

Respon kebal nonspesifik ikan mas yang diberi imunostimulan ragi roti
secara oral

(Nonspecific immune response of carp fed pellet supplemented with
baker's yeast as immunostimulant)

Aditya P. Yanuar¹, Henky Manoppo²

¹) Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan FPIK UNSRAT Manado

²) Staf pengajar pada Program Studi Budidaya Perairan FPIK UNSRAT Manado

Email : adityapermana200@gmail.com

Abstract

The effect of baker's yeast as immunostimulant on innate immunity of carp (*Cyprinus carpio* L) had been investigated. Fish was gathered from Freshwater Aquaculture Board (BBAT) Tatelu, Province of North Sulawesi. The fish were acclimatized for a week in 15 aquaria with a density of 25 fish/aquarium. After acclimatization the fish were fed pellet supplemented with baker's yeast as immunostimulant at 0, 5, 10, 15 and 20 g / kg of feed for four weeks as much as 5%/body weight of fish/day with the frequency of feeding twice a day at 08.00 am and 16.00 pm . This study used Completely Randomized Design (RAL) with five treatments and each treatment had three replications. Immune parameters consisting of total leucocytes and phagocytosis activity were measured in the last week. After four weeks of feeding, the total leukocytes from the carp fed with the addition of baker's yeast 10 g / kg of feed were significantly increased compared with the fish not being fed with the addition of bread yeast ($p < 0.01$). Phagocytic activity of phagocyte cells from carp also increased significantly in fish fed pellet with the addition of 5 g of baker's yeast / kg of feed ($p = 0.01$). In conclusion, the addition of baker's yeast as immunostimulant in the diet at 5-10 g/kg of pellet can increase the nonspecific immune response of carp.

Keywords: baker's yeast, carp, nonspecific immune response, total leucocytes,
phagocytosis activity,

PENDAHULUAN

Serangan penyakit merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi jumlah produksi dari usaha budidaya ikan, yang dapat mengakibatkan jumlah produksi ikan menurun drastis karena terganggunya pertumbuhan atau terjadinya kematian massal. Oleh karena itu, Pengendalian penyakit harus dilakukan sedini mungkin untuk menekan tingkat kerugian ekonomi yang tinggi.

Upaya pengendalian penyakit dapat dilakukan dengan menggunakan obat-obatan seperti antibiotik atau bahan kimia lainnya. Namun, penggunaan antibiotik atau bahan kimia secara berlebihan atau berkepanjangan dapat menimbulkan dampak negatif dengan meningkatnya pencemaran lingkungan perairan, meningkatkan akumulasi residu antibiotik yang mempengaruhi pertumbuhan, dan munculnya resistensi patogen terhadap antibiotik atau bahan-bahan kimia (*Antibiotik Resistant Pathogen*) yang akan berdampak pada kesehatan konsumen. Pencegahan penyakit juga dapat dilakukan melalui penggunaan vaksin. Namun vaksin bersifat spesifik yaitu hanya berkerja pada spesies patogen tertentu. Selain itu vaksin belum banyak tersedia dipasaran sehingga harganya masih cukup tinggi.

Penggunaan imunostimulan telah menjadi populer dan dapat perhatian khusus selama dekade terakhir ini karena beberapa keunggulannya. Beberapa peneliti mengamati ikan yang diberi makan dengan imunostimulan, mengalami peningkatan sistem kekebalan tubuh dan nafsu makan ikan meningkat. Salah satu bahan yang mengandung imunostimulan adalah ragi roti. Produk samping dari industri ragi roti *yeast-by product* dapat

meningkatkan respon imun non spesifik dan pertumbuhan beberapa spesies ikan (Olivia-Teles and Goncalves, 2001).

Penambahan ragi roti dalam pakan dapat meningkatkan sistem imun non-spesifik pada organisme akuatik terhadap sejumlah antigen yang berbeda. Ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) dapat menjadi salah satu alternatif bagi pengguna 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 ragi roti dalam upaya mencegah terjadinya serangan penyakit dalam aktivitas budidaya ikan dipandang penting untuk dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji pengaruh imunostimulan ragi roti terhadap respon kebal non spesifik ikan mas.

