

JURNAL

**PEMBERIAN PAKAN YANG DIPERKAYA VITAMIN C
UNTUK MENINGKATKAN IMUNITAS IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)**

**OLEH
MAYTRA WIRDONA
1504114720**



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

The Effect Vitamin C Enriched Pellets to Increase the Immunity of *Oreochromis niloticus*

By :

Maytra Wirdona¹⁾, Morina Riauwaty²⁾, Henni Syawal²⁾

Aquaculture Departement, Faculty of Fisheries and Marine,
Riau University, Pekanbaru, Riau Province

Email: maytrawirdona@gmail.com

ABSTRACT

Vitamin C is a nutrient that is soluble in water and is essential for life as well as for maintaining health, enhancing immunity of fish in fighting infections and as an antioxidant. The study aims to obtain the best dose of vitamin C on total leukocytes, leukocyte differentiation, and phagocytosis activity to increase the immunity of Nile tilapia towards disease attack *Streptococcus*. The method used is the experimental method by using the full random draft (RAL) One factor with five levels of treatment and the treatment is repeated three times. After the treatment was applied, namely Kn (without vitamin C enriched pellets and not challenged), Kp (pellets without vitamin C enriched and challenged), vitamin C enriched pellets at a dose of P₁ (1 g/kg and challenged with *Streptococcus agalactiae*), P₂ (1.5 g/kg and challenged with *S. agalactiae*), P₃ (2 g/kg and challenged with *S. agalactiae*). Nile tilapia used in size 8-10 cm with solid tebar 1 tail/3 L water is maintained in the aquarium with a size of 40 x 30 x 30 cm with a feed enriched with vitamin C for 46 days. The fish was challenged with *S. agalactiae* with a density 10⁸ CFU/mL at the dose of 0.1 mL/tail intramuscular on day 32 after that the fish re-maintained until the 46 days. Measured parameters are total leucocytes, leucocyte differentiation, phagocytic activity and survival rate of Nile tilapia. The results shown that the feed enriched with vitamin C and tested with *S. Agalactiae* has an influence on the immunity of fish with the best treatment in P₃ (the vitamin C enriched pellets at a dose of 2 g/kg and challenged) with an average total leukocytes was 8.02 x 10⁴ cells/mm³, lymphocytes were 84.67%, neutrophils was 8.67%, monocytes were 6.66%, phagocytosis activity is 46.00% and the livelihood reaches 93.33%.

Keywords : Leukocytes, Tilapia, Vitamin C, *Streptococcus agalactiae*, Phagocytosis

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

**Pemberian Pakan Yang Diperkaya Vitamin C
Untuk Meningkatkan Imunitas Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)**

Oleh :

Maytra Wirdona¹⁾, Morina Riauwaty²⁾, Henni Syawal²⁾

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

Email: maytrawirdona@gmail.com

ABSTRAK

Vitamin C adalah nutrisi yang larut dalam air dan penting untuk kehidupan serta untuk menjaga kesehatan, meningkatkan imunitas ikan dalam melawan infeksi dan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dosis terbaik vitamin C terhadap total leukosit, diferensiasi leukosit, dan aktivitas fagositosis untuk meningkatkan imunitas ikan nila terhadap serangan penyakit *Streptococcus*. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor dengan lima taraf perlakuan dan tiga kali ulangan. Perlakuan yang diterapkan, yaitu Kn (Pemberian pakan tanpa diperkaya vitamin C dan tidak diuji tantang), Kp (Pemberian pakan tanpa diperkaya vitamin C dan diuji tantang), Penambahan vitamin C pada pakan dengan dosis P₁ (1 g/kg dan diuji tantang dengan *Streptococcus agalactiae*), P₂ (1,5 g/kg dan diuji tantang dengan *S. agalactiae*), P₃ (2 g/kg dan diuji tantang dengan *S. agalactiae*). Ikan nila yang digunakan berukuran 8-10 cm dengan padat tebar 1 ekor/3 L air dipelihara pada akuarium dengan ukuran 40 x 30 x 30 cm dengan pemberian pakan yang diperkaya vitamin C selama 46 hari. Ikan diuji tantang dengan bakteri *Streptococcus agalactiae* dengan kepadatan 10⁸ CFU/mL dengan dosis 0,1 mL/ekor secara intramuskular pada hari ke 32, setelah itu ikan kembali dipelihara hingga hari ke 46. Parameter yang diukur meliputi total leukosit, diferensiasi leukosit, aktivitas fagositosis, dan kelulushidupan ikan nila. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian pakan yang diperkaya vitamin C dan diuji tantang dengan *S. agalactiae* memberikan pengaruh terhadap imunitas ikan dengan perlakuan terbaik terdapat pada P₃ (Penambahan vitamin C pada pakan dengan dosis 2 g/kg dan diuji tantang) dengan rata-rata total leukosit adalah $8,02 \times 10^4$ sel/mm³, limfosit adalah 84,67%, neutrofil adalah 8,67%, monosit adalah 6,66%, aktivitas fagositosis adalah 46,00% dan kelulushidupan mencapai 93,33%.

