

LAPORAN HASIL PENELITIAN

**PENGARUH PENAMBAHAN PROPOLIS PADA PAKAN TERHADAP
PENINGKATAN RESPONS IMUN NON SPESIFIK PADA IKAN
JAMBAL SIAM (*Pangasius hypophthalmus*)**

**OLEH:
AHMAD SABRI**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2019**

The Effect of Propolis Addition on Feed to Increase the Immune Non-Specific Response in *Pangasius hypophthalmus*

By

Ahmad Sabri¹, Iesje Lukistyowati², Morina Riauwati²

Aquaculture Department, Faculty of Fisheries and Marine Science, University of Riau, Riau Province

Email: Sabri.ahm23@gmail.com

ABSTRACT

This research was conducted in April until June 2018 at the Experimental Pond and Laboratory of Parasites and Fish Diseases, Faculty of Fisheries and Marine, University of Riau. The purpose of this study was to determine the effect of the addition of propolis on feed to improve the non-specific immune response of *Pangasius hypophthalmus* which is maintained in cages. The research method used in this study was an experimental method with a completely randomized design (CRD) consisting of 5 treatments and 3 replications, with the treatment of feeding containing propolis ie P0 (without the addition of propolis), P1 (addition of propolis 600 ppm / kg of feed), P2 (addition of propolis 700 ppm / kg of feed), P3 (addition of propolis 800 ppm / kg of feed) and P4 (addition of propolis 900 ppm / kg of feed). The test fish used was jambal siam fish with a size of 8-10 cm as many as 600 tails. The parameters measured are; total leukocytes, leukocyte differentiation, phagocytic activity, survival, absolute weight growth and water quality measurements. The results obtained from the study, namely there is the effect of giving propolis in feed with the best dose is 800 ppm / kg of feed (addition of propolis 800 ppm / kg feed) is real $P < 0.05$ and the best dose with a total leukocyte of 10.06×10^4 cells / mm³, lymphocyte percentage 84.00%, neutrophils 6.33%, monocytes 9.67%, phagocytic activity 35.33%, survival 98% and absolute weight growth 39.18 g.

Keywords: Leukocytes, *Pangasius hypophthalmus*, Propolis

-
1. Students of the Faculty of Fisheries and Marine, University of Riau
 2. Faculty of Fisheries and Marine Lecturer, University of Riau

Pengaruh Penambahan Propolis pada Pakan terhadap Peningkatan Respons Imun Non Spesifik pada Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*)

Oleh

Ahmad Sabri¹, Iesje Lukistyowati², Morina Riauwati²

Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau,
Provinsi Riau

Email: Sabri.ahm23@gmail.com

ABSTRACT

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan April-Juni 2018 bertempat di Kolam Percobaan dan Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan propolis pada pakan untuk meningkatkan respons imun non spesifik ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang dipelihara didalam keramba. Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan Rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 3 ulangan, dengan perlakuan pemberian pakan yang mengandung propolis yaitu P0 (tanpa penambahan propolis), P1 (penambahan propolis 600 ppm/kg pakan), P2 (penambahan propolis 700 ppm/kg pakan), P3 (penambahan propolis 800 ppm/kg pakan) dan P4 (penambahan propolis 900 ppm/kg pakan). Ikan uji yang digunakan adalah benih ikan jambal siam yang berukuran 8-10 cm sebanyak 600 ekor. Parameter yang diukur adalah; total leukosit, diferensiasi leukosit, aktivitas fagositosis, kelulushidupan, pertumbuhan bobot mutlak dan pengukuran kualitas air. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini yaitu ada pengaruh pemberian propolis dalam pakan, dengan dosis terbaik adalah 800 ppm/kg pakan (penambahan propolis 800 ppm/kg pakan) nyata $P < 0,05$ dan merupakan dosis yang terbaik dengan total leukosit $10,06 \times 10^4$ sel/mm³, persentase limfosit 84,00%, neutrofil 6,33%, monosit 9,67%, aktifitas fagositosis 35,33%, Kelulushidupan 98% dan pertumbuhan bobot mutlak 39,18g.

Kata kunci : Leukosit, *Pangasius hypophthalmus*, Propolis

-
1. Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau
 2. Dosen fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau.

PENDAHULUAN

Ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) merupakan ikan yang banyak dibudidayakan di Indonesia dan banyak digemari oleh masyarakat khususnya di daerah Provinsi Riau. Dengan permintaan yang terus meningkat, maka para pembudidaya ikan jambal siam dituntut untuk memenuhi permintaan pasar sehingga produksi perlu ditingkatkan. Untuk meningkatkan produksi budidaya perlu dilakukan budidaya secara intensif dengan padat tebar yang tinggi akan tetapi kendala yang dihadapi dalam kegiatan budidaya intensif adalah masalah penyakit bakterial yang dapat menyebabkan kematian pada ikan.

Kasus kematian massal pada usaha pembesaran dan pendederan ikan jambal siam pernah terjadi di Desa Tangkit, Sungai Gelam, Jambi yang disebabkan oleh bakteri *Edwardsiella ictaluri*. Bakteri yang menyebabkan penyakit *Enteric Septicemia* (ESC) yang menjadi masalah baru dalam budidaya ikan jambal yang dapat menyebabkan kematian mencapai 80-100% (Anonim, 2013).