METODE PENELITIAN

Hewan Uji

Hewan uji ialah Ikan Mas yang diambil dari Balai Perikanan Budidaya Air Tawar (BPBAT) Tatelu Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara. Jumlah ikan yang diambil sebanyak 500 ekor ikan mas berukuran 5 – 8 cm dengan berat rata-rata 3,8 g. Ikan yang diperoleh dimasukkan ke dalam kantong plastik berisi oksigen kemudian diangkut dengan mobil ke Laboratorium Teknologi Akuakultur Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan.

Bahan Uji

Bahan uji sebagai perlakuan yang digunakan adalah ragi roti komersil dengan merek dagang *Fermipan*. Pakan apung dengan merek dagang *Hi Pro Vite* dengan kandungan protein 35%, lemak

2%, serat kasar 3%, abu 13% dan kandungan air 12%.

Persiapan Pakan Uji

Ragi roti ditimbang sesuai dengan dosis yang ditetapkan (0, 5, 10, 15, 20 g/kg pakan), kemudian ragi roti yang telah ditimbang disuspensikan ke dalam 100 ml air untuk satu kg pakan (Manurung *dkk.*, 2013). Suspensi ragi roti selanjutnya dicampur pada pakan dengan cara disemprotkan secara merata, dikering-anginkan dalam suhu ruang. Setelah kering, kemudian pakan dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diberi label setelah itu disimpan di dalam lemari pendingin (*kulkas*) sampai saat digunakan.

Prosedur Penelitian dan Pengambilan data

Setelah ikan diambil dari BPBAT Tatelu, Ikan ditebar ke dalam 15 akuarium, 25 ekor/akuarium dengan ukuran akuarium 60 x 40 x 45 cm dan tinggi air 27 cm untuk diaklimatisasikan selama satu minggu. Selama proses aklimatisasi ikan diberi pakan komersil yang belum ditambahkan ragi roti, dengan dosis pemberian pakan 5% dari berat tubuh ikan dan diberikan dua kali sehari (pagi jam 08.00 dan sore jam 16.00). Selama Proses aklimatisasi kualitas air dipertahankan stabil dengan mengganti air sebanyak 30% dari total air yang ada di dalam akuarium. Setiap akuarium dilengkapi dengan sebuah pipa air masuk (kran), blower yang berfungsi sebagai aerator, dan filter.

Setelah proses aklimatisasi selesai, ikan selanjutnya diberi pakan yang sudah ditambahkan imunostimulan ragi roti dengan banyaknya pemberian 5%/berat tubuh ikan/hari dengan frekuensi dua kali sehari (jam 08.00 dan 16.00). Kualitas air selama priode penelitian dijaga agar tetap

stabil dengan cara mengganti air sebanyak 30% dari total air per akuarium, mencuci atau mengganti saringan air, dan mengontrol pengoprasian blower. Pakan perlakuan diberikan selama empat minggu secara berturut-turut. Data yang dikumpulkan adalah parameter imun yang terdiri dari Total Leukosit Count (TLC) dan aktivitas fagositosis. Pengambilan data dilakukan pada akhir minggu ke empat setelah pemberian imunostimulan ragi roti.

Sampel darah ikan diambil sesuai prosedur yang dikemukakan oleh Stolen *dkk.* (1990) dalam Manurung (2015). Pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan suntik berukuran 1 mL. Sebelum digunakan, suntik perlu dibilas dengan *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA) sebagai anti koagulan. Sampel darah ikan diambil dari tiga ekor ikan dari setiap perlakuan. Darah ikan diambil dari *vena caudalis* menggunakan jarum suntik berukuran 1 mL. Banyaknya darah yang diambil per ikan adalah 0,1 mL. Setelah itu sampel darah dipindahkan ke dalam tabung eppendorf steril yang sebelumnya telah dibilas dengan EDTA.

