

The use of β -glucan extracted from baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) to increase non-specific immune system and resistance of tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Aeromonas hydrophila*

Penggunaan β -glukan yang diekstrak dari ragi roti (*Saccharomices cerevisiae*) untuk meningkatkan respon imun non-spesifik dan resistensi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diuji tantang dengan *Aeromonas hydrophila*

Ida N. Jamal^{1*}, Reiny A. Tumbol², and Remy E. P. Mangindaan²

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

² Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado.

* E-mail: inursanti08@gmail.com

Abstract: Motile *Aeromonas Septicaemia* disease (MAS) attacking tilapia has increased in recent years as a consequence of intensive aquaculture activities, which led to losses in aquaculture industry. The agent causing MAS disease is *Aeromonas hydrophila*. The disease can be controlled with the β -glucan. As immunostimulants, β -glucans can also increase resistance in farmed tilapia. Studies on the use of β -glucan extracted from baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* was intended to evaluate the non-specific immune system of tilapia that were challenged with *Aeromonas hydrophila*. The method used was an experimental method with a completely randomized design consisting of four treatments with three replicats. The dose of β -glucan used as treatments were 0 mg.kg⁻¹ fish (Control), 5 mg.kg⁻¹ fish (B), 10 mg.kg⁻¹ fish (C) and 20 mg.kg⁻¹ fish (D), each treatment as injected three times at intervals of 3 days, the injection volume of 0.5 ml/fish for nine days and resistance surveillance for seven days. The results showed that the difference in the amount of β -glucan and the frequency of the injected real influence on total leukocytes, phagocytic activity and resistance. Total leukocytes, phagocytic activity and resistance to treatment was best achieved by the administration of C a dose of 10 mg.kg⁻¹ of the fish©

Keywords: β -glucan; *Saccharomyces cerevisiae*; *Aeromonas hydrophila*; resistance; leukocyte activity.

Abstrak: Penyakit *Motil Aeromonas Septicaemia* (MAS) yang menyerang ikan nila mengalami peningkatan selama beberapa tahun terakhir sebagai konsekuensi dari kegiatan akuakultur intensif, yang menyebabkan kerugian dalam industri budidaya. Agen utama penyebab penyakit MAS adalah *Aeromonas hydrophila*. Untuk mengendalikan penyakit tersebut dapat dilakukan dengan pemberian β -glukan. Sebagai imunostimulan, β -glukan juga dapat meningkatkan resistensi pada ikan nila yang dibudidayakan. Pengkajian mengenai pemanfaatan β -glukan yang diekstrak dari ragi roti *Saccharomyces cerevisiae* dimaksudkan untuk menguji sistem imun non spesifik ikan nila yang diuji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Metode yang digunakan yaitu metode eksperimen dengan rancangan acak lengkap yang terdiri dari empat perlakuan dan tiga ulangan. Dosis β -glukan yang digunakan sebagai perlakuan sebesar 0 mg.kg⁻¹ ikan (Kontrol), 5 mg.kg⁻¹ ikan (B), 10 mg.kg⁻¹ ikan (C) dan 20 mg.kg⁻¹ ikan (D), masing-masing perlakuan diinjeksi sebanyak 3 kali dengan interval waktu 3 hari selama 9 hari, volume injeksi 0,5 mL/ekor ikan dan pengamatan resistensi selama tujuh hari. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan jumlah β -glukan dan frekuensi pemberian yang diinjeksikan memberikan pengaruh nyata terhadap total leukosit, aktivitas fagositosis dan resistensi. Total leukosit, aktivitas fagositosis dan resistensi terbaik dicapai pada perlakuan C dengan dosis 10 mg.kg⁻¹ ikan©

Kata-kata kunci: β -glukan; *Saccharomyces cerevisiae*; *Aeromonas hydrophila*; resistensi; aktivitas leukosit.

