

Pemberian Fikosianin *Spirulina* Meningkatkan Jumlah Sel Darah, Aktivitas Fagositosis, dan Pertumbuhan Ikan Kerapu Bebek Juvenil

(ADMINISTRATION OF SPIRULINA PHYCOCYANIN ENHANCES BLOOD CELLS, PHAGOCYTTIC ACTIVITY AND GROWTH IN HUMPSBACK GROUPER JUVENILE)

Woro Hastuti Satyantini¹, Sukenda²,
Enang Harris², Nur Bambang Priyo Utomo²

¹Departemen Manajemen Kesehatan Ikan dan Budidaya Perairan,
Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga,

Kampus-C, Unair, Jl. Mulyorejo, Surabaya

²Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,

Intitut Pertanian Bogor, Bogor

Email: woro_hastuti@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian fikosianin *Spirulina* melalui pakan terhadap produksi sel darah, aktivitas fagositosis, dan pertumbuhan pada ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). Ikan kerapu bebek juvenil diberi pakan dengan penambahan fikosianin 0, 150, 250, 350 dan 450 mg/kg pakan selama empat minggu, setiap perlakuan diulang tiga kali. Bobot awal ikan kerapu bebek yang digunakan adalah $8,46 \pm 0,22$ g dengan kepadatan 10 ekor per 56 liter volume air. Terjadi kenaikan jumlah eritrosit dan leukosit hingga minggu ke empat waktu pemeliharaan. Total eritrosit dan leukosit tertinggi dicapai pada perlakuan fikosianin 150 mg/kg pakan yaitu $13,17 \times 10^5$ sel/mm³ dan $8,93 \times 10^5$ sel/mm³ masing-masing, namun tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap perlakuan fikosianin 250 mg/kg pakan. Total leukosit dan aktivitas fagositosis perlakuan fikosianin 250 mg/kg pakan adalah $8,49 \times 10^5$ sel/mm³ dan 59,67% masing-masing dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap kontrol. Penambahan fikosianin 250 mg/kg pakan memberikan bobot akhir (Wt), pertambahan bobot (G) tertinggi dan rasio konversi pakan (FCR) terendah yaitu 14,32 g, 5,89 g dan 1,13 masing-masing dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap kontrol. Data ini menunjukkan penambahan fikosianin 250 mg/kg pakan memberikan peningkatan terhadap total leukosit, aktivitas fagositosis dan pertumbuhan ikan kerapu bebek juvenil.

Kata kunci : *Cromileptes altivelis*, fikosianin, leukosit, aktivitas fagositosis

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate effects of *Spirulina* phycocyanin on the total blood cell count, phagocytic activity, and growth of humpback grouper fish, *Cromileptes altivelis* juvenil. Fishes were fed with a diet containing 0, 150, 250, 350 dan 450 mg phycocyanin per kg diet for four weeks and each treatment was triplicates. Initial body weight of grouper was 8.46 ± 0.22 g with a density of 10 fish per 56 litre volume. The total count of erythrocytes and leucocytes increased until the fourth week of rearing period. The highest of total erythrocyte and leucocytes were observed in fish treated with 150 mg phycocyanin per kg diet (13.17×10^5 cells/mm³ and 8.93×10^5 cells/mm³ respectively) which were not significantly different ($P > 0.05$) to those treated with 250 mg phycocyanin per kg diet. The total leucocytes and phagocytic activity of fish fed diet containing 250 mg phycocyanin per kg diet (8.49×10^5 cells/mm³ and 59.67% respectively) were significantly higher ($P < 0.05$) to those of control group. The highest of final weight (Wt=14.32 g) and weight growth (G=5.89g) and lowest of feed conversion ratio (FCR=1.13) were obtained in fish treated with 250 mg phycocyanin per kg diet which were significantly higher ($P < 0.05$) than those fed control diet. The data showed that the addition of phycocyanin 250 mg/kg diet enhances the total leukocyte count, phagocytic activity and the growth of humpback grouper juvenil.

Keywords: *Cromileptes altivelis*, phycocyanin, leukocytes, phagocytic activity

PENDAHULUAN

Spirulina memiliki kandungan asam amino yang tinggi (62%), sumber vitamin B12 paling kaya, dan mengandung spektrum alami dari campuran karoten dan *xantofil*. Dinding sel *Spirulina* terbuat dari gula kompleks dan protein (Estrada *et al.*, 2001; Kozenko dan Henson, 2010).

Spirulina telah banyak diproduksi secara massal, dikeringkan dan dikemas dalam bentuk kapsul sebagai suplemen makanan untuk manusia. Pemberian *Spirulina* 5,0 g/kg pakan memberikan pertumbuhan yang optimal pada ikan tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Abdel-Tawwab *et al.*, 2008). Beberapa studi menunjukkan bahwa *Spirulina* atau ekstraknya dapat melindungi atau mencegah kanker pada manusia dan hewan. Dari studi secara *in vitro* dilaporkan bahwa polisakarida *Spirulina* meningkatkan aktivitas enzim inti sel dan sintesis perbaikan DNA (Estrada *et al.*, 2001).

Spirulina mengandung fikobilisom sebagai pigmen protein kompleks penangkap sinar matahari. Fikobilisom utamanya (80-85%) tersusun dari polipeptida berwarna *brilliant* yang dinamakan fikobiliprotein (Estrada *et al.*, 2001; Jensen *et al.*, 2001; Eriksen 2008). Dua biliprotein penting dalam mikroalga *Spirulina* adalah fikosianin dan alofikosianin. Kedua pigmen protein ini memiliki kelompok khromofor yang sama (Boussiba dan Richmond 1979). *Spirulina* mengakumulasi fikosianin dan khlorofil secara intraseluler. Fikosianin memiliki fungsi sebagai penyimpan protein dan sebagai antioksidan (Boussiba dan Richmond, 1980; Romay *et al.*, 2003)

Ilmuwan China mencatat bahwa fikosianin menstimulasi hematopoiesis, memengaruhi hormon *erythropoietin* (EPO) dan juga mengatur produksi sel-sel darah putih. Hormon EPO diproduksi oleh ginjal yang sehat dan berperan mengatur sel induk memproduksi sel eritrosit (Kozenko dan Henson, 2010). Dari studi sebelumnya, beberapa peneliti telah menggunakan tepung *Spirulina* atau ekstrak air panas *Spirulina* untuk mempelajari pengaruhnya terhadap sistem imun. Bioaktif fikosianin dan polisakarida larut air dari *Spirulina* bertanggung jawab untuk meningkatkan aktivitas pertahanan biologi melawan infeksi penyakit dan menurunkan inflamasi alergi melalui fungsi-fungsi sistem imun mukosa (Balachandran *et al.*, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan fikosianin dalam pakan terhadap peningkatan pertumbuhan, produksi sel darah dan aktivitas fagositosis juvenil ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) juvenil.

