

PENGARUH PENAMBAHAN BAHAN-BAHAN IMUNOSTIMULAN DALAM FORMULASI PAKAN BUATAN TERHADAP RESPON IMUNITAS DAN PERTUMBUHAN IKAN KERAPU BEBEK, *Cromileptes altivelis*

Effect of Enriched Feed by Immunostimulant on Immune Response and Growth of Humpback Grouper, *Cromileptes altivelis*

M.A. Suprayudi, L. Indriastuti dan M. Setiawati

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

ABSTRACT

Humpback grouper, *Cromileptes altivelis* is susceptible to low quality of environmental condition so that it is vulnerable to bacterial infection. One of the methods to solve this problem is improvement of nutrition by using immune response present in fish body. Supplementation of immunostimulant in the diet may increase immune response of humpback grouper regarding to unsuitable environment condition and bacterial infection. Humpback grouper in average weight of 24.6 ± 0.05 g were reared in a density of 10 fish per aquarium for 34 days. Diet was supplemented with 4 g yeast per kg diet (diet A), 0.1 g vitamin C per kg diet (diet B), 2.5 g β -glucan (diet C), chromium-yeast 0,015 g/kg diet (diet D) and no supplementation (diet E) as control. Blood performance was analyzed after challenging test with *Vibrio parahaemolyticus*. The result of study indicated that immunostimulant supplementation increased leucocytes population during salinity stress test. Supplementation of chromium-yeast in the diet increased resistant of humpback grouper to *Vibrio parahaemolyticus* infection.

Keywords: immunostimulant, humpback grouper, *Cromileptes altivelis*

ABSTRAK

Ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* sangat rentan dengan kondisi lingkungan yang buruk sehingga mudah terinfeksi bakteri. Salah satu cara untuk mengatasi masalah tersebut adalah perbaikan nutrisi dengan memanfaatkan respon imun yang terdapat pada tubuh ikan. Penambahan bahan-bahan imunostimulan pada formulasi pakan buatan diharapkan dapat meningkatkan respon imunitas ikan kerapu bebek terhadap lingkungan yang tidak mendukung dan infeksi bakteri. Ikan kerapu bebek dengan bobot rata-rata $24,6 \pm 0,05$ g dipelihara dengan kepadatan 10 ekor/akuarium selama 34 hari. Pakan yang diberikan berupa pelet dengan tambahan beberapa bahan imunostimulan yaitu 4 g/kg ragi komersial (pakan A), 0,1 g/kg vitamin C (pakan B), 2,5 g/kg β -glukan (pakan C), kromium-yeast 0,015 g/kg (pakan D) dan tanpa penambahan bahan (pakan E) sebagai pembanding. Gambaran darah dianalisis setelah dilakukan uji tantang dengan *Vibrio parahaemolyticus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan bahan-bahan imunostimulan tersebut ternyata mampu meningkatkan populasi leukosit selama uji stres salinitas. Pemberian kromium-yeast dalam pakan meningkatkan daya tahan ikan kerapu bebek terhadap serangan *Vibrio parahaemolyticus*.

Kata kunci: imunostimulan, kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*

PENDAHULUAN

Sebagai salah satu jenis ikan karang yang paling populer dan sangat digemari konsumen, ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* mempunyai harga cukup tinggi di pasar lokal maupun internasional. Keberhasilan budidaya ikan kerapu antara lain dipengaruhi oleh ketepatan manajemen

pakan, manajemen kualitas air dan ketepatan dalam pengendalian penyakit. Salah satu hambatan dalam budidaya ikan kerapu bebek adalah sangat rentan dengan kondisi lingkungan yang buruk sehingga mudah terinfeksi bakteri. Berdasarkan kondisi tersebut, salah satu cara untuk meningkatkan produksi kerapu adalah dengan meningkat-

kan daya tahan tubuh dan menekan perluasan penyakit pada tubuhnya.

Pada kegiatan budidaya ikan, metode yang sering digunakan untuk menangani infeksi patogen adalah penggunaan antibiotik dan kemoterapeutik secara terbatas. Namun, selain memiliki efektivitas rendah dan mahal, penggunaan bahan-bahan kimia dapat menyebabkan akumulasi di lingkungan dan atau dalam tubuh ikan yang secara potensial dapat mengancam kesehatan konsumen serta lingkungan. Strategi alternatif yang dapat diterapkan adalah pengaturan nutrisi dengan memanfaatkan respon imun dan resistensi penyakit yang terdapat pada tubuh ikan. Beberapa bahan imunostimulan seperti ragi, vitamin C, β -glukan, dan kromium-yeast telah terbukti secara positif berpengaruh terhadap respon non spesifik pada sistem imun beberapa jenis ikan (Verlhac et al, 1996; Li dan Gatlin, 2003; Lin dan Shiau, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan bahan-bahan imunostimulan (ragi komersial, vitamin C, β -glukan dan kromium-yeast) pada formulasi pakan buatan dalam meningkatkan respon imunitas dan pertumbuhan ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* yang diuji terhadap kondisi stres salinitas dan infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* ditinjau melalui gambaran darahnya.