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu komoditas unggulan ikan air tawar dan diminati oleh masyarakat Indonesia maupun

Internasional, hal ini dapat dilihat dari peningkatan produksi perikanan budidaya Indonesia yang sangat signifikan tiap tahunnya. Pada tahun 2007 kontribusi perikanan budidaya terhadap produksi perikanan nasional sebesar 38,76% dan terus

mengalami kenaikan menjadi 56,33% pada tahun 2011. Untuk produksi ikan nila, pada tahun 2011 total produksi mencapai 481,441 ton atau sebesar 75,31% yang apabila dibandingkan dengan produksi tahun 2010 mengalami kenaikan sebesar 5,44%. Secara umum, peningkatan produksi perikanan budidaya dari tahun 2010-2011 terjadi peningkatan sebesar 11,13%. (KKP, 2012).

Seiring meningkatnya kebutuhan dan produksi ikan nila, maka kegiatan budidaya ikan nila (*O. niloticus*) dilakukan dengan menggunakan sistem budidaya intensif. Namun, sistem budidaya ini memiliki dampak yang negatif terhadap kegiatan budidaya ikan nila yaitu dapat memicu timbulnya serangan penyakit baik dari golongan virus maupun bakteri seperti *Aeromonas hydrophila*. *A. hydrophila* merupakan bakteri penyebab penyakit bercak merah (*Motile Aeromonas Septicemia*/MAS) pada budidaya ikan air tawar. Pada budidaya ikan nila, serangan bakteri *A. hydrophila* telah menyebabkan penyakit bercak merah dan kematian pada ikan sebesar 173 ton, sehingga menimbulkan kerugian yang diestimasi mencapai Rp 126 juta (Lukistyowati dan Kurniasih, 2011).

Penanganan penyakit pada ikan dengan menggunakan vaksin dan antibiotik diyakini dapat memberikan hasil yang optimal. Namun, pada kenyataannya penggunaan kedua metode ini masih belum memberikan hasil yang baik. Hal ini seperti yang dilaporkan oleh Hamed *et al.* (2003) bahwa ternyata banyak dari antibiotik yang digunakan telah menimbulkan resistensi dari *strain* baru dalam penanggulangan penyakit. Sedangkan pengobatan dengan menggunakan vaksin hanya efektif pada penyakit tertentu dan salah satu bakteri patogen penyebab penyakit pada ikan air tawar yaitu *A. hydrophila* belum ada vaksin yang efektif untuk struktur antigen kompleksnya (Ardo *et al.*, 2008 dalam Suriyati, 2010). Oleh karena itu perlu dicari metode-metode baru dalam usaha untuk pengendalian penyakit. Salah satu cara untuk mengendalikan penyakit adalah dengan jalan meningkatkan sistem imun non spesifik dari ikan dengan pemberian immunostimulan.

Imunostimulan dikenal sebagai senyawa organik dan sintesis yang dapat meningkatkan ketahanan tubuh ikan tanpa menimbulkan efek samping (Rukyani *et al.*, 1997). Bahan imunostimulan dapat berasal dari biota misalnya tumbuh-tumbuhan, hewan dan makhluk hidup lainnya. 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).

Hasil penelitian Suprayudi *et al.*, (2006) menemukan bahwa penambahan bahan-bahan imunostimulan (Ragi komersial, vitamin C, β -glukan dan kromium-yeast) dalam pakan dapat meningkatkan respon imun dan pertumbuhan ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) serta resisten terhadap infeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

Hasil-hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa pemberian β -glukan dapat meningkatkan imunitas dan resistensi organisme akuatik terhadap sejumlah antigen yang berbeda. Dengan demikian, β -glukan sebagai imunostimulan dapat menawarkan alternatif lain bagi penggunaan vaksin dan antibiotik, sebab bahan ini tidak bersifat spesifik dan tidak meninggalkan residu dalam tubuh ikan serta aman untuk lingkungan. Oleh karena itu, kajian-kajian yang lebih mengenai penggunaan β -glukan sebagai imunostimulan dari ekstrak ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) untuk meningkatkan sistem imun non spesifik pada ikan sangat perlu dalam upaya mengontrol penyakit pada kegiatan budidaya ikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon imun non-spesifik, frekuensi pemberian, resistensi dan menentukan dosis yang optimal untuk ikan nila yang diberi β -glukan dari ekstrak ragi roti (*S. cerevisiae*).

