontrol. Hasil peningkatan respon imun pada udang menyebabkan udang tahan terhadap serangan virus WSSV. Maftuch *et al.* (2012) juga melaporkan udang yang diberi ekstrak rumput laut *G. verrucosa* dapat meningkatkan jumlah sel hemosit, aktivitas ledakan respirasi, aktivitas protease, dan menurunkan angka kematian. Selain pada udang laut, hasil penelitian pada udang air tawar *Macrobrachrium rosenbergi* menunjukkan hasil yang serupa dapat meningkatkan imunitas. Dilaporkan Satyantini *et al.* (2016), respon udang galah yang diberi diet gracilaria setelah uji stress menunjukkan respon fisiologis yang lebih baik dari kontrol. Hal ini ditunjukkan oleh nafsu makan dan berenang udang galah dapat menjadi normal kembali setelah 18 jam pemberian diet gracilaria, sementara pada kontrol baru menunjukkan respon makan dan berenangnya normal pada jam ke-24 dan 30 pasca stress. Selain dapat menghilangkan stress, diet gracilaria juga dapat meningkatkan total hemosit. Selain pada udang, tepung *G. verrucosa* dapat meningkatkan jumlah eritrosit dan hematokrit burung puyuh jantan (Azizah *et al.*, 2015).

Penelitian pemanfaatan rumput laut merah sebagai suplemen pada ikan kakap (*Lates calcarifer*) dilaporkan oleh Sahfitri *et al.* (2021), persentase hematokrit dan differensial leukosit pada komponen limfosit mengalami kenaikan secara signifikan setelah diberi diet *G. verrucosa*. Namun persentase differensial leukosit dari jenis monosit dan neutrofil tidak meningkat signifikan dengan pemberian suplemen ekstrak gracilaria. Persentase tertinggi hematokrit sebesar 45.84% dan limfosit 77.00% dicapai pada dosis 20 g kg<sup>-1</sup> pakan. Rumusan masalah pada penelitian ini adalah budidaya ikan air tawar rentan terserang penyakit bakteri *Aeromonas hydrophila* sehingga perlu diberi suplemen untuk meningkatkan imunitasnya. Selama ini penelitian diet suplemen dari ekstrak gracilaria pada ikan untuk meningkatkan imunitas masih relatif sedikit. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menemukan pengaruh penggunaan *G. verrucosa* dalam meningkatkan imun non-spesifik ikan mas dan nila serta menemukan dosis yang tepat. Penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi pembudidaya ikan dan rumput laut agar bisa bersinergi.

## METODE PENELITIAN

### 1. Jenis penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *experimental laboratories* yang dilakukan di Laboratorium basah kolam bioflok Karang Sari, Program Studi Akuakultur, Fakultas Pertanian dan Perikanan UMP. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), terdiri atas 4 perlakuan, 1 kontrol, dengan 3 kali ulangan. Penelitian berlangsung selama 14 hari, dengan perlakuan pemberian diet tepung *G. verrucosa* dengan dosis 0,5, 1, 1,5 dan 2 (g kg<sup>-1</sup> pakan). Pakan pellet yang digunakan sebesar 3%/berat biomass/hari, diberikan pada pagi dan sore hari.

### 2. Objek penelitian

Penelitian menggunakan benih ikan mas dan ikan nila serta ekstrak rumput laut merah *G. verrucosa*. Benih ikan dibeli dari pusat pasar ikan Jawa Tengah yang berada di Kecamatan Purwonegoro, Kabupaten Banjarnegara. *G. verrucosa* diperoleh dari pantai utara Pemalang, Jawa Tengah. Rumput laut merah yang diperoleh dicuci hingga bersih,

dikeringkan dan kemudian diekstraksi. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut ethanol 1:5 (Puspasari, 2010).

### 3. Metode pengumpulan data

Pengumpulan data dilakukan pada awal dan akhir penelitian dengan mengambil darah melalui pembuluh darah di ekor. S spuit yang digunakan untuk mengambil darah diberi larutan EDTA 10% agar darah tidak membeku. Darah yang diperoleh disentrifuse agar terjadi pemisahan 3 lapisan yaitu sel darah merah, sel darah putih (*buffy coat*) dan plasma darah. Pada bagian lapisan sel darah putih diambil untuk dilakukan pemeriksaan terhadap parameter hematokrit (%), leukokrit (%) dan differensial leukokrit yang meliputi persentase limfosit dan monosit. Parameter yang diamati pada penelitian ini meliputi: persentase hematokrit dan leukokrit, serta persentase differensial limfosit dan monosit.

