

Efektivitas Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Untuk Meningkatkan Respon Imun Non Spesifik Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

(The Effectiveness of the Extract of Balsam-weed leaves (*Impatiens balsamina* L.) in Enhancing Nonspecific Immune Response of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*)

Wesly Pasaribu¹, Sammy N.J. Longdong², Joppy D Mudeng²

¹) Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan FPIK UNSRAT Manado

²) Staf Pengajar Pada Program Studi Budidaya Perairan FPIK UNSRAT Manado

Email: weslypasaribu11@gmail.com

Abstract

The objective of this research was to determine the most effective dose and the best induction time of *Impatiens balsamina* extract in enhancing nonspecific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). The tested fish were Nile tilapia, 14-16 cm in length, and 39-42 g in weight, obtained from Balai Pengembangan dan Pembinaan Pembudidayaan Ikan (BP3I) Tateli. The research was designed in 2x4 factorial in completely randomized design. There were two factors tested in this research, the dose and time. There were four levels of dose, A1 = 0 mg/mL extract, A2 = 30 mg/mL extract, A3 = 50 mg/mL extract, A4 = 70 mg/mL extract; and there were two levels of time, B1 = 7 days after injection and B2 = 14 days after injection. The extract was injected intramuscularly with a dose of 0.2 mL per fish. Data collected in this research was the immune parameters (total leucocyte count and phagocytosis activity). The results showed that the most effective dose in enhancing nonspecific immune response was A1 = 50 mg/mL extract and the best induction time was B1 = 7 day after injection. The results also indicated that there was significant interaction between dose and time in influencing the total amount of leucocyte, but there was not interaction in influencing the phagocytic activities.

Keywords : *Impatiens balsamina*, immune Response, total leucocyte count, phagocytosis activity.

PENDAHULUAN

Budidaya ikan yang dilaksanakan secara intensif dapat berdampak negatif terhadap usaha budidaya apabila tidak ditangani dengan baik khususnya terhadap kesehatan ikan yang dipelihara. Dalam budidaya intensif, padat tebar yang tinggi dapat menyebabkan ikan stres sehingga cenderung mudah terserang patogen. Kepadatan ikan yang tinggi juga

memudahkan penyebaran penyakit, karena kontak yang dekat antara sesama ikan mendorong terjadinya penyebaran patogen. Aktivitas pemberian pakan dalam budidaya intensif juga dapat menimbulkan penyakit pada ikan, seperti kekurangan gizi dan kualitas air yang menurun (Komaruddin dan Slembrouck, 2005). Oleh karena itu untuk penanggulangan perluasan penyakit harus dilakukan sedini mungkin, agar tidak terjadi wabah

penyakit yang menyebabkan kerugian ekonomi.

Penanggulangan penyakit dapat dilakukan dengan upaya pencegahan dan pengobatan. Upaya pencegahan dapat dilakukan melalui karantina, vaksinasi dan desinfeksi. Sedangkan upaya pengobatan dapat menggunakan antibiotik (Dwi dan Junaidi, 2007). Namun demikian, kedua upaya ini memiliki keterbatasan masing-masing. Penggunaan vaksin hanya efektif terhadap satu jenis penyakit, selain itu vaksin belum banyak tersedia dan harganya cukup mahal. Sedangkan pengobatan dengan antibiotik secara berkepanjangan dapat menyebabkan resistensi mikroorganisme patogen, serta dapat meninggalkan residu yang berbahaya bagi manusia dan lingkungan (Manurung, 2013).

Akibat keterbatasan penggunaan vaksin dan antibiotik pada ikan, maka upaya pencegahan dan pengobatan penyakit ikan pada sistem budidaya sedang diarahkan pada penggunaan imunostimulan dari bahan alami yang terbukti efektif dan aman untuk manusia dan lingkungan (Sukenda *et al.*, 2008). Raa (2000) menyatakan imunostimulan merupakan suatu bahan yang dapat meningkatkan sistem kekebalan non spesifik ikan. Beberapa jenis tanaman telah diketahui memiliki efek yang dapat meningkatkan respon imun dan antibakteri pada ikan, seperti daun sirsak (Nurjannah *et al.*, 2013), daun sambiloto (Lukisyowati, 2012) dan masih banyak tumbuhan lainnya.

