

## The effectivity of polysaccharide extracted from marine algae, *Eucheuma cottonii*, on the immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*

Efektifitas polisakarida yang diekstrak dari alga, *Eucheuma cottonii*, terhadap respon imun ikan nila (*Oreochromis niloticus*)

Indriasari<sup>1\*</sup>, Remy E.P. Mangindaan<sup>2</sup>, and Inneke F.M. Rumengan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Ilmu Perairan, Program Pascasarjana Universitas Sam Ratulangi. Jl. Kampus Unsrat Kleak, Manado 95115, Sulawesi Utara, Indonesia.

<sup>2</sup>Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi. Jl. Kampus Unsrat Bahu, Manado 95115, Sulawesi Utara, Indonesia.

\*E-mail: indriasarikusnadi@yahoo.com

**Abstract:** This study was aimed to test the effectiveness of polysaccharide extracts of algae, *Eucheuma cottonii*, in increasing the nonspecific immune response and to get an extract with best efficacy on the immune response of the tilapia, *Oreochromis niloticus*. The design used completely randomized design (CRD) using 4 treatments, 0 mg/kg of saline material (A), 10 mg/kg of *E. cottonii* extract (B), 10 mg/kg of Iota (C), and 100 cells/ml of formaline killed vaccine (FKV), *Aeromonas hydrophilla*, each of which were with 3 (three) replications. The fish were acclimated for 2 weeks, and then treated for 4 weeks. Test animals were vaccinated through intraperitoneal injection 2 times at one week interval as much as 0.2 ml FKV taken with disposable plastic 1 ml syringe. The vaccination was done injecting the bacteria, *A. hydrophilla*, previously killed in 0.4% formaldehyde FKV at the density of 10<sup>9</sup> cells / ml. Then the test fish were injected with the test material extract solution. *E. cottonii* as much as 0.2 ml / fish. Injection point was between the pelvic fins and the lateral line near the anus. The results showed that administration of the polysaccharide extracted from algae in tilapia gave significant effect on nonspecific immune response increment of the fish (total leukocytes and phagocytic activity).

**Keywords:** polysaccharides; *Eucheuma cottonii*; *Oreochromis niloticus*; total leukocytes; phagocytic activity

**Abstrak:** Penelitian ini bertujuan untuk menguji keefektifan ekstrak polisakarida alga laut, *Eucheuma cottonii*, dalam meningkatkan respons kebal non-spesifik dan untuk mendapatkan suatu ekstrak dengan kualitas terbaik terhadap respons kebal ikan nila, *Oreochromis niloticus*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah A = 0 mg.kg<sup>-1</sup> untuk bahan uji *saline*; B = 10 mg.kg<sup>-1</sup> ekstrak alga *E. cottonii*; C = 10 mg.kg<sup>-1</sup> untuk iota; D = FKV *A. hydrophilla* 10<sup>9</sup> sel/ml. Ikan nila pertama-tama dipelihara dalam kolam (2 x 1 m) selama 2 minggu untuk proses aklimatisasi dan kemudian diberi perlakuan selama 4 minggu. Hewan uji divaksinasi dengan injeksi secara intraperitoneal (IP) dilakukan 2 kali dengan selang waktu seminggu sebanyak 0,2 ml FKV yang diambil dengan *plastic syringe disposable* 1 ml. Vaksinasi dilakukan dengan menginjektikan bakteri *A. hydrophilla* yang telah dimatikan dengan formalin 0,4% FKV pada kepadatan 10<sup>9</sup> sel/ml. Kemudian ikan uji disuntik dengan bahan uji larutan ekstrak *E. cottonii* dengan dosis penyuntikan 0,2 ml larutan/ikan. Titik suntik diantara sirip perut dan *lateral line* dekat anus. Hasil penelitian menunjukkan pemberian polisakarida yang diekstrak dari alga pada ikan nila memberi pengaruh yang nyata terhadap peningkatan respon imun nonspesifik ikan (total leukosit dan aktivitas fagositosis).