### 4. Analisis data

Analisis data dilakukan setelah mendapatkan data dari hasil pengambilan darah ikan. Data yang diperoleh diolah menggunakan metode analisis of varian (ANAVA) menggunakan program SPSS untuk mengetahui nilai persentasenya. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan, dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan diantara perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian diet *G. verrucosa* pada ikan mas dan nila selama 14 hari dilakukan untuk mendapatkan hasil persentase hematatokrit dan leukokrit serta differensial leukosit yang terdiri atas persentase limfosit dan monosit. Hasil penelitian menunjukkan, diet ekstrak *Gracilaria* dapat meningkatkan persentase leukokrit ikan mas dan nila secara signifikan, namun tidak berpengaruh terhadap persentase hematokrit (Tabel 1). Dosis optimal diperoleh pada perlakuan 1,5 g kg<sup>-1</sup> pakan yang menghasilkan efektivitas persentase leukokrit 3,62% pada ikan nila.

**Tabel 1. Persentase hematokrit dan leukokrit pada ikan mas dan nila yang diberi diet ekstrak *G. verrucosa* selama 14 hari penelitian**

Dosis (g kg <sup>-1</sup> pakan)	Ikan Mas hari ke-14		Ikan Nila hari ke-14	
	Hematokrit	Leukokrit	Hematokrit	Leukokrit
Kontrol	38,19 <sup>a</sup>	1,82 <sup>a</sup>	41,03 <sup>a</sup>	3,01 <sup>a</sup>
0,5	35,20 <sup>a</sup>	3,10 <sup>b</sup>	33,14 <sup>a</sup>	3,37 <sup>b</sup>
1	31,69 <sup>a</sup>	2,96 <sup>b</sup>	40,49 <sup>a</sup>	3,50 <sup>b</sup>
1,5	32,01 <sup>a</sup>	2,83 <sup>b</sup>	41,12 <sup>a</sup>	3,62 <sup>b</sup>
2	33,89 <sup>a</sup>	2,79 <sup>b</sup>	34,40 <sup>a</sup>	3,49 <sup>b</sup>

Keterangan: huruf superskrip yang sama menunjukkan tidak signifikan, huruf superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda nyata

Leukokrit merupakan persentase volume sel darah putih dalam tabung mikrohematokrit. Semakin besar persentase leukokrit menunjukkan jumlah sel darah putih semakin banyak. Hasil penelitian Rijoly (2018) membuktikan, diet *G. verucossa* dapat meningkatkan respon imun non-spesifik dan resistensi terhadap infeksi *Aeromonas hydrophila* pada dosis 1,5 g kg<sup>-1</sup> pakan. Hasil yang sama dilaporkan Amanda & Ayuzar (2016), perendaman dengan menggunakan tepung rumput laut merah (*Gracilaria* sp.) dengan konsentrasi 125 mg L<sup>-1</sup> secara efektif mampu meningkatkan total leukosit lele dumbo sebesar 61.125 sel mL<sup>-1</sup>. Peningkatan jumlah leukosit tersebut terjadi saat

perendaman dengan tepung rumput laut merah dan pada saat uji tantang dengan bakteri *Streptococcus iniae*. Meningkatnya persentase leukokrit secara signifikan baik pada ikan mas maupun nila dalam penelitian ini menyebabkan ikan tahan terhadap infeksi *A. hydrophila*. Peningkatan leukokrit menunjukkan sel leukosit meningkat jumlahnya sehingga menghasilkan imunitas yang lebih tinggi. Seperti yang dijelaskan Sukenda *et al.* (2008), bahwa leukosit berfungsi sebagai pertahanan dalam tubuh, yang bergerak dengan cepat terhadap masuknya patogen ke dalam tubuh ikan. Semakin sedikit jumlah leukosit di dalam tubuh maka ikan akan semakin rentan terhadap infeksi.