BAHAN DAN METODE

Wadah dan media penelitian

Wadah yang digunakan adalah akuarium berukuran 60cm x 40cm x 50cm dan bak filter. Keseluruhan akuarium merupakan bagian dari sistem resirkulasi. Setiap akuarium diberi aerasi secara terus menerus selama 24 jam. Wadah tersebut diisi dengan air laut dengan salinitas 30 - 32 ppt sampai setinggi \pm 80% dari tinggi total akuarium. Pada bak filter digunakan pemanas air untuk menjaga suhu pada kisaran 28 - 30 $^{\circ}$ C. Pengaturan dan penempatan wadah perlakuan dilakukan secara acak.

Pakan uji

Pakan yang diberikan adalah pakan buatan dalam bentuk pelet kering yang diperkaya dengan bahan imunostimulan berupa ragi komersial, β -glukan, vitamin C, dan kromium-yeast. Perlakuan yang digunakan adalah :

1. Perlakuan A : Pakan uji ditambah ragi komersial sebanyak 4 g/kg pakan.
2. Perlakuan B : Pakan uji ditambah vitamin C sebanyak 0,1 g/kg pakan.
3. Perlakuan C : Pakan uji ditambah β -glukan sebanyak 2,5 g/kg pakan.
4. Perlakuan D : Pakan uji ditambah kromium-yeast sebanyak 0,015 g/kg pakan.
5. Perlakuan E : Pakan komersial, sebagai pembanding.

Bahan penyusun yang digunakan dalam pembuatan pakan uji adalah tepung ikan, tepung tulang dan daging, tepung udang, tepung marus, tepung bungkil kedelai dan tepung *pollard* sebagai sumber protein dan karbohidrat, serta minyak cumi dan minyak ikan sebagai sumber lemak. Sebelum dilakukan pembuatan pakan, bahan penyusun pakan dianalisis proksimat dengan metode AOAC (1984) dalam Takeuchi (1988). Pakan uji yang dihasilkan dianalisis proksimat kembali untuk mengetahui kandungan nutrisi pada setiap pakan uji. Komposisi pakan uji dan pemilihan bahan penyusun pakan didasarkan atas kebutuhan dasar nutrisi ikan kerapu.

Komposisi pakan uji mempunyai kadar protein 48,49%, karbohidrat 12,46%, lemak 19,15%, rasio kalori : protein 9,5 kkal GE/gram protein dan energi dapat dicerna sebesar 4580 kkal GE/100 gram pakan. Sementara pakan komersial mempunyai kadar protein 52%, karbohidrat 11%, lemak 14%, rasio kalori : protein 9 kkal GE/gram dan energi dapat dicerna sebesar 4690 kkal GE/100 gram pakan.

Pemeliharaan ikan dan pengumpulan data

Ikan uji, yaitu ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* yang berbobot awal rata-rata $24,6 \pm 0,05$ gram diadaptasikan terhadap kondisi lingkungan penelitian dengan memberikan pakan komersial

sebanyak 3 kali/hari. Setelah 7 hari masa adaptasi, ikan dipuasakan selama 24 jam untuk menghilangkan sisa pakan dalam saluran pencernaan dan ditimbang. Pemberian pakan sesuai perlakuan dilakukan secara *at satiation* sebanyak 3 kali/hari yakni pada pukul 07.00, 12.00, dan 17.00 WIB.

Untuk menjaga kualitas air, dilakukan penyiphonan dua kali dalam sehari dan penggantian air setiap hari sebanyak 25 – 50 % dari total volume akuarium. Penggantian air pada bak filter dilakukan 2 hari sekali. Hasil analisis kualitas air selama penelitian menunjukkan masih berada dalam kisaran yang layak untuk mendukung kehidupan ikan kerapu, yaitu suhu antara 28 – 30 °C, nilai pH antara 7,25 – 8,25 dan kandungan TAN antara 0,182 – 0,404 ppm. Salinitas air pemeliharaan berkisar antara 30 – 32‰.

Pemeliharaan ikan dilakukan selama 34 hari. Sampling dilakukan pada awal dan akhir penelitian dengan cara menimbang bobot ikan dan menghitung bobot biomassa pada masing-masing perlakuan. Pada akhir perlakuan diambil sampel ikan untuk dianalisis proksimat guna mengetahui komposisi tubuh ikan untuk menghitung retensi protein dan retensi lemak.

Uji stres salinitas dilakukan dengan memaparkan ikan pada air media dengan salinitas 0‰ (air tawar) selama satu jam dan diamati gejala klinis eksternal ikan pada saat pemaparan serta tingkah laku dan respon nafsu makan ikan pasca pemaparan. Infeksi bakteri dilakukan dengan memaparkan ikan secara langsung dengan agen penyakit melalui penyuntikan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan konsentrasi 10^4 cfu/ml. Untuk menganalisis gambaran darah dan indeks fagositosis dilakukan pengambilan sampel darah pada awal dan akhir perlakuan dan dilakukan lagi setelah ikan diuji tantang.

Parameter uji

1. Survival Rate (SR)

Tingkat kelangsungan hidup dihitung berdasarkan persamaan (Zonneveld *et al.*, 1991) :

$$SR (\%) = \frac{\sum \text{ikan akhir}}{\sum \text{ikan awal}} \times 100\%$$

2. Konsumsi Pakan (KP)

Konsumsi pakan dihitung dengan cara menimbang total pakan yang dikonsumsi ikan selama perlakuan pemberian pakan.