**Kata-kata kunci:** polisakarida; *Eucheuma cottonii*; *Oreochromis niloticus*; total leukosit; aktivitas fagositosis

### PENDAHULUAN

Pengembangan usaha budidaya ikan sering mengalami beberapa hambatan, salah satu diantaranya adalah masalah penyakit. Penyakit ikan diartikan sebagai segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara

langsung maupun tidak langsung. Gangguan pada ikan dapat disebabkan oleh organisme lain, pakan maupun kondisi lingkungan yang kurang menunjang kehidupan ikan. Dengan demikian timbulnya serangan penyakit ikan merupakan hasil interaksi yang tidak serasi antara ikan, kondisi lingkungan dan organisme penyebab penyakit.

Sistem kekebalan tubuh bervariasi sesuai substansi pertahanan sel ataupun organ tubuhnya, bila lingkungan hidup tidak menunjang maka akan mengganggu kesehatan organisme yang hidup didalamnya. Menurut Bagish (1997) ada 4 tipe organisme menular yaitu bakteri, virus, jamur dan parasit masing-masing mampu memasuki tubuh, bahwa ikan yang hidup di lingkungan dan struktur sosiologik heterogen, patogennya sangat mudah berpindah dari satu ikan ke ikan lain, dan suhu lingkungannya sangat kondusif, sehingga diperlukan kemampuan respon kekebalan atau imun yang lebih tinggi. Respons imun dapat ditingkatkan melalui pemberian imunostimulan (Enzolen, 2001; Mangindaan, 1992).

Imunostimulan adalah substansi yang merangsang sistem kekebalan tubuh yang mulai dikembangkan penggunaannya dalam upaya meningkatkan ketahanan tubuh ikan tanpa ada pengaruh samping (Mangindaan, 1993). Imunostimulan bekerja pada sistem imun nonspesifik untuk menghancurkan bakteri, virus serta sel-sel yang berkembang tidak normal. Dalam hal ini, sistem imun nonspesifik dan spesifik saling menunjang terhadap pertahanan tubuh humoral dan seluler (Baratawidjaya, 2006).

Imunostimulan dapat diisolasi dari hewan, tumbuhan dan bakteri. Selain itu dipakai untuk terapi tumor dan kanker, dalam usaha akuakultur bahkan dibuat adjuvan. Penelitian yang dilakukan oleh Undap (2008) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak alga (*Padina* sp.) dapat meningkatkan aktivitas neutrofil ikan nila, Pramesti (2009) melaporkan aplikasi ekstrak rumput laut (*Dictyota* sp., *Gracilaria* sp., *padina* sp. dan *Sargassum* sp.) dapat meningkatkan sistem pertahanan non spesifik pada udang (*Litopennaeus vannamei*), dilaporkan juga, pemberian ekstrak *Sargassum* sp. Dengan cara penyuntikan efektif dalam meningkatkan imunitas ikan nila terhadap serangan streptococciasis yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus innae* (Rustikawati, 2012).

Hasil-hasil di atas menunjukkan bahwa pemberian ekstrak alga dapat meningkatkan imunitas dan resistensi organisme akuatik terhadap sejumlah antigen yang berbeda. Polisakarida yang diekstrak dari alga *Eucheuma cottonii* dapat menawarkan alternatif bagi penggunaan antibiotik atau bahan-bahan kimia sebab bahan ini tidak meninggalkan residu dalam tubuh ikan serta tidak mengakibatkan kerusakan lingkungan. Oleh karena itu, penelitian terhadap penggunaan Polisakarida yang diekstrak dari alga dalam upaya mengontrol penyakit dalam aktivitas budidaya ikan dirasa sangat perlu. Tujuan penelitian ini untuk menguji

efektivitas polisakarida ekstrak alga *Eucheuma cottonii* dalam meningkatkan respon imun nonspesifik serta untuk mendapatkan ekstrak yang mempunyai efektivitas yang paling baik terhadap daya tahan tubuh ikan nila. Eksperimen ini dilaksanakan dari bulan September sampai dengan November 2013 di Laboratorium Kimia Bahan Hayati Laut dan kolam budidaya ikan air tawar program studi budidaya perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado

## MATERIAL DAN METODA

Bahan yang digunakan adalah polisakarida ekstrak *Eucheuma cottonii*, Iota, *Formaline Killed Vaccine* (FKV) dan bakteri untuk uji tantang yang digunakan merupakan bakteri *Aeromonas hydrophila*, yang diperoleh dari Laboratorium Stasiun Karantina Ikan Kelas I Bandar Udara Sam Ratulangi Manado.

### Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL) dengan menggunakan 4 perlakuan dan masing-masing perlakuan dengan 3 (tiga) ulangan. Penempatan perlakuan ke dalam unit-unit percobaan dilakukan secara acak. Perlakuan yang digunakan adalah A = 0 mg.kg<sup>-1</sup> untuk bahan uji *saline*; B = 10 mg.kg<sup>-1</sup> ekstrak alga *E. cottonii*; C = 10 mg.kg<sup>-1</sup> untuk Iota; D = FKV *A. hydrophilla* 10<sup>9</sup> sel/ml dan ekstrak alga *E. cottonii* halus. Variabel yang diteliti adalah total leukosit dan aktivitas fagositik.

### Ekstraksi Alga

Alga *E. cottonii* yang digunakan dalam penelitian diambil dari lokasi budidaya di Posi-Posi Kecamatan Kayoa, Maluku Utara. Alga tersebut dikering-anginkan terlebih dahulu dalam temperatur ruang selama kurang lebih satu minggu dan selanjutnya diekstrak mengikuti prosedur Fujiki *et al.*, (1992).

### Formaline Killed Vaccine (FKV)

Pembuatan FKV dimana bakteri *A. hydrophilla* telah dimatikan dengan larutan formalin. Hasil biakan dalam TSA selama 48 jam disuspensikan dalam PBS (*Phosphate Buffer Saline*) pH 7. Larutan PBS dibuat dengan mencampurkan 8,0 gr NaCl, 1,15 gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,2 gr KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dalam aquades 1000 ml. Suspensi yang terbentuk kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* (putaran rendah selama 10 menit). Setelah pengadukan

suspensi disentrifus pada 3000 rpm selama 25 menit. Supernatan yang terbentuk dibuang dan presipitat (sel-sel bakteri) disuspensikan dalam *saline* yang mengandung 0,4 % formalin dengan kepadatan 0,1 % (v/v), kemudian diinkubasi selama 12 jam di dalam lemari es (suhu 4°C) sambil diaduk perlahan dengan *magnetic stirrer*.

Setelah inkubasi suspensi disentrifus pada 3000 rpm selama 25 menit, kemudian supernatan dibuang dan presipitatnya disuspensikan lagi dalam *saline*. Pencucian ini dilakukan sebanyak 3 kali. Kemudian disuspensikan dalam *saline* sebesar 10 kali endapan sel. Suspensi FKV tersebut disimpan dalam lemari es dengan suhu 4°C sampai saat akan digunakan.

### Pemberian FKV dan Ekstrak Alga pada Hewan Uji

Ikan nila pertama-tama dipelihara dalam kolam (2 x1 m) selama 2 minggu untuk proses aklimatisasi. Selesai proses aklimatisasi, ikan disortir kembali untuk mendapatkan ukuran ikan yang sama dan masing-masing kolam berisi 60 ekor. Ikan selanjutnya diberi perlakuan yang berbeda-beda selama 4 minggu.