Selama ini para pembudidaya banyak menggunakan bahan kimia terutama antibiotik untuk pencegahan maupun pengobatan. Penggunaan antibiotik secara terus menerus dan tidak terkontrol dapat menyebabkan bakteri patogen menjadi resisten, terjadi penimbunan residu obat-obatan di lingkungan perairan serta di dalam tubuh ikan yang dapat menimbulkan efek berbahaya bagi yang mengkonsumsinya. Salah satu alternatif dalam mencegah penyakit bakterial pada ikan adalah menggunakan bahan-bahan alami yang mempunyai kemampuan sebagai antibakteri.

Salah satu bahan alami yang mampu berperan sebagai antibakteri adalah propolis. Propolis adalah suatu zat yang dihasilkan oleh lebah madu dengan cara mengumpulkan resin atau getah dari berbagai macam tumbuhan, kemudian resin ini bercampur dengan saliva dan berbagai enzim yang ada pada lebah (Lofty, 2006). Propolis merupakan antimikroba yang kuat untuk melawan berbagai infeksi bakteri, jamur, bahkan propolis menunjukkan reaksi sensitif terhadap bakteri *Streptococcus* sp (Agustrina, 2011) dan bakteri *Aeromonas hydrophila* (Bako, 2018).

Berdasarkan uraian di atas maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh penambahan propolis pada pakan terhadap peningkatan respons imun non spesifik pada ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*).

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuannya adalah pemberian pakan yang mengandung propolis dengan dosis yang berbeda. Penentuan dosis propolis yang diberikan ke dalam pakan berdasarkan hasil uji MIC sebesar 6% (Bako, 2018).

Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- P0 :Kontrol (pemberian pakan tanpa penambahan propolis pada pakan)
- P1 :Pemberian pakan dengan penambahan propolis 600 ppm/kg pakan
- P2 :Pemberian pakan dengan penambahan propolis 700 ppm/kg pakan

P3 :Pemberian pakan dengan penambahan propolis 800 ppm/kg pakan

P4 :Pemberian pakan dengan penambahan propolis 900 ppm /kg pakan

Persiapan Wadah

Wadah yang digunakan dalam penelitian ini adalah keramba dengan ukuran 1 x 1 x 1m sebanyak 15 keramba yang terbuat dari jaring yang ditempatkan di kolam percobaan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. Kemudian setiap masing-masing keramba dimasukkan ikan uji yaitu ikan jambal siam dengan padat tebar 50 ekor/keramba (Sari, 2018).

Pembuatan Pakan Uji

Komposisi masing-masing bahan ditentukan sesuai dengan kebutuhan protein yang diharapkan yaitu sebesar 30%. Proporsi propolis ditentukan sesuai dengan jumlah yang telah ditentukan pada masing-masing perlakuan yaitu P0 (tanpa penambahan propolis), P1 (penambahan propolis 600 ppm/kg pakan), P2 (penambahan propolis 700 ppm/kg pakan), P3 (penambahan propolis 800 ppm/kg pakan), P4 (penambahan propolis 900 ppm/kg pakan). Sedangkan bahan-bahan lain seperti tepung ikan, tepung kedelai, tepung terigu, vitamin mix, mineral mix, serta minyak ikan penggunaannya mengacu kepada Gusrina (2008) pada Tabel 4. Pencampuran bahan dilakukan secara bertahap, dimulai dari jumlah yang paling sedikit hingga jumlah yang paling banyak agar campuran dari semua bahan pakan yang digunakan menjadi homogen. Sedangkan Propolis dicampurkan dengan menggunakan air hangat lalu diaduk bersama bahan

pakan yang telah dicampurkan sebelumnya. Pelet dicetak dengan alat pencetak pelet, kemudian setelah pelet dicetak maka dilakukan pengeringan dengan penjemuran di bawah sinar matahari.

Pemeliharaan Ikan

Pemeliharaan ikan uji dilakukan selama 60 hari dengan pemberian pakan sebanyak 10% dari bobot biomassa ikan uji dengan rasio pemberian sebanyak tiga kali sehari yaitu pada pagi, siang dan sore hari.

Pengambilan Darah Ikan Uji

Pengambilan darah dilakukan di bagian vena caudalis, darah diambil menggunakan syringe yang sudah dibasahi dengan EDTA 10%.Kemudian darah dimasukkan ke dalam mikrotube untuk digunakan dalam pengamatan leukosit.

Total Leukosit

Prosedur perhitungan total leukosit mengacu pada Blaxhall dan Daisley (1973) dalam Iman (2017), yaitu dengan cara sampel darah dihisap dari mikrotube dengan menggunakan pipet leukosit hingga skala 0.5 dan ditambah larutan Turk hingga garis 11, setelah itu dihomogenkan dengan cara menggoyang-goyangkan pipet leukosit membentuk angka delapan selama lima menit. Setelah homogen, darah dibuang sebanyak dua tetes untuk menghilangkan udara, lalu darah diteteskan pada kotak *haemocytometer* dan ditutup dengan cover glass. Selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 X. Jumlah total leukosit dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\Sigma \text{ Leukosit} = \Sigma n \times 50 \text{ sel/mm}^3$$

Dimana :