Total Leukosit

Darah diambil sebanyak 0,1 mL dengan mikro pipet dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang sebelumnya sudah dibilas dengan larutan EDTA. Kemudian tambahkan 0,9 mL Larutan Turk's sehingga perbandingan antara darah dan Turk's menjadi 1:10. Campuran darah dan larutan Turk's dihomogenkan dengan mengayun-ayunkan secara perlahan-lahan dan diinkubasi dalam suhu ruang selama lima menit. selanjutnya dilakukan penghitungan total leukosit dengan menggunakan hemasitometer dengan bantuan mikroskop pada pembesaran 1000x. Dengan mendapatkan jumlah rata-

rata total leukosit dapat dihitung dengan rumus :

Jumlah leukosit = jumlah leukosit rata-rata x 16 x pengenceran x 10^4 sel/mL

Aktivitas Fagositosis

Aktivitas fagositosis dihitung dengan cara memasukkan 0,1 mL darah ke dalam tabung eppendorf kemudian ditambahkan 0,1 mL suspensi sel ragi roti Untuk mengukur aktivitas fagositosis, pertama-tama sampel darah sebanyak 0,1 mL dimasukkan ke dalam tabung eppendorf steril. Sel ragi roti disiapkan dengan cara, Ragi roti ditimbang sebanyak 0,5 g dan disuspensikan dalam 10 mL larutan NaCl, kemudian disuspensi dan dicuci dua kali melalui sentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 1000 rpm.

Campuran darah dan ragi roti ini selanjutnya dihomogenkan dengan cara diayunkan perlahan-lahan dan diinkubasi dalam suhu ruang selama 20 menit. Selanjutnya sampel campuran darah dan ragi roti dibuat sediaan ulas menggunakan kaca preparat dengan ukuran 1 mm - 1,2 mm dan sediaan ulas dikering-anginkan dalam suhu ruang. Proses selanjutnya adalah melakukan pewarnaan Giemsa.

Proses pewarnaan sediaan ulas dengan Giemsa dikerjakan sesuai dengan prosedur (Pritchard and Kruse, 1982):

- 1) Sediaan ulas direndam dengan alkohol 95% yang sudah dimasukkan dalam modul pewarnaan (staining module) selama satu menit,
- 2) Sediaan ulas diangkat, sisa alkohol dikeluarkan dengan cara ditiriskan namun dijaga tetap basah,

- 3) Sediaan ulas direndam ke dalam larutan Giemsa selama 10 menit,
- 4) Sediaan ulas dicuci dengan air mengalir secara perlahan-lahan,
- 5) Sediaan ulas dikering-anginkan kemudian diamati di bawah mikroskop.

Aktivitas fagositosis dihitung berdasarkan pengamatan dari 50 – 100 sel fagosit yang teramati di bawah mikroskop. Aktivitas fagositosis dihitung dengan rumus:

$$\text{Aktivitas Fagositosis (\%)} = \frac{\text{Jumlah sel fagosit yang melakukan pemangsaan}}{\text{Jumlah sel fagosit teramati}} \times 100$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Leukosit

Hasil penghitungan total leukosit ikan yang diukur setelah ikan diberi perlakuan imunostimulan ragi roti secara oral selama empat minggu dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Total leukosit ikan mas setelah diberi perlakuan imunostimulan ragi roti

PERLAKUAN (g/kg pakan)	Total Leukosit ($\times 10^6$ sel/mL)
A	11,73 ^a \pm 2,44
B	17,06 ^b \pm 3,33
C	22,93 ^c \pm 2,44
D	11,73 ^a \pm 2,44
E	10,66 ^a \pm 2,44

Keterangan : A = 0 g ragi roti / Kg Pakan; B = 5 g ragi roti / Kg Pakan; C = 10 g ragi roti / Kg Pakan; D = 15 g ragi roti / Kg Pakan; E = 20 g ragi roti / Kg Pakan.

Dari hasil perhitungan total leukosit ikan mas setelah pemberian imunostimulan ragi roti selama empat minggu menunjukkan bahwa total leukosit tertinggi pada perlakuan C yaitu mencapai $22,93 \times 10^6$ sel/ml kemudian diikuti dengan perlakuan B sebesar $17,06 \times 10^6$ sel/ml. Sedangkan total leukosit terendah pada perlakuan E yaitu $10,66 \times 10^6$ sel/ml dan perlakuan A dan D mendapatkan hasil yang sama.