MATERIAL DAN METODE

Material penelitian

Materi dalam penelitian ini meliputi; ikan nila (*Oreochromis niloticus*) (berat rata-rata $35 \pm 2,82$ g) sebanyak 150 ekor yang diperoleh dari Balai Benih Air Tawar (BBAT) Tateli, Sulawesi Utara. Adapun bahan yang digunakan sebagai imunostimulan ialah ekstrak β -glukan dari ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*). Ekstraksi β -glukan dilakukan dengan menggunakan metode asam-basah (*Alkaline-acide method*) berdasarkan Manoppo (2011). Proses ekstraksi ragi roti dan penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Bahan Hayati Laut (KBHL) Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSRAT, Manado pada bulan November sampai Desember 2012. Isolat bakteri untuk uji tantangan yang digunakan merupakan bakteri *Aeromonas hydrophila*, yang diperoleh dari Laboratorium Stasiun Karantina Ikan Kelas I Sam Ratulangi Manado.

Prosedur penelitian dan pengambilan data

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dimana tiap perlakuan di ulang 3 kali. Ikan sampel dipelihara selama 2 minggu di dalam akuarium (60x40x40 cm³) yang berisi air ± 20 L untuk proses aklimatisasi. Selama proses aklimatisasi, ikan uji diberi pakan pellet dengan *feeding rate* 3%bb/hari dan diberikan pukul 07:00 dan 17:00 setiap hari. Penyiponan dilakukan 2 kali dalam sehari, guna mempertahankan kualitas air selama proses tersebut dan dilakukan pergantian air setiap 3-4 hari sekali tergantung pada kondisi air yang ada. Setelah melewati proses aklimatisasi, ikan uji disortir kembali untuk mendapatkan ukuran ikan yang sama dan masing-masing akuarium berisi 10 ekor, ikan selanjutnya diberi perlakuan β-glukan secara injeksi dengan dosis 0, 5, 10 dan 20 mg β-glukan/kg⁻¹ ikan dan diinjeksi sebanyak 3 kali dengan interval waktu 3 hari selama 9 hari. Sebelum digunakan β-glukan dilarutkan di dalam larutan PBS. Volume injeksi yang digunakan sebanyak 0,5 ml/ekor.

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini terdiri dari parameter imun dan resistensi. Sampel darah untuk pengukuran parameter imun diambil dari 3 ekor ikan nila per unit akuarium dan dikerjakan pada hari ke-3 setelah injeksi 1x, hari ke-6 setelah injeksi ke-2x dan hari ke-9 setelah injeksi ke-3x. Pengambilan sampel darah untuk data sistem imun, dikerjakan berdasarkan prosedur yang dikemukakan oleh Rowley (1990). Data resistensi diperoleh dengan melakukan pengamatan mortalitas setiap hari selama 7 hari setelah infeksi.

Parameter imun

Parameter imun ikan nila yang diukur terdiri atas total leukosit (TL) dan Aktivitas fagositosis (AF). Prosedur penghitungan parameter imun adalah sebagai berikut:

a. Total leukosit. Penghitungan total leukosit dilakukan dengan mengencerkan darah dengan larutan turk's (perbandingan 1:10) di dalam pipet pencampur. Pipet kemudian diaduk dengan cara diayunkannya 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 40x.

b. Aktivitas fagositosis. Pengukuran aktivitas fagositosis dilakukan dengan cara sebanyak 50 µl sampel darah dimasukkan ke dalam eppendorf, ditambahkan 50 µl suspensi . 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.

