

Kombinasi Ekstrak Rumput Laut Cokelat (*Padina* sp.) Dan Vitamin C Melalui Pakan Terhadap Imun Non-Spesifik Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

*Combination of Chocolate Seaweed Extract (*Padina* sp.) and Vitamin C through Feed Against Non-Specific Immunity of African Catfish (*Clarias gariepinus*)*

Siti Muntasiroh¹, Cahyono Purbomartono², Dini Siswani Mulia²

^{1,2}Pendidikan Biologi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto

¹curbomartono@yahoo.com

ABSTRAK

Lele dumbo merupakan komoditas ikan air tawar yang mempunyai nilai kompetitif dibanding ikan air tawar lainnya sehingga banyak diminati masyarakat. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) yang dicampur dengan vitamin C dalam pakan terhadap persentase hematokrit dan leukokrit serta differensial leukosit pada lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan rancangan acak lengkap, masing-masing 4 perlakuan dan 3 kali ulangan individu. Perlakuan dalam penelitian ini meliputi dosis P1 (3000 mg ekstrak rumput laut cokelat/kg pakan), P2 (2250 mg ekstrak rumput laut cokelat/kg pakan dan 750 mg vitamin C/kg pakan), P3 (1500 mg ekstrak rumput laut cokelat/kg pakan dan 1500 mg vitamin C/kg pakan), dan P4 (750 mg ekstrak rumput laut cokelat/kg pakan dan 2250 mg vitamin C/kg pakan). Parameter utama berupa persentase hematokrit, leukokrit, dan differensial leukosit, sedangkan parameter pendukung berupa kualitas air yang meliputi suhu, pH, dan DO. Data dianalisis menggunakan uji Analysis of Variance (ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95%, apabila hasil analisis tersebut menunjukkan adanya perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan menggunakan uji DMRT (Duncan Multiple Range Test) pada taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) yang dicampur dengan vitamin C berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap hematokrit dan differensial leukosit. Nilai hematokrit tertinggi dicapai pada P3 sebesar 48,33%, diferensial limfosit tertinggi pada P3 sebesar 81,29% dan diferensial monosit tertinggi pada P2 sebesar 10,77%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) yang dicampur dengan vitamin C dalam pakan sebesar 1500 mg ekstrak rumput laut cokelat/kg pakan dan 1500 mg vitamin C/kg pakan merupakan dosis terbaik dalam meningkatkan imun non-spesifik.

Kata kunci: lele dumbo (*Clarias gariepinus*), imunostimulan, imun non-spesifik, *Padina* sp, vitamin C.

ABSTRACT

*African catfish is a freshwater fish commodity that has competitive value compared to other freshwater fish, so that it is in great demand by the public. The purpose of this study was to determine the effect of giving brown seaweed extract (*Padina* sp.) Mixed with vitamin C in feed on the percentage of hematocrit and leucocrit and leucocyte differentials in African catfish (*Clarias gariepinus*). This study used an experimental method with a completely randomized design, each with four treatments and three*

individual replications. The treatments in this study included a dose of P1 (3000 mg of brown seaweed extract/kg of feed), P2 (2250 mg of brown seaweed extract/kg of feed and 750 mg of vitamin C / kg of feed), P3 (1500 mg of brown seaweed extract/kg of feed). Feed and 1500 mg of vitamin C / kg of feed), and P4 (750 mg of brown seaweed extract/kg of feed and 2250 mg of vitamin C / kg of feed). The main parameters are the percentage of hematocrit, leucocrit, and leucocyte differential, while the supporting parameters are water quality, which includes temperature, pH, and DO. The data were analyzed using the Analyze of Variance (ANOVA) test with a confidence level of 95%; if the results of the analysis show a significant difference, then proceed using the DMRT (Duncan Multiple Range Test) tests at the 95% confidence level. The results showed that giving brown seaweed extract (*Padina sp.*) Mixed with vitamin C had a significant effect ($P < 0.05$) on hematocrit and leukocyte differential. The highest hematocrit value was achieved at P3 at 48.33%, the highest lymphocyte differential at P3 was 81.29%, and the highest monocyte differential was at P2 at 10.77%. The results showed that the administration of brown seaweed extract (*Padina sp.*) Mixed with vitamin C in the feed of 1500 mg of brown seaweed extract/kg of feed and 1500 mg of vitamin C / kg of feed was the best dose to increase non-specific immunity.

Keywords: catfish (*Clarias gariepinus*), immunostimulants, non-specific immunity, *Padina sp.*, vitamin C.