Rumput laut mengandung senyawa bioaktif yang berguna untuk imunitas seperti yang disampaikan oleh Cunha & Grenha (2016), dalam rumput laut terkandung senyawa polisakarida sulfat. Polisakarida sulfat yang diekstraksi dari rumput laut berpotensi merangsang sistem imunitas melalui aktivitas makrofag. Aktivitas makrofag menginisiasi proses dan mekanisme berlangsungnya sistem imun. Sel makrofag merupakan sel penting dan utama dalam menghasilkan respon imunitas. Rumput laut sebagai suplemen herbal mulai banyak dilakukan, karena mempunyai beberapa keunggulan. Suplemen herbal tidak meninggalkan residu dalam tubuh ikan dan tidak menyebabkan pencemaran. Suplemen ekstrak air herbal daun *A. indica* yang diberikan pada ikan mas menghasilkan peningkatan signifikan terhadap persentase hematokrit (RBC), jumlah leukosit, kadar hemoglobin (Hb), *Package Corpuscula Volume* (PCV) dan menghasilkan respon imun yang berfungsi sebagai perlindungan dan pencegahan penyakit (Harikrishnan *et al.*, 2003).

Selanjutnya, hasil penelitian Alexander *et al.* (2010) menunjukkan, injeksi intraperitoneal fraksi larut air dari herbal daun *T. cordifolia* mampu meningkatkan jumlah leukosit, produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNI), menurunkan persentase mortalitas yang tercermin dalam peningkatan *Relative Percent Survival* (RPS). Hal ini membuktikan, berbagai suplemen herbal dapat memperbaiki respons imun non-spesifik serta melindungi tubuh terhadap patogen *Aeromonas hydrophila* pada ikan *Oreochromis mossambicus* dan berpotensi digunakan sebagai imunoprofilaksis dalam budidaya ikan. Sahfitri *et al.* (2021) melaporkan, pemberian pakan yang mengandung *Gracilaria* sp. dapat meningkatkan status kesehatan ikan kakap putih dibanding kontrol. Hal ini diduga karena *Gracilaria* sp. mengandung polisakarida sulfat yang berfungsi sebagai immunostimulan sehingga menghasilkan peningkatan sistem imun. Selain polisakarida sulfat, uji fitokimia ekstrak rumput laut *G. verrucosa* diketahui mengandung senyawa alkaloid, flavonoid dan steroid (Siregar *et al.*, 2012). Ekstrak *Gracilaria* sp. 3% mempunyai potensi untuk menghambat pertumbuhan total mikroba pada ikan yang disimpan pada suhu ruang hingga penyimpanan bisa lebih lama sampai 36 jam. Efektivitas *Gracilaria* sp. sebagai antibakteri disebabkan adanya kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid/steroid, saponin dan tannin yang dapat menghambat aktivitas mikroba dalam daging ikan (Kaimudin *et al.*, 2020).

## 1. Differensial leukosit

Gambaran sel darah merupakan salah satu faktor yang dapat digunakan untuk menentukan kondisi kesehatan ikan. Gambaran darah juga mampu menyajikan status fisiologis ikan, baik dipengaruhi oleh proses didalam tubuh ikan itu sendiri maupun dari lingkungan hidup ikan. Pengamatan gambaran darah meliputi persentase deferensial leukosit yang terdiri atas jumlah limfosit dan monosit (Tabel 2). Menurut Lusastuti *et al.* (2013), pengamatan deferensial leukosit untuk mengetahui perubahan komponen dari jumlah total leukosit sehingga dapat mengetahui respon imunitas tubuh ikan.