METODE PENELITIAN

Ikan Uji dan Pemeliharaan

Ikan kerapu bebek yang digunakan dalam studi ini berasal dari induk yang sama, dari Balai Budidaya Air Payau Situbondo, Jawa Timur. Ikan kerapu bebek dipilih yang sehat dan seragam yaitu $8,46 \pm 0,22$ g. Ikan kerapu diadaptasi selama satu minggu di dalam bak fiber volume satu m³ dengan sistem air mengalir pada kondisi *indoor*. Ikan diberi pakan basal dengan frekuensi pemberian dua kali sehari pada jam 08:00 dan 15:00 sebanyak 3% BB (bobot badan).

Persiapan Ekstrak Fikosianin *Spirulina*

Penyiapan ekstrak fikosianin *Spirulina platensis* berdasarkan modifikasi metodologi Boussiba dan Richmond (1979); Hayashi *et al.*, (2006); Silveira *et al.*, (2007). *Spirulina* kering dilarutkan dengan bahan pelarut buffer 0,1 M Na posfat pH 7 dengan konsentrasi 4%. Selanjutnya disonikasi selama 30 menit kemudian digoyang selama 24 jam. Larutan yang telah digoyang kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit. Supernatan dipanen dan dimasukkan ke dalam tabung uji untuk selanjutnya dipresipitasi (diendapkan) dalam 50% (NH₄)₂SO₄. Hasil presipitasi disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm, suhu 4°C selama 10 menit, supernatan bening dibuang dan endapan biru (*pellet* warna biru) dipanen. Pellet fikosianin dilarutkan dengan menggunakan larutan buffer 0,025 M Na posfat pH 7, selanjutnya didialisis dengan menggunakan *Snake skin Dialysis Tubing* 3500 MWCO (*Molecular Weight Cutoff*) dalam larutan buffer 0,025M Na posfat pH 7 pada suhu 4-5°C selama 24 jam. Fikosianin hasil dialisis dibekukan dalam *freezer* -80°C, dan selanjutnya dikering bekukan dalam *freeze dryer* selama 24 jam. Kandungan asam amino ekstrak fikosianin selanjutnya dianalisis dengan menggunakan analisis *high performance liquid chromatography* (HPLC).

Persiapan Pakan

Formula pakan basal untuk uji coba dibuat dengan menggunakan komposisi seperti disajikan pada Tabel 1. Lima formula pakan disiapkan dengan menambahkan ekstrak fikosianin ke dalam pakan basal masing-masing sebesar 0 (kontrol), 150 (PF1), 250 (PF2), 350 (PF3) dan 450 (PF4) mg/kg pakan. Semua bahan dicampur merata dengan menggunakan air hangat kecuali minyak ikan dan minyak cumi dicampur kemudian. Selanjutnya ekstrak fikosianin dilapisi terlebih dahulu secara terpisah menggunakan *carboxymethyl cellulose* (CMC) dengan cara sebagai berikut: kedua bahan dicampur dengan air murni (40%) dan dimasak dalam penangas air/*waterbath* dengan suhu dipertahankan tidak lebih dari 50°C. Kemudian bahan ini dicampur dengan bahan lain yang telah dicampur sebelumnya hingga tercampur rata, menambahkan air bila adonan belum bisa dikepal, selanjutnya dicetak dengan mesin *pellet* dan dioven pada suhu 40-60°C selama 12 jam. Setelah kering, pakan dimasukkan dalam plastik, ditempatkan dalam stoples ditutup rapat dan disimpan dalam *refrigerator* hingga saat akan digunakan. Analisis proksimat pakan dilakukan dengan metode *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) (1990).

Perlakuan Penelitian

Penelitian menggunakan 15 buah wadah pemeliharaan berukuran 58 x 40 x 28 cm dengan kepadatan 10 ekor ikan kerapu bebek per wadah dengan volume air 56 liter. Ikan kerapu bebek dibagi ke dalam lima kelompok pemberian pakan sesuai dengan perlakuan pakan yang diberikan. Setiap perlakuan memiliki tiga ulangan. Bagian atas wadah pemeliharaan diberi penutup jaring untuk menghindari ikan melompat keluar. Ikan diberi makan dengan frekuensi dua kali sehari pada jam 08:00 dan 15:00 sebanyak 3% BB. Satu jam setelah pemberian makan dilakukan penyiponan dan penghitungan jumlah pakan yang tidak dikonsumsi. Ikan dipelihara selama empat minggu. Pengukuran kualitas air (*dissolve oxygen*/DO atau kelarutan oksigen, pH, temperatur, amoniak, dan salinitas) pemeliharaan dilakukan pada saat awal, pertengahan dan akhir pemeliharaan.

Pertumbuhan, Kelangsungan Hidup dan Rasio Konversi Pakan

Pengukuran bobot badan ikan dilakukan pada awal dan akhir pemeliharaan. Tingkat

kelangsungan hidup ikan kerapu bebek dihitung pada akhir percobaan. Untuk mengetahui pertambahan bobot ikan terhadap konsumsi pakan dilakukan dengan penghitungan *Feed Conversion Ratio* (FCR, rasio konversi pakan).