PENDAHULUAN

Lele dumbo (*Clarias gariepinus*) merupakan salah satu komoditas unggulan air tawar yang penting dalam rangka pemenuhan gizi masyarakat. Selain karena rasanya yang enak, harga lele dumbo juga terjangkau oleh masyarakat. Produksi lele dumbo (*C. gariepinus*) pada tahun 2014 sebesar 242.811 ton, dan tahun 2015 meningkat menjadi 758.455 ton. Kenaikan rata-rata produksi lele dumbo selama tahun 2014-2015 sebesar 47,21%. Target produksi lele dumbo tahun 2016 ditingkatkan menjadi 840.000 ton (Kementrian Kelautan & Perikanan, 2013). Namun, terdapat beberapa kendala dalam budidaya lele dumbo antara lain penyakit akibat terinfeksi bakteri (Murhananto, 2002). Salah satu penyakit yang sering menyerang lele dumbo adalah bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menimbulkan penyakit MAS (*motile aeromonas septicemia*).

Penyakit MAS dikenal sebagai penyakit bercak merah. Penyakit tersebut menyebabkan pendarahan pada bagian tubuh, terutama dibagian dada, perut, dan pangkal sirip. Penyebaran penyakit MAS terjadi secara horizontal yaitu melalui air yang terkontaminasi oleh bakteri *A. hydrophila* atau dari ikan yang sakit. Pembentukan ulser pada ikan yang terserang penyakit MAS menyebabkan hemoragik serta kulit menjadi kasap (Saroni *et al.*, 1993). Warna tubuh menjadi agak gelap, kemampuan berenang menurun, perut kembung, sirip dan insang berwarna keputihan serta kesulitan bernafas karena kekurangan oksigen. Penyakit biasanya timbul berkaitan dengan lemahnya kondisi ikan yang disebabkan beberapa faktor antara lain penanganan ikan, pakan yang diberikan berlebihan atau malah kurang, serta kualitas lingkungan yang kurang menurun.

Usaha pencegahan dapat dilakukan dengan meningkatkan kekebalan tubuh ikan, baik kekebalan tubuh spesifik dengan menggunakan vaksinasi maupun kekebalan tubuh non-spesifik dengan pemberian imunostimulan (Parelberg *et al.*, 2005). Imunostimulan adalah senyawa kimia, obat-obatan atau aksi yang meningkatkan respon imun non-spesifik atau bawaan (*innate immunity*) yang berinteraksi secara langsung dengan sel dari sistem yang mengaktifkan respon imun bawaan tersebut (Syakuri *et al.*, 2003). Imunostimulan pada umumnya berupa polisakarida seperti karbohidrat yang banyak terdapat pada kelompok alga (Tayag *et al.*, 2010). Imunostimulan dapat digunakan untuk

mencegah penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus, bakteri, parasit, membantu meringankan gejala penyakit, serta mempercepat proses penyembuhan pada ikan (Ratetondok, 2002). Apabila ikan belum terkena penyakit, imunostimulan dapat digunakan sebagai tindakan preventif terhadap penyakit, serta untuk meningkatkan daya tahan tubuh.

Salah satu bahan alami yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh ikan yaitu ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) yang mengandung senyawa fucoidan. Fucoidan merupakan polisakarida kompleks, terdapat pada dinding sel alga cokelat dan merupakan komponen terbesar yang mampu meningkatkan imunitas dengan merangsang sel-sel imun, sehingga membantu dalam melawan bakteri patogen (Bachtiar *et al.*, 2012). Penambahan suplemen yang dibutuhkan oleh ikan yaitu dengan menambahkan vitamin C yang berperan sebagai imunostimulan dan mampu merangsang dalam pembentukan kekebalan tubuh non- spesifik ikan.

Darah menjadi salah satu cara yang dapat digunakan dalam diagnosa penyakit serta mengetahui status kesehatan ikan. Darah mengalami perubahan yang serius, terutama apabila terkena penyakit infeksi (Amlacher, 1970). Parameter darah yang dapat memperlihatkan adanya gangguan adalah nilai hematokrit, leukokrit, serta perubahan terhadap jumlah differensial leukosit (limfosit, monosit, dan neutrofil) (Lagler *et al.*, 1977). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pemberian ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) dan vitamin C secara oral dalam meningkatkan respon imun non-spesifik pada lele dumbo (*C. gariepnus*) serta dosis optimal yang diperoleh.

METODE

Rumput laut cokelat diperoleh dari Pantai Baron, Kabupaten Gunung Kidul, Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. Rumput laut dicuci dengan air tawar hingga bersih dan kemudian dikering-anginkan dengan sinar matahari secara tidak langsung. Setelah kering-angin rumput laut dipotong-potong menjadi ukuran kecil. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Zoologi Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan serta di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Ekstraksi fucoidan dari rumput laut cokelat menggunakan metode asam (Kim *et al.*, 2004). Sampel yang sudah dikering-anginkan didalam Laboratorium, dipotong dengan ukuran ($\pm 0,5$ cm) selanjutnya diblender agar menjadi bubuk atau serbuk halus. Seberat 100 gram simplisia yang telah diblender tersebut, kemudian direndam dalam 1 liter 0,1 N HCl selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah 24 jam, disaring atau difiltrasi menggunakan saringan kasar. Sisa rumput laut pada proses filtrasi pertama yang diperoleh diekstraksi ulang dengan 1 liter 0,2 N HCl selama 2 jam pada suhu 70°C, kemudian disaring kembali seperti pada proses penyaringan pertama. Selanjutnya filtrat pertama dan kedua yang diperoleh disatukan. Filtrat difiltrasi ulang dengan kertas Watman 40 kemudian dievaporasi dengan rotary evaporator pada suhu 60° C hingga volume menjadi 150 ml, kemudian diuapkan pada pemanasan menggunakan water bath (Kim *et al.*, 2004).