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai bahan immunostimulan adalah tumbuhan pacar air (*Impatiens balsamina* L.). Hasil skrining fitokimia dari daun pacar air mengandung senyawa flavonoida, saponin, steroida, glikosida

(Utari, 2011 ; Nurdin *et al.*, 2013) kumarin, kuinon, striterpenoid dan fenolik (Adfa, 2008). Dimana senyawa flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan, antikanker, antibakteri, antiaterosklerotik, imunomodulator, antidiabetes, antiinflamasi (Middleton *et al.*, 2000) dan senyawa saponin berfungsi sebagai membran-permeabilising, bersifat hipokolesterolemik dan juga dapat mempengaruhi pertumbuhan serta meningkatkan respon makan pada hewan (Das *et al.*, 2012).

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan menentukan dosis ekstrak tumbuhan pacar air (*Impatiens balsamina* L.) dan waktu (lama dosis bereaksi) yang paling efektif digunakan untuk meningkatkan respon imun non spesifik ikan nila. Kemudian menganalisis pengaruh interaksi antara faktor dosis yang digunakan dengan waktu (lama dosis bereaksi).

BAHAN DAN METODE

Uji Pendahuluan

Pada uji pendahuluan disediakan 5 buah bak/ember berdiameter 60 cm dimana setiap bak/ember diisi 7 ekor ikan. Uji pendahuluan dilakukan dengan menggunakan 5 perlakuan dosis yakni dosis A= 0 mg/mL, B= 50 mg/mL ekstrak, C= 100 mg/mL ekstrak, D= 300 mg/mL ekstrak dan E= 500 mg/mL ekstrak. Ekstrak akan disuntikkan pada masing-masing ikan secara intramuskular sebanyak 0.2 mL. Hasil pemeriksaan gambaran darah pada hari ketiga diperoleh hasil pada perlakuan A= 6.0×10^5 sel/mm³, B = 10.40×10^5 sel/mm³, C= 8.80×10^5 sel/mm³, D= 6.40×10^5 sel/mm³, pada pengamatan E= pengamatan gambaran darah belum sempat dilakukan karena

mortalitas 100% sampai hari kedua setelah penyuntikan. Maka dari hasil uji pendahuluan didapati dosis yang aman digunakan dan memiliki efek untuk meningkatkan total leukosit yang baik yaitu pada dosis 50 mg/mL ekstrak. Hasil dari uji penelitian ini kemudian dilanjutkan ke uji kritis.

Rancangan Percobaan

Percobaan dirancang menurut percobaan faktorial 2 x 4 dalam rancangan acak lengkap (RAL) dan setiap perlakuan memiliki 3 ulangan. Dalam penelitian ini terdapat 2 faktor yang diuji dalam percobaan ini yakni faktor dosis ekstrak tumbuhan pacar air dan waktu (lama dosis bereaksi). Faktor dosis (A) terdiri dari 4 taraf yakni A1= 0 mg/mL ekstrak, A2= 30 mg/mL ekstrak, A3= 50 mg/mL ekstrak, A4= 70 mg/mL ekstrak dan faktor waktu (B) terdiri dari 2 taraf yakni B1=hari ke-7 setelah penyuntikan ekstrak dan B2= hari ke-14 setelah penyuntikan ekstrak.

Wadah Pemeliharaan

Tahap persiapan dimulai dengan membersihkan bak/lember berdiameter 60 cm sebanyak 12 buah dengan menggunakan sabun, setelah itu dibilas dengan air bersih dan dikeringkan selama 1 hari. Bak/ember diletakkan secara acak dan diisi air yang berasal dari air sumur dan dipasang aerasi. Untuk menjaga agar kualitas air tetap baik, maka akan dilakukan penggantian air sekali sehari sebanyak 20 % tergantung pada kondisi air

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah ikan nila yang berukuran 14-16 cm dengan berat 39-42 gram. Setiap wadah pemeliharaan diisi dengan 7 ekor ikan. Ikan yang diperoleh yang berasal dari

Balai Pengembangan dan Pembinaan Pembudidayaan Ikan (BP3I) Tateli Sulawesi Utara. Masa pemeliharaan ikan dilaboratorium diawali dengan mengadaptasikan ikan terhadap pakan dan lingkungannya yang baru selama dua minggu. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi dan Klinik Penyakit Ikan dan di Laboratorium Nutrisi dan Pakan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi Manado.