3. Laju Pertumbuhan Harian (PH)

Laju pertumbuhan harian dihitung berdasarkan persamaan (NRC, 1977) :

$$PH (\%) = \left(\sqrt[t]{\frac{W_t}{W_0}} - 1 \right) \times 100\%$$

Keterangan :

W_t = bobot rata-rata individu pada waktu t (gram)

W_0 = bobot rata-rata individu pada waktu awal (gram)

t = waktu pemeliharaan (hari)

4. Efisiensi Pakan (EP)

Nilai efisiensi pakan dihitung berdasarkan persamaan (NRC, 1983) :

$$EP (\%) = \frac{[W_t + W_d] - W_0}{F} \times 100\%$$

Keterangan :

W_t = bobot total ikan pada akhir pemeliharaan (gram)

W_0 = bobot total ikan pada awal pemeliharaan (gram)

W_d = bobot total ikan yang mati selama pemeliharaan (gram)

F = jumlah pakan yang diberikan (gram)

5. Retensi Protein (RP)

Nilai retensi protein dihitung berdasarkan persamaan (Takeuchi, 1988) :

$$RP (\%) = \frac{F - I}{P} \times 100\%$$

Keterangan:

F = jumlah protein tubuh pada akhir pemeliharaan

I = jumlah protein tubuh pada awal pemeliharaan

P = jumlah protein yang dikonsumsi ikan

6. Retensi Lemak (RL)

Nilai retensi lemak dihitung berdasarkan persamaan (Takeuchi, 1988) :

$$RL (\%) = \frac{F - I}{L} \times 100\%$$

Keterangan:

F = jumlah lemak tubuh pada akhir pemeliharaan

I = jumlah lemak tubuh pada awal pemeliharaan

L = jumlah lemak yang dikonsumsi ikan

7. Gambaran Darah

Parameter gambaran darah yang diamati adalah total leukosit, diferensial leukosit (jumlah limfosit, monosit, neutrofil, dan trombosit), total eritrosit, kadar hematokrit, dan kadar hemoglobin.

8. Indeks Fagositosis

Indeks fagositosis dihitung berdasarkan persamaan (Anderson dan Siwicki, 1993):

$$\text{Indeks Fagositosis (\%)} = \frac{\sum \text{sel yang melakukan aktifitas fagositosis}}{\sum \text{sel yang diamati}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perlakuan pakan

Penambahan bahan-bahan imunostimulan dalam formulasi pakan buatan tidak berpengaruh nyata terhadap nilai nutrisi pakan uji yang diberikan pada ikan kerapu bebek (Tabel 1). Pemberian pakan uji dengan penambahan bahan-bahan imunostimulan tidak berpengaruh secara nyata terhadap *survival rate*, jumlah konsumsi pakan, dan laju pertumbuhan harian bila dibandingkan dengan pemberian pakan komersial.

Pemberian pakan uji dengan penambahan bahan-bahan imunostimulan mampu mengimbangi pakan komersial dalam mempertahankan kelangsungan hidup ikan kerapu bebek hingga akhir pemeliharaan yaitu pada kisaran 86,67 - 96,67 %. Nilai ini tidak berbeda nyata dengan kelangsungan hidup ikan kerapu bebek yang diberi pakan komersial yaitu sebesar $93,33 \pm 5,77$ %. Kematian yang terjadi pada tiap perlakuan sangat rendah dan tidak dipengaruhi oleh pemberian pakan uji dengan penambahan bahan-bahan imunostimulan.

Jumlah konsumsi pakan yang tidak berbeda nyata antar perlakuan menunjukkan bahwa penambahan bahan imunostimulan dalam formulasi pakan tidak mempengaruhi atraktan pakan. Laju pertumbuhan harian

ikan kerapu bebek rata-rata sebesar 1,50 - 1,69 %. Hasil ini menunjukkan bahwa nutrisi yang terkandung dalam pakan uji dapat memenuhi kebutuhan dasar dan pertumbuhan ikan kerapu bebek. Kromium-yeast yang ditambahkan pada pakan uji mampu memberikan laju pertumbuhan harian yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya, meskipun tidak berbeda nyata. Meningkatnya konsentrasi dan sensitifitas insulin dan faktor pertumbuhan akibat suplementasi kromium diduga dapat memacu terjadinya proses-proses anabolisme dalam tubuh sehingga meningkatkan pertumbuhan.

Nilai retensi protein perlakuan pakan uji yang ditambah kromium-yeast lebih tinggi dibanding dengan perlakuan lain. Hal ini mengindikasikan kemampuan kromium dalam stabilisasi protein tubuh. Kromium dalam bentuk trivalen (Cr^{+3}) menjadi esensial untuk aktivitas enzim tertentu, stabilisasi protein dan asam nukleat (NRC, 1997). Aktivitas kromium secara biologis dapat terjadi karena bentuk kompleksnya dengan asam nikotinat dan asam amino untuk membentuk komponen organik faktor toleransi glukosa (*glucose tolerance factor*, GTF). Fungsi utama kromium sebagai GTF berkaitan dengan insulin, dan kemampuan aktivitas kromium juga bergantung pada insulin. Kromium berfungsi dalam pengambilan glukosa pada tingkat seluler, metabolisme karbohidrat dan lemak (NRC, 1997). Keterlibatan kromium dalam metabolisme protein dan metabolisme asam nukleat, serta dalam meningkatkan stimulasi inkorporasi asam amino ke dalam protein hati merupakan peran kromium dalam meningkatkan laju pertumbuhan dan retensi protein. Sementara retensi lemak tertinggi didapat pada perlakuan pakan komersial. Hal ini diakibatkan oleh tingginya kadar lemak dalam pakan yang berimplikasi pada lemak tubuh ikan akhir.