Σn = Jumlah total leukosit pada 4 kotak besar

50 = Faktor pengenceran

Diferensiasi Leukosit

Perhitungan jenis leukosit berdasarkan metode Blaxhall dan Daisley (1973) dalam Iman (2017), yakni dengan cara mengambil darah ikan, kemudian dibuat preparat ulas darah pada objek gelas lalu dikering anginkan, selanjutnya difiksasi dengan larutan methanol 95% selama 5 menit, setelah itu dibilas dengan akuades lalu dikering anginkan, dan dilanjutkan dengan pewarnaan Giemsa selama 15 menit, setelah itu dicuci dengan air mengalir, kemudian dikering anginkan, lalu diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 X. Jenis leukosit yang diamati adalah limfosit, monosit dan neutrofil. Kemudian dihitung sampai berjumlah 100 sel dan dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Persentase Sel} = \Sigma n \times 100\%$$

Dimana : Σn = jumlah sel yang dihitung

Aktivitas Fagositosis

Aktivitas fagositosis diukur menurut Anderson dan Siwicki (1993) dalam Iman (2017), yaitu sampel darah diambil sebanyak 50 μ l dan dimasukkan ke dalam mikrotube. Setelah itu, ditambahkan sebanyak 50 μ l suspensi *Staphylococcus aureus* dengan kepadatan 10^7 sel/mL. Kemudian, suspensi tersebut dihomogenkan dan diinkubasi dalam inkubator selama 20 menit. Lalu suspensi tersebut diambil sebanyak 5 μ l untuk dilakukan pembuatan preparat ulas darah yang kemudian diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 x.

Persentase sel-sel fagositosis dapat dihitung dengan cara mengamati jumlah sel-sel yang memfagosit bakteri hingga berjumlah 100 sel. Adapun cara per-hitungannya adalah sebagai berikut :

$$\text{Aktivitas Fagositosis} = \frac{\Sigma \text{Sel Fagosit}}{100} \times 100\%$$

Tingkat Kelulushidupan

Kelulushidupan ikan jambal siam yang diberi pakan dengan penambahan propolis yang dipelihara selama dua bulan kemudian dihitung menurut Effendie (2002), sebagai berikut :

$$\text{SR} = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = Kelulushidupan (%)

N_t = Jumlah ikan yang hidup pada akhir penelitian (ekor)

N_o = Jumlah ikan yang hidup pada awal penelitian (ekor)

Pertumbuhan Bobot Mutlak

Pertumbuhan bobot mutlak dihitung dengan menggunakan rumus menurut Effendie (2002) sebagai berikut:

$$\text{GR} = W_t - W_o$$

Keterangan :

GR = Pertumbuhan bobot mutlak (g)

W_t = Bobot rata-rata ikan pada akhir penelitian (g)

W_o = Bobot rata-rata ikan pada awal penelitian (g)

Kualitas air

Parameter kualitas air yang diukur selama penelitian adalah suhu, pH, amoniak (NH_3) dan oksigen terlarut (DO). Pengukurannya dilakukan pada awal dan akhir penelitian.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengukuran total leukosit, diferensiasi leukosit, dan aktivitas fagositosis, bobot mutlak serta

kelulushidupan hidup ikan jambal siam dianalisis dengan menggunakan analisa variansi (ANAVA) dan uji rentang Student Newman-Keuls. Apabila perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata dimana $P < 0.05$ maka dilakukan uji lanjut Newman-Keuls untuk menentukan perbedaan dari masing masing perlakuan. Data

kualitas air ditabulasikan dalam bentuk tabel secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Leukosit

Hasil pengamatan total leukosit pada ikan jambal siam selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 1 dibawah

Tabel 1. Rerata total leukosit pada ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) selama penelitian.

Perlakuan	Total Leukosit ($\times 10^4$ sel/ mm^3)	
	Awal penelitian	Akhir penelitian
P0	7,74	9,11 \pm 0,10 ^a
P1	7,71	9,57 \pm 0,08 ^b
P2	7,74	9,98 \pm 0,11 ^c
P3	7,72	10,06 \pm 0,07 ^c
P4	7,75	10,01 \pm 0,09 ^c

Keterangan : P0 : Kontrol (pakan tidak mengandung propolis). P1 : Pakan mengandung propolis dengan dosis 600 ppm/kg pakan, P2 : Pakan mengandung propolis dengan dosis 700 ppm/kg pakan, P3 : Pakan mengandung propolis dengan dosis 800 ppm/kg pakan, P4 : Pakan mengandung propolis dengan dosis 900 ppm/kg pakan. \pm Standar Deviasi (SD).

Berdasarkan pada Tabel 1 diketahui total leukosit ikan jambal siam setelah pemeliharaan selama 60 hari mengalami kenaikan yaitu berkisar antara 9,11-10,06 $\times 10^4$ sel/ mm^3 . Total leukosit tertinggi terdapat pada perlakuan dengan dosis 800 ppm/kg pakan (P3) yaitu 10,06 $\times 10^4$ sel/ mm^3 . Sedangkan nilai total leukosit terendah didapat pada perlakuan P0 (pakan tidak mengandung propolis) dengan 9,11 $\times 10^4$ sel/ mm^3 .

Berdasarkan uji analisis variansi (ANAVA) menunjukkan pemberian pakan yang mengandung propolis memberikan pengaruh nyata terhadap total leukosit ikan jambal siam selama 60 hari pemeliharaan ($P < 0,05$) (Lampiran 3). Hasil uji lanjut Student Newman-Keuls (SNK) menunjukkan P3 berbeda nyata terhadap P0 dan P1 tetapi tidak berbeda nyata dengan P2 dan P4.