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan rancangan acak lengkap, menggunakan 4 perlakuan dan 4 kali ulangan individu. Perlakuan diberikan secara oral dengan mencampur ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) dan vitamin C dalam pakan pelet. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

P1: Pakan yang mengandung ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) 3000 mg/kg pakan

P2: Pakan yang mengandung ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) 2250 mg/kg pakan dan vitamin C 750 mg/kg pakan

P3: Pakan yang mengandung ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) 1500 mg/kg pakan dan vitamin C 1500 mg/kg pakan

P4: Pakan yang mengandung ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) 750 mg/kg pakan dan vitamin C 2250 mg/kg pakan

Penelitian menggunakan wadah ember plastik yang sebelumnya telah disucihamakan menggunakan kaporit yang kemudian disabun dan dibilas dengan air bersih serta dikering -anginkan. Lele dumbo (*C. gariepinus*) yang sehat dan telah diseleksi ditempatkan pada ember yang telah diisi air dan dipelihara untuk proses aklimatisasi. Setiap ember berisi 5 ekor ikan dengan berat \pm 100 gram. Selama aklimatisasi, ikan diberi pakan pelet yang belum diberi perlakuan. Setelah aklimatisasi selesai yang ditandai dengan nafsu makan ikan baik dan stabil, penelitian dimulai dengan memberikan perlakuan sesuai dosis. Pakan diberikan 3 kali sehari yaitu pada jam \pm 08.00, jam \pm 13.00 dan jam \pm 17.00 WIB. Pakan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan pelet komersial produksi PT. Matahari Sakti. Kandungan nutrisi pakan pelet adalah protein 31-33%, lemak (min) 5%, serat kasar (max) 4%, kadar abu (max) 12%, kadar air (max) 10%.

Ekstrak fucoidan masing-masing ditimbang sesuai dosis perlakuan kemudian dilarutkan dalam aquades dan ditambahkan perekat progol 1 %. Supaya tercampur secara merata larutan dikocok dan selanjutnya disemprotkan menggunakan sprayer ke dalam pakan sambil diaduk. Setelah tercampur dengan homogen, pakan dikeringkan-anginkan pada suhu ruang. Setelah kering disimpan dalam lemari pendingin sampai digunakan.

Pengambilan sampel darah dilakukan sebelum perlakuan (hari ke-0), dan setelah ikan diberi perlakuan pada hari ke-4, 8,12 dan 16. Pengambilan darah dilakukan dari vena caudalis menggunakan jarum suntik ukuran 1 ml yang sebelumnya sudah dibasahi dengan larutan EDTA 10% sebagai antikoagulan. Setelah darah diambil sekitar 0,8-1 ml dalam mikrotube, ikan dikembalikan kedalam ember pemeliharaan. Parameter imun non-spesifik yang diukur dalam penelitian ini meliputi persentase hematokrit, leukokrit, diferensial leukosit meliputi limfosit dan monosit. Sedangkan parameter pendukung berupa kualitas air yang meliputi pemeriksaan suhu, pH dan oksigen terlarut.

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf kepercayaan 95%. Apabila hasil analisis tersebut menunjukkan adanya perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Kadar Hematokrit

Hematokrit merupakan persentase jumlah sel darah merah yang ada dalam satuan volume darah utuh. Hematokrit menunjukkan kemampuan organisme yang terkait dengan fungsi sel darah merah dalam mengangkut O₂ untuk proses metabolisme serta mengikat dan mengangkut CO₂ untuk dibuang melalui paru-paru. Menurut Rosmalawati (2008), hematokrit merupakan suatu persentase sel darah merah dengan plasma darah. Kadar hematokrit dalam sel darah menjadi indikator kesehatan ikan berkaitan dengan jumlah sel darah merah. Hasil dari perhitungan rata-rata hematokrit lele dumbo (*C. gariepinus*) dengan menggunakan ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) yang dicampur dengan vitamin C selama 16 hari pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hematokrit (%) Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Setelah Pemberian Pakan dengan Penambahan Ekstrak Rumput Laut Cokelat (*Padina* sp.) yang Dicampur Vitamin C

Perlakuan	H-0	H-4	H-8	H-12	H-16
P1	25.67 ± 5.1	29.67 ± 7.2	33.00 ± 2.9	34.00 ± 2.8 ^a	30.34 ± 5.1 ^a
P2	29.33 ± 6.4	32.00 ± 4.3	34.33 ± 3.3	40.67 ± 1.9 ^b	36.00 ± 3.9 ^b
P3	32.00 ± 5.6	32.33 ± 4.5	37.67 ± 7.8	48.33 ± 5.5 ^c	40.00 ± 1.7 ^b
P4	31.00 ± 4.1	31.33 ± 3.6	32.00 ± 2.2	40.00 ± 2.6 ^b	31.00 ± 2.8 ^a