Pemberian perlakuan pada hewan uji sebagai berikut: pertama, ikan divaksinasi dengan injeksi secara intraperitoneal dilakukan 2 kali dengan selang waktu seminggu sebanyak 0,2 ml FKV diambil dengan *plastic syringe disposable* 1 ml. Vaksinasi dilakukan dengan menginjektikan bakteri *A. hydrophilla* yang telah dimatikan dengan formalin 0,4% FKV pada kepadatan  $10^9$  sel/ml. Kemudian ikan uji disuntik dengan bahan uji larutan ekstrak *E. cottonii* dengan dosis penyuntikan 0,2 ml larutan/ikan. Penyuntikan dilakukan sebanyak dua kali dengan selang waktu seminggu melalui IP (penyuntikan lewat rongga badan). Titik suntik diantara sirip perut dan *lateral line* dekat anus.

Pada minggu ke-2 setelah penyuntikan kedua, ikan diinfeksi dengan larutan *A. hydrophilla* dengan kepadatan  $10^7$  cfu/mL yang memberikan mortalitas  $\geq 80$  %. Sebelum dan sesudah penyuntikan ikan diberi stres dengan cara mematikan aerator selama 30 menit, agar ikan mudah terinfeksi oleh bakteri *A. hydrophilla*. Selama pengamatan ikan diberi makan secara *ad libitum*. Sedangkan penggantian airnya dilakukan selama dua hari sekali sebanyak 1/3 bagian.

### Uji Patogenitas

Uji patogenitas bakteri dilakukan untuk mengetahui tingkat virulensi dan untuk menentukan standar konsentrasi bakteri yang akan diinfeksi pada ikan uji. Uji patogenitas ini menggunakan isolat bakteri yang telah diinokulasi sebanyak 3 kali pada

ikan nila. Penginfeksian ikan uji dilakukan dengan menginfeksi larutan bakteri *A. hydrophilla* ke dalam intraperitoneal dengan volume larutan bakteri untuk masing-masing ikan sebanyak 0,2 ml.

Kepadatan bakteri yang dicobakan adalah kepadatan 0 (hanya *saline* sebagai kontrol),  $1 \times 10^9$ ,  $5 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^8$ ,  $5 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^6$  dan  $1 \times 10^6$  sel/ml. Pengamatan dilakukan selama 7-10 hari sejak penginfeksian ikan. Ikan yang mati dikeluarkan dari wadah pemeliharaan dan jumlah yang mati dicatat setiap hari. Untuk memastikan penyebab kematian ikan, dilakukan pengisolasian bakteri pada ginjal dari beberapa ikan yang mati dan dikultur pada *Triptic Soy Agar* (TSA) selama 2 hari, kemudian disuntikkan kembali pada ikan yang lain untuk melihat apakah gejala yang ditimbulkan sama atau berbeda.

### Pengambilan Data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini terdiri dari parameter imun yaitu total leukosit dan aktivitas fagositosis sel leukosit ikan nila. Pengukuran parameter imunitas ikan diawali dengan pengambilan sampel darah. Pengambilan sampel darah dilakukan sebanyak dua kali yaitu minggu pertama setelah penyuntikan pertama dan minggu ke-2 setelah penyuntikan kedua dengan menggunakan jarum suntik 1 ml. Metode ini menurut prosedur Rowley (1990) dalam Stolen, et. al., (1990) yaitu: pertama, sampel darah diambil dari vena caudalis yang berada di bawah tulang belakang, bila jarum tepat mengenai vena akan terlihat percikan darah di dalam jarum suntik. Darah yang telah diambil kemudian ditampung di dalam tabung *ependorf*. Jarum suntik 1 ml dan *ependorf* sebelum digunakan dibilas dengan larutan EDTA sebagai antikoagulan untuk mencegah pembekuan darah.