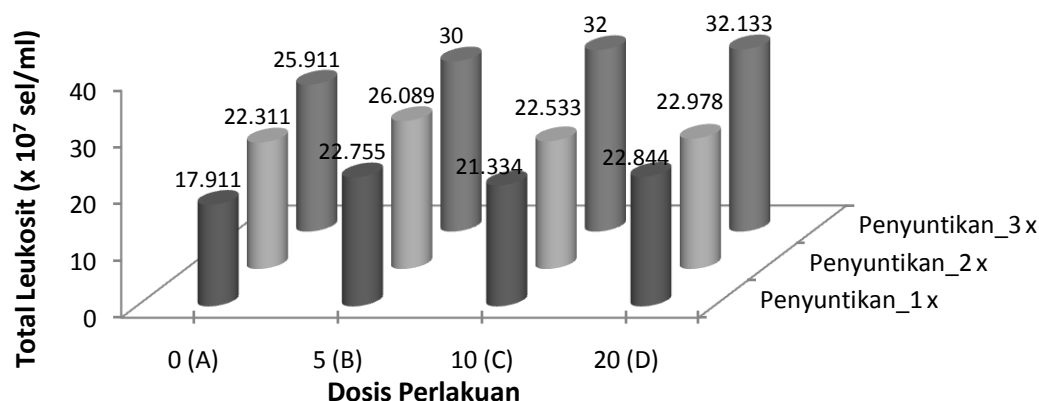
c. Resistensi. Setelah 9 hari pemberian perlakuan secara injeksi yang dilakukan sebanyak 3 kali, ikan diuji tantang melalui injeksi IP 0,5 mL larutan patogen aktif *Aeromonas hydrophila* sebanyak 1x10⁶ cfu/mL. Selama periode uji tantang, ikan diberi pakan standar 3% bb/hari, sebanyak 2 kali sehari yang diberikan pada pukul 07.00 dan 17.00 WITA. Selanjutnya ikan dimasukkan kembali dalam akuarium. Ikan yang mati dikeluarkan guna mengkonfirmasi bahwa penyebab kematian adalah *A. hydrophila*. Pengamatan terhadap mortalitas dilakukan setiap hari selama 7 hari setelah uji tantang. Tingkat resistensi ikan diukur berdasarkan tingkat kelangsungan hidup (SR) yang dicapai sampai pada akhir periode pengamatan, SR dihitung berdasarkan formula oleh Effendie (1997): SR (%) = Nt/No x 100, Nt =Jumlah ikan hidup pada waktu t (ekor), No=Jumlah ikan hidup waktu tebar (ekor).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total leukosit

Leukosit adalah sel darah putih yang berfungsi untuk sistem pertahanan tubuh terhadap infeksi patogen. Terpisah dari eritrosit, darah ikan berisi beberapa tipe darah yang tidak berwarna atau sel darah putih yang mempunyai bentuk oval dan sphenoid (Anderson, 1974 dan Lagler, 1977). Sebagian besar leukosit ditransfer ke daerah-daerah infeksi untuk memberikan pertahanan yang cepat dan poten terhadap setiap gen infeksi. Gambar 1 memperlihatkan hasil pengamatan total leukosit ikan uji yang diberi β-glukan secara injeksi IP sebanyak 3 kali.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pemberian pertama (penyuntikan 1 kali) yang teramati pada hari ke-3, total leukosit yang teramati pada ikan uji belum memperlihatkan peningkatan yang nyata (p>0,05). Namun, apabila perlakuan diberikan sebanyak 2 kali dengan interval waktu 3



Gambar 1. Rata-rata total leukosit ikan nila setelah diinjeksi β -glukan dengan dosis berbeda sebanyak 3 kali selama 9 hari

hari yakni pada hari ke-6 terlihat bahwa dosis terbaik yang memberikan peningkatan total leukosit ikan dicapai pada perlakuan B (5 mg.kg^{-1} ikan) dengan nilai total mencapai $26,089 \pm 15,33$ dibandingkan dengan perlakuan C dan D maupun kontrol yang hanya mencapai $22,311 \text{ sel/mL}$. Adanya peningkatan total leukosit pada perlakuan B sebesar $16,93 \%$ ini diduga karena masuknya ekstrak β -glukan dari *Saccharomyces cerevisiae* yang berperan sebagai immunostimulan, sehingga dapat merangsang sel-sel fagositik untuk membentuk sistem kekebalan non spesifik pada tubuh ikan. Menurut Raa (2000), β -glukan bekerja dengan cara mengikat molekul reseptor yang terdapat pada permukaan sel-sel fagosit. Pada saat reseptor diikat oleh β -glukan, sel fagosit menjadi lebih aktif dalam melakukan fagositosis terhadap partikel asing atau bakteri. Pada saat bersamaan sel-sel fagosit tersebut mengeluarkan molekul signal (*cytokine*) yang merangsang pembentukan sel-sel leukosit yang baru.