Keterangan :Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan berbeda nyata pada uji DMRT dengan taraf uji 5%, P1: 3000 mg ekstrak/kg pakan, P2: 2250 mg ekstrak dan 750 mg vitamin C/pakan, P3: 1500 mg ekstrak dan 1500 mg vitamin C/pakan, P4: 750 mg ekstrak dan 2250 mg vitamin C/pakan

Berdasarkan Tabel 1, pengambilan darah pada hari ke-12 menunjukkan P1 berbeda nyata dengan P2 dan P3, sedangkan pada hari ke-16 menunjukkan P1 berbeda nyata dengan P2 dan P3, namun tidak berbeda nyata dengan P4. Penambahan ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) yang dicampur vitamin C dengan dosis yang berbeda menunjukkan pengaruh yang nyata pada hari ke-12 dan ke-16. Anderson & Siwicki (1994) menyatakan pemberian imunostimulan mempunyai pengaruh terhadap persentase hematokrit, walaupun tidak begitu besar. Penambahan ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) pada pakan, dapat memperbaiki kadar hematokrit. Pengaruh nyata tersebut disebabkan penambahan ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) yang mengandung fucoidan. Fucoidan merupakan polisakarida kompleks, yang dapat digunakan sebagai imunostimulan dalam meningkatkan persentase hematokrit (Tayag *et al.*, 2010).

Vitamin C merupakan senyawa organik yang berperan penting dalam proses metabolisme makanan dan fisiologi ikan. Vitamin C dibutuhkan sebagai katalisator terjadinya metabolisme didalam tubuh. Menurut Siregar *et al.* (2009), adanya suplementasi vitamin C melalui pakan akan mempercepat dan membantu meningkatkan penyerapan Fe (dalam bentuk Fe²⁺) sehingga kadar hemoglobin darah akan meningkat. Meningkatnya hemoglobin dalam darah menyebabkan transportasi nutrisi serta oksigen yang diedarkan ke seluruh jaringan tubuh meningkat sehingga dapat mendukung kelangsungan hidup dan pertumbuhan ikan.

Hasil yang tidak berpengaruh nyata pada hari ke-0, ke-4, dan ke- 8, diduga karena ikan belum cukup waktu dalam memberikan respon dan kemungkinan adanya stress saat pengambilan darah. Kadar hematokrit rendah dapat terjadi karena kondisi ikan dan penanganan saat pengambilan darah yang dapat menyebabkan stress. Anderson & Siwicki (1994) menyatakan bahwa kadar hematokrit untuk masing-masing individu dapat dipengaruhi oleh kondisi ikan dan penanganan saat pengambilan darah yang dapat menyebabkan stres, sehingga dapat membuat level hematokrit rendah. Rendahnya hematokrit diikuti oleh rendahnya hemoglobin, karena jumlah hemoglobin berkaitan dengan jumlah sel darah merah yang berfungsi membawa nutrisi dan mengikat oksigen yang akan digunakan untuk metabolisme dalam menghasilkan energi. Sehingga berpengaruh terhadap pembentukan sel darah merah yang menyebabkan hematokrit bisa menurun. Utami (2009) melaporkan, kadar hematokrit dan differensial leukosit yang baik pada lele dumbo diperoleh pada dosis 1500 mg ekstrak dan 1500 mg vitamin C/kg pakan.

Hematokrit merupakan perbandingan antara sel darah merah dan plasma darah yang berpengaruh terhadap pengaturan sel darah merah. Dari hasil yang diperoleh walaupun kadar hematokrit persentasenya rendah namun nilai hematokrit masih berada pada kisaran yang normal. Nilai hematokrit untuk lele dumbo (*C. gariepinus*) berkisar antara 22-60% (Abdullah, 2008). Rata-rata jumlah kadar hematokrit pada penelitian ini

berkisar antara 25,67% - 48,33%, menandakan bahwa lele dumbo dalam penelitian ini masih dalam keadaan sehat.

2. Differensial Leukosit

Pemeriksaan diferensial leukosit meliputi jenis sel limfosit, monosit dan neutrofil dalam 100 sel darah putih yang diamati. Leukosit terdiri dari agranulosit (monosit dan limfosit) dan granulosit (neutrophil dan eosinofil). Ikan memiliki pertahanan bawaan berupa sel fagositik, yang utamanya terdiri dari monosit (precursor-prekursor makrofag) dan granulosit (leukosit granular). Hasil penghitungan rata-rata diferensial leukosit yang diambil merupakan rerata persentase dari 2 jenis sel darah yaitu limfosit dan monosit. Sel limfosit merupakan sel yang utamanya untuk respon spesifik, sedangkan monosit mewakili sel untuk respon non-spesifik.