### Total Leukosit

Penghitungan total leukosit dilakukan dengan mengencerkan darah memakai larutan Turk (perbandingan 1: 10) di dalam pipet pencampur. Pipet kemudian diaduk dengan cara mengayunkan tangan yang memegang pipet seperti membentuk angka delapan selama 3-5 menit agar darah tercampur secara merata. Sebelum dilakukan penghitungan, larutan pada bagian ujung pipet yang tidak teraduk dibuang dan tetesan berikutnya dimasukkan ke dalam *haemocytometer* yang telah dilengkapi dengan kaca penutup kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Total leukosit dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\Sigma \text{ leukosit} = \Sigma \text{ leukosit terhitung} \times 10^4 \text{ sel/ml}$$

### **Aktivitas fagositosis**

Pengukuran aktivitas fagositosis dilakukan dengan cara sebanyak 50 µl sampel darah dimasukkan ke dalam *ependorf*, ditambahkan 50 µl suspensi zymosan. Sampel darah dihomogenkan dan diinkubasi dalam suhu ruangan selama 20 menit. Selanjutnya 5 µl sampel darah dibuat sediaan ulas dan dikeringkan dengan udara. Sediaan ulas direndam dalam pewarnaan *giemsa* selama 15 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan *tissue*. Selanjutnya dihitung jumlah sel yang menunjukkan proses fagositosis dari 100 sel fagosit yang teramati dengan rumus:

Aktivitas Fagositosis =

$$\left\{ \frac{\text{(Jumlah sel fagosit yang melakukan fagositosis)}}{\text{Jumlah sel fagosit}} \right\} \times 100\%$$

### **Analisis Data**

Data hasil pengukuran dinyatakan dalam nilai rata-rata ± Stdv. Evaluasi perbedaan respon imun ikan, dan resistensi akibat pemberian perlakuan injeksi dilakukan melalui analisis ragam, apabila terdapat perbedaan antara nilai-nilai perlakuan, maka analisis data dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan dengan menggunakan program SPSS 20 untuk *windows*. Namun apabila tidak terdapat perbedaan pengaruh antara perlakuan maka analisis hanya dilakukan secara deskriptif dengan menggunakan angka mutlak.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Total leukosit**

Leukosit merupakan jenis sel yang aktif di dalam sistem pertahanan tubuh. Setelah dihasilkan di organ timus dan ginjal, leukosit kemudian diangkut dalam darah menuju ke seluruh tubuh.

Total leukosit ikan yang diukur satu dan dua minggu setelah pemberian ekstrak rumput laut disajikan pada Tabel 1. Hasil analisis ragam

Tabel 1. Total leukosit ikan nila yang diukur satu dan dua minggu setelah pemberian ekstrak alga *Eucheuma cottonii*

Perlakuan	Minggu-1	Minggu-2
A	10.32 <sup>a</sup>	11.22 <sup>a</sup>
B	10.38 <sup>a</sup>	11.33 <sup>a</sup>
C	12.96 <sup>a</sup>	14.16 <sup>b</sup>
D	11.20 <sup>a</sup>	14.16 <sup>b</sup>

*Keterangan:* Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata.

mendapatkan bahwa pemberian ekstrak rumput laut pada ikan tidak memperlihatkan pengaruh nyata terhadap total leukosit yang diukur satu minggu setelah pemberian ( $p=0,21$ ). Pemberian ekstrak memperlihatkan pengaruh nyata terhadap total leukosit dua minggu setelah pemberian ( $p < 0,01$ ).

