

PENGARUH TOTAL FENOL TERIPANG PASIR (*Holothuria scabra*) TERHADAP RESPON IMUN NON SPESIFIK IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)

Achmad Suhermanto¹, Sri Andayani², Maftuch²

¹Akademi Perikanan Sorong (APSOR), KKD-BP Kesehatan Ikan dan Lingkungan, Jl. K. Pattimura, Tanjung Kasuari, PO Box 109, Sorong 98410, Papua Barat, Indonesia.

²Program Studi Budidaya Perairan, FPIK, Universitas Brawijaya Malang

Email : ac.suhermanto.apsor@gmail.com; srianday_08@yahoo.com; maftuch@ub.ac.id

Abstract

The aim of the study was to know administration and applications of optimal doses of sea cucumber total phenol to increase nonspecific immune response of Carp. Bioactive component extraction was done by methanol and for further fractionation was dissolved with ethyl acetate (v/v). Total phenol identification on ethyl acetate fraction was done to utilize UV-Vis spectrophotometer and infrared. Total phenol produced was tested on carp with intraperitoneal injection, the concentration of 0; 0,09; 0,18; and 0,27 mg phenols/kg fish.. Challenge be done utilizes *A. hydrophila* (10^7 cell/ml) with immersion method. Statistical analysis involved one-way analysis of varians (ANOVA) by minitab 14. The level of significance were expressed as P-value less or greater than 0.05.

The result of hematological parameters showed that hematocrit (PVC), hemoglobin, erythrocytes, lymphocyte pre infection was increased significantly and post-bacterial was decreased significantly ($p < 0.05$). Leukocytes, Neutrophils pre-and post-infection were significantly increased ($p < 0.05$). Eosinophils, monocytes pre-and post bacterial infection were not differ significantly between treatment ($p < 0.05$).

Key Words : *Holothuria scabra*, *Cyprinus carpio*, *Aeromonas hydrophila*, nonspecific immune response

1. Pendahuluan

Penyediaan ikan untuk kebutuhan konsumsi domestik meningkat sehingga upaya peningkatan produksi terus dilakukan. Sistem budidaya perikanan air tawar dewasa ini telah mencapai tahap intensifikasi, sehingga sistem tersebut tidak terlepas dari resiko biologis terutama gangguan oleh adanya penyakit ikan. Penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) merupakan penyakit bakterial terpenting pada budidaya ikan air tawar (Kamiso, 2003). Serangan infeksi dapat menyebabkan kematian ikan yang berdampak pada kerugian besar pembudidaya ikan. Penggunaan obat-obatan dan bahan kimia menyebabkan dampak negatif dengan meningkatnya pencemaran lingkungan perairan untuk budidaya (Rairakhwada *et al.*, 2007). Adanya akumulasi residu antibiotik dalam jaringan ikan akan mempengaruhi pertumbuhannya dan resistensi terhadap obat-obatan serta adanya immunosupresi (Masqood *et al.*,

2009). Upaya menghindari dampak negatif penggunaan antibiotik dan obat-obatan tersebut diatas, diperlukan berbagai metode untuk dapat meningkatkan kekebalan ikan terhadap penyakit dalam suatu kegiatan usaha budidaya ikan air tawar (Selvaraj *et al.*, 2006).

Peningkatan sistem imunitas/kekebalan tubuh ikan sangat diperlukan agar mampu melawan serangan semua jenis organisme atau toksin yang cenderung merusak jaringan dan organ (Fujaya, 2004). Peningkatan kekebalan ikan bisa dilakukan dengan pemberian imunostimulan. Imunostimulan merupakan zat kimia, obat-obatan, stresor, atau aksi untuk meningkatkan respon imun ikan yang berinteraksi secara langsung dengan sel sistem imun (Sakai, 1999). Aplikasi imunostimulan sudah banyak dilakukan pada beberapa jenis ikan baik melalui pakan, perendaman maupun melalui suntikan. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk

mendapatkan bahan yang dapat digunakan sebagai stimulus guna meningkatkan kekebalan tubuh dalam upaya menanggulangi penyakit, baik yang disebabkan oleh virus, bakteri maupun mikroorganisme berbahaya pada ikan maupun udang (Roza dan Johnny, 2004).

Galindo dan Hosokawa (2004) mengatakan ada 10 kelompok immunostimulan yaitu produk bakteri, jamur, ragi/khamir, ikatan partikel terlarut dengan â-glukan, glikan-polisakarida, kitin dan kitosan, peptida, ekstrak tumbuhan dan hewan, bahan sintesis dan sitokinin. Salah satu bahan alam yang dapat digunakan sebagai bahan immunostimulan adalah teripang jenis *Holothuria sp.* karena biota ini mengandung komponen bioaktif yang berperan dalam penanggulangan penyakit ikan. Penelitian terhadap bioaktif teripang telah dilakukan antara lain senyawa fenol sebagai antioxidant, anti inflamasi dan antiproliferasi (Althunibat *et al.*, 2009), antioxidant dan anti melanogenesis (Jingfeng *et al.*, 2010), aktivitas antibakteri (Haug *et al.*, 2002), antikoagulan dan antitrombotik, menurunkan kadar kolesterol dan lemak darah, anti kanker dan anti tumor, antibakteri, anti jamur, anti virus, anti malaria dan anti rematik (Farouk *et al.*, 2007).