Berdasarkan Tabel 1. menunjukan P0 berbeda nyata terhadap P1, hal tersebut diduga karna pengaruh dari pemberian propolis pada pakan dimana disebabkan karena adanya kandungan bahan aktif pada propolis yang mampu meningkatkan respons imun spesifik. Menurut Agustrina (2011), propolis mengandung flavonoid, fenolik, hidrokinon, tanin, minyak atsiri, steroid, saponin, dan gula pereduksi. Flavonoid dapat mengaktifkan sistem limfe sehingga dapat meningkatkan produksi sel leukosit ikan jambal siam selama penelitian, hal ini sesuai dengan Lukistyowati (2012) yang menyatakan bahwa peningkatan jumlah leukosit pada ikan jambal *Pangasius hypophthalmus* yang diberi sambiloto, disebabkan sambiloto mengandung flavonoid yang dapat mengaktifkan sistem limfe sehingga dapat meningkatkan produksi sel leukosit ikan jambal

setelah diinfeksi dengan bakteri *Edwardsiella tarda*, selain itu propolis juga mengandung minyak astiri yang berperan dalam meningkatkan sekresi empedu sehingga dapat meningkatkan nafsu makan pada ikan uji, adanya hal tersebut menyebabkan pertumbuhan bobot tubuh ikan jambal siam jadi meningkat, dengan pertumbuhan yang baik maka produksi leukosit pada ikan juga akan baik (Rahmi *et al.*, 2014).

Peningkatan rata-rata total leukosit mengindikasikan bahwa ikan memberikan respons tanggap kebal

Tabel 2. Rerata diferensiasi leukosit ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) selama penelitian.

Diferensiasi Leukosit	Perlakuan	Limfosit (%)	Neutrofil (%)	Monosit (%)
Awal penelitian	P0	78,33	9,00	12,67
	P1	78,00	9,00	13,00
	P2	77,67	9,33	13,00
	P3	77,67	9,33	13,00
	P4	77,33	9,00	13,67
Akhir penelitian	P0	79,00 ± 1,00 ^a	8,67 ± 0,58 ^b	12,33 ± 0,58 ^b
	P1	81,33 ± 0,58 ^b	8,00 ± 0,58 ^a	10,67 ± 1,00 ^{ab}
	P2	82,00 ± 1,00 ^b	7,67 ± 0,58 ^a	10,33 ± 0,58 ^{ab}
	P3	84,00 ± 1,00 ^c	6,33 ± 0,58 ^a	9,67 ± 0,58 ^a
	P4	82,33 ± 0,58 ^b	7,67 ± 1,00 ^a	10,00 ± 0,98 ^{ab}

Keterangan : P0 : Kontrol (pakan tidak mengandung propolis). P1 : Pakan mengandung propolis dengan dosis 600 ppm/kg pakan, P2 : Pakan mengandung propolis dengan dosis 700 ppm/kg pakan, P3 : Pakan mengandung propolis dengan dosis 800 ppm/kg pakan, P4 : Pakan mengandung propolis dengan dosis 900 ppm/kg pakan. ± Standar Deviasi (SD).

Limfosit

Berdasarkan Tabel 2, diketahui bahwa limfosit ikan jambal siam setelah pemeliharaan selama 60 hari berkisar antara 79,00-84,00%. Pada P3 memiliki persentase limfosit tertinggi, yaitu 84,00%, dan limfosit terendah terdapat pada perlakuan P0 yaitu 79,00%. Berdasarkan uji analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang

terhadap adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Hal ini sesuai dengan Kresno (2001) dalam Utami *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa peningkatan sel leukosit merupakan refleksi keberhasilan sistem imunitas ikan dalam mengembangkan respons imunitas seluler (non spesifik) sebagai pemicu untuk respons kekebalan.

Diferensiasi leukosit

Perhitungan diferensiasi leukosit leukosit pada ikan jambal siam dapat dilihat pada Tabel 2

mengandung propolis memberikan pengaruh nyata terhadap persentase limfosit pada darah ikan jambal siam selama 60 hari pemeliharaan ($P < 0,05$) (Lampiran 5). Hasil uji lanjut Student Newman-Keuls (SNK) menunjukkan P0 berbeda nyata dengan P1, P2, P3 dan P4.

Limfosit berperan untuk merespon antigen (benda-benda asing) dengan membentuk antibodi

dan pengembangan imunitas (Bikrisirna, 2013). Limfosit merupakan sel leukosit yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh. Bila menyentuh material asing limfosit ini akan memperbanyak diri dan mensekresikan antibody immunoglobulin dalam jumlah besar. Biasanya limfosit di dalam darah ikan yang paling sering dijumpai dan dapat mencapai 85% dari total jumlah sel leukosit (Lukistyowati *et al.*, 2007).

Persentase limfosit pada P3 mendominasi setelah 60 hari pemeliharaan mengindikasikan bahwa respons imun spesifik yang terbentuk lebih besar dibandingkan dibandingkan perlakuan kontrol (P0). Peningkatan limfosit dalam darah berperan besar dalam meningkatkan respons imun spesifik ikan uji, dikarenakan limfosit berfungsi sebagai penghasil antibodi untuk kekebalan tubuh dari gangguan penyakit). Senyawa fitokimia yang berperan dalam Propolis ini adalah flavonoid. Menurut Subramani *et al.*, (2002) flavonoid berfungsi untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu fungsi mikroorganisme, yaitu termasuk bakteri patogen. Oleh sebab itu limfosit menjadi meningkat.