Bahan Uji

Pengumpulan sampel dilakukan secara purposif yaitu tanpa membandingkan dengan tumbuhan yang sama dari daerah lain. Pada penelitian ini bagian tumbuhan pacar air (*Impatiens balsamina* L.) yang diambil adalah bagian daun. Daun pacar air diambil dari daerah Kelurahan Winangun dan Ranotana, Manado. Pembuatan ekstrak dilakukan secara meserasi dengan menggunakan pelarut alkohol 96%. Pembuatan konsentrasi dosis A2 dilakukan dengan menimbang sebanyak 0.30 g ekstrak kemudian dilarutkan kedalam akuades sebanyak 10 mL untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak 30 mg/mL, A3= menimbang 0.50 g ekstrak dan dilarutkan kedalam akuades sebanyak 10 mL untuk konsentrasi ekstrak 50 mg/mL, A4 = menimbang 0.70 g ekstrak dan dilarutkan kedalam akuades sebanyak 10 mL untuk konsentrasi ekstrak 70 mg/ml.

Uji In Vivo

Pengujian in vivo dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak tumbuhan pacar air yang diberikan dengan cara injeksi terhadap respon kekebalan tubuh ikan. Taraf A1 dilakukan tanpa penyuntikan (0 mg/mL ekstrak). Taraf A2

dilakukan dengan penyuntikan ekstrak dengan dosis 30 mg/ml pada masing-masing ikan sebanyak 0,2 mL secara intramuskular. Taraf A3 dilakukan dengan penyuntikan ekstrak dengan dosis 50 mg/mL pada masing-masing ikan sebanyak 0,2 mL secara intramuskular. Taraf A4 dilakukan dengan penyuntikan ekstrak dengan dosis 70 mg/ml pada masing-masing ikan sebanyak 0,2 mL secara intramuskular.

Parameter Yang Diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini terdiri dari data parameter imun yaitu TLC (*Total Leucocyte Count*) dan aktivitas fagositosis. Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke 7 dan 14 setelah injeksi ekstrak tumbuhan pacar air. Darah diambil 1 ekor ikan dari setiap wadah pemeliharaan. Pengambilan darah dilakukan menggunakan spuit 1 mL yang sudah dibilas antikoagulan EDTA (*Ethylene Diamine Tetraacetic Acid*). Sampel darah diambil sebanyak 0.5 mL dari vena caudalis.

Total Leukosit

Untuk menghitung TLC dilakukan pengambilan sampel darah sebanyak 50 µL kemudian ditambah dengan larutan Turk sebanyak 450 µl (perbandingan 1:10) didalam tabung eppendorf. Campuran darah dan larutan Turk dihomogenkan dengan mengayun-ayunkan secara perlahan-lahan dan diinkubasi dalam suhu ruang selama 5 menit, selanjutnya total leukosit dihitung dengan menggunakan hemasitometer dibawah mikroskop binokuler pembesaran 40 kali.

Aktivitas Fagositosis

Untuk mengukur aktivitas fagositosis, pertama-tama darah diambil sebanyak 50µL lalu dimasukkan kedalam tabung kemudian dicampur dengan ragi

roti sebanyak 0.5 g yang disuspensikan ke 10 mL NaCl dan dihomogenkan. Selanjutnya diinkubasi selama 20 menit dalam suhu ruang. Setelah itu 5 µL sampel darah diambil untuk dibuat menjadi sediaan ulas dan dikering-anginkan. Setelah kering dilakukan pewarnaan dengan larutan giemsa. Pengamatan fagositosis dilakukan dengan mengamati sediaan ulas dibawah mikroskop binokuler pada pembesaran 100 kali. Aktivitas fagositosis (AF) dihitung dengan formula :

$$AF (\%) = \frac{\sum \text{sel yang aktif memfagosit}}{\sum \text{sel fagosit}} \times 100$$