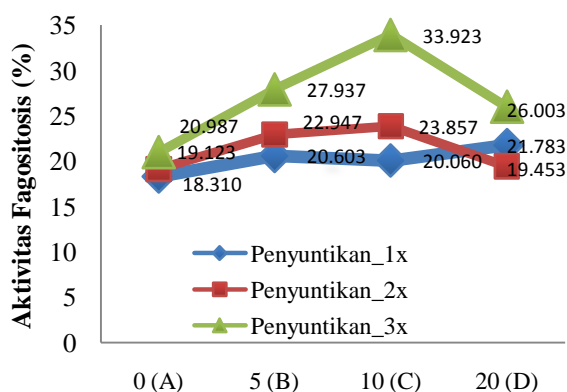
Pada pemberian ke 3 kali dengan interval waktu yang sama, hasil analisis menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,01$). Peningkatan total leukosit terbaik di capai pada perlakuan D dan C. Hal ini diduga karena semakin tingginya frekuensi dan waktu pemberian perlakuan. Hasil yang sama dilaporkan oleh Misra *et al.* (2006) dimana ikan juvenil *Labeo rohita* ($35 \pm 5 \text{ g}$) yang diberi β -glukan secara IP 10 mg/kg ikan secara nyata mengalami peningkatan total leukosit dan aktivitas fagositosis 42 hari setelah 3 kali penyuntikan. Pada penelitian ini, perbedaan total leukosit yang sangat nyata pada perlakuan D dan C jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya (A dan B), mengindikasikan bahwa ikan yang diberi perlakuan β -glukan dengan

dosis 20 mg.kg^{-1} ikan dan 10 mg.kg^{-1} ikan memiliki kondisi kesehatan lebih baik dibandingkan dengan ikan yang diberi perlakuan 5 mg.kg^{-1} berat ikan dan kontrol. Hal ini sebagaimana dikemukakan oleh Robert (1978), bahwa Jumlah leukosit yang ada pada setiap jenis ikan tertentu dapat berubah sesuai dengan tingkat kesehatan ikan tersebut. Lebih lanjut Suprayudi *et al.* (2006) mengatakan bahwa, peningkatan aktivitas leukosit dapat mengindikasikan adanya infeksi.

Aktivitas fagositosis

Hasil analisis memperlihatkan bahwa pemberian perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap aktivitas fagositosis jika hanya diberikan satu kali yang diamati pada hari ke-3. Pemberian perlakuan memperlihatkan peningkatan aktivitas fagositosis secara signifikan setelah diberikan sebanyak 2 sampai 3 kali penyuntikan dengan interval waktu 3 hari ($p < 0,01$) (Gambar 2). Hasil yang sama juga ditemukan pada penelitian yang dilakukan oleh Misra *et al.* (2006) menemukan bahwa aktivitas fagositosis secara nyata lebih tinggi pada ikan yang diinjeksi dengan β -glukan 10 mg.kg^{-1} berat ikan dibandingkan dengan ikan kontrol. Pada ikan yang diberi 10 mg β -glukan/kg ikan, indeks fagositosis mencapai 6 kali lebih tinggi dibandingkan dengan ikan kontrol.

Fagositosis merupakan mekanisme pertahanan tubuh yang dilakukan oleh sel-sel fagosit dengan cara mencerna patogen atau partikel asing ke dalam sitoplasma sel darah. Aktivitas fagositosis menunjukkan jumlah total sel fagosit yang aktif atau yang melakukan fagositosis dibandingkan dengan jumlah sel fagosit yang teramati.



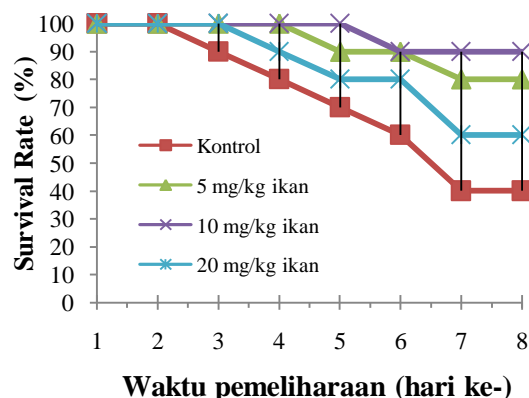
Gambar 2. Aktivitas fagositosis ikan nila setelah diinjeksi β -glukan dengan dosis berbeda yang diinjeksi sebanyak 3 kali selama 9 hari