Kata kunci : Leukosit, Tilapia, Vitamin C, *Streptococcus agalactiae*, Fagositosis

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

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis Niloticus*) merupakan salah satu jenis ikan budidaya air tawar yang mempunyai prospek cukup baik untuk dikembangkan. Ikan nila banyak digemari oleh masyarakat karena dagingnya cukup tebal dan rasanya gurih. Ikan nila dijadikan sebagai sumber protein untuk memenuhi kebutuhan gizi.

Upaya yang dilakukan untuk memenuhi permintaan pasar ikan nila di Indonesia dilakukan dengan peningkatan dan pengembangan usaha budidaya dengan melakukan sistem budidaya intensif. Intensifikasi budidaya ikan nila telah menyebabkan munculnya berbagai kendala antara lain timbulnya masalah penyakit ikan yang bersifat patogenik (Utami, 2013).

Penyakit infeksi pada ikan nila yang sering ditemukan dan berbahaya adalah penyakit *Streptococcosis* yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus agalactiae* yang dapat mengakibatkan kematian massal. Menurut Evans *et al.* (2006), bahwa bakteri *S. agalactiae* menyebabkan kematian ikan 90% dalam 6 hari pasca injeksi. Gejala yang muncul sebelum mati seperti ikan berenang lemah dan tidak beraturan, tubuh membentuk huruf C, perubahan warna tubuh dan bukaan operkulum menjadi lebih cepat.

Penyakit ikan biasanya timbul berkaitan dengan lemahnya kondisi ikan yang disebabkan beberapa faktor antara lain penanganan ikan, pakan yang diberikan sangat berlebihan dan keadaan lingkungan yang kurang mendukung. Usaha penanggulangan yang paling efisien adalah berupa pencegahan penyakit dengan cara pemberian imunostimulan. Imunostimulan bisa dipakai sebagai tindakan preventif untuk mencegah penyakit, serta untuk meningkatkan daya tahan tubuh.

Beberapa vitamin seperti vitamin A, vitamin B dan vitamin C juga dapat

digunakan sebagai imunostimulan. Vitamin C memiliki kandungan antioksidan dan juga memiliki kemampuan anti stres, vitamin C merupakan komponen alami yang dapat mengubah efek negatif dari metabolisme energi pada ikan. Selain itu, vitamin C dapat diberikan melalui oral dalam dosis tinggi dengan biaya rendah dan sudah sangat sering digunakan untuk tujuan imunostimulan (Zulkarnain *et al.*, 2017).

Menurut Thabri *et al.* (2017) dosis vitamin C 1 g/kg pakan mampu meningkatkan ketahanan tubuh ikan patin serta mampu meningkatkan kelangsungan hidup mencapai 100%. Oleh karena itu penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pemberian pakan yang diperkaya vitamin C untuk meningkatkan imunitas ikan nila (*O. niloticus*) terhadap penyakit *Streptococcosis*. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dosis terbaik vitamin C terhadap total leukosit, diferensiasi leukosit, dan aktivitas fagositosis dan meningkatkan imunitas ikan nila.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Mei sampai Agustus 2019 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor dengan lima taraf perlakuan dan tiga kali ulangan sehingga diperlukan 15 unit percobaan. Perlakuan yang diterapkan dalam penelitian ini adalah :

- Kn : Kontrol negatif (pemberian pakan tanpa diberi vitamin C dan tidak diuji tantang)
- Kp : Kontrol positif (pemberian pakan tanpa diberi vitamin C dan diuji tantang)
- P₁ : Pemberian pakan vitamin C dengan dosis 1 g/kg dan diuji tantang bakteri *S. agalactiae*

P₂ : Pemberian pakan vitamin C dengan dosis 1,5 g/kg dan diuji tantang bakteri *S. agalactiae*

P₃ : Pemberian pakan vitamin C dengan dosis 2 g/kg dan diuji tantang bakteri *S. agalactiae*

Persiapan Wadah

Wadah yang digunakan berupa akuarium yang berukuran 40×30×30 cm. Sebelum digunakan terlebih dahulu akuarium dibersihkan, lalu diisi air sampai penuh dan diberi larutan KMnO₄ sebanyak 20 ppm dan didiamkan selama 24 jam. Setelah itu, akuarium dibilas dan dikeringkan. Selanjutnya akuarium diisi air sebanyak 30 L dan diberi aerasi.