3. Limfosit Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Limfosit adalah sel darah putih (sel penghasil antibodi) berbentuk bundar dengan sejumlah kecil sitoplasma tidak bergranula dan inti sel hampir memenuhi seluruh sel. Limfosit mampu menerobos jaringan atau organ tubuh yang lunak karena menyediakan zat kebal untuk pertahanan tubuh (Dellman & Brown 1989). Limfosit selain berfungsi sebagai respon imun seluler yang tidak bersifat fagositik tetapi memegang peranan penting dalam pembentukan antibodi (Puspitanintyas, 2006). Hasil pengamatan persentase limfosit dengan penambahan ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) yang dicampur dengan vitamin C selama 16 hari pada masing-masing perlakuan tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2 Limfosit Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Pada Hari ke 0, 4, 8, 12, dan 16 Setelah Pemberian Pakan dengan Penambahan Ekstrak Rumput Laut Cokelat (*Padina* sp.) yang Dicampur Vitamin C dengan Berbagai Dosis

Perlakuan	H-0	H-4	H-8	H-12	H-16
P1	78.6 ± 1.24a	78.86 ± 1.01a	78.73 ± 0.6 a	79.41 ± 0.97a	79.47 ± 1.55a
P2	78.92 ± 1.07a	79.00 ± 1.22a	78.89 ± 1.51a	79.01 ± 1.05a	79.11 ± 0.89a
P3	78.70 ± 0.7 a	81.02 ± 0.96b	79.33 ± 1.5a	81.29 ± 1.54b	81.29 ± 1.10b
P4	78.78 ± 1.7 a	79.06 ± 1.57a	79.25 ± 1.04a	79.20 ± 0.39a	79.29 ± 0.94b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf superscript yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada uji DMRT dengan taraf uji 5%, P1: 3000 mg ekstrak/kg pakan, P2: 2250 mg ekstrak dan 75 mg vitamin C/pakan, P3:1500 mg ekstrak dan 1500 mg vitamin C/pakan, P4: 750 mg ekstrak dan 2250 mg vitamin C/pakan.

Dihat pada Tabel 2, nilai limfosit yang diperoleh menunjukkan yang berbeda nyata pada hari ke-4, ke-12 dan ke-16. Sedangkan untuk hasil yang tidak berbeda nyata yaitu pada hari ke-0 dan ke-8. Hasil yang berbeda nyata menunjukkan pemberian ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) yang dicampur dengan vitamin C memberikan pengaruh nyata terhadap persentase limfosit dalam darah lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang ditunjukkan dengan meningkatnya jumlah limfosit. Hal ini disebabkan karena vitamin C mampu meningkatkan ketahanan tubuh (Navarre and Halve, 1989), sedangkan kandungan bahan aktif dari ekstrak rumput laut cokelat yaitu polisakarida berfungsi untuk meningkatkan sistem imun pada ikan dan proteksi terhadap bakteri. Selain itu kandungan lain dalam ekstrak rumput laut cokelat seperti senyawa fucoidan juga diketahui berfungsi untuk meningkatkan imun non-spesifik dengan merangsang produksi sel-sel imun non-spesifik (Castro *et al.*, 2006). Rumput laut cokelat dapat digunakan sebagai immunostimulan, yaitu bahan yang mempunyai efek menstimulasi perkembangan limfosit, sebagai salah satu indikator pertahanan tubuh.

Peningkatan presentase limfosit merupakan refleksi keberhasilan sistem imunitas ikan dalam mengembangkan respon imunitas seluler (non spesifik) sebagai pemicu untuk respon kekebalan. Pada dasarnya sel limfosit terdiri dari dua populasi sel B dan sel T. Sel B mempunyai kemampuan untuk bertransformasi menjadi sel plasma yaitu sel yang memproduksi antibodi. Sel T sangat berperan dalam kekebalan berperantara sel (sel T sitotoksik) dan mengontrol respon imun (sel T supresor). Limfosit yang teraktivasi akan berdiferensiasi dari sel kognitif yang mengenal antigen menjadi sel efektor, yang berfungsi menyingkirkan antigen (Kresno, 2001). Setelah terjadi pengikatan antigen dengan reseptor antigen sel limfosit, maka sel limfosit akan membelah dan berdiferensiasi menjadi sel efektor dan sel memori (Tizard, 1988). Sel T-sitolitik yang berdiferensiasi mempunyai granula sitoplasmik lebih banyak yang mengandung protein yang berfungsi melisis sasaran. Limfosit B berdiferensiasi menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi (Kresno, 2001). Hasil penelitian yang sama menunjukkan, mekanisme limfosit yang teraktivasi karena pengaruh pemberian rumput laut cokelat *Sargassum* sp. yang dicampurkan dalam pakan. *Sargassum* sp. diketahui memiliki kandungan polisakarida yang diduga sama dengan *Padina* sp. dalam fungsinya sebagai peningkat sistem imun pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*).