Tujuan dari penelitian ini adalah (i) mengetahui pengaruh pemberian total fenol Teripang Pasir terhadap respon imun non spesifik Ikan Mas pra dan post infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*; (ii) mengetahui konsentrasi total fenol Teripang Pasir paling optimal yang dapat meningkatkan respon imun non spesifik pada Ikan Mas post infeksi bakteri *A. hydrophila*

2. Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada Bulan Agustus 2011 s/d Februari 2012, di Laboratorium Universitas Brawijaya yaitu : Lab. Biokimia Organik Fakultas MIPA, Lab. Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Lab. Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Instalasi Pengembangan Budidaya Air Tawar Akademi Perikanan Sorong, Papua Barat.

Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan perlakuan tiga dosis berbeda serta kontrol positif dan kontrol negatif, dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Perlakuan pemberian total fenol teripang sebagai berikut : Perlakuan A = pemberian dosis total fenol 0,09 mg/kg; B = 0,18; C = 0,27 mg fenol/kg ikan; kontrol Positif dan kontrol Negatif

Teripang berasal dari perairan di Kec. Socah, Kab. Bangkalan. Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang digunakan berukuran 12-15 cm sebanyak 10 ekor/ akuarium. Ikan diberi perlakuan pemberian total fenol teripang pasir melalui penyuntikan dengan dosis 0; 0,09; 0,18; and 0,27 mg / kg. Bakteri *A. hydrophila* untuk uji tantang dengan kepadatan 10^7 sel/ml. diperoleh dari Lab. Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kandungan bioaktif dalam teripang. Metode berdasarkan Andayani *et al.*, (2007) yang dimodifikasi. Teripang segar yang digunakan merupakan teripang muda bernilai ekonomis rendah, diperoleh dari perairan di Kec. Socah Kab. Bangkalan Madura berukuran 10 – 12 cm. Tubuh teripang dibersihkan kotorannya dengan cara dibelah kemudian dicuci bersih menggunakan air tawar. Teripang yang sudah bersih seluruh bagian tubuhnya dipotong-potong kecil kemudian diblender hingga halus, selanjutnya dilakukan penyaringan untuk mendapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh diukur massa dan volumenya kemudian diambil sebanyak 2 ml, dan dimasukkan dalam 3 tabung reaksi untuk uji kimia kualitatif meliputi:

- Uji alkaloid : sampel teripang ditetesi reagen meyer sebanyak 0,1 ml. Uji positif pada reagen mayer ditunjukkan dengan terbentuknya kabut dan endapan.
- Uji Fenolik : sampel teripang ditetesi $FeCl_3$ sebanyak 0,1 ml, adanya fenolik ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi ungu, biru, hijau, merah atau hitam yang kuat.
- Uji Flavonoid : sampel teripang ditetesi HCL pekat sebanyak 0,1 ml dan 0,1 mg Mg. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi jingga.
- Uji Saponin : sampel ditambahkan HCL pekat 0,1 ml, uji positif ditunjukkan oleh adanya busa permanen.

Ekstraksi Teripang Pasir dilakukan berdasarkan metode Himaya *et al.*, (2010) yang dimodifikasi. Hasil ekstraksi diukur konsentrasinya pada panjang gelombang 760 nm menggunakan spektrofotometeri UV-Vis, konsentrasinya diukur berdasarkan kurva standar asam galat. Selanjutnya dilakukan uji kuantitatif dan identifikasi menggunakan spektrofotometeri UV-Vis dan Infra Red karena umumnya senyawa fenol yang merupakan senyawa

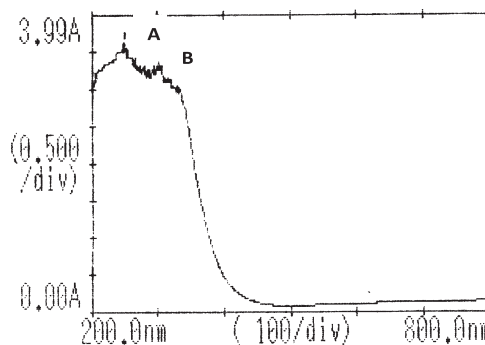
aromatik, menunjukkan serapan kuat di daerah spektrum UV-Vis (Harborne, 1987).

Pengambilan darah diawali dengan membius ikan menggunakan minyak cengkeh dosis 1,25% v/v dilakukan setelah booster II pra dan setelah 24 jam post infeksi *A. hydrophila*. Untuk menghindari penggumpalan darah maka spuit atau tube darah diberi antikoagulan *Na citrate* 3,8% sebanyak 0,1 ml. Nilai hematokrit, jumlah eritrosit, leukosit dihitung berdasarkan Bijanti (2005) dan Harikrishnan *et al.*, (2010). Perhitungan jumlah leukosit menurut Svobodova (1991), Perhitungan diferensial leukosit berdasarkan Stoskopf (1993). Pengukuran nilai hemoglobin berdasarkan Dalimunthe (2006). Data yang diperoleh dari hasil penelitian, dianalisa secara statistik dengan analisis keragaman satu arah (*one way anova*) menggunakan Minitab Statistical Software versi 14 untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Uji Pendahuluan