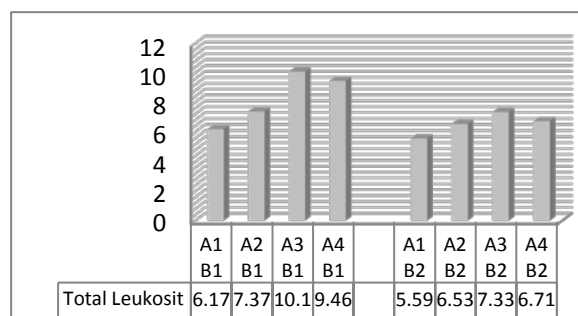
Analisi Data

Data yang diperoleh dinyatakan dalam bentuk nilai rata-rata. Untuk mengetahui apakah ada pengaruh perbedaan dosis yang digunakan dan waktu yang digunakan terhadap keadaan parameter imun maka dilakukan analisis ragam faktorial 2 x 4 dalam Rancangan Acak Lengkap pada taraf 5% dan 1%. Sedangkan untuk melihat perbedaan yang signifikan antar perlakuan maka dilakukan uji lanjut Kontras

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Leukosit

Rata-rata jumlah leukosit ikan nila antar perlakuan ditunjukkan pada Gambar 1 di bawah ini :

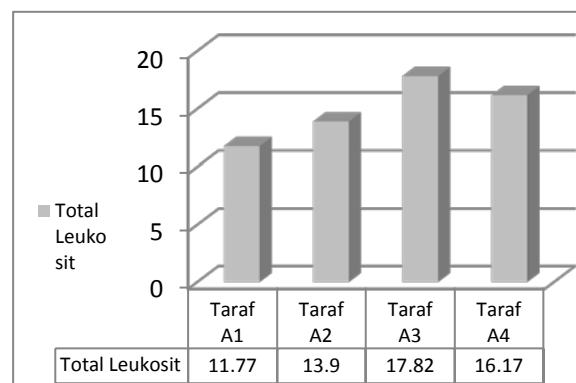


Gambar 1. Histogram rata-rata jumlah leukosit (x10⁵ sel/mm³) ikan nila pada 8 perlakuan

Berdasarkan Gambar 1 di atas maka dapat dilihat total leukosit tertinggi pada perlakuan dosis A3B1 (10.08×10^5 sel/mm³) dan total leukosit terendah pada perlakuan A1B2 (5.59×10^5 sel/mm³). Hasil uji analisis ragam menunjukkan bahwa perbedaan perlakuan (kombinasi antara faktor dosis dan waktu) memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap perbedaan peningkatan total leukosit ikan nila, perbedaan faktor A (dosis) memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap perbedaan peningkatan total leukosit ikan nila dan perbedaan faktor B (waktu) memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap perbedaan peningkatan total leukosit ikan nila. Serta dari hasil analisis ragam juga didapat hasil adanya interaksi antara faktor dosis dan waktu.

Hasil uji lanjut kontras memperlihatkan perlakuan A1B1 (0 mg/mL ekstrak; hari ke-7) berbeda sangat nyata ($p < 0.01$) dibanding dengan perlakuan A2B1 (30 mg/mL ekstrak; hari ke-7), perlakuan A2B1 (30 mg/mL ekstrak; hari ke-7) memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dibanding dengan A3B1 (50 mg/mL ekstrak; hari ke-7), dan perlakuan A3B1 (50 mg/mL ekstrak; hari ke-7) juga memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P = 0.04$) dibanding dengan perlakuan A4B1 (70 mg/mL ekstrak; hari ke-7). Serta perlakuan A1B2 (0 mg/mL ekstrak; hari ke-14) berbedan sangat nyata ($P < 0.01$) dibanding dengan perlakuan A2B2 (30 mg/mL ekstrak; hari ke-14), perlakuan A2B2 (30 mg/mL ekstrak; hari ke-14) berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dibanding dengan perlakuan A3B2 (50 mg/mL ekstrak; hari ke-14) dan perlakuan A3B2 (50 mg/mL ekstrak; hari ke-14) berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dibanding perlakuan

A4B2 (70 mg/mL ekstrak; hari ke-14). Namun perlakuan A2B2 (30 mg/mL ekstrak; hari ke-14) tidak berbeda nyata ($P = 0.53$) dibanding dengan perlakuan A4B2 (70 mg/mL ekstrak; hari ke-14).