**Tabel 2. Differensial leukosit limfosit dan monosit pada ikan mas dan nila yang diberi diet ekstrak *G. verrucosa* selama 14 hari penelitian**

Dosis <i>g kg<sup>-1</sup> pakan</i>	Ikan mas hari ke-14		Ikan nila hari ke-14	
	Limfosit (%)	Monosit (%)	Limfosit (%)	Monosit (%)
Kontrol	67,94 <sup>a</sup>	18,10 <sup>a</sup>	67,02 <sup>a</sup>	14,97 <sup>a</sup>
0,5	70,38 <sup>b</sup>	17,32 <sup>a</sup>	71,50 <sup>b</sup>	14,21 <sup>a</sup>
1	71,44 <sup>bc</sup>	19,71 <sup>a</sup>	73,20 <sup>b</sup>	15,26 <sup>a</sup>
1,5	73,17 <sup>c</sup>	18,94 <sup>a</sup>	73,57 <sup>b</sup>	17,36 <sup>a</sup>
2	72,38 <sup>bc</sup>	19,52 <sup>a</sup>	72,59 <sup>b</sup>	14,18 <sup>a</sup>

Keterangan: huruf superskrip yang sama menunjukkan tidak signifikan, huruf superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda nyata

Hasil penelitian menunjukkan bahwa diet *G. verrucosa* melalui pakan pada ikan mas dan nila dapat meningkatkan persentase limfosit secara signifikan dan meningkatkan persentase monosit namun tidak signifikan. Pemberian tepung *Gracilaria* sp. memberikan pengaruh signifikan terhadap diferensial leukosit jenis limfosit pada ikan kakap putih, tetapi tidak memberikan pengaruh signifikan pada monosit dan neutrofil (Sahfitri *et al.*, 2021). Rumput laut merah diketahui memiliki senyawa polisakarida yang dapat meningkatkan jumlah sel imun yaitu dengan menginduksi sel pembentuk leukosit untuk menghasilkan lebih banyak jenis sel-sel leukosit seperti limfosit, monosit dan neutrofil (Amanda & Ayuzar, 2016).

Selain pada rumput laut merah, polisakarida sulfat juga terdapat pada rumput laut cokelat yang fungsinya sama yaitu meningkatkan imunitas non-spesifik. Zhang *et al.* (2016) melaporkan, polisakarida sulfat dalam rumput laut dapat berikatan dengan reseptor membrane *Toll like-Receptor 4* (TLR4), menghasilkan inisiasi respon imunitas. Pada rumput laut cokelat maupun merah terkandung senyawa bioaktif yang fungsinya sama dalam meningkatkan imunitas tubuh. Beberapa atau sebagian terdapat perbedaan kandungan senyawa aktifnya namun bisa mempunyai fungsi yang serupa. Dilaporkan oleh Subaryono *et al.* (2017), produksi oligosakarida alginat (OSA) dari rumput laut cokelat bersifat imunomodulator, meningkatkan aktivasi limfosit dan menghasilkan proliferasi limfosit sehingga mampu meningkatkan imunitas. Hal yang sama dilaporkan oleh Liu *et al.* (1997), pemberian ekstrak rumput laut dapat menstimuli proliferasi limfosit. Aktivitas sel limfosit B dan juga makrofag meningkat yang mampu memodulasi respon imun. Ditambahkan oleh Ahn *et al.* (2013), senyawa bioaktif dari rumput laut cokelat polisakarida sulfat mampu menginduksi sel limfosit T maupun limfosit B melalui jalur klasik JNK dan NF- $\kappa$ B.

Pemberian diet ekstrak *gracilaria* dapat meningkatkan persentase limfosit hingga 77% pada kakap putih (Sahfitri *et al.*, 2021). Persentase limfosit yang meningkat diduga karena kandungan senyawa bioaktif yang ada di dalam rumput laut *Gracilaria* sp. Seperti dilaporkan Amanda & Ayuzar (2016), rumput laut merah *Gracilaria* sp. mengandung senyawa polisakarida sulfat yang dapat meningkatkan hematologi sel darah putih. Menurut Rijoly (2018), kandungan polisakarida sulfat dari ekstrak *G. verrucosa* berkisar 3.25 – 4.79%. Selain itu, ekstrak atau komponen bioaktif rumput laut dapat meningkatkan aktivasi limfosit, meningkatkan proliferasi sel T dan produksi subset limfosit T seperti CD4 dan CD8 serta produksi antibodi imonoglobulin (Ig). Ekstrak rumput laut juga telah diteliti mempengaruhi ekspresi mRNA untuk meningkatkan produksi sitokin oleh sel Th1 seperti TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$ , dan menurunkan sitokin yang diproduksi oleh sel Th2 seperti IL-4 dan IL-10 serta meningkatkan produksi IL-2 pada sel limfosit T (Erniati & Ezraneti, 2020).