Penambahan Vitamin C pada Pakan Komersil

Pakan ikan yang digunakan adalah pelet komersil FF-999. Pencampuran Vitamin C kedalam pakan uji dilakukan dengan cara vitamin C sesuai dosis perlakuan dilarutkan ke dalam akuades lalu disemprotkan sedikit demi sedikit ke pakan komersil dan pakan yang telah disemprot dikeringanginkan.

Untuk menghindari oksidasi vitamin C maka pencampuran pakan uji dengan vitamin C dilakukan 6 kali selama masa penelitian. Jumlah pakan dan vitamin C pada setiap pencampuran adalah 100 g pakan+0,1 g vitamin C+10 mL akuades untuk P₁, 100 g pakan+0,15 g vitamin C+10 mL akuades untuk P₂, 100 g pakan+0,2 g vitamin C+10 mL akuades untuk P₃.

Pemeliharaan Ikan

Pemeliharaan ikan dilakukan selama 46 hari. Jumlah pakan yang diberikan sebanyak 10% dari bobot tubuh ikan nila dengan frekuensi 3 kali sehari, yaitu pada pukul 08.00, 13.00 dan 17.00 WIB. Selama masa pemeliharaan ikan dilakukan penyiponan setiap hari.

Sterilisasi Alat

Alat-alat yang disterilisasi harus dalam keadaan bersih, kering lalu dibungkus dengan kertas padi dan untuk tabung reaksi bagian mulutnya ditutup dengan kapas yang dibalut dengan kain kasa. Kemudian alat-alat tersebut disterilisasi dalam *autoclave* dan pada

suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

Pengambilan Darah Ikan

Pengambilan darah ikan dilakukan pada awal pemeliharaan, 30 hari pemeliharaan dan akhir pemeliharaan. Sebelum pengambilan darah, ikan uji terlebih dahulu dibius menggunakan minyak cengkeh dengan dosis 0,05 mL/L air. Selanjutnya, *syringe* dan tabung *eppendorf* terlebih dahulu dibasahi dengan EDTA 10%. Darah diambil menggunakan *syringe* 1 mL pada bagian *vena caudalis* dengan kemiringan 45° dan dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf*.

Penyediaan Bakteri *Streptococcus agalactiae*

Isolat *Streptococcus agalactiae* ditumbuhkan di media *Blood agar* dan diinkubasi selama 24 jam. Kemudian di inokulasi kembali ke media BHA dan diinkubasi pada suhu 29-30 °C selama 24 jam, lakukan sampai didapatkan kultur murni. Setelah didapatkan kultur murni, isolat bakteri dikultur ke media BHI dan diinkubasi pada suhu 29-30 °C selama 24 jam. Kemudian, dilakukan pengenceran bertingkat sebanyak dua kali dan dibandingkan dengan Mc Farland No 1 hingga didapatkan bakteri *S. agalactiae* dengan kepadatan 10⁸ CFU/mL.

Uji Tantang

Uji tantang dilakukan pada hari ke 32 secara intramuskular dengan dosis 0,1 mL/ekor dengan kepadatan 10⁸ CFU/mL. Selanjutnya ikan kembali dipelihara selama 14 hari dan diberi pakan perlakuan serta diamati gejala klinisnya.

Pengamatan Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis meliputi pergerakan tubuh, morfologi atau kondisi fisik. Pengamatan gejala klinis dilakukan setiap hari selama 14 hari pascaujitantang. Hasil pengamatan terhadap pengamatan gejala klinis ikan nila dideskripsikan dalam bentuk tabel dan gambar.

Total Leukosit

Sampel darah dihisap dengan pipet thoma leukosit hingga skala 0,5 dan ditambah larutan Turk hingga garis 11.

Selanjutnya dihomogenkan dengan cara menggoyangkan pipet membentuk angka delapan. Kemudian dibuang sebanyak dua tetes. Selanjutnya diteteskan pada kamar hitung haemositometer dan ditutup dengan *cover glass*. Selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x. Rumus perhitungan total leukosit sebagai berikut:

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

Keterangan :

$\sum n$: Jumlah total leukosit pada 4 kotak besar

50 : Faktor pengenceran

Diferensiasi Leukosit

Sampel darah dibuat preparat ulas darah pada *object glass* lalu dikering anginkan, selanjutnya difiksasi dengan larutan metanol 95% selama 5 menit, setelah itu dibilas dengan akuades lalu dikering anginkan dan dilanjutkan dengan pewarnaan Giemsa 25% selama 15 menit, setelah itu dicuci dengan air mengalir, kemudian dikering anginkan. Selanjutnya preparat dapat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Jenis leukosit yang diamati adalah limfosit, neutrofil dan monosit.