Menurut Fujaya (2004) mekanisme produksi limfosit dalam jumlah besar melalui sistem sel-sel limfoid yang bereaksi terhadap antigen, sehingga merangsang sel induk limfoid membentuk dua populasi yaitu limfosit T yang berasal dari kelenjar timus dan berperan mengatur kekebalan yang mampu mengeliminasi antigen, sedangkan limfosit B berasal dari ginjal dan berperan dalam pembentukan antibodi dalam sirkulasi.

Neutrofil

Persentase neutrofil setelah 60 hari pemeliharaan berada pada kisaran 6,33-8,67 %. Menurut Lagler *et al.*, (1997) persentase neutrofil pada ikan normal adalah sekitar 6-8% dari total leukosit dalam darah ikan. Persentase neutrofil tertinggi pada perlakuan P0 (pakan tidak mengandung propolis) yaitu 8,67%, sedangkan yang terendah pada perlakuan P3 (dosis 800 ppm/kg pakan) yaitu 6,33%.

Berdasarkan hasil uji statistik analisis variansi (ANAVA) menunjukkan pemberian pakan yang mengandung propolis setelah 60 hari pemeliharaan tidak memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah neutrofil ikan jambal siam ($P > 0,05$) dapat dilihat (Lampiran 6).

Perlakuan P0 memiliki persentase neutrofil tertinggi pada penelitian ini yaitu 8,67, hal ini dikarenakan sel neutrofil masih bekerja dalam proses menekan infeksi bakteri yang terjadi. Sedangkan pada perlakuan P1, P2, P3 dan P4 persentasenya neutrofilnya lebih rendah, hal ini diduga karena zat aktif propolis mampu menekan infeksi yang terjadi. Sel neutrofil dalam darah meningkat dapat diindikasikan bahwa terjadi peradangan akibat masuknya agen penyakit maupun benda asing dalam tubuh (Brown, 2000). Peningkatan jumlah neutrofil dalam sirkulasi darah disebut heterofilia yang terjadi karena adanya infeksi penyakit oleh bakteri dan juga karena kondisi stress (Erika, 2008).

Neutrofil dengan proses komotaksis berfungsi sebagai fagosit dan bakterisidal yang mengontrol kontaminasi lokal dan mencegah infeksi. Neutrofil akan melepaskan protease, yaitu elastase dan

kolagenase yang berfungsi untuk memperbaiki kerusakan sel, merubah ekstracelular matrix dan membersihkan luka dari sel yang rusak. Semakin banyak jumlah neutrofil dalam darah maka akan semakin banyak membunuh bakteri yang terkandung. Karena sebuah neutrofil dapat memfagosit 5-20 bakteri sebelum neutrofil inaktif dan mati (Mulyani, 2006).

Monosit

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa P0 memiliki persentase monosit tertinggi, yaitu 12,33% dan persentase monosit terendah adalah pada perlakuan P3 dengan persentase monosit 9,67%. Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANAVA) menunjukkan bahwa pemberian pakan yang mengandung propolis tidak berpengaruh terhadap persentase monosit ikan jambal siam ($P > 0,05$).

Monosit dalam melaksanakan fungsi sistem imun berperan sebagai *macrophage* yakni menelan dan menghancurkan sel, mikroorganisme dan benda asing yang bersifat patogen. Rendahnya persentase monosit pada penelitian ini karena

Tabel 3. Rerata Aktivitas fagositosis pada ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) selama penelitian

Perlakuan	Aktivitas fagositosi (%)	
	Awal penelitian	Akhir penelitian
P0	23,33	24,33 ± 2,08 ^a
P1	23,00	30,33 ± 1,53 ^b
P2	24,33	33,67 ± 1,53 ^c
P3	24,00	35,33 ± 1,53 ^c
P4	23,67	34,64 ± 1,53 ^c

Keterangan : Keterangan : P0 : Kontrol Positif (pakan tidak mengandung propolis). P1 : Pakan mengandung propolis dengan dosis 600 ppm/kg pakan, P2 : Pakan mengandung propolis dengan dosis 700 ppm/kg pakan, P3 : Pakan mengandung propolis dengan dosis 800 ppm/kg pakan, P4 : Pakan mengandung propolis dengan dosis 900 ppm/kg pakan. ± Standar Deviasi (SD).

Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANAVA) menunjukkan

tidak adanya bakteri atau infeksi yang masuk yang disebabkan oleh flavonoid yang terkandung didalam propolis sehingga monosit sebagai pertahanan kedua tidak perlu digunakan oleh tubuh (Sismanto, 2007).

Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki fungsi sebagai zat anti-bakteri, antiviral, dan antiradang yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan menghambat produksi enterotoksin, sehingga organ yang memproduksi sel darah mampu kembali pada kondisi normal (Septiana, 2011).

Menurut Kusdarwati *et al.*, (2010) mekanisme kerja senyawa antibakteri dengan merusak membrane sel sehingga menyebabkan tidak berlangsungnya transport senyawa dan ion ke dalam sel bakteri hingga bakteri mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhannya dan akhirnya bakteri akan mati.