Hasil analisis memperlihatkan bahwa pada pemberian β -glukan sebanyak 2 kali penyuntikan, aktivitas fagositosis pada perlakuan C dan B berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan A maupun D. Pada 3 kali pemberian perlakuan, aktivitas fagositosis ikan yang diberi perlakuan C berbeda sangat nyata jika dibandingkan dengan aktivitas fagositosis pada perlakuan A (kontrol), maupun pada perlakuan D dan B, dengan nilai aktivitas pada perlakuan C sebesar $(33,923 \pm 0,581)$ atau 61,63%. Pada perlakuan B dan D, aktivitas fagositosis berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan A yang nilai aktivitas fagositosis hanya $(20,987 \pm 0,47)$. Namun tidak terdapat perbedaan nyata antar perlakuan B dan D. Peningkatan aktivitas fagositosis diduga karena adanya stimulasi dari ekstrak β -glukan yang berfungsi sebagai immunostimulan yang dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh, sehingga aktivitas dari sel-sel fagosit meningkat. Hal ini sebagaimana dinyatakan oleh Yin *et al.* (2006) bahwa β -glukan meningkatkan respon imun ikan dengan meningkatkan aktivitas sel-sel fagosit untuk menjalankan proses fagositosis. Lebih lanjut Brown (2000) dalam Hastuti (2012), menyatakan bahwa peningkatan kekebalan tubuh dapat diketahui dari peningkatan aktivitas sel fagosit. Sel fagosit ini yang berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh inang. Salah satu tanda meningkatnya daya tahan tubuh oleh pemberian immunostimulan adalah dengan adanya peningkatan kemampuan fagositosis makrofag. Makrofag memiliki sifat seperti halnya sel fagosit yang lain (Andayani, 2009).

Resistensi

Hasil pengamatan mortalitas ikan pada perlakuan kontrol (A) mulai terjadi pada hari ke-2 dan seterusnya sampai hari ke-6 dengan mortalitas kumulatif sebesar 40%. Pada perlakuan B kematian mulai terjadi pada hari ke-4 sampai hari ke-6 dengan mortalitas 20%. Pada perlakuan C kematian ikan mulai terjadi pada hari ke 5 dan selanjutnya tidak lagi terjadi kematian sampai akhir pengamatan (hari ke-7) dengan mortalitas 1%. Sedangkan pada perlakuan D kematian mulai teramati pada hari ke-3 sampai hari ke-6. Pada semua perlakuan mortalitas tidak lagi teramati pada hari ke-7. Hal ini membuktikan bahwa bakteri *A. hydrophila* yang diinfeksi melalui penginjeksian secara IP dengan kepadatan 10^6 cfu/mL sangat patogen pada ikan nila, jika diberi perlakuan β -glukan sebesar 20 mg.kg⁻¹ ikan (D) dan tanpa perlakuan (Kontrol, A), tetapi tidak untuk ikan yang diberi perlakuan dengan dosis 5 mg β -glukan (B) dan 10 mg β -glukan (C). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Rodriguez *et al.* (2009), ikan zebra yang diinjeksi IP 5 mg/ml β -glukan memiliki mortalitas yang lebih rendah dibandingkan dengan ikan yang disuntik dengan 0,5 mg/ml dan 2 mg/ml yang diamati pada hari keempat setelah diuji tantang dengan *A. hydrophila*. Lebih lanjut penyuntikan β -glukan dapat meningkatkan kemampuan sel-sel ginjal untuk membunuh bakteri *A. hydrophila*.

Aeromonas hydrophila merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang, motil. Merupakan agensia penyebab penyakit MAS pada beragam spesies air tawar (Irianto, 2005). Secara umum bakteri masuk dan menyebar kedalam tubuh ikan melalui kulit, insang, dan saluran pencernaan



Gambar 2. Pola Kematian Ikan Nila Yang Diuji Tantang Dengan *A. hydrophila* dan Diamati Selama 7 Hari Setelah Uji Tantang

(Alifuddin, 1996 dalam Haditomo, 2011).