Hasil yang tidak berbeda nyata menunjukkan bahwa jumlah limfosit tidak dipengaruhi oleh persentase pemberian fucoidan dan vitamin C. Jumlah sel limfosit dipengaruhi adanya antigen asing sehingga limfosit terstimuli oleh masuknya infeksi yang mempengaruhi jumlah limfosit. Sel limfosit yang teraktivasi oleh imunostimulan dapat meningkatkan aktivitas mitogenik yang diinduksi oleh concanavalin A atau lipopolisakarida dan menghasilkan *macrophage activating factors*. Tizard (1982) menyatakan persentase limfosit disebabkan karena limfosit yang ada pada darah perifer ditarik dari sirkulasi kedalam jaringan yang mengalami kerusakan jaringan, adanya stres yang akan meningkatkan kadar kortisol dalam darah sehingga menyebabkan hilangnya limfosit dalam sirkulasi darah dan organ limfoid. Jumlah limfosit lele dumbo (*Clarias gariepinus*) memiliki kisaran 60,20%-81% (Salasia *et al.*, 2011 dalam Ayuningtyas, 2012). Rata-rata jumlah limfosit pada penelitian berkisar antara 78,70%-81,29%, menandakan bahwa lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dalam penelitian ini masih dalam keadaan sehat.

4. Monosit Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

Monosit adalah sel yang mampu menembus dinding pembuluh darah kapiler dan masuk kedalam jaringan dan berdiferensiasi menjadi sel makrofag. Peran monosit sangat penting sebagai sel fagosit utama untuk menghancurkan berbagai patogen penyerang dan berperan pula sebagai *antigen presenting cells* (APC) yang fungsinya untuk menyajikan antigen kepada sel limfosit (Kresno, 2001). Monosit berada didalam darah sekitar 40 jam dan dapat hidup di jaringan dalam beberapa bulan. Hasil pengamatan persentase monosit pada lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan penambahan ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) dan vitamin C yang diberikan selama 16 hari tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Monosit Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Setelah Pemberian Pakan dengan Penambahan Ekstrak Rumput Laut Cokelat (*Padina* sp.) yang Dicampur Vitamin C dengan Berbagai Dosis

Perlakuan	H-0	H-4	H-8	H-12	H-16
P1	10.57 ± 0.71	10.67 ± 0.32	10.98 ± 0.43 ^a	10.39 ± 0.71 ^a	10.27 ± 1.10 ^a
P2	10.66 ± 0.51	10.29 ± 0.16	10.77 ± 0.78 ^a	10.70 ± 1.15 ^a	10.64 ± 0.83 ^a
P3	10.86 ± 0.45	8.21 ± 0.90	10.23 ± 0.76 ^b	6.69 ± 1.06 ^b	6.92 ± 0.59 ^b
P4	10.51 ± 0.71	10.27 ± 0.7	10.48 ± 0.80 ^a	10.50 ± 0.96 ^a	10.35 ± 0.52 ^a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf superscript yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada uji DMRT dengan taraf uji 5%, P1: 3000 mg ekstrak/kg pakan, P2: 2250 mg ekstrak dan 750 mg vitamin C/pakan, P3: 1500 mg ekstrak dan 1500 mg vitamin C/pakan, P4: 750 mg ekstrak dan 2250 mg vitamin C/pakan.

Berdasarkan Tabel 3 nilai monosit yang diperoleh menunjukkan pengaruh yang nyata pada hari ke-8, ke-12, dan ke -16. Sedangkan untuk pengaruh yang tidak berbeda nyata ditunjukkan pada hari ke-0 dan ke-4. Hasil berbeda nyata menunjukkan bahwa penambahan ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) yang memiliki senyawa polisakarida kompleks yang berperan sebagai imunostimulan dapat meningkatkan jumlah monosit yang relatif tinggi pada P2. Kemudian didukung dengan adanya vitamin C yang berperan sebagai stimulan untuk sistem pertahanan tubuh dan meningkatkan kekebalan non spesifik. Meningkatnya jumlah monosit mengindikasikan bahwa sel ini diproduksi untuk melakukan perannya sebagai makrofag dan imunostimulan (Brown, 1987). Monosit berperan sebagai makrofag dan banyak dijumpai pada daerah yang mengalami kerusakan jaringan atau infeksi (Dellman & Brown, 1989).

Jumlah monosit yang rendah menunjukkan bahwa konsentrasi pemberian ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) yang dicampur vitamin C dalam pakan tidak berpengaruh terhadap jumlah presentase monosit. Rendahnya presentase jumlah monosit terjadi karena monosit meninggalkan pembuluh darah perifer menuju daerah yang mengalami kerusakan jaringan atau terinfeksi. Pendapat tersebut didukung oleh pernyataan Irianto (2005), bahwa peredaran monosit dalam darah menjadi lebih singkat, pematangan monosit menjadi makrofag lebih cepat dan segera menuju ke jaringan yang rusak. Jumlah monosit ikan berkisar antara 6,65%-29,20% (Salasia *et al.*, 2001 dalam Ayuningtyas, 2012). Rata-rata jumlah monosit pada penelitian ini berkisar antara 6,69%-10,98%, menandakan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diamati masih dalam keadaan normal. Monosit selanjutnya berperan dalam aktivitas fagositosis setelah berada di jaringan.