Pengaruh pemberian pakan uji dengan penambahan bahan-bahan imunostimulan selama pemeliharaan ikan kerapu bebek dapat dilihat dari efisiensi pakannya. Efisiensi pakan uji dengan penambahan bahan-bahan imunostimulan berkisar antara 61,10 - 69,63%, sedangkan efisiensi pakan komersial mencapai $88,61 \pm 5,64$ %.

Perbedaan tersebut diduga akibat perbedaan komposisi dan nilai nutrisi antara pakan uji yang ditambah bahan-bahan imunostimulan dengan pakan komersial. Kandungan protein pakan komersial (51,43%) lebih tinggi dibandingkan pada pakan uji yang ditambah bahan-bahan imunostimulan (48,23%).

Total leukosit yang dihitung setelah perlakuan pemberian pakan uji dengan penambahan bahan-bahan imunostimulan berkisar antara $2,14 \times 10^4$ – $2,55 \times 10^4$ sel/mm³. Total leukosit yang lebih tinggi didapat pada perlakuan pakan komersial ($2,75 \times 10^4$ sel/mm³) dan ragi komersial ($3,49 \times 10^4$ sel/mm³). Nilai-nilai ini mengindikasikan bahwa ikan yang diberi imunostimulan memiliki kondisi kesehatan lebih baik dibandingkan tanpa pemberian imunostimulan. Evenberg *et al.* (1986) menyatakan bahwa peningkatan aktivitas leukosit dapat mengindikasikan adanya infeksi.

Stres salinitas

Pemberian pakan uji dengan penambahan bahan-bahan imunostimulan mampu meningkatkan populasi leukosit selama uji stres salinitas. Peningkatan jumlah total leukosit ini merupakan respon dari ikan untuk mempertahankan hidupnya dari perubahan kondisi lingkungan. Respon ini diberikan ikan untuk menambah daya tahan tubuhnya dengan meningkatkan jumlah leukosit yang mempunyai fungsi sebagai sel

pertahanan. Peningkatan total leukosit tertinggi yang didapat pada perlakuan pakan uji yang ditambah vitamin C menunjukkan bahwa vitamin C dapat meningkatkan ketahanan tubuh ikan terhadap stres salinitas. Menurut Moyle dan Cech (1988) *dalam* Putri (2003) leukosit berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh ikan yang bereaksi terhadap gangguan dari luar, dalam hal ini perubahan salinitas. Tingginya populasi leukosit selama stres salinitas seiring dengan jumlah limfosit dan neutrofil yang ditemukan dalam darah. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian pakan uji yang ditambah vitamin C dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh inang pada saat terjadinya stres salinitas.

Selama pemaparan salinitas 0‰, total rata-rata eritrosit ikan kerapu bebek mengalami peningkatan. Peningkatan terbesar terdapat pada perlakuan pakan komersial, yaitu dari $1,28 \times 10^6$ sel/mm³ menjadi $2,88 \times 10^6$ sel/mm³. Fluktuasi total eritrosit pada perlakuan ini sangat tinggi sehingga dapat disimpulkan ikan-ikan pada perlakuan pakan komersial mengalami kondisi stres akut. Menurut Wedemeyer (1996), perubahan dalam jumlah total eritrosit disebabkan stres yang bersifat akut dan dapat mengindikasikan adanya hemodilusi atau hemokonsentrasi. Sementara pada perlakuan pemberian pakan uji dengan penambahan bahan-bahan imunostimulan jumlah eritrosit selama uji stres salinitas cenderung normal dan stabil.

Tabel 1. *Survival rate* (SR), jumlah konsumsi pakan (KP), laju pertumbuhan harian (PH), efisiensi pakan (EP), retensi protein (RP), dan retensi lemak (RL)

Parameter	Perlakuan (imunostimulan)				
	A (ragi komersial)	B (vitamin C)	C (β-glukan)	D (kromium-yeast)	E (pakan komersial)
SR (%)	96,67 ± 5,77 ^a	96,67 ± 5,77 ^a	90,00 ± 10,00 ^a	86,67 ± 5,77 ^a	93,33 ± 5,77 ^a
KP (gr)	220,50 ± 31,19 ^a	236,03 ± 17,07 ^a	220,97 ± 16,59 ^a	229,30 ± 38,26 ^a	242,13 ± 16,40 ^a
PH (%)	1,56 ± 0,15 ^a	1,50 ± 0,05 ^a	1,68 ± 0,17 ^a	1,69 ± 0,07 ^a	1,67 ± 0,11 ^a
EP (%)	69,63 ± 6,82 ^a	61,39 ± 5,71 ^a	62,49 ± 2,01 ^a	61,10 ± 8,03 ^a	88,61 ± 5,64 ^b
RP (%)	10,57 ± 0,53 ^a	12,26 ± 0,49 ^b	12,09 ± 0,30 ^b	14,39 ± 0,18 ^c	13,03 ± 0,78 ^b
RL (%)	18,99 ± 0,17 ^a	22,27 ± 0,38 ^b	19,24 ± 0,41 ^a	21,35 ± 1,01 ^b	26,86 ± 0,23 ^c

Ket: Huruf superscript dibelakang nilai standar deviasi yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan pengaruh perlakuan yang berbeda nyata ($P \leq 0.05$) pada selang kepercayaan 95%.