Peran dan fungsi penting sel leukosit lainnya dalam respon dan mekanisme imunitas adalah monosit. Sel darah putih berfungsi untuk imunitas tubuh terdiri atas limfosit, monosit, neutrofil dan eosinofil. Monosit akan mengawali respon imun dengan melakukan pengenalan terhadap senyawa imunostimulan. Menurut Adrian *et al.* (2013), monosit berada dalam peredaran darah kemudian melakukan diapedesis masuk ke dalam jaringan dan berubah menjadi sel makrofag. Sel makrofag selanjutnya melakukan fagositosis melalui mekanisme ledakan respirasi yang bisa membunuh patogen dalam sistem imun non-spesifik.

Peran senyawa bioaktif rumput laut sebagai imunomodulator melalui mekanisme aktivasi makrofag telah dilaporkan. Polisakarida homogen larut air (LJP-31) dengan massa molekul  $2,24 \times 10^6$  Da, diisolasi dan dimurnikan dari *Laminaria japonica* menggunakan DEAE-selulosa dan Sephacryl kromatografi S500. LJP-31 terdiri dari arabinosa, manosa, glukosa dan galaktosa menunjukkan stimulasi yang signifikan pada makrofag dan meningkatkan produksi NO, TNF-, IL-1, IL-6 dan IL-10 serta meningkatkan ekspresi gen terkait. Analisis Western blot menunjukkan bahwa LJP-31 berikatan dengan TLR4 di makrofag dan mengarahkan potensi imunostimulasinya melalui jalur pensinyalan MAPK dan NF-B (Fang *et al.*, 2015). Selanjutnya ekstrak phosphate buffer saline *Gelidium amansii* memiliki aktivitas modulasi imunitas dengan meningkatkan proliferasi makrofag, produksi NO, dan sekresi sitokin (Wang *et al.*, 2013).

Imunostimulan telah banyak digunakan dalam manajemen kesehatan ternak. Pada industri perikanan, penambahan suplemen herbal imunostimulan menunjukkan peningkatan perlindungan terhadap berbagai patogen. Seperti dilaporkan oleh Selvaraj *et al.* (2005), selain herbal dari rumput laut, injeksi glukukan dapat meningkatkan ketahanan ikan terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Selain meningkatkan ketahanan, pemberian glukukan juga dapat meningkatkan jumlah leukosit dan produksi superoksida anion oleh makrofag ginjal seperti halnya pada pemberian rumput laut. RT-PCR dan analisis northern blot IL-1 mRNA menunjukkan peningkatan ekspresi di ginjal pada hari ke 7 setelah injeksi dengan ekstraksi herbal berupa glukukan. Peningkatan jumlah leukosit merupakan indikator aktivitas fagositosis makrofag terhadap adanya infeksi patogen yang merupakan respon imun non-spesifik (Alexander *et al.*, 2010).

## KESIMPULAN

Diet *Gracilaria verrucosa* pada ikan mas dan nila selama 14 hari dapat meningkatkan imun non spesifik pada persentase leukokrit dan differensial leukosit dari limfosit secara signifikan dibanding kontrol. Suplementasi diet gracilaria lebih efektif pada ikan nila dari pada ikan mas, persentase optimal leukokrit mencapai 3,62% dan limfosit 73,57% pada dosis optimal  $1,5 \text{ g kg}^{-1}$  pakan. Oleh karena itu suplementasi diet gracilaria dapat digunakan untuk meningkatkan imunitas dalam budidaya ikan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Universitas Muhammadiyah Purwokerto melalui Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat. Terimakasih yang sama diucapkan kepada Ketua Program Studi Pendidikan Biologi Bapak Drs. Arief Husin, M.Si dan Laboran Zoologi Ibu Nindra, S.Si yang telah mengizinkan dan membantu terlaksananya penelitian mahasiswa di Laboratorium Zoologi dan Lingkungan. Terimakasih yang sama diucapkan kepada Mas Suwarno selaku pelaksana yang membantu teknis di laboratorium.