Gambar 2. Histogram rata-rata jumlah leukosit ($\times 10^5$ sel/mm³) ikan nila antar taraf faktor A

Gambar 2 menunjukkan adanya peningkatan total leukosit dari taraf A1 (0 mg/mL ekstrak) sampai ke taraf A3 (50 mg/mL ekstrak) namun dari taraf A3 (50 mg/mL ekstrak) mengalami jumlah penurunan total leukosit ke taraf A4 (70 mg/mL ekstrak). Hasil uji lanjut kontras juga menunjukkan taraf A1 (0 mg/mL ekstrak) memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0.01$) dibanding dengan taraf A2 (30 mg/mL ekstrak), taraf A2 (30 mg/mL ekstrak) memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dibanding dengan taraf A3 (50 mg/mL ekstrak), dan taraf A3 (50 mg/mL ekstrak) juga memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dibanding dengan taraf A4 (70 mg/mL ekstrak).

Dari semua hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa faktor dosis dengan taraf A3 (50 mg/ml ekstrak) merupakan faktor dosis yang terbaik untuk meningkatkan jumlah total leukosit ikan nila dan faktor waktu yang terbaik terdapat pada taraf faktor B1 (hari ke-7). Hasil

penelitian ini juga menunjukkan bahwa, pemberian ekstrak daun tumbuhan pacar air dengan cara injeksi pada ikan nila dapat merangsang peningkatan jumlah leukosit ikan. Peningkatan jumlah leukosit disebabkan karena ekstrak pacar air mengandung senyawa flavonoid dan saponin.

Menurut Angka *et al.*, (2004) dalam Utami (2009) flavonoid dapat mengaktifkan sistem limfe, sehingga dapat meningkatkan produksi sel darah putih karena masa beredar sel darah putih di dalam darah sangat singkat. Hal ini juga terlihat dari penelitian Lukisyowati (2012) dimana daun sambiloto yang juga mengandung flavonoid dapat meningkatkan jumlah leukosit. Menurut Galina *et al.* (2009) aktivitas immunostimulator senyawa flavonoid terjadi melalui stimulasi sitokin inter leukin-2 (IL-2) sehingga pembentukan imunoglobulin-G (Ig) meningkat. Kandungan lain yang dapat meningkatkan sistem imun adalah Saponin. Menurut Francis *et al.* (2002) dalam Rosmalawati (2008) bahwa saponin mempunyai kemampuan merangsang sel imun yaitu meningkatkan pembentukan antibodi sehingga dapat berperan sebagai immunostimulator.

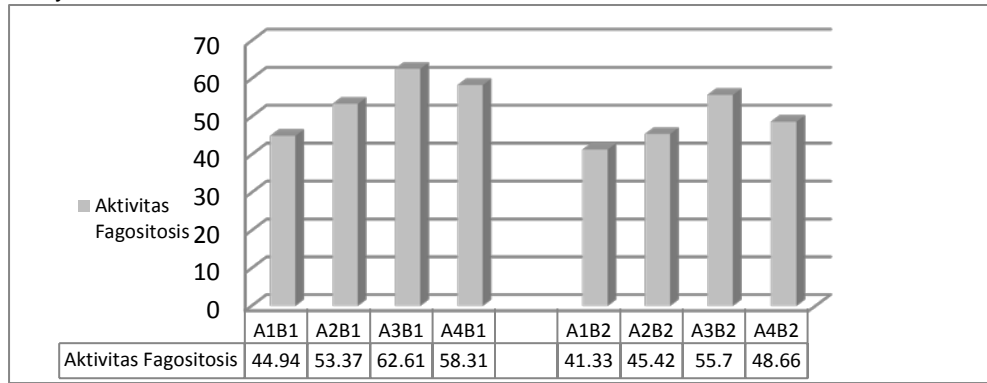
Total leukosit pada ikan yang diberi 70 mg/mL ekstrak lebih rendah dari total leukosit pada ikan yang diberi 50 mg/mL ekstrak hal ini dimungkinkan karena efek terapeutik sudah mengalami kejenuhan. Pemberian dosis yang tinggi pada ikan juga bahkan dapat menimbulkan kematian pada ikan seperti pada uji pendahuluan sebelumnya. Hal ini dikarenakan ekstrak tumbuhan pacar air mengandung saponin yang dapat bersifat racun bagi hewan berdarah dingin termasuk ikan (Rizatullah, 2013).

Total leukosit juga mengalami penurunan dari taraf faktor B1 (hari ke-7) ke taraf faktor B2 (hari ke-14). Hal ini berkaitan dengan lama dosis bereaksi didalam tubuh. Menurut penelitian Anderson dan Siwiski (1994) dalam Treves-Brown (2000) menggunakan glucan dan chitosan dengan cara pemberian disuntik atau direndam pada ikan mengalami penurunan kualitas efek obat pada hari ke-14 dan ke-21 dari pada hari ke-7.