Pertambahan bobot ikan dihitung dengan menggunakan rumus Choudhury *et al.*, (2005) : $G = W_t - W_o$, dalam hal ini G = pertambahan bobot yang diperoleh; W_t = bobot akhir ikan; dan (g), W_o = bobot awal ikan (g). Sementara itu, FCR (rasio konversi pakan) dihitung juga dengan menggunakan rumus

Choudhury *et al.*, (2005) yakni : $FCR = \frac{F}{W_t - W_o}$; FCR = Rasio konversi pakan, dalam hal ini, F = jumlah pakan yang dikonsumsi (g); W_t = bobot akhir ikan (g); dan W_o = bobot awal ikan (g).

Survival Rate (SR, kelangsungan hidup) ikan dihitung dengan menggunakan rumus

Effendie (1997) : $SR(\%) = \frac{N_t}{N_o} \times 100$; dalam hal ini, N_t = jumlah ikan akhir pemeliharaan (ekor); N_o = jumlah ikan awal pemeliharaan (ekor).

Gambaran Darah Ikan

Untuk mengetahui respons penambahan fikosianin yang berbeda dalam pakan terhadap gambaran darah ikan dilakukan pengambilan darah pada bagian vena caudal dengan menggunakan *syringe* 1 mL no. 26 G yang telah diberi anti koagulan (0,38% Na sitrat) dan ditampung dalam *ependorf*. Pengukuran parameter gambaran darah yaitu: total leukosit dan eritrosit dilakukan dengan mengikuti prosedur Blaxhall dan Daisley (1973), aktivitas fagositosis mengikuti prosedur Anderson dan Siwicki (1995).

Analisis Data

Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Analisis data pertumbuhan, rasio konversi pakan, kelangsungan hidup ikan, total eritrosit, leukosit dan aktivitas fagositosis dilakukan dengan menggunakan program SPSS versi 16. Analisis kualitas air sebagai data pendukung dianalisis secara deskriptif.

Kualitas air yang terukur selama penelitian untuk semua perlakuan adalah sebagai berikut; DO (kelarutan oksigen) 5,5-6,2 ppm; pH 8,05-8,28; temperatur 26,7-29°C; amoniak 0,013-0,063 ppm, dan salinitas 32-34 ppt. Kondisi kualitas air pemeliharaan masih berada dalam

kisaran yang layak untuk pertumbuhan ikan kerapu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan asam amino hasil ekstraksi fikosianin *Spirulina* yang dianalisis dengan HPLC disajikan pada Tabel 2. Komposisi asam

Tabel 1. Komposisi pakan basal ikan kerapu bebek juvenil

Bahan	%
Tepung ikan	49,50
Tepung rebon	14,00
Tepung tulang daging	4,35
Tepung kedele	15,00
Tepung pollard	0,50
Minyak ikan	4,50
Minyak cumi	3,50
Vitamin mix*	1,60
Mineral mix*	2,00
Feed additive (Lysin : Methionin . 1:1)	2,00
Choline Chloride	0,05
CMC	3,00
Total	100

Tabel 2. Susunan dan kandungan asam amino ekstrak fikosianin *Spirulina* dengan menggunakan analisis HPLC

Parameter	%
Aspartic acid	6,17
Glutamic acid	6,99
Serine	2,71
Histidine*	0,85
Glycine	2,68
Threonine*	2,90
Arginine*	4,17
Alanine	4,31
Tyrosine	2,85
Methionine*	1,05
Valine*	4,08
Phenylalanine*	2,65
Isoleucine*	3,79
Leucine*	5,19
Lysine*	3,03

Keterangan : *) asam amino esensial
HPLC = High Performance
Liquid Chromatography

amino ini hampir sama dengan susunan asam amino hasil isolasi dan karakterisasi fikosianin *Spirulina platensis* yang dilakukan oleh Boussiba dan Richmond (1979). Hasil analisis proksimat pakan yang diberi penambahan fikosianin disajikan pada Tabel 3. Kandungan protein dari kelima formula pakan berkisar antara 45,27-46,85% dengan kandungan lemak berkisar antara 13,63-14,68%. Kebutuhan protein ikan kerapu berkisar 40-50% (Furuichi 1988), ikan kerapu (*Epinephelus malabaricus*) mencapai pertumbuhan maksimum pada pemberian pakan dengan kandungan protein sebesar 50,2% (Shiau dan Lan, 1996). Sementara kebutuhan asam amino untuk ikan kerapu belum diketahui.

Dari hasil analisis proksimat pakan ikan kerapu bebek terlihat kandungan protein pakan tidak berbeda dengan kontrol (pakan basal). Sementara kandungan lemak terendah terdapat pada pakan tanpa penambahan fikosianin (kontrol). Fungsi penting lemak selain sebagai sumber energi adalah sebagai media transper senyawa-senyawa larut lemak, bagian dari struktur membran sel dan sebagai prekursor senyawa-senyawa penting seperti pigmen atau hormon (Jobling 1994).