## DAFTAR PUSTAKA

Adrian, A., Schoppmann, K., Sromicki, J., Brungs, S., Von Der Wiesche, M., Hock, B.,

- Kolanus, W., Hemmersbach, R., & Ullrich, O. (2013). The oxidative burst reaction in mammalian cells depends on gravity. *Cell Communication and Signaling*, 11(1), 0–20. <https://doi.org/10.1186/1478-811X-11-98>
- Ahn, G., Bing, S. J., Kang, S. M., Lee, W. W., Lee, S. H., Matsuda, H., Tanaka, A., Cho, I. H., Jeon, Y. J., & Jee, Y. (2013). The JNK/NFκB pathway is required to activate murine lymphocytes induced by a sulfated polysaccharide from *Ecklonia cava*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830(3), 2820–2829. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.12.008>
- Alexander, C. P., John Wesley Kirubakaran, C., & Michael, R. D. (2010). Water soluble fraction of *Tinospora cordifolia* leaves enhanced the non-specific immune mechanisms and disease resistance in *Oreochromis mossambicus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 29(5), 765–772. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.07.003>
- Amanda, C. S., & Ayuzar, E. (2016). Efektifitas bubuk rumput laut merah (*Gracilaria* sp) sebagai imunostimulan terhadap infeksi bakteri streptococcus iniae pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*, 3(2), 81–87. <https://doi.org/10.29103/aa.v3i2.328>
- Azizah, I., Isroli, & Suprijatna, E. (2015). Pengaruh penggunaan tepung limbah rumput laut (*Gracilaria verrocosa*) terhadap status hematologis puyuh jantan umur 6-10 minggu. *Animal Agricultur Journal*, 4(2), 260–263.
- Cunha, L., & Grenha, A. (2016). Sulfated Seaweed Polysaccharides as Multifunctional Materials in Drug Delivery Applications. *Marine Drugs*, 14. <https://doi.org/10.3390/md14030042>
- Erniati, E., & Ezraneti, R. (2020). Aktivitas imunomodulator ekstrak rumput laut. *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*, 7(2), 79–86. <https://doi.org/10.29103/aa.v7i2.2463>
- Fang, Q., Wang, J. F., Zha, X. Q., Cui, S. H., Cao, L., & Luo, J. P. (2015). Immunomodulatory activity on macrophage of a purified polysaccharide extracted from *Laminaria japonica*. *Carbohydrate Polymers*, 134, 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.070>
- Harikrishnan, R., Rani, M. N., & Balasundaram, C. (2003). Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture*, 221(1–4), 41–50. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00023-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00023-1)
- Jasmanindar, Y., Sukenda, S., Zairin, M. J., Alimuddin, A., & Utomo, N. B. P. (2018). Dietary administration of gracilaria verrucosa extract on *Litopenaeus vannamei* immune response, growth, and resistance to *Vibrio harveyi*. *AACL Bioflux*, 11(4), 1069–1080.
- Kaimudin, M., Moniharapon, T., Mailoa, M. N., & Pattipeilohy, F. (2020). Efektivitas ekstrak *Gracilaria* sp. dalam menghambat pertumbuhan mikroba ikan layang dan tuna pada penyimpanan suhu ruang. *JPHPI*, 23(3), 523–531.
- Liu, J. ., Yoshida, Y., Wang, M. ., Okai, Y., & Yumashita, U. (1997). B cell stimulating scivity of seaweed extracts. *Int. J. Immunopharmac*, 19(3), 135–142. [https://sci-hub.se/10.1016/S0192-0561\(97\)00016-7](https://sci-hub.se/10.1016/S0192-0561(97)00016-7)
- Lusiastuti, A. M., Sumiati, T., & Hadie, W. (2013). Probiotik *Bacillus firmus* untuk pengendalian penyakit *Aeromonas hydrophila* pada budidaya ikan lele dumbo, *Clarias gariepinus*. *Jurnal Riset Akuakultur*, 8(2), 253–264. <https://doi.org/10.15578/jra.8.2.2013.253-264>