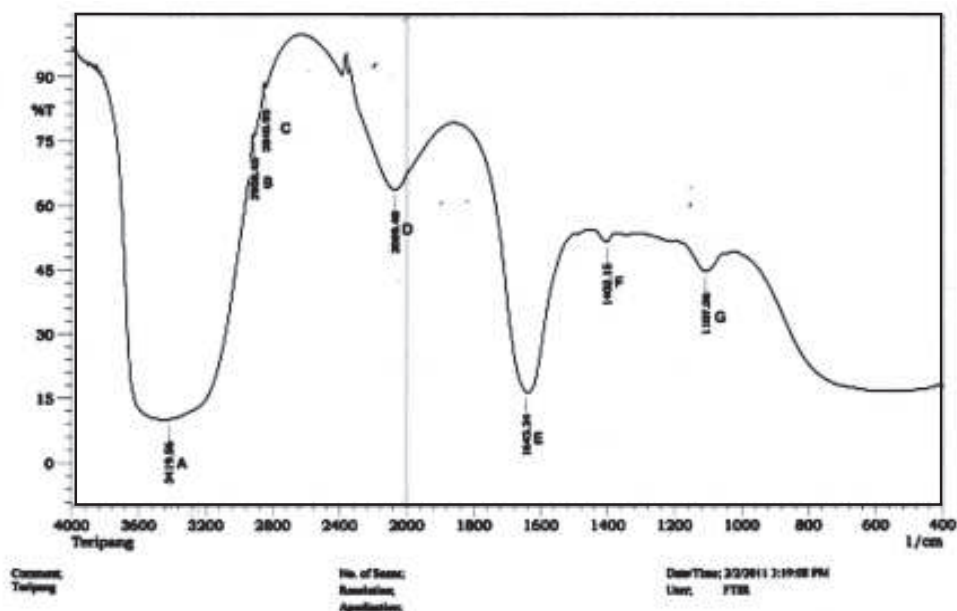
Uji pendahuluan dilakukan sebagai langkah awal untuk mendeteksi adanya senyawa yang terkandung dalam Teripang Pasisir. Uji ini meliputi uji



Gambar 1. Spektra UV-Vis senyawa total fenol teripang, A. Puncak tinggi, B puncak rendah

Tabel 1. Hasil uji pendahuluan terhadap teripang pasir

No	Reagen	Hasil Uji	Keterangan
1	Mayer	Timbul endapan dan kabut putih	Ada senyawa alkaloid (+)
2	Larutan FeCl ₃	Warna Ungu	Ada senyawa Fenolik (++)
3	HCL + serbuk Mg	Warna coklat	Tidak ada senyawa flavonoid (-)
4	HCL pekat	Ada busa permanen	Ada senyawa saponin (+)



Gambar 2. Spektra inframerah total fenol teripang

fenolik, flavonoid, alkaloid dan saponin. Hasil uji pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. hasil uji pendahuluan diatas menunjukkan uji fenolik memberikan hasil positif, indikator yang digunakan yaitu terjadi perubahan warna pada filtrat teripang. Hasil ekstraksi teripang fraksi etil asetat selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan UV-Vis. Hasil pengukuran spektra UV-Vis dan infra red senyawa total fenol teripang dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.

Gambar 1. spektra UV-Vis senyawa total fenol diatas menunjukkan puncak serapan kuat senyawa total fenol teripang pada panjang gelombang 252 nm dan puncak serapan lemah pada panjang gelombang 301 nm. Harborne (1987) menyatakan senyawa total fenol mempunyai serapan yang kuat didaerah UV-Vis. Serapan pada daerah 252 nm diduga adanya senyawa fenil propanoid dari golongan eskulin. Senyawa ini berkaitan dengan pengaturan tumbuh dan pertahanan terhadap penyakit.

Gambar 2. diatas menunjukkan bahwa serapan kuat berada pada gelombang 252 nm dan serapan lemah pada panjang gelombang 301 nm. Data spektrum spektrofotometri infra merah menunjukkan nilai serapan berada pada titik A (3419.56 cm^{-1}), B (2908.45 cm^{-1}), C (2840.95 cm^{-1}), D (2069.48 cm^{-1}), E (1643.24 cm^{-1}), F (1402.15 cm^{-1}), dan G (1107.06 cm^{-1}). Serapan lebar pada kerapan rendah 3419.56 cm^{-1} menunjukkan ikatan hidrogen antar molekul uluran O-H gugus hidroksil bebas pada alkohol dan fenol. Gugus hidroksil alkohol dan fenol menyerap dengan kuat didaerah $3650 - 3584 \text{ cm}^{-1}$, sedangkan pita-pita yang muncul pada serapan rendah berada di daerah $3550 - 3200 \text{ cm}^{-1}$. Serapan pada titik G menunjukkan adanya uluran gugus C - O $1107,06 \text{ cm}^{-1}$. Pita ini merupakan pita khas teramati dalam spektrum alkohol dan fenol. Uluran C - O mengalami pengkopelan dengan getaran ulur C - C yang bertetangga, sehingga getaran dalam alkohol primer diperlihatkan sebagai getaran uluran C - C - O. Hasil spektrofotometer Infrared menunjukkan bahwa ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) merupakan fenol karena mengandung gugus OH (hidroksil) dan uluran C - O (Silverstein *et al.*, 1986).