Gambaran Darah Ikan

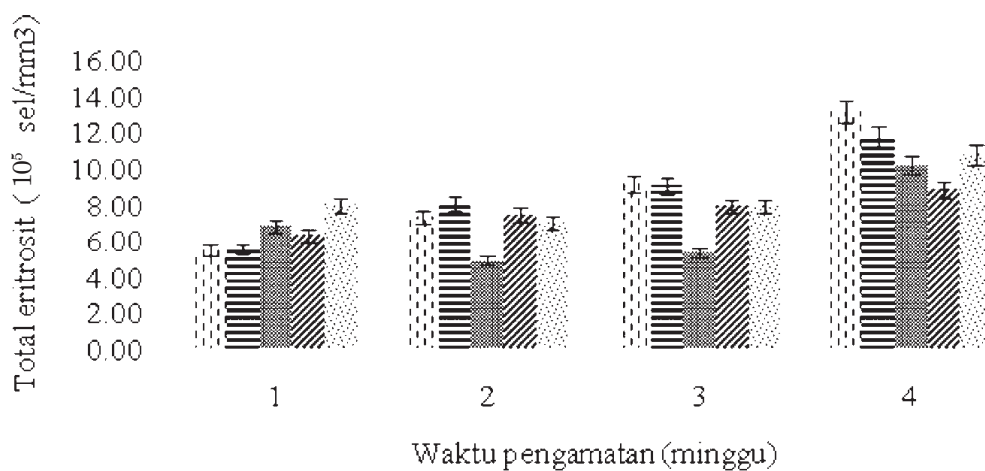
Total eritrosit. Total eritrosit ikan mengalami kenaikan dari minggu ke dua hingga ke empat, kecuali pada perlakuan PF3 yang menurun pada minggu ke dua dan ketiga, namun meningkat kembali pada minggu ke empat (Gambar 1). Total eritrosit pada minggu ke empat dalam penelitian ini menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($P>0,05$) antar perlakuan. Jumlah total sel eritrosit berturut-turut; perlakuan PF1 ($13,17 \times 10^5$ sel/mm³), PF2 ($11,75 \times 10^5$ sel/mm³), PF3 ($10,20 \times 10^5$ sel/mm³), PF4 ($8,83 \times 10^5$ sel/mm³) dan kontrol ($10,76 \times 10^5$ sel/mm³). Total eritrosit tertinggi terdapat pada perlakuan PF1, diikuti PF2, PF3, dan terendah pada perlakuan PF4. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan fikosianin pada pakan dapat meningkatkan jumlah total eritrosit pada perlakuan dengan penambahan fikosianin ≤ 250 mg/kg pakan. Penambahan fikosianin ≥ 250 mg/kg pakan menghasilkan total eritrosit yang lebih rendah dibandingkan dengan penambahan fikosianin ≤ 250 mg/kg pakan.

Hal ini diduga karena ada unsur Fe (zat besi) dalam fikosianin (Hu 2004; Arlyza 2005) yang cukup pada perlakuan penambahan

Tabel 3. Analisis proksimat pakan ikan kerapu bebek dengan penambahan fikosianin

Pakan	Hasil Analisis (%)					
	Kadar Abu	Protein Kasar	Lemak Kasar	Serat Kasar	BETN	Energi (kkal GE/kg)
K	15,82	46,21	13,63	3,19	15,51	4504,89
PF1	15,56	46,85	14,37	3,86	13,96	4546,74
PF2	15,96	46,59	14,68	3,54	16,56	4667,92
PF3	15,59	46,68	14,47	3,63	16,52	4651,58
PF4	15,54	45,27	14,55	3,61	17,44	4617,86

K (Kontrol, 0 mg fikosianin/kg pakan), PF1 (150 mg fikosianin/kg pakan), PF2 (250 mg fikosianin/kg pakan), PF3 (350 mg fikosianin/kg pakan), PF4 (450 mg fikosianin/kg pakan), BETN (Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen), GE (Gross Energy)



▨ PF1 = 150 mg fikosianin/kg pakan ▩ PF2 = 250 mg fikosianin/kg pakan
 ▤ PF3 = 350 mg fikosianin/kg pakan ▥ PF4 = 450 mg fikosianin/kg pakan
 * K = 0 mg fikosianin/kg pakan

Gambar 1. Total eritrosit ikan kerapu bebek dengan pemberian fikosianin berbeda selama 4 minggu pemeliharaan

fikosianin 250 mg/kg pakan untuk membentuk sel eritrosit. Pada penelitian ini ikan kerapu mampu memanfaatkan Fe secara optimum dari penambahan fikosianin sebesar 250 mg/kg pakan, sementara penambahan lebih dari 250 mg/kg pakan sudah kurang efektif. Maita (2007) menyatakan bahwa jumlah nutrisi yang kurang atau berlebihan pada pakan akan menurunkan status kesehatan pada ikan. Nutrien yang kurang mencukupi akan mengakibatkan ikan mudah terserang infeksi penyakit.

Menurut Lehninger (1982), zat besi bersama protein merupakan penyusun sel eritrosit dan hemoglobin dalam tubuh. Selain itu menurut laporan Hayashi *et al.*, (2006) bahwa ekstrak

Spirulina (ekstrak air panas *Spirulina*, fikosianin dan ekstrak dinding sel *Spirulina*) meningkatkan produksi sel sum sum tulang dan menginduksi aktivitas pembentukan sel di dalam kultur sel supernatan limpa tikus. Peningkatan sum sum tulang dan aktivitas pembentukan sel ini menginduksi produksi sel darah merah (eritrosit) dan sel darah putih (leukosit).

Organ limfoid pada ikan sama dengan sum-sum tulang pada vertebrata fungsinya (fungsi pembentukan darah) dan respons imun (Zapata *et al.*, 1996). Pada penelitian ini diduga fikosianin juga menginduksi organ limfoid untuk memproduksi sel eritrosit dan leukosit.