Aktivitas Fagositosis

Sampel darah sebanyak 50 μl dimasukkan ke dalam mikrotube dan ditambahkan sebanyak 50 μl suspensi *Staphylococcus aureus*. Kemudian, suspensi tersebut dihomogenkan dan diinkubasi dalam inkubator selama 20 menit. Selanjutnya suspensi tersebut dibuat menjadi preparat ulas lalu dikering anginkan, lalu difiksasi dengan larutan metanol 95% selama 5 menit dan dilanjutkan dengan pewarnaan Giemsa 25% selama 15 menit, setelah itu dibilas dengan akuades dan kembali dikering anginkan. Selanjutnya preparat dapat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Persentase sel fagositik dihitung dengan cara dengan rumus :

$$\text{Aktivitas Fagositis} = \frac{\sum \text{Sel Fagosit aktif}}{\sum \text{Sel Fagositosis diamati}} \times 100 \%$$

Kelulushidupan Ikan

Kelulushidupan ikan nila selama penelitian dihitung dengan menggunakan rumus menurut Effendie (2002) :

$$\text{SR} = \frac{Nt}{No} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = Kelulushidupan (%)

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

No = Jumlah ikan yang hidup pada awal penelitian (ekor)

Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur selama penelitian adalah suhu, pH, oksigen terlarut (DO) dan amoniak (NH_3). Pengukuran dilakukan sebanyak 2 kali, yaitu pada awal dan akhir penelitian.

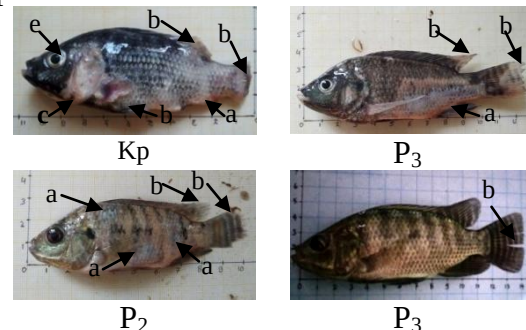
Analisis Data

Data pengukuran total leukosit, diferensiasi leukosit dan aktivitas fagositosis, serta kelulushidupan ikan nila dianalisis dengan menggunakan analisa variansi (ANOVA) dan uji rentang Student Newman-Keuls. Data kualitas air dan pengamatan gejala klinis ikan ditabulasikan dalam bentuk tabel secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Klinis

Gejala klinis ikan yang diamati meliputi pergerakan dan warna tubuh, nafsu makan ikan, mata, kondisi sirip dan sisik. Perubahan gejala klinis dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 3. Gejala Klinis Ikan Nila Hari ke-3 Pascaujitang

Keterangan : a). Sisik tubuh lepas b). Sirip geripis
c). *Clear operculum*, d) *Exophthalmia* e) Mata keruh

Gejala berupa *clear operculum* (operculum buram), mata keruh, sisik tubuh lepas, sirip ekor, sirip punggung, sirip dada dan sirip perut geripis.

Perlakuan P₃ menunjukkan yang lebih ringan daripada perlakuan Kp, P₁, dan P₂, yaitu hanya terjadi gejala peradangan di bagian bekas suntikan, dan pada hari ke 3 peradangan itu sudah mulai hilang.

Hal ini menunjukkan adanya peningkatan daya tahan tubuh ikan yang diduga berasal dari pemberian pakan yang diperkaya vitamin C. Vitamin C berfungsi sebagai penunjang dalam pertumbuhan, mengurangi tingkat stres serta dapat mempercepat penyembuhan luka pada

ikan dan vitamin C juga berfungsi sebagai pembentuk jaringan kolagen, kolagen merupakan komponen pembentuk tulang pada ikan yang diserap secara cepat pada kulit, sirip punggung, kepala, insang, tulang rawan, rahang, tulang rawan penunjang dan mulut (Abdan *et al.*, 2017).

Total Leukosit

Hasil rata-rata total leukosit ikan nila (*O. niloticus*) selama penelitian dapat dilihat pada pada Tabel 1.