Tingkat resistensi ikan nila setelah diuji tantang dengan *A. hydrophila* yang diamati selama 7 hari diukur berdasarkan tingkat kelangsungan hidup ikan uji. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa SR tertinggi dicapai pada perlakuan dengan dosis 10 mg.kg⁻¹ ikan (C) (Gambar 3).

Pada dosis 20 mg.kg⁻¹ ikan (D) yang merupakan dosis tertinggi pada perlakuan, kelangsungan hidup ikan nampak menurun dibandingkan dengan perlakuan C (10 mg. kg⁻¹ ikan). Hal ini mungkin disebabkan dosis yang diberikan sudah terlalu tinggi sehingga imunostimulan tersebut tidak meningkatkan resistensi tetapi sebaliknya menekan. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Sakai (1999) bahwa penggunaan dosis imunostimulan yang berlebihan tidak mampu meningkatkan pertumbuhan maupun sistem imun tetapi sebaliknya akan merupakan immunosupresor yang menekan sistem imun maupun pertumbuhan.

Rendahnya tingkat mortalitas kumulatif pada perlakuan A (kontrol) yakni 40 %, mengindikasikan tingginya tingkat infeksi bakteri *A. hydrophila* yang dapat dilihat dari jumlah kematian ikan dan tanda-tanda klinis yang teramati (Pendarahan pada permukaan kulit, pendarahan pada pangkal sirip dada, punggung dan ekor, luka borok (*ulcer*) pada permukaan tubuh dan bagian perut membesar yang ikuti oleh kematian). Menurut Angka (2005), *A. hydrophila* menghasilkan eksotoksin yang dapat menghemolisis sel darah merah dan sel darah putih sehingga menyebabkan hemoragik (pendarahan). Lebih lanjut Bevelander dan Ramaley (1979) dalam Mangunwardoyo et al. (2010) menyatakan, bakteri bergerak dengan sangat cepat di dalam pembuluh darah, dan dengan mudah mencapai organ-organ penting dari ikan seperti pada hati dan ginjal. Lokasi tersebut akan dimanfaatkan oleh bakteri sebagai media tempat hidup dan memperbanyak diri, serta menggunakan nutrisi disekitarnya untuk proses metabolisme. Masuknya bakteri dalam tubuh mengaktifkan respon imun dengan memproduksi polimorfonuklear leukosit, seperti melano makrofag, monosit, dan nutrofil yang berperan sebagai sel fagosit. Kehadiran leukosit tersebut menyebabkan bakteri mengeluarkan toksin hemolisin yang mengakibatkan terjadinya *ulcer* dan hemoragik dan nekrosis juga terjadi pada hati, limpa, dan ginjal yang terinfeksi bakteri 10⁷ cfu/mL diikuti oleh kematian seluruh sel atau jaringan.

KESIMPULAN

Pemberian β -glukan secara injeksi sebanyak 3 kali dengan interval waktu 3 hari selama 9 hari memberi pengaruh positif terhadap peningkatan respon imun non-spesifik dan resistensi ikan nila pada dosis 10 mg.kg⁻¹ ikan.

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

REFERENSI

- ANDAYANI, S. (2009) Respon non-spesifik ikan kerapu macan (*epinephelus fuscoguttatus*) terhadap imunostimulan senyawa aktif alkaloid ubur-ubur (*bougainvillia* sp) melalui pakan. *Berkala penelitian hayati edisi khusus*, 3B, pp. 67–73.
- ANDERSON D.P. (1974) *Fish Immunologi*. Hongkong: TFH Publication.
- ANGKA, S.L. (2005) *Kajian penyakit motile aeromonas septicemia (MAS) pada ikan lele dumbo (Clarias sp.); patologi, pencegahan dan pengobatannya dengan fitofarmaka*. Unpublished doctoral thesis (Ph.D). Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor (IPB).
- EFFENDI, I. (1997) *Biologi Perikanan*. Yogyakarta: PT Yayasan Pustaka Nusantara.
- HADITOMO, C.H.A. (2011) *Pemberian probiotik pada media budidaya untuk pengendalian aeromonas hydrophila pada ikan mas (Cyprinus carpio)*. Unpublished Thesis (MSc). Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor (IPB).
- HAMED, A.S., RAHAMAN, K.H., ALAGAN, A. and YOGANANDHAN, K. (2003) Antibiotic resistance in bacteria isolated from hatchery reared larvae and post larvae of *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, (217), pp. 39–48.
- HASTUTI, S. D. (2012) Suplementasi β -glukan dari ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) dalam pakan terhadap aktivitas fagositosis, aktivitas NBT, total protein plasma dan aktivitas aglutinasi darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Depik*, 1(3), pp. 149–155.