Hasil analisis ragam (anova) menunjukkan bahwa pemberian imunostimulan ragi roti secara oral pada ikan mas selama empat minggu memberikan pengaruh yang nyata terhadap total leukosit ikan mas ($p < 0,01$) (Lampiran 2). Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa perlakuan C berbeda nyata dibanding dengan perlakuan B maupun dengan perlakuan A,D dan E. Total leukosit yang diberi perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan A,D dan E namun antar perlakuan A,D dan E tidak terdapat perbedaan nyata. Dari data total leukosit yang didapatkan menunjukkan bahwa dosis ragi roti yang efektif untuk meningkatkan total leukosit ikan mas yaitu pada dosis C (10 g ragi roti/ Kg pakan).

Hasil yang sama telah dilaporkan oleh Tewary dan Patra (2011) dimana, ikan *Labeo rohita* dengan berat rata-rata 12 g yang diberi penambahan 5%, 7,5%, dan 10% ragi roti dalam pakan dengan lama pemberian perlakuan 15 hari memperlihatkan peningkatan total leukosit dan aktivitas fagositosis. Pada akhir penelitian ikan diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa sel ragi roti mampu meningkatkan imunitas non spesifik serta berkorelasi positif dengan pertumbuhan. Melalui absorpsi partikel dinding sel ragi,

fungsi imun dan resistensi terhadap penyakit dirangsang.

Aktivitas Fagositosis

Nilai aktivitas fagositosis sel leukosit setelah ikan diberi perlakuan imunostimulan ragi roti selama empat minggu dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas fagositosis sel leukosit (%) ikan mas setelah diberi perlakuan imunostimulan ragi roti selama empat minggu

PERLAKUAN (g/kg pakan)	Aktivitas Fagositosis (%)
A	$50,93^a \pm 5,78$
B	$64,06^b \pm 2,8$
C	$56,90^a \pm 1,94$
D	$55,14^a \pm 4,88$
E	$52,79^a \pm 1,85$

Keterangan : A = 0 g ragi roti / Kg Pakan; B = 5 g ragi roti / Kg Pakan; C = 10 g ragi roti / Kg Pakan; D = 15 g ragi roti / Kg Pakan; E = 20 g ragi roti / Kg Pakan.

Dari hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa aktivitas fagositosis tertinggi pada perlakuan B yaitu sebesar 64,06% diikuti oleh perlakuan C sebesar 56,90% dan tingkat aktivitas fagositosis terus menurun dengan semakin meningkatnya dosis ragi roti yang diberikan, sedangkan aktivitas fagositosis terendah terjadi pada ikan yang tidak diberi perlakuan imunostimulan ragi roti. Data ini menunjukkan bahwa penentuan dosis ragi roti dan lama waktu pemberian yang tepat pada ikan sangatlah penting, dan dosis ragi roti yang tepat untuk ikan mas ialah pada perlakuan B dengan dosis 5 g ragi roti / Kg Pakan.

Hasil uji analisis ragam menunjukkan bahwa pemberian imunostimulan ragi roti secara oral pada ikan mas selama empat minggu memberikan pengaruh yang nyata terhadap aktivitas fagositosis sel leukosit ikan mas ($p = 0,01$) (Lampiran 4).

Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan, aktivitas fagositosis ikan mas yang diberi perlakuan B (5 g ragi roti/ Kg pakan) berbeda nyata dibanding dengan perlakuan A maupun dengan perlakuan C, D dan E. Aktivitas fagositosis ikan mas yang diberi perlakuan C, D, E dan A tidak saling berbeda nyata. (Lampiran 4).

Hasil yang sama telah dilaporkan oleh Manurung *dkk.* (2013) dimana, ikan nila (berat rata-rata 10,57 g) yang diberi pakan dengan penambahan 10 g ragi roti memperlihatkan peningkatan total leukosit dan aktivitas fagositosis. Manoppo *dkk.* (2015) juga melaporkan bahwa aplikasi sel ragi roti ke dalam pakan ikan dapat merangsang peningkatan total leukosit maupun aktivitas fagositosis. Nilai tertinggi dari parameter ini dicapai pada ikan yang diberi pakan dengan penambahan ragi roti 5 g ragi roti/ Kg pakan.