5. Kualitas Air

Kualitas air merupakan faktor penting dalam budidaya ikan karena digunakan untuk kelangsungan hidupnya. Kualitas air ini dapat diketahui dengan melakukan pengukuran pH dan oksigen terlarut atau DO (*Disolved oxygen*) dan parameter fisika yaitu suhu. Kisaran nilai parameter kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata Kualitas Air Selama Penelitian

Perlakuan	Kualitas Air		
	Suhu (°C)	pH	Oksigen terlarut (ppm)
P1	26,7 – 27,2	7,1 – 7,2	8,0-10,4
P2	26,7 - 27,2	7,1-7,0	8,2-10,3
P3	26,7 – 27,2	7,1 – 7,2	8,0-10,4
P4	26,7 – 27,2	7,1 – 7,0	7,2-8,7

Parameter pendukung kualitas air yang diamati adalah suhu, pH, dan DO. Hasil pengukuran suhu air selama penelitian yaitu 26,7 – 27,2°C, pH 7,1 – 7,2, dan DO 7,2 – 10,4 ppm.

6. Suhu

Suhu merupakan salah satu sifat fisik yang mempengaruhi nafsu makan dan pertumbuhan. Suhu juga mempengaruhi proses metabolisme dalam tubuh ikan dan mempengaruhi kadar oksigen terlarut dalam air. Suhu yang ideal untuk budidaya lele

dumbo (*C. gariiepinus*) adalah 25 – 30°C, diatas suhu tersebut nafsu makan berkurang. Tingginya suhu air dapat menyebabkan meningkatnya aktivitas metabolisme dari organisme yang ada, menyebabkan kandungan gas terlarut berkurang. Sedangkan rendahnya kandungan gas terlarut dalam air dalam waktu yang lama dapat menyebabkan lele dumbo lemas dan mati. Kisaran suhu saat penelitian ini berkisar 26,7 - 27,2°C, berarti masih dalam kisaran suhu optimum untuk budidaya lele dumbo.

7. Derajat Keasaman (pH)

Besarnya pH suatu perairan adalah besarnya konsentrasi ion hidrogen yang terdapat didalam perairan tersebut. Dengan kata lain, nilai pH suatu perairan akan menunjukkan apakah air bereaksi asam atau basa. Secara ilmiah, pH perairan dipengaruhi oleh konsentrasi CO₂ dan senyawa-senyawa yang bersifat asam. pH yang baik untuk pertumbuhan lele dumbo antara 6,5-9,0. pH kurang dari 5 sangat tidak baik untuk kehidupan lele dumbo, dapat menyebabkan penggumpalan lendir pada insang dan kematian. Sedangkan untuk pH diatas 9 dapat menghambat pertumbuhan, karena menyebabkan nafsu makan menjadi berkurang (Murhananto, 2002). Kisaran pH pada saat penelitian antara 7,1 – 7,2, menunjukkan pH masih dalam kisaran normal.

8. Oksigen Terlarut DO (Disolved Oxygen)

Oksigen terlarut dalam air diperlukan oleh ikan untuk pernafasan dan proses pembakaran untuk dapat menjalankan aktivitasnya seperti berenang, pertumbuhan, dan reproduksi (Kordi, 2004). Kandungan O₂ yang terlalu tinggi menyebabkan timbulnya gelembung-gelembung pada jaringan tubuh lele dumbo, dan sebaliknya penurunan O₂ secara tiba-tiba dapat menyebabkan kematian (Najiyanti, 2001). Kisaran DO normal untuk budidaya yaitu 5 – 7 mg/l atau ppm (Ghufran, 2010). Kisaran oksigen terlarut DO pada saat penelitian antara 7,2 – 10,4 ppm, berada diatas kondisi optimum untuk budidaya lele dumbo.

KESIMPULAN

Penambahan ekstrak rumput laut cokelat (*Padina* sp.) yang dicampur dengan vitamin C dalam pakan sebagai imunostimulan dapat meningkatkan respon imun non-spesifik lele dumbo (*C. gariiepinus*) baik persentase hematokrit maupun differensial leukosit limfosit dan monosit di dalam sirkulasi darahnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Y., 2008. Efektivitas Ekstrak Daun Paci-Paci *Leucas Lavandulaefolia* Untuk Pencegahan dan Pengobatan Infeksi Penyakit Mas Motile Aeromonad Septicaemia Ditinjau Dari Patologi makro Dan Hematologi Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. *Skripsi* .Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Bogor: IPB
- Anderson, D.P. & G.L Rumsey, 1995. Injection or Immersion Delivery of Selected Immunostimulants to Trout Demonstrate Enhancement of Non Specific Defence Mechanisms And Protective Immunity 413-426 In M. Sharif, J.R. Arthur & R.P. Subangsihe (Eds.), Disease in Asian Aquaculture II. *Proceeding of Second Symposium on Diseases in Asian Aquaculture*. 25-29th October 1993. FHS-AFS.
- Amlacher, E., 1970. *Textbook of fish disease*. Publication Nepture City. New Jersey. USA.
- Ayuningtyas, 2006. Pengaruh Fucoidan dari *Turbinaria* sp. Terhadap Pertahanan Nonspesifik Nila (*Oreochromis* sp.) *Skripsi*. Yogyakarta. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada.