Aktivitas Fagositosis

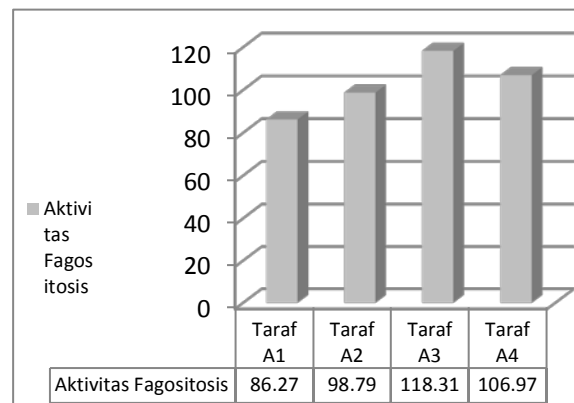
Rata-rata aktivitas fagositosis ikan nila (Gambar 3) antar perlakuan memperlihatkan aktivitas fagositosis tertinggi terdapat pada perlakuan A3B1 (62.61 %) namun dari perlakuan A3B1 (62.61 %) mengalami penurunan aktivitas fagositosis ke perlakuan A4B1 (58.31%). Gambar 2 juga menunjukkan peningkatan total leukosit dari perlakuan A1B2 (41.33 %) sampai ke perlakuan A3B2 (55.7 %) namun dari A3B2 (55.7 %) mengalami penurunan aktivitas fagositosis ke A4B2 (48.66 %).

Hasil uji analisis ragam menunjukkan bahwa perbedaan perlakuan (kombinasi antara faktor dosis dan waktu) memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap perbedaan peningkatan aktivitas fagositosis ikan nila, perbedaan faktor A (dosis) memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap perbedaan peningkatan aktivitas fagositosis ikan nila dan perbedaan faktor B (waktu) memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap perbedaan peningkatan aktivitas fagositosis. Serta dari hasil analisis ragam juga didapat hasil bahwa tidak terdapat interaksi antara faktor dosis dan waktu terhadap aktivitas fagositosis.



Gambar 3. Histogram rata-rata aktiviats fagositosis (%) ikan nila dari 8 perlakuan

Hasil uji lanjut kontras menunjukkan perlakuan A1B1 (0 mg/mL ekstrak; hari ke-7) memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dibanding A2B1 (30 mg/mL ekstrak; hari ke-7), perlakuan A2B1 (30 mg/mL ekstrak; hari ke-7) memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dibanding dengan perlakuan A3B1 (50 mg/mL ekstrak; hari ke-7) dan perlakuan A3B1 (50 mg/mL ekstrak; hari ke-7) memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P = 0.01$) dibanding dengan A4B1 (70 mg/mL ekstrak; hari ke-7). Hasil uji lanjut kontras juga menunjukkan bahwa perlakuan A1B2 (0 mg/mL ekstrak; hari ke-14) berbeda nyata ($P = 0.02$) dibanding dengan A2B2 (30 mg/mL ekstrak; hari ke-14), perlakuan A2B2 (30 mg/mL ekstrak; hari ke-14) berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dibanding dengan perlakuan A3B2 (50 mg/mL ekstrak; hari ke-14) dan perlakuan A3B2 (50 mg/mL ekstrak; hari ke-14) juga berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dibanding dengan perlakuan A4B2 (70 mg/mL ekstrak; hari ke-14). Namun perlakuan A2B2 (30 mg/mL ekstrak; hari ke-14) tidak berbeda nyata ($P = 0.05$) dibanding dengan perlakuan A4B2 (70 mg/mL ekstrak; hari ke-14).