3.2 Hasil Pengukuran Parameter Hematologi

Hematologi merupakan cabang ilmu kedokteran yang mempelajari komponen sel darah baik struktur, sifat dan aliran darah. Hematologi sangat erat kaitannya dengan patologi, terutama untuk

memperoleh gambaran ikan tersebut dalam kondisi sehat atau sakit. Nilai hematologi pada Ikan Mas pra dan post infeksi dapat dilihat pada Tabel 2

Nilai hematokrit pra infeksi bakteri berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5%, $F_{hit} : 8,23$ dan nilai $P(F) 0,008 < 0,05$. Pada perlakuan post infeksi bakteri nilai hematokrit berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% dimana $F_{hit} : 12,71$ dan nilai $P(F) 0,002 < 0,05$. Nilai hematokrit dipengaruhi beberapa faktor antara lain : eritrosit (jumlah, ukuran, bentuk, perbandingan antikoagulan dengan darah, tempat penyimpanan dan homogenitas), lingkungan, jenis kelamin, spesies dan umur ikan ketika dilakukan pengambilan darah. Penurunan nilai hematokrit terjadi pada kondisi dehidrasi dan nilai ini dapat dijadikan indikator anemia serta adanya jumlah eritrosit berlebih (*polisetemia*) pada ikan (Bastami *et al.*, 2009). Anemia akan berdampak pada terhambatnya pertumbuhan ikan karena rendahnya jumlah eritrosit yang mengakibatkan suplai makanan ke sel, jaringan dan organ akan berkurang sehingga metabolisme akan terhambat (Harikrishnan *et al.*, 2010). Nilai hematokrit berbanding lurus dengan nilai Hb, jika nilai hematokrit turun maka nilai Hb turun dan sebaliknya. Hb berfungsi mengikat oksigen yang digunakan dalam proses katabolisme untuk menghasilkan energi, kemampuan mengikat oksigen dalam darah tergantung pada jumlah Hb dalam darah merah. Pada perlakuan post infeksi nilai hematokrit menurun disebabkan organ yang memproduksi darah terganggu akibat infeksi bakteri. Faktor lingkungan seperti adanya pencemaran dan treatment kimia seperti potassium permanganat, copper sulfat, bisa menyebabkan infeksi sehingga mengganggu fungsi kerja darah (Harikrishnan *et al.*, 2003).

Kadar hemoglobin pra infeksi bakteri berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% dimana $F_{hit} : 39,02$ dan nilai $P(F) 0,000 < 0,05$. Kadar hemoglobin ikan mas post infeksi bakteri berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% $F_{hit} : 48,73$ dan nilai $P(F) 0,000 < 0,05$. Meningkatnya kadar hemoglobin (Hb) ada korelasi dengan nilai hematokrit yang juga meningkat. Korelasi antara hemoglobin dengan hematokrit adalah eritrosit mengandung Hb, sedangkan Hb mengangkut oksigen. Peningkatan Hb yang signifikan erat kaitannya dengan penurunan jumlah eritrosit, kondisi ini disebabkan meningkatnya kandungan zat besi dan konsentrasi serum zat besi dalam darah (Trijoko *et al.*, 2004). Peningkatan kadar hemoglobin ikan diduga adanya pemberian

Tabel 2. Nilai hematologi pada Ikan Mas pra dan post infeksi

Nilai/Parameter	Perlakuan A		Perlakuan B		Perlakuan C		Kontrol	
	Pra ± SD	Post ± SD	Pra ± SD	Post ± SD	Pra ± SD	Post ± SD	Pra ± SD	Post ± SD
Hematokrit (%)	31,99 ±0,88	30,11 ±0,69	27,88 ±0,509	25,66 ±0,57	27,77 ±1,17	24,55 ±1,71	24 ±3,60	22,33 ±2,516
Hemoglobin(gr/dl)	8,44 ±0,10	7,53 ±0,06	7,86 ±0,24	6,97 ±0,50	7,11 ±0,40	6,12 ±0,10	6,3 ±0,2	5,06 ±0,11
Eritrosit($10^6/mm^3$)	2,17 ±0,12	2,00 ±0,19	2,01 ±0,08	1,87 ±0,34	1,40 ±0,26	1,15 ±0,10	1,25 ±0,56	1,05 ±0,24
Leukosit($10^4/mm^3$)	4,56 ±0,45	6,08 ±0,34	3,74 ±0,53	4,95 ±0,31	3,22 ±0,01	4,41 ±0,36	2,78 ±0,16	3,51 ±0,59
Neutrofil (%)	28,77 ±1,5	35,55 ±1,34	27,44 ±1,64	32,66 ±1	25,44 ±1,07	30,88 ±1,57	19,66 ±1	27,27 ±0,25
Eosinofil (%)	3,22 ±0,77	2,81 ±0,25	2,55 ±1,50	2,47 ±0,47	3,66 ±0,67	3,15 ±0,15	2,11 ±0,19	2,09 ±0,46
Limfosit (%)	51,22 ±1,26	42,44 ±1,65	54,16 ±1,92	48,88 ±2,04	54,33 ±0,58	30,88 ±1,57	63,11 ±2,22	54,44 ±1,84
Monosit (%)	16,88 ±0,69	19,22 ±1,50	15,88 ±0,39	17,55 ±1,54	16,55 ±1,02	17,11 ±0,69	15,10 ±0,69	15,7 ±1,26

keterangan dosis : Kontrol = 0; A = 0,09; B = 0,18 dan C = 0,27 mg fenol/kg ikan

imunostimulan merangsang organ yang memproduksi sel darah merah (hemopoitik) untuk memproduksi sel darah merah secara optimum.