- Bachtiar, S.Y., W. Tjahjaningsih & N. Sianita, 2012. Pengaruh Ekstrak Alga Coklat (*Sargassum* sp.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherchia coli*. *Journal of Marine and Coastal Science* 1(1) : 53-60.
- Brown, E.M., 2006. Darah dan Sumsum Tulang. Di dalam: H-Dieter Dellman dan Ester Brown, penerjemah: Hartono, R. *Buku Teks Histologi Veteriner*. Jakarta 1987. UI Press. 108-143
- Castro, R, I. Zarra, & J. Lamas, 2006. Water-soluble Extracys Modulate The Respiratory Burst Activity of Turbot Phagocytes. *Aquaculture* 229: 67-78.
- Dellman, H.D. & E.M, Brown, 1989. *Buku teks histologi veteriner*. I. Hartono (penerjemah). Jakarta : UI Press 1989
- Irianto, A., 2005. *Patologi Ikan Teleostei*. Yogyakarta : Gajah Mada University Press.
- Kementrian Kelautan dan Perikanan, 2013. Direktorat Jendral Perikanan Budidaya Jakarta. Laporan Tahunan Direktorat Produksi Tahun 2013. Surabaya. Diakses dari www.djpb.kkp.go.id (6 januari 2018).
- Kordi , K. 2004. *A to Z Budi Daya Biota Akuatik untuk Pangan, Kosmetik dan Obat-obatan*. Yogyakarta: Penerbit Abadi.
- Kresno, S.B., 2001. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi Ketiga. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia.
- Kim, Y.J, K.J. Kyung, J.H. Lee & H.Y. Chung, 2004. 4,4'-Dihydroxybiphenyl as a new potent tryrosinase inhibitor. *Jurnal Biol Pharm Bull* 28 (2): 323-327.
- Lagler, KF., J.E. Bardach, R.R. Miller & D.R.M. Passino, 1977. *Ichthyology*. New York. Jhon Willey and Sons, Inc. 1977
- Murhananto, 2002. *Pembesaran Lele Dumbo di Pekarangan*. Tangerang : PT Agromedia Pustaka.
- Navarre, O. & J.E. Halver, 1989. Disease Resistence and Humoral Antibody Production in Rainbow Trout Fed High Levels of Vitamin C. *Journal Disease Resistence and Humoral Antibody* 79:207-221.
- Parelberg, A., A. Ronen., M. Hutoran., Y. Smith & M. Kotler, 2005. Protectionof cultured *Cyprinus carpio* disease by an attenuated virus vaccine. *J. Vaccine* 23:3396-3403.
- Ratetondok, A., 2002. Pengaruh Imunostimulan Glucan dan Lipopolisakarida terhadap respon imun dan sintasan udang windu (*Panaeus monodon* Fab). *Disertasi*. Program Pascasarjana. Makassar. Universitas Hasanuddin.
- Siregar, Y.I & Adelina, 2009. Pengaruh Vitamin C terhadap peningkatan hemoglobin (Hb) darah dan kelulushidupan benih ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). *Jurnal Nature Indonesia XXI* (1):75-81
- Salasia, S.I.O., D. Sulanjari & A. Ratnawati, 2001. Studi hematologi ikan air tawar. *Jurnal Biologi II*(12):710-723
- Sarono, A., Kamiso, K.H. Lelono, I.W.Y.B. Widodo, N. Thaib & E.B.S. Hariyanto, 1993. *Hama dan penyakit ikan karantina golongan bakteri buku 2*. Yogyakarta: Kerjasama Pusat Karantina Pertanian dan Fakultas Pertanian Jurusan Perikanan UGM
- Syakuri, H., Triyanto & K.H. Nitimulyo, 2003. Perbedaan daya tahan non spesifik lima spesies ikan air tawar terhadap infeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan Universitas Gajah Mada* 5(2):1-10

- Tayag, C.M, Y.C. Lin, C.C. Li, C.H, Liou & J.C, Chen, 2010. Administration of the hot water extract of *Spirulina platensis* enhanced the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology* 28: 764-773.
- Tizard, I., 1988. *An introduction to veterinary immunology*. Second Ed. WB. Philadelphia: Saunders Company
- Utami, H., 2009. Pengaruh perendaman rumput laut *Sargassum* sp. dengan HCl terhadap ekstraksi Natrium Alginat. <http://digilib.unila.ac.id>. diakses 12 Januari 2018.