Aktivitas fagositosis

Hasil pengamatan aktivitas fagositosis sel leukosit ikan jambal siam selama penelitian dapat dilihat pada tabel 7.

bahwa pemberian pakan yang mengandung propolis setelah 60 hari

pemeliharaan berpengaruh nyata terhadap aktivitas fagositosis ikan jambal siam ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut studi Newman Keuls menunjukkan bahwa P3 berbeda nyata terhadap P0 dan P1 tetapi tidak berbeda nyata terhadap P2 dan P4.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa penambahan propolis dalam pakan ikan mampu meningkatkan aktivitas fagositosis. Hasil penelitian ini juga memperlihatkan bahwa aktivitas fagositosis semakin meningkat sejalan dengan meningkatnya dosis propolis, hal tersebut dikarenakan respons imun non spesifik terhadap persentase monosit pada ikan jambal siam meningkat sehingga sistem pertahanan tubuh ikan sudah terbentuk dan siap memfagositosis bakteri. Bloom and Fawcett (1976) dalam Mawardi (2016) menyatakan bahwa zat aktif antibakteri yaitu Flavonoid, saponin dan tanin berperan dalam membantu leukosit untuk melakukan fagositosis sehingga dengan pemberian pakan yang mengandung propolis pada ikan uji dapat meningkatkan fungsi leukosit sebagai makrofag. Sedangkan yang terendah yaitu pada perlakuan P1 masih tergolong rendah sehingga belum mampu meningkatkan aktivitas fagositosis. Kemudian pada perlakuan P4 dosis yang diberikan terlalu berlebihan sehingga nilai aktivitas fagositosisnya lebih rendah dibandingkan dengan dosis pada P3, namun pada dosis 900 ppm (P4) mengalami penurunan aktivitas fagositosis, hal tersebut terjadi karena propolis mengandung *tanin* dan *saponin*, jika kandungan *tanin* dan *saponin* terlalu tinggi bisa menyebabkan ikan stres sehingga produksi leukosit terganggu. Hal ini

sesuai dengan pendapat Syawal *et al.*, (2008) menyatakan bahwa tingginya dosis ekstrak siwak *Salvadora persica* L. yang diberikan pada ikan mas *C. carpio* menyebabkan ikan tidak mampu beradaptasi dan menjadi stres, dengan demikian daya tahan tubuhnya akan menurun. Lebih lanjut menurut El-Mostehy *et al.*, (1998) dalam Syawal *et al.*, (2008), siwak mengandung tannin dan *saponin* yang dalam konsentrasi tinggi dapat menjadi toksik. Kandungan senyawa kimiawi yang sama juga terkandung dalam propolis pada penelitian ini.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan P3 (pakan mengandung propolis dengan dosis 800 ppm/kg pakan) merupakan hasil tertinggi pada pengamatan aktivitas fagositosis, pada pengamatan aktivitas fagositosis sel fagosit yang lebih banyak ditemukan dalam melakukan fagositosis adalah sel monosit. Menurut Fujaya (2002) dalam Abdullah (2008), monosit lebih kuat dibandingkan neutrofil dalam memfagositosis bakteri, bahkan dapat memfagositosis partikel yang lebih besar. Makrofag merupakan monosit matang yang mampu memfagosit 100 bakteri, sedangkan satu neutrofil hanya dapat memfagosit 5 sampai 20 bakteri sebelum neutrofil menjadi tidak aktif atau mati (Abdullah, 2008). Affandi dan Tang (2002), menyatakan bahwa peranan sel neutrofil ikan dalam respons peradangan masih belum dapat dibilang mempunyai fungsi fagositosis yang utama.

Pertumbuhan Bobot Mutlak

Pertumbuhan bobot mutlak ikan jambal siam selama 60 hari dapat dilihat pada table 4.

Tabel 4. Pertumbuhan bobot mutlak ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) selama penelitian

Perlakuan	Bobot Awal (g)	Bobot Akhir (g)	Bobot mutlak (g)
P0	5,62	26,55	20,93 ± 1,46 ^a
P1	5,99	37,97	31,98 ± 1,88 ^c
P2	6,52	40,36	33,77 ± 2,39 ^c
P3	6,47	45,65	39,18 ± 1,58 ^d
P4	6,38	33,29	26,91 ± 3,76 ^b

Keterangan : P0 (Tanpa diberi propolis); P1 (600 ppm propolis); P2 (700 ppm propolis); P3 (800 ppm propolis); P4 (900 ppm propolis).

Berdasarkan Tabel 4 diketahui bahwa pertumbuhan bobot mutlak pada ikan jambal siam yang diberi pakan mengandung propolis menunjukkan perbedaan pada setiap perlakuan, pada perlakuan P3 pertumbuhan bobot mutlak tertinggi (39,18 g), diikuti oleh perlakuan P2 (33,77 g), P1 (31,98 g), P4 (26,91 g), dan P0 (20,93). Hasil analisis variansi (ANOVA) terhadap pertumbuhan bobot mutlak ikan jambal siam, memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap pertumbuhan bobot mutlak ikan jambal siam ($P < 0.05$) [Lampiran 8]. Setelah dilakukan uji lanjut diketahui bahwa P3 berbeda nyata dengan perlakuan P0, P1, P2, dan P4.

Koesdarto (2001) menyatakan bahwa meningkatnya pertumbuhan didukung dengan kesehatan yang baik pada ikan dan akan meningkatkan efisiensi penyerapan zat makanan untuk memenuhi kebutuhan hidup dan produksi yang ditunjukkan dengan penambahan bobot. Samsudin (2004) dalam Iman (2017), menyatakan bahwa pertumbuhan bobot ikan dapat terjadi karena adanya alokasi energi yang berasal dari pakan untuk pertumbuhan, setelah sebelumnya energi untuk mempertahankan kondisi tubuh dan sumber tenaga selama pemeliharaan terpenuhi.