Total leukosit yang diukur dua minggu setelah pemberian ekstrak memperlihatkan nilai tertinggi pada perlakuan D (ekstrak alga+vaksin) disusul oleh perlakuan C (Iota). Berdasarkan hasil uji lanjut terlihat bahwa perlakuan D berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan A maupun B. Perlakuan C juga berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan A dan B. Antara perlakuan D dan C tidak terdapat perbedaan nyata. Hasil penelitian mendapatkan bahwa pemberian polisakarida yang diekstrak dari alga memberikan hasil yang baik terhadap peningkatan total leukosit apabila dikombinasikan dengan vaksin. Hasil penelitian yang dilaporkan oleh Rustikawati (2012) menyatakan bahwa ikan nila yang berukuran panjang tubuh berkisar 8-10 cm dengan berat 30 g ketika diinjeksi dengan ekstrak *Sargassum* sp. dapat meningkatkan total leukosit dibandingkan dengan kontrol. Pramesti dan Ridlo (2009) juga melaporkan bahwa suplementasi ekstrak rumput laut *Dictyota* sp., *Gracilaria* sp., *Padina* sp. dan *Sargassum* sp. pada dosis 10 g/ kg pakan mampu meningkatkan jumlah total hemosit udang *L. vannamei*. Penelitian sejenis yang telah dilakukan menunjukkan bahwa respon imun ikan dapat ditingkatkan dengan aplikasi ekstrak alga *Padina* sp. yang mampu meningkatkan jumlah neutrofil sebanyak 1169,1 pada masa stimulasi selama 72 jam.

Total leukosit ikan yang diberi perlakuan ekstrak alga lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan kombinasi ekstrak alga + vaksin dan bahkan hampir sama dengan jumlah total leukosit ikan control (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian vaksin dan dilanjutkan dengan pemberian imunostimulan sangat baik dalam meningkat sistem imun ikan, hal ini dibuktikan dengan terjadinya peningkatan total leukosit pada

Tabel 2. Aktivitas fagositosis ikan nila yang diukur satu dan dua minggu setelah pemberian ekstrak alga *Eucheuma cottonii*

Perlakuan	Minggu-1	Minggu-2
A	17.22 <sup>ab</sup>	20.71 <sup>a</sup>
B	15.41 <sup>a</sup>	25.27 <sup>b</sup>
C	17.78 <sup>ab</sup>	33.41 <sup>c</sup>
D	20.06 <sup>b</sup>	37.63 <sup>c</sup>

*Keterangan:* Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata.

ikan yang diberi vaksin + ekstrak alga (perlakuan D). Sebagaimana dikemukakan oleh Anderson (1992), imunostimulan merupakan senyawa kimia, obat atau bahan lainnya yang mampu meningkatkan respon imunitas ikan. Polisakarida merupakan salah satu imunostimulan dapat digunakan untuk mengstimulasi sel B, sedangkan vaksinasi merupakan suatu upaya untuk menimbulkan ketahanan tubuh yang bersifat spesifik melalui pemberian vaksin. Corbel (1975) dalam Alifuddin (2002) menyatakan bahwa ikan akan merespon imunostimulan (vaksin) dengan mensintesis antibodi membentuk imunoglobulin.

### Fagositosis

Aktivitas fagositosis ikan yang diukur satu dan dua minggu setelah pemberian ekstrak rumput laut disajikan pada Tabel 2. Hasil analisis ragam mendapatkan bahwa pemberian ekstrak rumput laut pada ikan tidak memperlihatkan pengaruh nyata terhadap aktivitas fagositosis yang diukur satu minggu setelah pemberian ( $p= 0,12$ ). Pemberian ekstrak memperlihatkan pengaruh nyata terhadap total leukosit dua minggu setelah pemberian ( $p < 0,01$ ).