Penurunan kandungan Hb diakibatkan hasil pembengkakan sel darah merah. Perubahan kandungan Hb yang signifikan erat kaitannya dengan penurunan jumlah eritrosit, kondisi ini disebabkan *hypochromic microcytic anemia*. Penurunan konsentrasi Hb juga memperlihatkan bahwa sel darah merah rusak karena *leukositosis* dan selanjutnya berdampak terjadinya *erythroblastosis* (Harikrishnan *et al.*, 2003).

Jumlah eritrosit pra infeksi bakteri berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% dimana F_{hit} : 4,38 dan nilai $P(F)$ $0,042 < 0,05$. Sedangkan jumlah eritrosit post infeksi bakteri dari hasil analisis data diperoleh hasil berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% F_{hit} : 11,8 dan nilai $P(F)$ $0,003 < 0,05$. Penurunan jumlah sel eritrosit disebabkan organ yang memproduksi darah merah yaitu di ginjal dan limpa serta organ hemopoitik lainnya terganggu dalam memproduksi darah merah jika terinfeksi bakteri, sehingga jumlah eritrosit berkurang (Kabata, 1985). Eritrosit merupakan salah satu komponen penting sel darah

ikan, karena dalam eritrosit terdapat zat hemoglobin yang berperan dalam mengikat oksigen dari lingkungan dan dibawa ke seluruh tubuh yang memerlukan. Rendahnya eritrosit akan menyebabkan ikan tidak mampu mengambil oksigen dalam jumlah banyak walaupun ketersediaan oksigen di perairan mencukupi. Akibatnya ikan akan mengalami kekurangan oksigen (*anoxia*) (Fujaya, 2004).

Jumlah sel leukosit pra infeksi bakteri berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% dimana F_{hit} : 14,66 dan nilai $P(F)$ $0,001 < 0,05$. Sedangkan jumlah sel leukosit post infeksi bakteri berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% dimana F_{hit} : 47,76 dan nilai $P(F)$ $0,000 < 0,05$. Perubahan jumlah total leukosit dapat dijadikan indikator adanya infeksi tertentu pada ikan. Aktivitas pagositik yang dilakukan oleh sel-sel leukosit akan meningkat pada awal infeksi dan mengalami penurunan pada infeksi kronis (Anderson *et al.*, 1995). Sistem leukosit dan sel-sel jaringan dari leukosit bekerja dengan dua cara untuk mencegah penyakit yaitu dengan cara merusak melalui proses pagositosis dan membentuk antibody. Peningkatan jumlah sel darah putih ini merupakan respon dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel

asing termasuk adanya infeksi bakteri yang masuk ke tubuh ikan. Hasil produksi leukosit akan diarahkan menuju daerah terinfeksi sebagai pertahanan ikan. Naiknya jumlah leukosit merupakan indikator adanya infeksi yang mengakibatkan terjadinya inflamasi

Penelitian Harikrishnan *et al.*, (2010) terjadi peningkatan jumlah leukosit Ikan Mas pada minggu pertama dan kedua post infeksi. Harikrishnan *et al.*, (2003) menyatakan terjadi peningkatan jumlah leukosit Ikan Mas yang diberi perlakuan menggunakan ekstrak herbal kemudian diinfeksi bakteri *A. hydrophila*, demikian pula penelitian Selvaraj *et al.*, (2005) dengan perlakuan pemberian yeast glucan melalui injeksi mampu meningkatkan total leukosit ($10^3/\text{mm}^3$) dari kontrol $24 \pm 0,816$ menjadi $48,44 \pm 0,471$.

Kemampuan leukosit untuk membunuh mikroba patogen merupakan salah satu mekanisme perlindungan paling penting dalam tubuh ikan dengan menghasilkan *spesies oksigen reaktif* (ROS) dan nitrogen yang dianggap beracun untuk bakteri patogen pada ikan, mampu menghancurkan serangan patogen dan dianggap indikator penting dari pertahanan non-spesifik pada ikan (Alexander *et al.*, 2010). Sel darah putih mampu memproteksi adanya infeksi yang dihasilkan oleh mikroba maupun faktor kimia lain. Pengamatan leukosit dapat menjelaskan secara umum sistem imun dan status kesehatan ikan (Harikrishnan *et al.*, 2010).

3.3 Diferensial Leukosit

Pengamatan diferensial leukosit bertujuan mengetahui perbedaan persentase komponen sel leukosit. Leukosit ikan terbagi menjadi 2 bagian besar yaitu granulosit dan agranulosit. Diferensial leukosit yang diamati meliputi jenis sel neutrofil, limfosit, monosit, dan eosinofil.