- IRIANTO, A. (2005) *Patologi ikan teleostei*. Yogyakarta: PT Gadjah Mada University Press.
- KKP (2012) Laporan akutanbilitas kinerja kementerian kelautan dan prikanan tahun 2011. *Kementerian Kelautan dan Perikanan Indonesia*, (Maret), pp. 1-98.
- LI, P., GATLIN III. and DELBERT, M. (2003) Evaluation of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid bass (*Morone chrysops* & *M. saxatilis*). *Aquaculture*, 219, pp. 681-692.
- LUKISTYOWATI, I. and KURNIASIH (2011) Kelangsungan hidup ikan mas (*Cyprinus carpio* L) yang diberi pakan ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) dan diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Perikanan dan Kelautan*, 16 (1), pp. 144-160.
- MANGUNWARDYO, W., ISMAYASARI, R. and RIANI, E. (2010) Uji patogenitas dan virulensi *Aeromonas hydrophila* strainer pada ikan nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) melalui postulat koch. *Riset Akuakultur*, 5 (2), pp. 245-255.
- MANOPPO, H. (2011) *Peran nukleotida sebagai imunostimulan terhadap respon imun nonspesifik dan resistensi udang vaname (Liptopenaeus vannamei)*. Unpublished doctoral thesis (Ph.d). Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor (IPB).
- MISRA, C.K., DAS, B.K., MUKHERJEE, S.C. and MEHER, K.P. (2006) Effect of multiple injections of b-glucan on non-specific immune response and disease resistance in *Labeo rohita* fingerlings. *Fish & Shellfish Immunology*, 20, pp. 305-319.
- RODRIGUEZ, I., CHAMORRO, R., NOVOA, R. and FIGUERAS, A. (2009) β -Glucan administration enhances disease resistance and some innate immune responses in zebrafish (*Danio rerio*). *Fish & Shellfish Immunology*, 27, pp. 369-373.
- RAA, J. (2000) The use of immune-stimulants in fish and shellfish feeds. In: CRUZ-SUAREZ, L.E., RICQUE-MARIE, D., TAPIA-SALAZAR, M., OLVERA-NOVOA, M.A. Y CIVERA-CERECEDO, R., (eds.) *Avances en nutricion acuicola v. memorias del v simposium internacional de nutricion acuicola*. 19-22 Noviembre, 2000. Merida, Yucatan, Mexico. pp. 47-56.
- RUKYANI, A., SILVA, E., SUMANTO, A. and TAUKHID (1997) Peningkatan respon kebal non spesifik pada ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) dengan pemberian imunostimulan (β -glukan). *Penelitian Perikanan Indonesia*, 3(1), pp. 1-10.
- SAKAI, M. (1999) Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, 172, pp. 63-92.
- SUPRAYUDI, M. A., INDRIASTUTI, L. and SETIAWATI, M. (2006) Pengaruh penambahan bahan-bahan imunostimulan dalam formulasi pakan buatan terhadap respon imunitas dan pertumbuhan ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). *Akukakultur Indonesia*, 5(1), pp. 77-86.
- SURIYATI (2010) Pemberian kappa-karaginan untuk meningkatkan respon imun non-spesifik dan resistensi penyakit pada ikan lele dumbo (*Clarias* sp.). Unpublished Thesis (MSc). Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor (IPB).
- VERLHAC, V., GABAUDAN, J., OBACH, A., SCHUEP, W. and HOLE, R. (1996) Influence of dietary glucan and vitamin C on non-specific and specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 143, pp. 123-133.
- YIN, G., JENEY, G., RACZ, T., XU, P., JUN, X. and JENEY, Z. (2006) Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 253, pp. 39-47.

Diterima: 22 April 2013
Disetujui: 29 April 2013