Aktivitas fagositosis yang diukur dua minggu setelah pemberian ekstrak memperlihatkan nilai tertinggi pada perlakuan D (ekstrak alga+vaksin) disusul oleh perlakuan C (Iota). Berdasarkan hasil uji lanjut terlihat bahwa perlakuan D berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan A maupun B. Perlakuan B berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan A. Perlakuan C juga berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan A dan B. Antara perlakuan D dan C tidak terdapat perbedaan nyata. Hasil penelitian mendapatkan bahwa pemberian polisakarida yang diekstrak dari alga memberikan hasil yang baik terhadap peningkatan aktivitas fagosit apabila dikombinasikan dengan vaksin. Aktivitas fagositosis ikan yang diberi perlakuan ekstrak alga lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan kombinasi ekstrak alga + vaksin (Tabel 2). Terjadi peningkatan aktivitas fagosit pada ikan yang diberi perlakuan ekstrak, diduga karena alga yang diberikan mengandung senyawa polisakarida. Menurut Cheng *et al.*, (2005) dalam Pramesti dan Ridlo (2009), sodium alginat dapat meningkatkan aktivitas fagosit udang. Di samping itu, Rustikawati (2012) menyatakan bahwa ekstrak rumput laut jenis *Sargassum* sp. yang diberikan secara injeksi dengan dosis 75µg/g dapat meningkatkan aktivitas indeks fagositosis. Aktivitas fagositosis merupakan salah satu cara yang sangat penting dalam mengendalikan dan menghancurkan partikel asing.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa pemberian polisakarida yang diekstrak dari alga pada ikan nila memberi pengaruh yang nyata terhadap peningkatan respon imun nonspesifik ikan (total leukosit dan aktivitas fagositosis).

**Ucapan terima kasih.** Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih yang tak terhingga kepada ibu Ir. Fitje Losung, M.Si dan Bapak Dr. Ir. H. Manoppo, M. Aq, yang telah membantu penulis mulai dari penyiapan hingga terselesainya penelitian ini.

### REFERENSI

- ALIFUDDIN, M. (2002) Imunostimulan pada hewan akuatik. *Akuakultur Indonesia*, 1(2), pp. 87-92.
- ANDERSON, D.P. (1992) Immunostimulant, Adjuvant and Vaccine Carrier in Fish. Application to Aquaculture. Annual Review of Fish Diseases” 21:281-307.
- BAGISH, J. (1997) *Bagaimana sistem kekebalan tubuh anda bekerja*. Elexmedia Kompetindo PT. Gramedia. Jakarta. 145 hal.
- BARATAWIDJAJA, K.G. (2006) *Immunologi Dasar*. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Gaya Baru. Jakarta. 572 hal.
- ENZOLEN. (2001). Immune system. [www.enzolen.com/immune-system.cfm](http://www.enzolen.com/immune-system.cfm).
- FUJIKI, K.H., MATSUYAMA, and YANO T. (1992) Effect of hot water extract from marine algae on resistance of carp and yellow tail against bacterial infection. *Science Bulletin Faculty of Agriculture*. Kyushu University. Fakuoka. Japan.
- MANGINDAAN, R.E.P. (1992) Pengaruh beberapa polisakarida pada ketahanan Tubuh ikan mas terhadap infeksi bakteri. *Jurnal Fakultas Perikanan*, 1, 11.
- MANGINDAAN, R.E.P. (1993) *Pengantar Immunologi Ikan*. Edisi Kedua. Fakultas Perikanan Unsrat. Manado.
- PRAMESTI, R. dan RIDLO, A. (2009). Aplikasi ekstrak rumput laut sebagai agen imunostimulan sistem pertahanan non spesifik pada udang (*Litopennaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan*, 14(3), pp. 133-137.
- RUSTIKAWATI, I. (2012) Aktivitas ekstrak

- Sargasum* sp. terhadap diferensiasi leukosit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi *Streptococcus iniae*. *Jurnal Akuatik*, 3 (2), pp. 125-134.
- STOLEN, S. J., Flecher, T.C., Andeson, D.P., Robenson, D.S., Van Muiswinkel, W.B. (1990) *Techniques in Immunology*. 1st edition. SOS Publications 43 deNormandie Avenue Fair Haven, NJ 07703-3303.
- UNDAP, S. L. (2008) Efek alga (*Padina sp.*) terhadap aktivitas neutrofil melalui penyuntikan gelembung renang ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Pasific Journal*, 1(3), pp. 268-273.