- Maftuch, Toban, M. H., & Risjani, Y. (2012). Administration of marine algae (*Gracilaria verrucosa*) immunostimulant enhances some innate immune parameters in black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricus) against *Vibrio harveyi* infection. *Journal of Applied Sciences Research*, 8(2), 1052–1058.
- Purbomartono et al. (2019). Respon Imun Non-Spesifik Lele dumbo (*Clarias* sp.) Yang Diberi Fucoidan Dari Rumput Laut Cokelat (*Padina* sp.) Secara Oral. *Biological Science*, 4–6.
- Puspasari, N. (2010). *Efektivitas ekstrak rumput laut Gracilaria verrucosa sebagai imunostimulan untuk pencegahan infeksi bakteri Aeromonas hydrophila pada ikan lele dumbo Clarias sp*. <http://repository.ipb.ac.id:8080/handle/123456789/59490>
- Putri, A. K., Zahidah, & Harahap, S. A. (2016). Peningkatan Produksi Ikan Mas (*Cyprinus Carpio* L) Menggunakan Sistem Budidaya Polikultur Bersama Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti*). *Jurnal Perikanan Kelautan*, 7(1), 146–156.
- Rijoly, S. M. A. (2018). Pemanfaatan ekstrak rumput laut *Gracilaria verrucosa* untuk pengendalian infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele (*Clarias* sp.). [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor., 40. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/95879>
- Sahfitri, I. A. H., Wulandari, R., & Zahra, A. (2021). Profil Darah Ikan Kakap Putih *Lates calacalifer* Yang Diberi Pakan Mengandung *Gracilaria* sp . *Intek Akuakultur*, 5(2), 59–70.
- Satyantini, W. H., Kurniawan, A., & Kusdarwati, R. (2016). Penambahan Ekstrak *Gracilaria verrucosa* Terhadap Peningkatan Total Hemosit, Kelangsungan Hidup dan Respon Fisiologi Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii*). *Jurnal Akuatika Indonesia*, 1(2), 120–129.
- Selvaraj, V., Sampath, K., & Sekar, V. (2005). Administration of yeast glucan enhances survival and some non-specific and specific immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*) infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 19(4), 293–306. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.01.001>
- Sinaga, E. G., Hudaidah, S., Santoso, L., & Tempat, W. (2021). Kajian Pemberian Pakan Berbahan Baku Lokal dengan Kandungan Protein yang Berbeda untuk Pertumbuhan Ikan Nila Sultana (*Oreochromis niloticus*) Study of Feeding with Local Raw Materials with Different Protein for Growth Sultana Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 26(2), 78–85.
- Siregar, A. F., Sabdono, A., & Pringgenies, D. (2012). Potensi antibakteri ekstrak rumput laut terhadap bakteri penyakit kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research*, 1(2), 152–160. <https://doi.org/https://doi.org/10.14710/jmr.v1i2.2032>
- Subaryono, Perangiangan, R., Suhartono, M. T., & Zakaria, F. R. (2017). Aktivitas Imunomodulator Oligosakarida Alginat ( OSA ) Yang Dihasilkan Dari Alginat Asal *Sargassum crassifolium*. *Jphpi*, 20(1), 63–73. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2017.20.1.63>
- Sukenda, Jamal, L., Wahjuningrum, D., & Hasan, A. (2008). Penggunaan kitosan untuk pencegahan infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo *Clarias* sp. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 7(2), 159–169.
- Wang, M. L., Hou, Y. Y., Chiu, Y. S., & Chen, Y. H. (2013). Immunomodulatory activities of *Gelidium amansii* gel extracts on murine RAW 264.7 macrophages. *Journal of Food and Drug Analysis*, 21(4), 397–403. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.09.002>

- 
- Zahra, A., Sukenda, Dinamella Wahjuningrum, & Dendi Hidayatullah. (2019). Pakan Mengandung Ekstrak Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* untuk Meningkatkan Kelangsungan Hidup Udang Vaname *Litopenaeus vannamei* yang Diinfeksi WSSV (White Spot Syndrome Virus). *Intek Akuakultur*, 3(1), 128–138. <https://doi.org/10.31629/intek.v3i1.1262>
- Zhang, X., Qi, C., Guo, Y., Zhou, W., & Zhang, Y. (2016). Toll-like receptor 4-related immunostimulatory polysaccharides: Primary structure, activity relationships, and possible interaction models. *Carbohydrate Polymers*, 149, 186–206. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.097>