Pemberian pakan yang mengandung propolis dapat meningkatkan pertumbuhan bobot mutlak ikan jambal siam. Hal ini disebabkan karena zat yang terkandung pada propolis, diantaranya adalah protein, Utomo *et. al.* (2013) menyatakan bahwa protein merupakan komponen yang jumlahnya paling banyak setelah air di dalam tubuh ikan, Protein ini sangat dibutuhkan oleh ikan sebagai bahan-bahan pembentuk jaringan tubuh yang baru (Pertumbuhan) atau pengganti jaringan tubuh yang rusak. Propolis juga mengandung tiga Asam amino yang dapat meningkatkan respons makan ikan yang lebih sensitif yaitu glisin, proline dan valine (Halimatusadiah 2009 dalam Zainuri *et al.*, 2017), Propolis juga mengandung saponin, Mawardi (2016) menyatakan bahwa selain berfungsi sebagai antimikroba saponin juga berperan sebagai antioksidan yang dapat membantu penyerapan mineral dan vitamin dalam usus sehingga nutrisi pakan yang diberikan pada ikan uji dapat diserap secara optimal oleh tubuh ikan, kemudian minyak astiri pada propolis berperan dalam meningkatkan sekresi empedu sehingga dapat meningkatkan nafsu makan pada ikan uji, adanya hal tersebut menyebabkan pertumbuhan

bobot tubuh ikan jambal siam jadi meningkat (Setianingrum, 1999 dalam Rahmi *et al.*, 2014).

Kelulushidupan

Pengamatan kelulushidupan ikan jambal siam selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 5. Kelulushidupan ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*) selama penelitian

Perlakuan	Awl penelitian (%)	Akhir penelitian (%)
P0	100	86,67
P1	100	94,00
P2	100	94,67
P3	100	98,00
P4	100	90,00

Keterangan : P0 (tanpa diberi propolis); P1 (600 ppm propolis); P2 (700 ppm propolis); P3 (800 ppm propolis); P4 (900 ppm propolis).

Berdasarkan Tabel 5 diketahui bahwa kelulushidupan ikan jambal siam yang diberi pakan mengandung propolis kelulushidupannya lebih tinggi bila dibandingkan dengan perlakuan P0 akan tetapi tidak berbeda nyata. Hal ini karena kandungan yang terkandung pada propolis yang berkhasiat dapat meningkatkan kekebalan tubuh ikan jambal siam.

Salah satu zat yang terkandung dalam propolis adalah mineral Zn. Winarti (2007), menyatakan Zn berperan sebagai antioksidan dan dapat mencegah kerusakan sel akibat radikal bebas pada ikan. Kemudian Yanuhar (2012). menyatakan, mortalitas pada ikan bisa terjadi karna adanya radikal bebas yang disebabkan oleh infeksi bakteri pada ikan. Kemudian dengan adanya radikal bebas yang terkena pada ikan maka ikan tersebut berpeluang untuk mengalami mortalitas yang cukup tinggi, pada penelitian ini mortalitas pada ikan yang tidak diberikan propolis pada pakan lebih tinggi dari pada mortalitas ikan uji yang diberi propolis pada pakannya, hal ini mengindikasikan bahwa propolis

sudah berperan dalam mencegah kerusakan sel pada ikan uji yang terkena radikal bebas.

Propolis juga berperan dalam memodulasi imunitas nonspesifik melalui aktivasi makrofag (Halim, 2011), kandungan propolis yang berperan dalam makrofag adalah minyak atsiri, dimana minyak atsiri ini mengandung fenol yang bisa mematikan bakteri dengan cara menghancurkan dinding sel dan protein bakteri (Mawardi, 2016). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai aktivitas fagositosis berbanding lurus dengan kelulushidupan, artinya aktivitas makrofag berpengaruh terhadap kelulushidupan pada ikan uji.

Marcucci *et al.*, (2001) dalam Halim *et al.*, (2012) menyatakan bahwa propolis banyak mengandung senyawa polifenol dan senyawa resorcinol. Senyawa ini mempunyai efek antibakteri dan antiparasit.

Kualitas Air

Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada table 6.

Tabel 6. Kualitas air selama penelitian

Parameter	Kisaran Parameter		Baku mutu*
	Awal penelitian	Akhir penelitian	
Suhu (⁰)	27 - 30	28 – 31	24 – 31
DO (ppm)	3,4 - 3,8	3,6 - 3,9	>2
pH	5,2 -6, 5	6,2 – 7	6,5 – 8,5
NH3 (ppm)	0,017 - 0,019	0.020 -0,024	<0,02

*Khairuman (2003)