Peningkatan total eritrosit juga diikuti oleh tingginya kadar hemoglobin dan hematokrit pada jam ke-0 yang menandakan kemampuan ikan dalam mengikat oksigen untuk melakukan metabolisme dalam menghasilkan energi tinggi. Namun kadar hemoglobin dan hematokrit yang didapat pada perlakuan pemberian pakan uji yang ditambah ragi komersial pada jam ke-0 dan pakan uji yang ditambah β -glukan pada jam ke-1 menunjukkan nilai yang lebih tinggi dari perlakuan lain. Hal ini diduga karena pada kedua perlakuan ini banyak ditemukan eritrosit muda (polikromatosit). Menurut Nabib dan Pasaribu (1989), pada umumnya eritrosit muda berukuran lebih besar dan lebih bundar. Sehingga volume padatan sel eritrosit muda akan menjadi tinggi dibanding sel darah yang normal.

Selama uji stres salinitas, ikan dengan perlakuan pemberian pakan uji yang ditambah vitamin C menunjukkan gejala klinis eksternal paling ringan tanpa kerusakan fisik yang berarti. Hal ini memperkuat pendapat Hornig *et al.* (1985) dalam Makatutu (2002) bahwa vitamin C berperan dalam proses penyembuhan luka dan peningkatan kemampuan tubuh untuk menghadapi stres akibat perubahan lingkungan. Vitamin C yang ditambahkan dalam formulasi pakan uji diduga cukup sebagai cadangan untuk memenuhi

kebutuhan dalam mensintesis adrenalin dan memproduksi katekolamin yang akan memacu hati dalam memproduksi glukosa sebagai sumber energi pada saat terjadi stres. Sehingga kecepatan pulih ke kondisi normal setelah dipapar pada kondisi stres salinitas pada ikan yang diberi pakan yang ditambah vitamin C lebih cepat dibandingkan dengan ikan-ikan perlakuan lainnya.

Infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Penyuntikan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* sebesar 10^4 cfu/ml tidak menyebabkan kematian ikan kerapu bebek selama 70 jam pengamatan pasca infeksi. Namun, dari hasil uji tantang bakteri ini menunjukkan pemberian kromium-yeast mampu meningkatkan ketahanan tubuh ikan. Hal ini terlihat dari peningkatan total leukosit yang tinggi hingga 70 jam pasca infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Pada perlakuan pakan uji yang ditambah vitamin C terjadi peningkatan total leukosit pada jam ke-24 sebesar $0,51 \times 10^4$ sel/mm³ (20 %) dan pada jam ke-70 turun sebesar $0,62 \times 10^4$ sel/mm³ (20,26%). Pola yang sama juga terlihat pada total leukosit yang terhitung pada perlakuan pakan komersial, yaitu pada jam ke-24 meningkat sebesar $0,74 \times 10^4$ sel/mm³ (26,91%) dan menurun pada jam ke-70 sebesar $0,41 \times 10^4$ sel/mm³ (11,75%).

Tabel 2. Rataan total leukosit (TL), total eritrosit (TE), kadar hemoglobin (Hb), dan kadar hematokrit (Ht) sebelum (0 jam) dan setelah (1 jam) pemaparan salinitas 0 ‰

Parameter	Kondisi	Perlakuan (imunostimulan)				
		A (ragi komersial)	B (vitamin C)	C (β -glukan)	D (kromium-yeast)	E (pakan komersial)
TL (10^4 sel/mm ³)	0 jam	3,49 \pm 0,71	2,55 \pm 0,19	2,48 \pm 0,69	2,14 \pm 1,08	2,75 \pm 0,31
	1 jam	6,05 \pm 3,44	4,93 \pm 2,02	2,61 \pm 2,83	2,65 \pm 6,21	2,94 \pm 4,43
Perubahan TL (%)		73,35	93,33	5,24	23,83	6,91
TE (10^6 sel/mm ³)	0 jam	1,36 \pm 0,34	1,20 \pm 0,34	1,36 \pm 0,57	1,44 \pm 0,00	1,28 \pm 0,00
	1 jam	2,00 \pm 0,11	2,72 \pm 0,23	2,32 \pm 0,11	2,08 \pm 0,27	2,88 \pm 0,45
Perubahan TE (%)		47,06	126,67	70,59	44,44	125,00
Hb (g %)	0 jam	3,60 \pm 0,77	2,40 \pm 1,70	2,60 \pm 0,30	3,00 \pm 0,12	3,00 \pm 0,55
	1 jam	5,20 \pm 0,15	5,00 \pm 0,05	5,60 \pm 0,17	4,00 \pm 0,00	4,00 \pm 0,11
Perubahan Hb (%)		44,44	108,33	115,38	33,33	33,33
Ht (%)	0 jam	47,06 \pm 1,82	30,19 \pm 1,71	30,19 \pm 2,01	36,36 \pm 2,03	26,92 \pm 1,64
	1 jam	45,61 \pm 2,12	37,04 \pm 0,30	46,30 \pm 1,18	31,48 \pm 0,97	51,85 \pm 0,56
Perubahan Ht (%)		-3,08	22,69	53,36	-13,42	92,61