Gambar 4. Histogram rata-rata aktivitas fagositosis (%) ikan nila antar taraf faktor A

Gambar 4 menunjukkan adanya peningkatan aktivitas fagositosis dari taraf A1 (0 mg/mL ekstrak) sampai ke taraf A3 (50 mg/mL ekstrak) namun pada taraf A3 (50 mg/mL ekstrak) mengalami penurunan aktivitas fagositosis ke taraf A4 (70 mg/mL ekstrak). Hasil uji lanjut kontras menunjukkan adanya perbedaan aktivitas fagositosis antar taraf faktor A dimana taraf A1 (0 mg/mL ekstrak) memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dibanding dengan taraf A2 (30 mg/mL ekstrak), taraf A2 (30 mg/mL ekstrak) memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dibanding dengan A3 (50 mg/mL ekstrak), dan taraf A3 (50 mg/mL ekstrak) juga memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) dibanding dengan taraf A4 (70 mg/mL ekstrak).

Dari semua hasil aktivitas fagositosis yang diperoleh dari penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa faktor dosis dengan taraf A3 (50 mg/ml ekstrak) merupakan faktor dosis yang terbaik untuk meningkatkan aktivitas fagositosis ikan nila dan faktor waktu yang terbaik terdapat pada taraf faktor B1 (hari ke-7). Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekstrak daun pacar air dapat meningkatkan aktivitas fagositosis ikan nila. Peningkatan indeks fagositosis merupakan indikator peningkatan kekebalan (Utami, 2009). Peningkatan aktivitas fagositosis terjadi karena daun tumbuhan pacar air mengandung flavonoid.

Peningkatan persentase monosit diduga disebabkan flavonoid mengaktifkan limfe untuk meningkatkan produksi monosit. Flavonoid memiliki sifat mudah larut dalam air dan berfungsi sebagai anti mikroba, anti virus, dan immunostimulan (Naiborhu, 2002). Penelitian bahan yang mengandung flavonoid seperti daun sirih juga dapat meningkatkan aktivitas fagositosis (Syahida *et al.*, 2013). Hal ini karena senyawa flavonoid berpotensi bekerja terhadap limfokin yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis (Nugroho, 2012).

Aktivitas fagositosis ikan yang diberi 70 mg/mL ekstrak lebih rendah dari pada aktivitas fagositosis yang diberi 50 mg/mL ekstrak, hal ini mengindikasikan penambahan dosis tidak lagi efektif dalam meningkatkan aktivitas fagositosis. Hal ini disebabkan oleh adanya efek terapeutik yang tidak lagi maksimum ketika ikan diinjeksi dengan dosis 70 mg/mL ekstrak. Middleton *et al* (2000), menyebutkan bahwa senyawa flavonoid selain mempunyai efek immunostimulan juga memiliki efek immunosupresan. Adanya

efek sitotoksik dan immunosupresan tersebut memungkinkan terjadinya hambatan terhadap aktivitas fagositosis makrofag pada batas dosis tertentu. Pemberian dosis yang melebihi dosis efektif dapat bersifat toksik, sehingga menyebabkan terjadinya pengurangan ekspresi respon imun karena mekanisme immunosupresi dari sistem imun tersebut.

Aktivitas fagositosis pada penelitian ini juga mengalami penurunan dari taraf B1 (hari ke-7) ke taraf B2 (hari ke-14). Hal ini berkaitan dengan lama dosis bereaksi didalam tubuh. Menurut penelitian Anderson dan Siwiski (1994) dalam Treves-Brown (2000) menggunakan glucan dan chitosan dengan cara pemberian disuntik atau direndam pada ikan mengalami penurunan kualitas efek obat pada hari ke-14 dan hari ke-21 dari pada hari ke-7.

KESIMPULAN

1. Dosis yang paling efektif digunakan untuk meningkatkan respon imun non spesifik ikan nila yaitu dosis 50 mg/ml ekstrak (taraf A3) dan lama dosis bereaksi terbaik yaitu hari ke-7 hari setelah penyuntikan ekstrak (taraf B1).
2. Hasil penelitian juga menunjukkan adanya interaksi antara faktor dosis dan faktor waktu terhadap total leukosit namun pada aktivitas fagositosis tidak terdapat interaksi antara faktor dosis dan faktor waktu.

DAFTAR PUSTAKA

- Adfa, Morina. 2008. Senyawa Antibakteri Dari Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamina* Linn.)