Kualitas air merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan dalam budidaya ikan, kualitas air yang tidak optimum akan menjadi sumber perkembangan penyakit sehingga dapat menginfeksi ikan budidaya. Air sebagai media tumbuh harus memenuhi syarat dan harus diperhatikan kualitas airnya (Kordi, 2010). Berdasarkan Tabel 5, terlihat hasil pengukuran kualitas air baik suhu, oksigen terlarut, pH dan amoniak masih dalam kisaran baku mutu. Untuk menjaga kelangsungan hidup ikan, pertumbuhan, dan kesehatan ikan maka kondisi lingkungan perairan atau kualitas air (suhu, oksigen terlarut, pH dan amoniak) harus sesuai dengan standar baku pemeliharaan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa adanya pengaruh penambahan Propolis pada pakan terhadap respons imun non spesifik pada ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus*), pemberian propolis pada perlakuan P3 (penambahan propolis 800 ppm/kg pakan) berpengaruh nyata ($P < 0,05$) dan merupakan dosis yang terbaik dengan total leukosit $10,06 \times 10^4$ sel/mm³, persentase limfosit 84,00%, neutrofil 6,33%, monosit 9,67%, Aktivitas fagositosis 35,33%, Kelulushidupan 98% dan

pertumbuhan bobot mutlak 39,18g. Kualitas air didalam kolam selama penelitian, suhu antara 27-30⁰C, DO 3,4-3,9 ppm, pH 5,2-7 dan NH₃ 0,17-0,24 ppm.

Saran

Peneliti menyarankan untuk para pembudidaya dapat menggunakan propolis sebanyak 800 ppm/kg pakan untuk melakukan pencegahan penyakit dalam budidaya ikan jambal siam

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2013. EmpangQQ Bibit Patin, "Kematian Diatas 80% akibat Bakteri *Edwardsiella Ictalluri*", Industri Bibit Patin, <https://empangqq.com/2013/11/05/kematian-diatas-80-akibat-bakteri-edwardsiella-ictalluri/> [diakses 20 Desember 2017].
- Agustrina, Gita. 2011. *Potensi Propolis Lebah Madu Apis mellifera sp. Sebagai Bahan Antibakteri*. [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Bako, S. 2018. *Sensitivitas Propolis terhadap Aeromonas hydrophilla*. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.

- Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W. 1973. *Routine haematological Methods for Use with Fish Blood*. *Journal of Fish Biology* 5(6): 771-781.
- Effendie. M.I. 2003. *Biologi Perikanan*. Yayasan Dewi Sri Bogor. 119 hlm.
- Erika, Y. 2008. *Gambaran Diferensiasi Leukosit pada Ikan Mujair (Oreochromis mossambica) di Daerah Ciampea Bogor*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. 36 hlm
- Gusrina. 2008. *Budidaya Ikan Jilid II*. Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta. 400 hlm.
- Halim, E. 2011. *Kajian Kandungan Bioaktif Propolis dan Zat Gizi Propolis Serta Efek Imunomodulator Terhadap Sel T Cd 8+ Pada Pasien Kanker Payudara* [Disertasi]. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 172 hlm.
- Kresno, S. B. 2001. *Imunologi, Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia : Jakarta.
- Kusdarwati, R., Ludira, S dan Akhmad, T. M. 2010. Daya Antibakteri Ekstrak Buah Adas (*Foeniculum vulgare*) Terhadap Bakteri *Micrococcus luteus* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 2(1) : 32-41.
- Koesdarto, S. 2001. Model Pengendalian Siklus Infeksi *Toxocariasis* dengan Fraksinasi Minyak Atsiri Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) di Pulau Madura. *Jurnal Penelitian Media eksakta*.
- Kordi, M.G.H. 2010. *Budidaya Ikan Dikolam Terpal*. Yogyakarta: Lily publishere.
- Lofty M. 2006.. *Biological activity of Bee Propolis in Health and Disease*. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 7 (1) : 22-31.
- Lukistyowati, I. 2012. Studi Efektifitas Sambiloto (*Andrographis paniculata nees*) Untuk Mencegah Penyakit *Edwardsiellosis* Pada Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). *Berkala perikanan terubuk*. 40 (2) : 56-74.
- Lukistyowati I., Windarti dan Riauwati. M. 2007. *Hematologi ikan air tawar*. Lembaga Penelitian Universitas Riau. Pekanbaru. 50 hlm.
- Mulyani, S. 2006. *Gambaran Darah Ikan Gurame (Osphronemus gouramy) Yang Terinfeksi Cendawan Achlya sp. pada Kepadatan 320 dan 720 Sppora per mL*. [Skripsi]. Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

- Rahmi., Darmawati dan Abil, M. 2014. Pemanfaatan Minyak Atsiri Dari Bawang Putih (*Allium sativum*) Sebagai Antibiotik Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Octopus*. 1 (3) : 204-210
- Sismanto, L. H. 2007. *Diferensial leukosit ayam pedaging setelah pemberian ekstrak sambiloto (Andrographis paniculata nees) dengan pelarut metanol dosis bertingkat sebelum diinfeksi Eimeria tenella.* [Skripsi] Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Suprayudi, M. A., Indriastuti, L., dan Setiawati, M. 2006. Pengaruh Penambahan Bahan-Bahan Immunostimulan dalam Formulasi Pakan Buatan Terhadap Respon Imunitas dan Pertumbuhan Ikan Kerapu Bebek, *Cromileptes altivelis*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 5 (1): 77-86.
- Syawal H, Syafriadiman, Hidayah S. 2008. Pemberian Ekstrak Kayu Siwak (*Salvadora persica* L.) Untuk Meningkatkan Kekebalan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) Yang Dipelihara Dalam Keramba. *Biodiversitas*. 9 (1): 44-47.
- Utami, D. T., S.B. Prayitno., S. Hastutui., Santika. 2013. Gambaran parameter Hematologis pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diberi Vaksin DNA *Streptococcus iniae* dengan Dosis Berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2 (4) : 7-2