Sel neutrofil pra infeksi bakteri berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% dimana $F_{\text{hit}} : 27,13$ dan nilai $P(F) 0,000 < 0,05$. Sel neutrofil post infeksi bakteri berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% dimana $F_{\text{hit}} : 26,86$ dan nilai $P(F) 0,000 < 0,05$. Neutrofil merupakan sel pagosit sistem polymorphonuklear yaitu sel yang bekerja cepat dalam melakukan fagosit tetapi tidak mampu bertahan lama dan akan mati oleh apoptosis sekitar 24 jam. Sel ini berupa sel bundar dengan sitoplasma bergranula halus dan ditengahnya terdapat nukleus bersegmen. Sel ini merupakan fagosit kuat, fagositosis dilakukan dengan cara mendekati partikel asing dan mengeluarkan pseudopodi kesegala arah sekitar

partikel (rangsangan kimiawi eksternal), satu neutrofil dapat memfagosit 5 – 20 bakteri sebelum kemudian tidak aktif (Tizard, 1982). Neutrofil yang teraktivasi memiliki kemampuan menghasilkan jenis oksigen (ROS) dan nitrogen (RNS) relatif (*reactive oxygen dan nitrogen species*) yang bersifat toksik terhadap berbagai spesies bakteri, parasit dan protozoa (Himaya *et al.*, 2010). Proses ini ditingkatkan oleh opsonisasi sehingga penyerapan oksigen untuk respirasi mitokondria sel pagositik meningkat sepuluh kali lipat. Penelanan sel-sel bakteri menyebabkan ledakan respirasi (*respiratory burst*) lebih tinggi dibandingkan dengan sel-sel bakteri yang dibunuh dan proses tersebut terbatas pada suhu rendah. Sel-sel fagosit teleostei memiliki kemampuan menghasilkan RNS dan prosesnya berlangsung melalui proses induksi yang menghasilkan nitrogen oksida (NO) dan berpeluang pula menghasilkan nitrogen dioksida (NO_2), Nitrogen trioksida (NO_3) dan ion-ion nitronium (NO^{+2}). Pada ikan mekanisme membunuh pada fagosit melalui oksigen bebas dalam vakuola lisosom yang mampu meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri (Secombes, 1994; Irianto, 2005).

Sel eosinofil pra infeksi bakteri tidak berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% dimana $F_{\text{hit}} : 1,72$ dan nilai $P(F) 0,241 > 0,05$. Sel eosinofil post infeksi bakteri tidak berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% dimana $F_{\text{hit}} : 2,12$ dan nilai $P(F) 0,176 > 0,05$. Eosinofil secara normal berada dalam berbagai jaringan pada ikan. Sel ini mempunyai inti yang terletak memanjang di tepi sel, memiliki granula besar dan sitoplasma berwarna merah. Eosinofil merupakan sel utama kedua dari sistem meiloid, sel ini tidak seefisien neutrofil dalam fagositosis, tetapi memiliki lisosom dan mengadakan letupan pernafasan bila terangsang dengan tepat (Tizard, 1982). Eosinofil pada ikan diperlukan untuk kekebalan dalam melawan infeksi parasit. Peningkatan jumlah eosinofil yang persisten (*eosinofilia*) secara umum menggambarkan adanya kondisi penyakit kronis, sedangkan penurunan eosinofil (*eosinopenia*) biasanya terjadi pada kondisi penyakit akut. Sehingga respon eosinofilia terjadi bukan merupakan akibat dari kondisi penyakit tunggal, melainkan sebagai akibat adanya beragam penyakit kronis yang menyebabkan degranulasi sel mast secara terus menerus (Jain 1993).

Sel limfosit pra infeksi bakteri berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% dimana $F_{\text{hit}} : 30,06$ dan nilai $P(F) 0,000 < 0,05$. Sel limfosit post infeksi

bakteri *Aeromonas hydrophila* berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% dimana $F_{hit} : 20,61$ dan nilai $P(F) 0,000 < 0,05$. Limfosit memiliki diameter berkisar antara 8 - 12 μm , sitoplasma berwarna biru pucat, inti berbentuk bulat hingga oval, lebih sering berbentuk tidak beraturan, sitoplasma berisi vakuola kecil dan granula azurofilik (Abbas *et al.*, 2010). Limfosit merupakan sel yang berfungsi memproduksi antibodi atau sebagai sel efektor dalam menanggapi antigen terikat makrofag. Limfosit yang bersirkulasi terutama berasal dari timus, beberapa diantaranya secara relatif tidak mengalami diferensiasi bermigrasi, memperbanyak diri dan bersifat limfosit T, kemudian dapat masuk kembali ke dalam aliran darah. Sel-sel T bertanggung jawab terhadap reaksi imun seluler dan mempunyai reseptor permukaan spesifik untuk mengenal antigen asing. Limfosit lain berdiferensiasi menjadi limfosit B, memproduksi antibodi humoral dalam peredaran darah dan mengikat secara khusus antigen asing penyebab fagositosis, lisis sel dan sel pembunuh (killer sel atau sel K) dari organisme yang menyerang. Sel T dan sel B secara morfologis hanya dapat dibedakan ketika diaktifkan oleh antigen (Tizard, 1982).