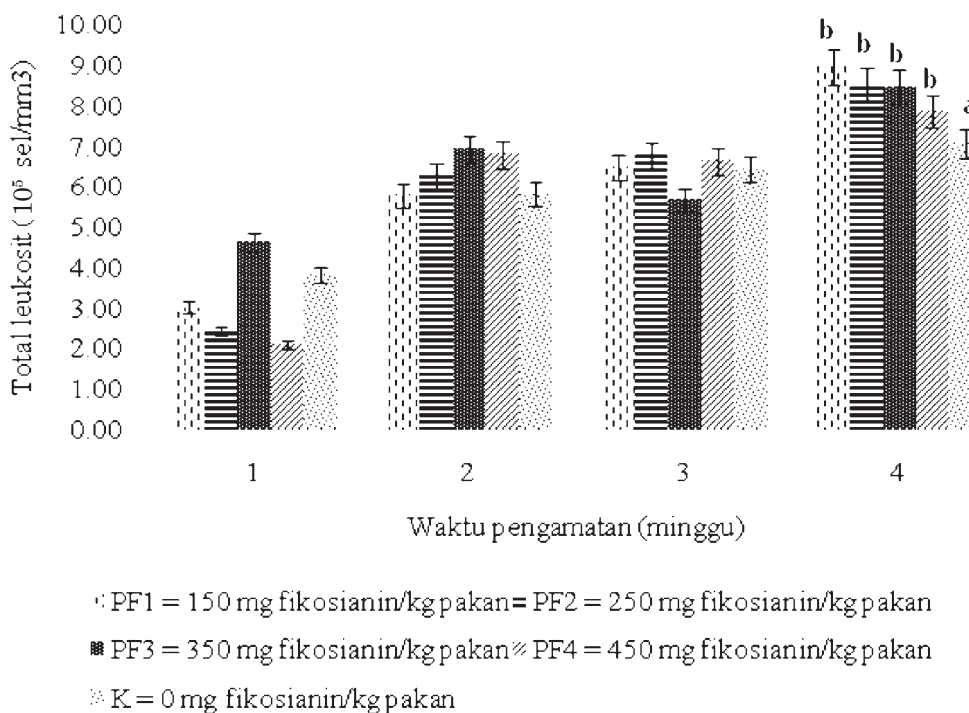
Leukosit. Total leukosit pada penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan pada minggu ke dua hingga minggu ke empat (Gambar 2). Meskipun ada penurunan pada minggu ke tiga untuk perlakuan PF3 dan PF 4 namun meningkat kembali pada minggu ke empat. Total leukosit minggu ke empat berturut-turut; perlakuan PF1 ($8,93 \times 10^5$ sel/mm³), PF2 ($8,49 \times 10^5$ sel/mm³), PF3 ($8,45 \times 10^5$ sel/mm³), PF4 ($7,85 \times 10^5$ sel/mm³) dan kontrol ($7,06 \times 10^5$ sel/mm³).

Total leukosit tertinggi dicapai oleh perlakuan PF1 dan jumlah tersebut berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap kontrol. Total leukosit PF2 dan PF3 tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap perlakuan PF1, namun berbeda nyata terhadap kontrol. Sementara itu perlakuan PF4 tidak berbeda nyata terhadap kontrol. Pemberian fikosianin dalam penelitian ini mampu meningkatkan produksi leukosit ikan kerapu bebek juvenil, kecuali pada perlakuan PF4. Leukosit merupakan salah satu sel darah yang mempunyai peranan penting dalam sistem imun ikan. Dengan meningkatnya total leukosit pada ikan kerapu bebek dalam penelitian ini mengindikasikan adanya peningkatan sistem imun ikan kerapu bebek dengan penambahan fikosianin.

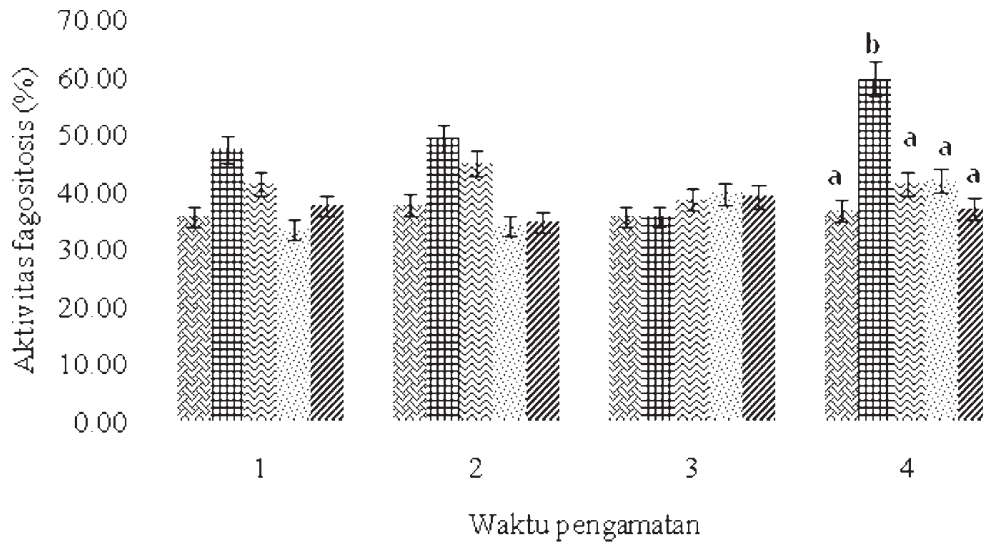
Aktivitas Fagositosis

Aktivitas fagositosis ikan kerapu bebek yang diberi penambahan fikosianin dalam pakan menunjukkan peningkatan pada minggu kedua kemudian menurun pada minggu ke tiga pada perlakuan PF1, PF2 dan PF3 dan meningkat kembali pada minggu ke empat (Gambar 3). Pola ini menunjukkan keadaan yang hampir sama dengan total leukosit. Aktivitas fagositosis terukur di minggu ke empat pada setiap perlakuan adalah; PF1 (36,67%), PF2 (59,67%), PF3 (41,33%), PF4 (42,0%), dan kontrol (37,0%). Aktivitas fagositosis tertinggi dicapai pada perlakuan dengan penambahan fikosianin 250 mg/kg pakan (PF2) dibanding perlakuan lain dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap perlakuan kontrol. Aktivitas fagositosis adalah suatu kegiatan sel-sel fagosit untuk melakukan proses fagositosis dalam suatu sistem imun non spesifik seluler yang melibatkan sel mononuklear (monosit dan makrofag) dan granulosit (neutrofil).

Martins *et al.*, (2009) melaporkan bahwa beberapa tanda klinis ikan berhubungan dengan parameter hematologi. Parameter hematologi adalah salah satu alat penting untuk mendiagnosis penyakit pada ikan. Indeks parameter hematologi telah bekerja secara



Gambar 2. Total leukosit ikan kerapu bebek dengan pemberian fikosianin berbeda selama 4 minggu pemeliharaan



⊗ PF1 = 150 mg fikosianin/kg pakan ⊕ PF2 = 250 mg fikosianin/kg pakan
 ⊙ PF3 = 350 mg fikosianin/kg pakan ⊛ PF4 = 450 mg fikosianin/kg pakan
 ⊘ K = 0 mg fikosianin/kg pakan

Gambar 3. Aktivitas fagositosis ikan kerapu bebek dengan pemberian fikosianin berbeda selama empat minggu pemeliharaan

efektif untuk memonitor respons ikan terhadap stres dan status kesehatan ikan pada kondisi kurang baik (Vazquez dan Guerrero, 2007; Maita 2007).