Manoppo dan Kolopita (2015) melaporkan bahwa penambahan 10 g ragi roti / Kg pakan dan diberikan pada ikan nila selama empat minggu akan meningkatkan aktivitas fagositosis sel fagosit ikan nila. Aktivitas fagositosis sel fagosit ikan nila yang diberi perlakuan 10 g ragi roti / Kg pakan memberikan respon lebih baik dibandingkan 20, 30 dan 40 g ragi roti/ Kg pakan.

Abdel-Tawwab *dkk.* (2008) melaporkan bahwa pemberian pakan yang telah dicampurkan dengan 1 g ragi roti per

kg pakan selama 12 minggu pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dapat, meningkatkan respon imun non spesifik dan resistensi terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penambahan ragi roti juga dapat meningkatkan napsu makan ikan sehingga pertumbuhan ikan juga ikut meningkat.

Dalam penelitian ini didapatkan bahwa total leukosit pada perlakuan E ($10,66 \times 10^6$) lebih sedikit dibandingkan dengan total leukosit pada perlakuan A ($11,73 \times 10^6$). Menurut Sakai (1999), pemberian imunostimulan dalam aktivitas budidaya dipengaruhi oleh dua faktor yaitu dosis dan lama waktu pemberian. Apabila dosis yang diberikan terlalu berlebihan dalam waktu yang berkepanjangan maka imunostimulan tidak akan merangsang sistem imun malah akan menekan sistem imun tersebut. Begitu juga sebaliknya, apabila dosis yang diberikan terlalu rendah maka tidak akan memberikan respon terhadap sistem imun dan pertumbuhan karena dosis yang diberikan tidak cukup untuk memacu pertumbuhan dan merangsang sistem imun dengan cepat.

Penelitian ini membuktikan bahwa penambahan sel ragi roti dalam pakan ikan mampu merangsang peningkatan sistem imun ikan. Hal ini disebabkan ragi roti kaya akan bahan-bahan imunostimulan. Bahan imunostimulan yang terkandung dalam sel ragi roti ialah β 1,3 dan 1,6 glucan yang terkandung dalam dinding sel ragi roti. Dimana melalui penyerapan partikel dinding sel ragi roti, sistem kekebalan tubuh non spesifik dirangsang untuk melindungi tubuh ikan dari serangan patogen (Tewary and Patra, 2011).

KESIMPULAN

Pemberian imunostimulan ragi roti secara oral memberikan pengaruh yang nyata terhadap respon kebal non spesifik ikan mas dan dosis imunostimulan ragi roti yang baik untuk meningkatkan respon kebal non spesifik ikan mas adalah 5 - 10 g ragi roti/kg pakan dengan lama waktu pemberian 4 minggu.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Tawwab M, Abdel-Rahman AM, Ismael NEM. 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L) challenged *in situ* with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 280: 185-189.
- Manoppo H, Magdalena EFK, Manurung UN. 2015. Efficacy of baker's yeast as immunostimulant in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of ChemTech Research*. Vol.8 No.2: 559-565.
- Manoppo H, Magdalena EFK. 2015. Pengimbuhan ragi roti dalam pakan meningkatkan respons imun nonspesifik dan pertumbuhan ikan nila. *Jurnal Veteriner* Vol.16 No.2: 204-211.
- Manurung UN. 2015. Pemberian ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) sebagai imunostimulan pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) untuk meningkatkan resistensi terhadap bakteri (*Aeromonas hydrophila*). Program Pascasarjana UNSRAT. Manado. 64 hal.
- Manurung UN, Manoppo H, Tumbol RA. 2013. Evaluation of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in enhancing non specific immune response and growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *E-jurnal Budidaya Perairan* Vol.1 No. 1: 8-14.
- Olivia-Teles A, Goncalves P. 2001. Partial replacement of fishmeal by brewers yeast *Saccharomyces cerevisiae*, in diets for sea bass *Dicentrarchus labrax* juveniles. *Aquaculture* 202: 269-278
- Pritchard MH, Kruse GOW. 1982. The collection and preservation of animal parasites. University of Nebraska Press, London.
- Sakai M. 1999. Current research status of fish immunostimulant. *Aquaculture* 172 : 63 – 92.
- Tewary A, Patra BC. 2011. Oral administration of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) acts as a growth promoter and immunomodulator in *Labeo rohita*. *Journal of Aquaculture Research and Development* 2 : 1 - 7.