Abbas *et al.*, (2010) menyatakan limfosit merupakan sel, secara spesifik mengenal dan merespon antigen dari luar dan selanjutnya sebagai mediator imun seluler dan humoral. Sel limfosit B merupakan sel yang mempunyai kemampuan memproduksi antibodi, mengenal antigen ekstraseluler, dan dapat membedakan antibodi dalam plasma sel. Sel T merupakan sel imun perantara, mengenal antigen intraseluler dan berfungsi menghancurkan mikroba atau sel terinfeksi. T limfosit mempunyai kekhususan terbatas dalam mengenal antigen, sel ini hanya mengenal antigen peptida yang menempel pada protein inang, dikenal oleh gen dalam *Major Histocompatibility Complex* (MCH) dan ditampilkan pada permukaan sel lain. T limfosit fungsinya tetap dan jelas seperti yang diberikan helper T sel, *cytotoxic*, *cytolytic* dan T limfosit (CTLs). Bagian ketiga dari limfosit yaitu sel *Natural Killer* (NK) merupakan imunitas bawaan dalam melawan virus dan mikroba intraseluler lainnya.

Sel monosit pra infeksi bakteri tidak berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% dimana $F_{hit} : 3,45$ dan nilai $P(F) 0,072 > 0,05$. Sel monosit post

infeksi bakteri tidak berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% dimana $F_{hit} : 3,61$ dan nilai $P(F) 0,065 > 0,05$. Monosit terdiri dari sitoplasma berwarna biru keabu-abuan hingga biru, bentuk inti bervariasi mulai bulat hingga oval. Monosit merupakan sel dalam aliran darah dan mendiami tempat ini selama beberapa hari sebelum memasuki jaringan dan berkembang menjadi makrofag. Makrofag ini berfungsi hampir sama dengan neutrofil sebagai fagosit yaitu menghancurkan benda asing yang masuk ke dalam tubuh, namun aktivitas fagosit dari sel ini relatif lama tergantung pada sifat bahan yang ditelan, jika bahan mudah dicerna oleh enzim lisosom yang banyak mengandung beragam enzim pencernaan dan senyawa bakterisidal sehingga dengan mudah menghancurkan sel bakteri, maka makrofag semakin lama hidup dan sebaliknya (Tizard, 1982). Bijanti (2005) mengatakan monosit bersifat fagosit lebih kuat jika dibandingkan neutrofil dan dapat memfagosit partikel yang lebih besar, monosit yang matang disebut makrofag.

4. Simpulan

Pemberian senyawa total fenol dari teripang dapat meningkatkan respon imun non spesifik pada Ikan Mas. Parameter hematologi yaitu hematokrit, hemoglobin, eritrosit, limfosit pra infeksi mengalami peningkatan sedangkan post infeksi mengalami penurunan. Leukosit dan neutrofil pra dan post infeksi mengalami peningkatan. Eosinofil dan Monosit pra dan post infeksi bakteri tidak berbeda nyata antar perlakuan. Pemberian total fenol dosis 0,09 mg/kg merupakan dosis optimal dalam meningkatkan respon imun nonspesifik pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*).

Ucapan terima kasih

Terima kasih kepada pihak Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) melalui Badan Pengembangan Sumberdaya Manusia Kelautan Perikanan (BPSDMKP) yang telah memberikan bantuan dana kuliah dan penelitian serta kesempatan melanjutkan studi program magister di UB Malang. Rekan-rekan Kelompok Keilmuan Dosen (KKD) Budidaya Perikanan Akademi Perikanan Sorong atas kritik dan sarannya.

Daftar Pustaka

- Abbas, A.K., A.H. Lichman dan S. Pillai. 2010. *Cellular and Molecular Immunology*. six Edition. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- Alexander, C. P., C.J.W. Kirubakaran, R.D. Michael, 2010. Water Soluble fraction of *Tinospora cordifolia* leaves enhanced the non spesific immune mechanism and disease resistance in *Oreochromis mossambicus*. *Fish & shellfish immunology* XXX. P. 1-8
- Althunibat, O.Y., Hashim R.B., Taher M., Daud, J.M., Ikeda, M.A., Zali, B.I., 2009. In Vitro Antioxidant and Antiproliferative Activities of Three Malaysian Sea Cucumber Species. *European Journal of Scientific Research*. ISSN 1450-216X Vol.37 No.3, pp.376-387.
- Andayani, S. 2007. *Pengaruh Bioaktif Alkaloid Ubur-Ubur (Bougainvillia sp.) Sebagai Imunostimulan Terhadap Aktivitas Respon Immun Non Spesifik Serta Kelulusan Hidup (RPS) Ikan Kerapu Macan (Epinephelus fuscoguttatus)*. Disertasi. Program Pasca Sarjana Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Hal 78-79.
- Anderson, D.P., A.K., Siwicki and G.L., Rumsey, 1995. Injection or Immertion Delivery of Selected Immunostimulants to Trout Demonstrate Enhancement of Non Spesific Defense Mechanisms and Protective Immunity. *In Desease in Asia Aquaculture II. Fish Health Section Asian Fisheries Society*.P. 413-426.
- Bastami, K. Darvish, Moradlou, A.H., Zaragabadi, A.M, S.V. Salehi Mir, M.M. Shakiba, 2009. *Measurement of Some Haematological Characteristics of the Wild Carp*. Springer-Verlag London. Comp Clin Pathol 18:321–323.
- Bijanti, R., 2005. *Hematologi Ikan Teknik Pengambilan Darah dan Pemeriksaan Hematologi Ikan*. Bagian Ilmu Kedokteran Dasar Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Dalimunthe S., 2006. *Penuntun Praktikum Parasit dan Penyakit Ikan* Universitas Brawijaya, Malang.
- Farouk, A.E., Ghouse, F.A.H., Ridzwan, B.H., 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumbers with Optimized Secreted Antibacterial Activity. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 3 (2): 60-65
- Fujaya, Y., 2004. *Fisiologi ikan. Dasar pengembangan Teknologi Perikanan*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Galindo-Villegas, J., & H. Hosokawa, 2004. *Immunostimulants : Toward Temporary Prevention of Diseases in Marine Fish*. Kochi University, Faculty of Agriculture. Laboratory of Fish Nutrition B200 Monobe, Nankoku, Kochi 783-8502 JAPAN. 279 - 469 Page
- Harborne, J. B., 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Cetakan Keempat. ITB Bandung. Hal. 49, 196-197
- Harikrishnan, R., C. Balasundaram, M.S. Heo, 2010. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology* 28. P.354-361.
- Harikrishnan, R., M. N. Rani, and C. Balasundaram, 2003. Haematological and biochemical parameters incommon carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophilla* infection. *Aquaculture*, 221. P 41-50.
- Haug, T., A.K. Kjuul, OB. Styrvold, E. Sandsdalen, OM Olsen, and K. Stensvag, 2002. Antibacterial activity in *Strongilocentrotus droebachiensis* (Echinoidea), *Cucumaria frondosa* (Holothuridea) and *Asterias rubens* (Asteroidea). *Journal of Invertebrate Pathology*. 94 -102