Imunostimulan memiliki fungsi meningkatkan sistem imun non spesifik sehingga dapat melindungi ikan dari infeksi penyakit. Berbeda dengan vaksin, imunostimulan memengaruhi sistem imun hewan akuatik budidaya melalui pemberian pakan (Jha *et al.*, 2007). Ikan lele *channel catfish* yang diberi pakan dengan penambahan *Spirulina* dapat meningkatkan respons imun non spesifik seluler seperti kemotaksis dan fagositosis (Duncan dan Klesius 1996).

Dalam penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan fikosianin 250 mg/kg pakan sebagai imunostimulan pada ikan kerapu bebek dapat meningkatkan jumlah eritrosit dan leukosit. Selain itu penambahan fikosianin tersebut juga memberikan aktivitas fagositosis tertinggi. Hal ini serupa dilaporkan oleh Abdel-Tawwab *et al.*, (2008) bahwa penambahan *Spirulina* sebesar 5,0-10,0 g/kg pakan meningkatkan jumlah total eritrosit dan leukosit ikan tilapia (*Oreochromis niloticus*) serta menurunkan tingkat kematian ikan tilapia setelah diuji tantang dengan bakteri patogen

Aeromonas hydrophila. Hayashi *et al.*, (1994) juga melaporkan bahwa tikus yang diberi *Spirulina* mampu meningkatkan daya fagositosis makrofag peritoneum. Nilai aktivitas fagositosis yang tinggi menunjukkan bahwa ikan memiliki kemampuan memproduksi sel-sel fagosit lebih banyak dalam darah, sehingga ketika terjadi serangan mikroorganisme patogen, sel fagosit siap melakukan proses fagositosis. Fagositosis yang efektif pada invasi kuman dini akan mencegah timbulnya infeksi penyakit.

Para peneliti di bidang kedokteran menemukan bahwa *Spirulina* tidak hanya menstimulasi sistem imun, tetapi secara nyata meningkatkan kemampuan tubuh untuk menghasilkan sel-sel darah baru. *Spirulina* memiliki warna hijau biru tua, karena *Spirulina* kaya akan polipeptida berwarna biru terang yang disebut fikosianin yang memengaruhi sel punca dalam sum sum tulang. Kultur supernatan sel-sel limpa tikus yang distimulasi oleh fikosianin atau ekstrak dinding sel *Spirulina*, meningkatkan pembentukan sel-sel sum sum tulang, *Granulocyte macrophage-colony stimulating factor* (GM-CSF) dan interleukin-3 (IL-3) (Hayashi *et al.*, 2006) untuk memproduksi sel eritrosit dan sel imun yang

dimodulasi melalui erythropoietin untuk sel eritrosit dan beberapa sitokin untuk sel imun (Hayashi, 2012).

Peningkatan sel eritrosit pada ikan berkaitan dengan kemampuan mengangkut oksigen keseluruh jaringan, dan leukosit berkaitan dengan sistem imun, sehingga dengan meningkatnya eritrosit dan leukosit pada ikan kerapu bebek berdampak pada peningkatan kesehatan pada ikan kerapu bebek.

Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Ikan

Bobot akhir, penambahan bobot, rasio konversi pakan (FCR) dan tingkat kelangsungan hidup ikan kerapu bebek yang diberi pakan dengan penambahan fikosianin berbeda disajikan pada Tabel 4. Bobot akhir (Wt) tertinggi dicapai pada perlakuan PF2 (250 mg/kg pakan) yaitu 14,32 g, dan mengalami penurunan dengan penambahan fikosianin lebih besar dari 250 mg/kg pakan.

Bobot akhir terendah dicapai pada perlakuan kontrol sebesar 11,83 g dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap perlakuan PF2. Dari data bobot akhir ini menunjukkan bahwa ikan yang diberi tambahan fikosianin memberikan pola pertumbuhan hiperbolik yaitu mencapai pertumbuhan optimum pada pemberian fikosianin sebesar 250 mg/kg dan mulai menurun pada pemberian lebih besar dari 250 mg/kg pakan (Tabel 4). Pertambahan bobot (G) menunjukkan pola yang sama yaitu tertinggi dicapai pada perlakuan 250 mg/kg pakan (5,89 g) dan terendah pada perlakuan kontrol (3,43 g). Hal tersebut diduga karena penambahan fikosianin 250 mg/kg pakan mampu memberikan kebutuhan protein yang optimum (46,59%) dan kualitas protein yang lebih baik dengan adanya penambahan fikosianin untuk

pertumbuhan ikan kerapu bebek dibandingkan perlakuan kontrol. Beberapa ikan karnivora seperti ikan salmon, *percid*, dan ikan pipih (*flatfish*) air laut menunjukkan pertumbuhan optimum ketika separuh energi pakannya berasal dari protein. Untuk spesies ini umumnya protein harus disediakan sekitar 40-50% untuk energi pakan (Jobling 1994). Ikan kerapu termasuk jenis ikan karnivora laut yang juga membutuhkan protein tinggi dalam pakannya. Hal tersebut senada dengan laporan Williams *et al.*, (2004) bahwa kandungan protein pakan untuk ikan kerapu bebek adalah tidak kurang dari 44% untuk pertumbuhan optimum. Pada penelitian ini kebutuhan protein ikan kerapu bebek telah terpenuhi. Namun, dengan adanya penambahan fikosianin memberikan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan tanpa penambahan fikosianin.