- Gradien Vol.4 No.1 Januari 2008 : 318-322. Bengkulu : Jurusan Kimia, Universitas Bengkulu.
- Das TT, Benerjee D, Chakraborty D, Pakhira MC, Shrivastava B, Kuhad RC. 2012. Saponin : Role in Animal System. Veterinary World Vol 5. No.4
- Dwi H, Junaidi K. 2007. Pengaruh Pemberian *Lipopolisacharida* Terhadap Aktifitas Fagositosis dan Jumlah Eritrosit Darah Ikan Nila (*Oreochromis sp*). Fakultas Peternakan Perikanan Universitas Muhammadiyah Malang. Vol. 15 No.1 Tahun 2007.
- Galina J, Yin G, Ardo L, Jeney Z. 2009. The use of Immunostimulating Herb in Fish. An Overiw of research. Fish Physilology Biochem 35:669-676
- Treves-Brown KM. 2000. Applied Fish Pharmacology. Kluwer Academic Publisher. The Netherland.
- Komarudin O, Slembrouck J. 2005. Manajemen Kesehatan Ikan. Petunjuk Teknis Pembenihan Ikan Patin Indonesia. Jakarta
- Lukistyowati I. 2012. Studi Efektifitas Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) Untuk Mencegah Penyakit Edwardsiellosis pada Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). Berkala perikanan Terubuk. Juli 2012 hlm 56-74.
- Manurung UN. 2013. Evaluasi Ragi Roti (*Saccharomyces cereviciae*) Sebagai Imunostimulan Dalam Meningkatkan Respon Imun Non Spesifik Dan Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). (Skripsi). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Middleton EC, Kandaswami C, Theoharides TC. 2000. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. Pharmacological Reviews 52:673-751.
- Naiborhu PE. 2002. Ekstraksi dan Manfaat Ekstrak Mangrove (*Sonneratia alba* dan *Sonneratia caseolaris*) sebagai Bahan Alami Antibakterial pada Patogen Udang Windu *V. harvei*. (Tesis). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. hal.48.
- Nugroho YA. 2012. Efek Pemberian Kombinasi Buah Sirih (*Piper betle* L) Fruit, Daun Miyana (*Plectranthus secutellariodes* (L.) R.BR) Leaf, Madu dan Kuning Telur Terhadap Peningkatan Aktivitas dan Kapasitas Fagosit Sel Magrofag. Media Litbang Kesehatan Volume 22 Nomor 1, Maret Tahun 2012
- Nurdin G, Dirayah R, Husain, Sartini. 2013. Bioaktivitas Ekstrak Metanol Daun Pacar Air *Impatiens balsamina* L. Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas aeruginosa* Penyebab Centengan. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
- Nurjannah RDD, Prayitno SB, Sarjito, Lusiastuti AM. 2013. Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona murica*) Terhadap Profil Darah

- Dan Kelulusan Hidup Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal of Aquaculture Management and Technology* Volume2, No 4, Tahun 2013. Halaman 72-83
- Raa J. 2000. The use of Immune-stimulant in fish and shellfish feeds. University of Tromse. Norway.
- Rizatullah M. 2013. Susu Saga (*Adenantha pavonina*) Instan Berprotein Berdasarkan Susu Pengovenan. (Skripsi) Departemen Kehutanan Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara.
- Rosmalawati N. 2008. Pengaruh Penggunaan Tepung Daun Sembung (*Blumea balsamifera*) Dalam Ransum Terhadap Profil Ayam Broiler Periode Finisher. (Skripsi). Program Studi Ilmu Nutrisi dan Makanan Terkan. Fakultas Peternakan. Institute Pertanian Bogor.
- Sukenda, Jamal SL, Wahjuningrum D, Hasan A. 2008. Penggunaan Kitosan Untuk Pencegahan Infeksi *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Lele Dumbo *Clarias sp.* Departemen Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor. *Jurnal Akuakultur Indonesia*.7(2): 159-169.
- Syahida IEA, Sarjito, Prayitno SB, Mariana A. 2013. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Profil Darah dan Kelulusan Hidup Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal of Aquaculture Management and Technology* Volume 2. No 4 hal 94-107
- Utari P. 2011. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Dari Tumbuhba Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis* Dan *Pseudomonas Aeruginosa*. (Skripsi). Program Ekstensi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi. Universitas Sumatera Utara Medan.
- Utami WP. 2009. Efektifitas Ekstrak Paci Paci (*Leucas lavandulaefolia*) Yang Diberikan Lewat Pakan Untuk Pencegahan dan Pengobatan Penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* Pada Ikan Lele Dumbo *Clarias sp.* (Skripsi). Departemen Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.