- Himaya, SWA, B.M Ryu, Z.J Qian, S. K. Kim, 2010. Sea cucumber, *Stichopus japonicus* ethyl acetate fraction modulates the lipopolysaccharide induced iNOS and COX-2 via MAPK signaling pathway in murine macrophages. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 68 – 75
- Irianto, A., 2005. *Patologi ikan Teleostei*. Penerbit Gajah Mada University press. Yogyakarta.
- Jain NC. 1993. *Essentials of Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger
- Jingfeng, W., Yuming W., Qingjuan T., Yi W., Yaoguang C., Qin Z., and Changhu X., 2010. Antioxidant activities of low molecular weight gelatin hydrolysate isolated from Sea cucumber *Stichopus japonicus*. *J. Ocean Univ. China*, 94 – 98
- Kabata, Z., 1985. *Parasiter and Disease of Fish Cultured in the Tropic*. Taylor. In Francis Inc. 242. Chery St. Phidelpia. 318 p.
- Kamiso, H.N., 2003. Status Penyakit Ikan dan Pengendaliannya di Indonesia. Disampaikan pada *Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV*. Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto pada tanggal 18-19 Mei 2003.
- Maqsood, S., M.H. Samoon, P. Singh, 2009. Immunomodulatory and Growth Promoting Effect of Dietary Levamisole in *Cyprinus carpio* Fingerlings Against the Challenge of *Aeromonas hydrophila*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 9: 111-120.
- Rairakhwada., Dina, A.K. Pal, Z.P. Bhatena, N.P. Sahu, A. Jha, S.C. Mukherjee, 2007. Dietary microbial levan enhances cellular non-specific immunity and survival of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. *Fish & Shellfish Immunology* 22 : 477-486.
- Roza, D dan Johnny, F., 2004. Peningkatan Kekebalan Larva Ikan Kerapu Bebek *Cromileptes altivelis* Dengan Menggunakan Immunostimulan Terhadap Infeksi VNN. *Prosiding Pengendalian Penyakit Pada Ikan dan Udang Berbasis Imunisasi dan Biosecurity*. Purwokerto.
- Sakai, M., 1999. Current Research Status of Fish Immunostimulants. *Aquaculture* 172 ; 63-92.
- Secombes, C.J. 1994. Enhancement of fish phagocyte activity. *Journal of Fish dan Shellfish Immunology*. Academic Press.
- Selvaraj, V., K. Sampath, V. Sekar, 2005. Administration of yeast glucan enhances survival and some specific and non-specific immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*) infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & shellfish immunology* 19. p : 293 - 306
- Selvaraj, V., K. Sampath, V. Sekar, 2006. Adjuvant and immunostimulatory effects of b-glucan administration in combination with lipopolysaccharide enhances survival and some immune parameters in carp challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 114. p : 15–24.
- Silverstein, R.M., Bassler, G.C., and Morrill, T.C. 1986. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 4th edition. Jhon Wiley and sons. Inc. Singapore.
- Stoskopf, M.K. 1993. *Fish Medicine*. WB Saunders Company Harcourt Brace Jovanivich Inc. North Carolina.
- Svobodova, Z., Pravda, D., Palackova, J., 1991. Unified methods of haematological examination of fish. *Man. Res. Inst. Fish Cult. Hydrobiol. Vodnany* 22, p. 31
- Tizard, I.R., 1982. *An Introduction of Veterinary Immunology*. W. B. Saunders Company. 254-257.
- Trijoko, A., Ismi, S., Prajitno, A., Johnny, F., 2004. Pengamatan Profil Hormon Steroid dalam Darah Hubungannya dengan Pematangan dan Pemijahan Induk Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. Vol. 10 No. 2