Rasio konversi pakan (FCR) berkisar antara 1,13–1,86. Ikan tanpa penambahan fikosianin (kontrol) menunjukkan nilai rasio konversi pakan yang paling tinggi (1,86) dibandingkan perlakuan dengan penambahan fikosianin. Fikosianin yang ditambahkan pada pakan dalam penelitian ini memiliki sembilan macam asam amino esensial dan enam asam amino non esensial (Tabel 2) yang dapat mendukung pertumbuhan ikan kerapu dan meningkatkan efisiensi digestibilitas dan penyerapan nutrien. Ikan laut, termasuk ikan kerapu bebek tidak dapat mensintesis sendiri kebutuhan asam amino esensial, sehingga untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhannya harus disuplai dari luar. Ikan yang kekurangan asam amino esensial mengakibatkan pertumbuhan yang lambat (Jobling 1994).

Abdel-Tawwab *et al.*, (2008) melaporkan bahwa suplementasi *Spirulina* sebesar 5,0-10,0 g/kg pakan selain meningkatkan produksi

Tabel 4. Bobot akhir (Wt), pertambahan bobot (G), rasio konversi pakan dan tingkat kelangsungan hidup ikan

Perlakuan	Wt (g)	G (g)	FCR	SR (%)
Kontrol	11,83 ± 1.16a	3,43 ± 1.01a	1.86 ± 0.38a	100
PF1	12,99 ± 0.61ab	4,55 ± 0.59a	1.43 ± 0.20b	100
PF2	14,32 ± 0.60b	5,89 ± 0.55b	1.13 ± 0.06b	100
PF3	13,16 ± 0.54ab	4,60 ± 0.60a	1.33 ± 0.09b	100
PF4	12,58 ± 0.04a	4,31 ± 0.13a	1.34 ± 0.11b	100

Wt = bobot akhir, G = pertambahan bobot, FCR = rasio konversi pakan, SR = survival rate (tingkat kelangsungan hidup). Huruf sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata pada $P > 0,05$

eritrosit dan leukosit juga dapat meningkatkan pertumbuhan ikan tilapia (*Oreochromis niloticus*). Watanabe *et al.*, (1990) menyatakan pula bahwa pakan yang diberi tambahan *Spirulina* dapat meningkatkan pertumbuhan dan rasio konversi pakan ikan *striped jack* (*Pseudocaranx dentex*). Palmegiano *et al.*, (2005) juga melaporkan bahwa pemberian *Spirulina* meningkatkan pertumbuhan pada ikan *sturgeon* (*Acipenser baeri*).

Pada penelitian ini tidak terdapat perbedaan yang nyata terhadap tingkat kelangsungan hidup ikan di antara semua perlakuan ($P > 0,05$). Semua perlakuan memberikan tingkat kelangsungan hidup sebesar 100%. Ini menunjukkan bahwa pakan dengan penambahan fikosianin dapat dikonsumsi dan dicerna oleh ikan sehingga dapat memberikan energi yang cukup untuk tumbuh dan hidup di lingkungan dalam penelitian ini dengan baik.

Penambahan fikosianin 250 mg/kg pakan dalam penelitian ini dapat memodulasi sistem imun non spesifik juvenil ikan kerapu bebek yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan produksi eritrosit, leukosit, dan aktivitas fagositosis hingga minggu ke empat pemeliharaan. Sesuai dengan fungsi darah untuk mengangkut nutrisi dan oksigen, maka pada ikan dengan gambaran darah yang lebih baik diduga akan mampu mendistribusikan nutrisi dan oksigen dengan optimal ke seluruh tubuh.

Dengan meningkatnya kemampuan sistem imun ikan, akan meningkatkan kesehatan ikan yang berdampak pada pertumbuhan ikan yang baik. Hal ini terlihat pada perlakuan penambahan fikosianin 250 mg/kg pakan memberikan pertumbuhan ikan dan rasio konversi pakan yang lebih baik dibandingkan tanpa penambahan fikosianin. Nakagawa (2007) menyatakan bahwa aktivitas makan ikan dipengaruhi komposisi pakan, kepadatan ikan, lingkungan pemeliharaan, kondisi stres dan penyakit yang akan memengaruhi pertumbuhan dan efisiensi pakan. Manajemen kesehatan merupakan alat yang penting untuk pencegahan terhadap penyakit dalam kegiatan akuakultur yang sangat penting guna kesinambungan budidaya ikan (Harikrishnan *et al.*, 2011).

SIMPULAN

Dari penelitian penambahan fikosianin yang berbeda dalam pakan terhadap juvenil ikan kerapu bebek dapat diambil kesimpulan bahwa penambahan fikosianin kurang sama dengan 250 mg/kg pakan mendorong terjadinya peningkatan jumlah total leukosit dan aktivitas fagositosis ikan kerapu bebek juvenil. Penambahan fikosianin dalam pakan juga meningkatkan pertumbuhan sikan kerapu bebek juvenil

SARAN

Penambahan fikosianin sebesar 250 mg/kg pakan dapat diberikan pada ikan kerapu bebek juvenil guna meningkatkan kesehatan dan pertumbuhannya. Untuk mengetahui respons imun dari ikan kerapu bebek yang telah mendapat penambahan fikosianin perlu dilakukan uji tantangan terhadap infeksi mikroorganisme patogen.

UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini, ucapan terima kasih disampaikan kepada DIKTI yang telah memberi beasiswa program S3 dengan Dana BPPS Tahun 2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Tawwab M, Ahmad MH, Abdel-Hadi YM, Seden MEA. 2008. Use of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) as a growth and immunity promoter for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fry challenged with pathogenic *Aeromonas hydrophila*. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture. 1015-1032.
- Anderson DP, Siwicki AK. 1995. Basic Haematology and Serology for Fish Health Programs. In *Diseases in Asian Aquaculture II*. Shariff M, Arthur JR, Subasinghe RP. (eds). Fish Health Section. Asian Fisheries Society, Manila. Philippines. p.185-202.