Sementara pada perlakuan pakan uji yang ditambah kromium-yeast total leukosit terus meningkat pada jam ke-24 dan jam ke-70 masing-masing sebesar $1,59 \times 10^4$ sel/mm³ (74,30%) dan $0,47 \times 10^4$ sel/mm³ (12,60%), yang berarti pada perlakuan penambahan kromium-yeast pada pakan menunjukkan peranan leukosit dalam meningkatkan sistem pertahanan tubuhnya baik. Respon ini diberikan ikan untuk meningkatkan daya tahan tubuhnya, yaitu dengan meningkatkan total leukosit yang mempunyai fungsi sebagai pertahanan. Leukosit merupakan salah satu komponen sel darah yang berfungsi sebagai sel pertahanan non spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminasi patogen melalui proses fagositosis (Fletcher, 1982).

Hasil uji tantang terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* juga menunjukkan total rataan eritrosit tertinggi pada jam ke-0 didapat pada perlakuan pemberian pakan uji yang ditambah kromium-yeast. Nilai rataan eritrosit pada perlakuan ini juga tetap stabil pada jam ke-24 dan ke-70 pasca infeksi. Nilai ini seiring dengan nilai rataan hematokrit dan hemoglobin pada perlakuan pemberian pakan uji dengan penambahan kromium-yeast.

Prosentase limfosit yang ditemukan pada perlakuan penambahan bahan-bahan imunostimulan pada jam ke-24 pasca infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* cenderung menurun pada kisaran 44,3 - 44,8%. Penurunan prosentase limfosit dalam pembuluh darah diduga terjadi karena limfosit tidak aktif. Menurut Angka *et al.* (2004), limfosit setelah ada antigen menjadi aktif dan bereaksi dengan antigen di tempat radang. Prosentase limfosit yang ditemukan pada perlakuan penambahan bahan-bahan imunostimulan pada jam ke-70 kembali meningkat (57,0 - 59,8%). Hal ini diduga karena bahan-bahan imunostimulan mampu menstimulasi populasi dan aktivitas sel limfosit. Antigen yang masuk ke dalam tubuh akan difagosit oleh makrofag, selanjutnya makrofag akan mengirim pesan kepada limfosit yang aktif. Menurut Anderson (1974), limfosit akan membelah diri (proliferasi) dan akan membentuk antibodi. Tingginya jumlah limfosit ini menunjukkan

bahwa penambahan bahan-bahan imunostimulan pada pakan uji dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh terhadap infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Moyle dan Cech (1988) dalam Putri (2003) menjelaskan bahwa limfosit berfungsi sebagai penghasil antibodi untuk kekebalan tubuh dari gangguan penyakit.

Jumlah neutrofil dan monosit yang dihitung pada perlakuan pemberian pakan uji dengan penambahan kromium-yeast terus meningkat pada jam ke-0, ke-24, dan ke-70 pasca infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Peningkatan prosentase monosit ini sesuai dengan fungsi monosit untuk fagositosis. Menurut Fletcher (1982) dan Walczak (1985) dalam Alifuddin (1999), proses fagositosis dapat dilakukan oleh neutrofil dan monosit. Sebagai salah satu jenis sel leukosit yang bersifat fagositosis, neutrofil hanya mampu memfagosit sekali saja dan kemudian mati, berbeda dengan monosit yang mampu memfagosit berulang-ulang (Tizard, 1988). Neutrofil merupakan sel-sel pertama yang meninggalkan pembuluh darah, sel ini mengandung vakuola yang berisi enzim untuk menghancurkan organisme yang dimakannya (Roberts, 1978 dalam Lesmanawati, 2006).

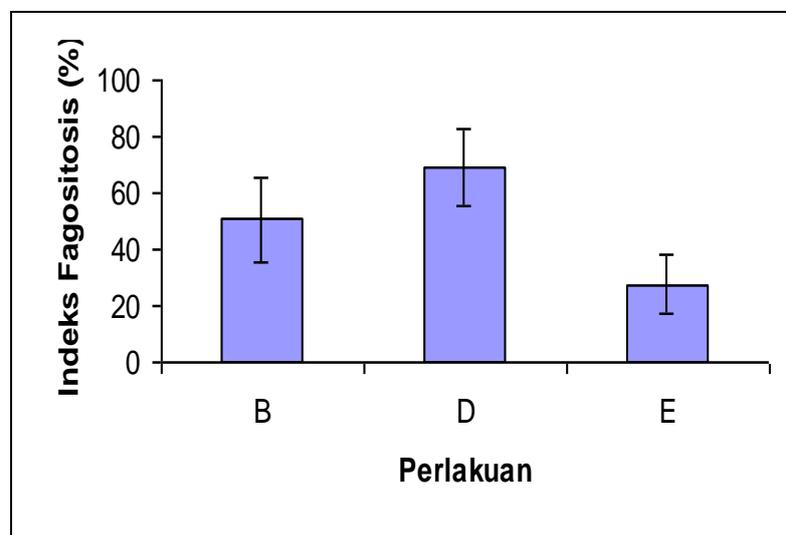
Pada perlakuan pemberian pakan uji yang ditambah kromium-yeast, jumlah monosit mengalami peningkatan hingga jam ke-70 pasca infeksi, menurut Tizard (1988), hal ini menunjukkan aktivitas monosit yang bertahan lama, mampu mengolah antigen sebagai persiapan untuk proses tanggap kebal. Lebih lanjut Delman dan Brown (1989) dalam Putri (2003) menyatakan bahwa monosit berperan sebagai makrofag dan banyak dijumpai pada daerah peradangan atau infeksi, bersama-sama dengan makrofag jaringan setempat memfagositir sisa-sisa jaringan yang hancur dan penyebab-penyakitnya. Pertahanan seluler merupakan pertahanan pertama yang dilakukan melalui aktivitas fagositosis oleh sel makrofag. Aktivitas makrofag ini termasuk dalam sistem imun afferen yang dimulai dengan kontak, seleksi, dan prosesing antigen (penelanan dan penghancuran). Aktivitas fagositosis ini

merupakan langkah awal untuk mekanisme respon imunitas berikutnya yakni terbentuknya respon spesifik yang berupa antibodi (Walczak, 1985 dalam Alifuddin, 1999). Aktivitas fagositosis erat hubungannya dengan pembentukan antibodi, sehingga penurunan aktivitas fagositosis menyebabkan penurunan jumlah antibodi dalam tubuh ikan. Kromium-yeast yang ditambahkan pada pakan terbukti dapat meningkatkan aktivitas fagositosis. Hal ini ditunjukkan pada perlakuan pemberian pakan uji yang ditambah kromium-yeast didapat nilai indeks fagositosis tertinggi ($69,00 \pm 13,63\%$) diantara perlakuan lainnya.

Jumlah trombosit yang diproduksi pada perlakuan pemberian pakan uji yang ditambah kromium-yeast meningkat pada jam ke-24 dan kemudian terjadi penurunan jam ke-70 pasca infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Tingginya trombosit diduga karena peningkatan produksi trombosit, yang menyebabkan pembekuan darah yang lebih cepat. Trombosit yang diproduksi digunakan dalam proses

pembekuan darah untuk mencegah terjadinya pendarahan lebih banyak. Penurunan produksi trombosit pada jam ke-70 menunjukkan adanya proses pemulihan kondisi pasca infeksi. Menurut Nabib dan Pasaribu (1989), pembekuan darah yang lebih cepat disebabkan karena pertambahan trombosit yang beregenerasi seiring dengan pertambahan jumlah eritrosit (*polycythaemia*). Hal ini menunjukkan gejala klinis yang lebih ringan dan waktu penyembuhan yang lebih cepat pada perlakuan pemberian pakan uji dengan penambahan kromium-yeast.

Penambahan kromium-yeast dalam pakan uji mampu menekan sekresi kortisol sehingga ikan menjadi resisten terhadap gangguan dari luar. Secara fisiologis, pencegahan dan resistensi ikan terhadap penyakit diperantarai melalui sisten endokrin, yaitu steroid kortisol. Kromium-yeast diduga dapat meregulasi kadar glukosa dalam darah dan kortisol sebagai gambaran respon imunitas ikan terhadap infeksi bakteri, sehingga pertumbuhan ikan tidak terganggu.



- Ket; B : Ikan uji dengan perlakuan pemberian pakan uji yang ditambah vitamin C sebanyak 100 ppm
 D : Ikan uji dengan perlakuan pemberian pakan uji yang ditambah kromium + yeast sebanyak 1,5 ppm
 E : Ikan uji dengan perlakuan pemberian pakan komersial

Gambar 1. Nilai Rataan Indeks Fagositosis Ikan Kerapu Bebek, *Cromileptes altivelis*