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Arlyza IS. 2005. Phycocyanin dari Mikroalga Bernilai Ekonomis Tinggi Sebagai Produk Industri. *Oseana* 30(3) : 27-36.
- Balachandran P, Pugh ND, Guoyi Ma, Pasco DS. 2006. Toll-like receptor 2-dependent activation of monocytes by *Spirulina* polysaccharide and its immune enhancing action in mice. *International Immunopharmacology* 6 : 1808-1814
- Blaxhall PC, Daisley KW. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal Fish Biology* 5 : 577-581.
- Boussiba S, Richmond AE. 1979. Isolation and characterization of phycocyanin from the Blue Green Alga *Spirulina platensis*. *Arch Microbiol* 120 : 155-159.
- Boussiba S, Richmond AE. 1980. C-phycocyanin as A Storage Protein in the Blue Green Alga *Spirulina platensis*. *Arch Microbiol* 125 : 143-147.
- Choudhury D, Pal AK, Sahu NP, Kumar S, Das SS, Mukherjee SC. 2005. Dietary yeast RNA supplementation reduces mortality by *Aeromonas hydrophila* in rohu (*Labeo rohita* L.) juveniles. *Fish & Shellfish Immunology* 19 : 281-291.
- Duncan PL, Klesius PH. 1996. Effects of feeding *Spirulina* on specific and nonspecific immune responses of channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 8 : 308-313.
- Effendie M. 1997. *Metode Biologi Perikanan*. Bogor. Yayasan Dewi Sri Bogor.
- Eriksen NT. 2008. Production of phycocyanin-a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Appl Microbiol Biotechnology* 80 : 1-14.
- Estrada JEP, Bermejo Besco's P, Villar del Fresno AM. 2001. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *Il Farmaco* 56 : 497-500.
- Furuichi M. 1988. Fish Nutrition. In *Fish Nutrition and Mariculture*. Watanabe, T (ed). JICA Textbook. The General Aquaculture Course. Kanagawa International Fisheries Training Centre. Japan International Cooperation Agency. p.233.
- Jensen G, Ginsberg DI, Drapeu C. 2001. Blue-green algae as an immune-enhancer and biomodulator. *JANA* 3(4) : 24-30.
- Jobling M. 1994. *Fish Bioenergetics*. London. Chapman & Hall. p. 309.
- Harikrishnan R, Ballasundaram C, Heo M. 2011. Fish health aspects in grouper aquaculture. *Aquaculture* 320 : 1-21.
- Hayashi O, Katoh T, Okuwaki T. 1994. Enhancement of Antibody Production in Mice by Dietary *Spirulina platensis*. *J Nutr Sci Vitaminol* 40 : 431-441.
- Hayashi O, Ono S, Ishii K, Shi YH, Hirahashi T, Katoh T. 2006. Enhancement of proliferation and differentiation in bone marrow hematopoietic cells by *Spirulina (Arthrospira) platensis* in mice. *Journal of Applied Phycology* 18 : 47-56.
- Hayashi O. 2012. Proliferation and differentiation of hematopoietic cells and preservation of immune functions. Intech. <http://creativecommons.org/licenses/by/3.0>. p.119-146.
- Hu Q. 2004. Industrial Production of Microalgal Cell-mass and Secondary Products-Major Industrial Species *Arthrospira (Spirulina) platensis*. In Richmond A (ed) *Handbook of Microalgal Culture*. Biotechnology and Applied Phycology. 264-272.
- Jha AK, Pal AK, Sahu NP, Kumar S, Mukherjee SC. 2007. Haemato-immunological responses to dietary yeast RNA, ω -3 fatty acid and α -carotene in *Catla catla* juveniles. *Fish & Shellfish Immunology* 23 : 917-927.
- Kozenko R, Henson RH. 2010. The Study of *Spirulina*. Effects on the AIDS Virus. Cancer and the Immune System. Healthy & Natural Journal. 2 hal. Down load: 4 April 2010.
- Lehninger A.L. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia I*. Jakarta. Penerbit Erlangga. 369 hal.
- Martins ML, Vieira FN, Jeronimo GT, Mourino JLP, Dotta G, Speck GM, Bezerra AJM, Pedrotti FS, Buglione-Neto CC, Pereira Jr G. 2009. Leukocyte response and phagocytic activity in Nile tilapia experimentally infected with *Enterococcus* sp. *Fish Physiol Biochem* 35 : 219-222.
- Maita M. 2007. Fish Health Assessment. In Nakagawa H, Sato M, Gatlin III D.M. (ed). *Dietary Supplements for the Health and Quality of Cultured Fish*. London. CAB International. Pp.10-34
- Nakagawa H. 2007. Evaluation of quality in cultured fish. In Nakagawa H, Sato M, Gatlin III D.M. (ed). *Dietary supplements*

- for the health and quality of cultured fish. CABI International. p.1-9.
- Palmeigiano GB, Agradi E, Forneris G, Gai F, Gasco L, Rigamonti E, Sicuro B, Zoccarato I. 2005. *Spirulina* as a nutrient source in diets for growing sturgeon (*Acipenser baeri*). *Aquac Res* 36:188-195.
- Romay Ch, González R, Ledón N, Ramirez D, Rimbau V. 2003. C-Phycocyanin: A Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects. *Current Protein and Peptide Science* 4 : 207-216.
- Shiau S, Lan C. 1996. Optimum dietary level and protein to energy level ratio for growth of grouper (*Epinephelus malabaricus*). *Aquaculture* 145 : 259-266.
- Silveira ST, Burkert JFM, Costa JAV, Burkert CAV, Kalil SJ. 2007. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. *Bioresources Technology* 98 : 1629-1634.
- Vazquez GR, Guerrero GA. 2007. Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Tissue and Cell* 39 : 151-160.
- Watanabe T, Liao WL, Takeuchi T, Yamamoto H. 1990. Effect of dietary *Spirulina* supplementation on growth performance and flash lipid of cultured striped jack. *J Tokyo Univ Fish* 77 : 231-239
- Williams KC, Irvin S, Barclay M. 2004. Polka dot grouper *Cromileptes altivelis* fingerlings require high protein and moderate lipid diets for optimal growth and nutrient retention. *Aquaculture Nutrition* 10 : 125-134.
- Zapata AG, Chiba A, Varas A. 1996. Cells and Tissues of The Immune System of Fish. In Iwama G, Nakanishi T (ed). *The Fish Immune System. Organism, Pathogen, and Environment*. San Diego. Academic Press. Pp 1-62.