Tabel 3. Rataan total leukosit (TL), total eritrosit (TE), kadar hemoglobin (Hb), dan kadar hematokrit (Ht) 0, 24, dan 70 jam pasca infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Parameter	Kondisi	Perlakuan (imunostimulan)					
		B (vitamin C)		D (kromium-yeast)		E (pakan komersial)	
		Rataan	Δ (%)	Rataan	Δ (%)	Rataan	Δ (%)
TL (104 sel/mm ³)	0 jam	2,55 ± 0,19		2,14 ± 1,08		2,75 ± 0,31	
	24 jam	3,06 ± 0,89	20,00	3,73 ± 1,00	74,30	3,49 ± 1,48	26,91
	70 jam	2,44 ± 0,42	-20,26	4,20 ± 1,60	12,60	3,08 ± 1,36	-11,75
TE (106 sel/mm ³)	0 jam	0,95 ± 0,36		1,86 ± 0,87		1,69 ± 0,20	
	24 jam	1,82 ± 0,41	91,58	1,77 ± 0,98	-4,84	2,78 ± 0,57	64,50
	70 jam	1,68 ± 0,82	-7,69	1,56 ± 0,38	-11,86	1,46 ± 0,43	-47,48
Hb (g %)	0 jam	6,27 ± 0,11		5,70 ± 1,14		4,90 ± 2,97	
	24 jam	3,90 ± 0,10	-37,80	6,15 ± 0,64	7,89	5,90 ± 0,71	20,41
	70 jam	5,05 ± 1,38	29,49	4,80 ± 1,40	-21,95	4,60 ± 0,80	-22,03
Ht (%)	0 jam	22,87 ± 1,48		29,54 ± 3,58		19,98 ± 15,63	
	24 jam	22,99 ± 3,59	0,57	28,43 ± 4,03	-3,76	31,64 ± 1,60	58,36
	70 jam	19,87 ± 6,92	-13,57	18,89 ± 5,90	-33,56	23,13 ± 6,99	-26,90

Ket : Δ (%) = prosentase perubahan nilai rata-rata yang dihitung pada kondisi jam ke-t dengan jam ke-(t-1)

KESIMPULAN

Penambahan 100 ppm vitamin C pada pakan uji dapat meningkatkan respon imunitas ikan kerapu bebek terhadap kondisi stres lingkungan fisik berupa perubahan salinitas. Pemberian kromium-yeast sebanyak 1,5 ppm pada pakan uji memberikan hasil terbaik dalam meningkatkan respon imunitas non spesifik ikan kerapu bebek terhadap kondisi stres lingkungan biologi berupa infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Penambahan bahan-bahan imunostimulan dalam formulasi pakan buatan tidak berpengaruh nyata terhadap nilai nutrisi dan pertumbuhan ikan kerapu bebek.

DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin, M. 1999. Peran imunostimulan (Lipopolisakarida, *Saccharomyces cerevisiae* dan Levamisol) pada gambaran respon imunitas ikan jambal siam (*Pangasius hypthalmus*, Fowler). [Tesis]. Program Studi Ilmu Perairan, Program Pascasarjana, IPB.
- Anderson, D. P. 1974. Fish immunology. TFH Publication. Ltd. Hongkong.
- Anderson, D. P. and A. K. Siwicki. 1993. Basic haematology and serology for fish health programs. Paper presented in second symposium on diseases in Asian aquaculture "Aquatic Animal health and the environment". Phuket, Thailand. 25-29th October 1993.
- Angka, S.L., B.P. Priosoeryanto, B.W. Lay dan E. Harris. 2004. Penyakit *Motile Aeromonad Septicaemia* pada Ikan Lele Dumbo. Forum Pascasarjana.
- Evenberg, D., P. de Graaff, W. Fleured and W. B. Van Muiswinkel. 1986. Blood changes in carp (*Cyprinus carpio*) induced by ulcerative *Aeromonas salmonicida* infection. Veterinary immunology and immunopathology.
- Fletcher, T. C. 1982. Non specific defence mechanism of fish. Developmental comparative immunology.
- Lesmanawati, W. 2006. Potensi mahkota dewa *Phaleria macrocarpa* sebagai

- antibakteri dan imunostimulan pada ikan patin *Pangasianodon hypophthalmus* yang diinfeksi dengan *Aeromonas hydrophila*. [Skripsi]. FPIK. IPB. Bogor.
- Li, P. and D. M. Gatlin III. 2003. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Marone chrysops* x *M. Saxatilis*). Aquaculture.
- Makatutu, D. 2002. Suplementasi vitamin C dalam pakan untuk memacu perkembangan gonad dan meningkatkan mutu telur ikan kerapu batik (*Ephinephelus microdon*). [Tesis].Bogor: Program Pascasarjana, IPB.
- Nabib, R. dan F. H. Pasaribu. 1989. Patologi dan penyakit ikan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- National Research Council. 1977. Nutrition requirements of warm water fishes. Washington D.C. : National Academic Press.
- Putri, I. 2003. Pengaruh sari buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap pertumbuhan dan gambaran darah ikan gurame (*Osphronemus gouramy*). [Skripsi]. Fakultas Perikanan IPB. Bogor.
- Takeuchi, T. 1988. Laboratory work chemical evaluation of dietary nutrients in : Watanabe T, editor. Fish nutrition and mariculture. Kanagawa International Fisheries Training Centre. JICA.
- Tizard, I. R. 1988. Pengantar imunologi veteriner. Airlangga University Press. Surabaya.
- Verlhac, V., J. Gabaudan, A. Obach, W. Schüep, R. Hole. 1996. Influence of dietary glucan and vitamin C on non-specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture.
- Wedemeyer, G. A. and W. T. Yasutake. 1977. Clinical methods for the assessment of the effect environment stress on the fish health. Technical Papers of The U.S. Fish and Wildlife Service. U. S. Department of The Interior Fish and Wildlife Service.
- Zonneveld, N, Huisman E. A., J. A. Boon. 1991. Prinsip-prinsip budidaya. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama. Terjemahan dari : Principle of Aquaculture.