Tabel 1. Total Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian

Perlakuan	Total Leukosit ($\times 10^4$ sel/mm ³)		
	Awal Pemeliharaan	30 hari Pemeliharaan	Akhir Pemeliharaan
Kn	4,82 $\pm$ 0,06	5,04 $\pm$ 0,13 ^a	5,01 $\pm$ 0,64 ^a
Kp	4,76 $\pm$ 0,12	4,96 $\pm$ 0,08 ^a	6,46 $\pm$ 0,38 ^b
P ₁	4,77 $\pm$ 0,09	6,09 $\pm$ 0,33 ^b	7,09 $\pm$ 0,28 ^c
P ₂	4,81 $\pm$ 0,07	6,29 $\pm$ 0,32 ^b	7,48 $\pm$ 0,29 ^c
P ₃	4,89 $\pm$ 0,02	6,94 $\pm$ 0,76 ^c	8,02 $\pm$ 0,25 ^d

Keterangan : Huruf *superscript* yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)

Berdasarkan Tabel 3 dapat diketahui bahwa total leukosit ikan nila mengalami peningkatan menjadi 5,04-6,94 $\times 10^4$ sel/mm³. Peningkatan total leukosit ini terjadi pada setiap perlakuan. Dimana nilai total leukosit tersebut masih dalam jumlah normal, hal ini berdasarkan Ikun *et al.* (2013), leukosit (sel darah putih) mempunyai bentuk lonjong atau bulat, tidak berwarna dan dalam kondisi normal jumlahnya berkisar antara 2-15 $\times 10^4$ sel/mm³.

Hasil uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa hari ke 30 pemeliharaan dengan pemberian pakan yang diperkaya vitamin C memberikan pengaruh nyata terhadap total leukosit ikan nila ($P < 0,05$) (Lampiran 6). Hasil uji lanjut Newman-Keuls menunjukkan bahwa Kn dan Kp berbeda nyata terhadap P₁, P₂, P₃, dimana total leukosit tertinggi terdapat pada P₃ yaitu 6,94 $\times 10^4$ sel/mm³.

Total leukosit ikan nila pada hari ke 14 pascaujitantang dengan bakteri *S. agalactiae* mengalami peningkatan pada setiap perlakuan berkisar antara 5,01-8,02 $\times 10^4$ sel/mm³. Hasil uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa pemberian pakan yang diperkaya vitamin C memberikan pengaruh nyata terhadap total leukosit ikan nila pascaujitantang

dengan bakteri *S. agalactiae* ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut Student Newman-Keuls menunjukkan Kp berbeda nyata terhadap P₁, P₂, P₃, dimana total leukosit tertinggi pascaujitantang terdapat pada perlakuan P₃ (8,02 $\times 10^4$ sel/mm³).

Menurut Sukenda *et al.* (2008), bahwa peningkatan total leukosit dalam darah, dikarenakan leukosit berfungsi sebagai pertahanan tubuh yang bereaksi dengan cepat terhadap masuknya antigen ke dalam tubuh ikan. Peningkatan jumlah leukosit dapat dipicu oleh pemberian imunostimulan (Schram *et al.*, 2019). Imunostimulan bisa dipakai sebagai tindakan preventif untuk mencegah penyakit, serta untuk meningkatkan daya tahan tubuh dan akan lebih bermanfaat pada kondisi dimana sistem kekebalan tubuh mengalami penurunan (Mardiana dan Setia, 2017). Vitamin C yang berfungsi sebagai imunomodulator juga menjadi suplai vitamin C di dalam leukosit secara intraseluler maupun jaringan pada berbagai level kebutuhan. Kandungan vitamin tersebut di dalam leukosit akan menstimulasi produksi dan fungsi penting leukosit seperti neutrophil, limfosit, serta fagosit. Fungsi dari leukosit memberikan efek pada sistem imun ikan khususnya imun nonspesifik yang

memiliki pengaruh besar pada ikan (Shahkar *et al.*, 2015).

Diferensiasi Leukosit

Hasil pengamatan diferensiasi leukosit selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Diferensiasi Leukosit pada Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian

Waktu Pemeliharaan	Perlakuan	Limfosit (%)	Neutrofil (%)	Monosit (%)
Awal	Kn	73,67 ± 0,58	14,67 ± 1,15	11,66 ± 0,58
	Kp	73,33 ± 1,15	15,33 ± 1,53	11,34 ± 0,58
	P ₁	75,33 ± 0,58	13,34 ± 0,58	11,33 ± 0,58
	P ₂	74,67 ± 0,58	13,67 ± 0,58	11,66 ± 0,58
	P ₃	74,67 ± 1,15	13,66 ± 1,15	11,67 ± 1,15
30 hari pemeliharaan	Kn	74,67 ± 0,58 ^a	14,66 ± 1,53 ^d	10,67 ± 0,58 ^b
	Kp	76,67 ± 0,58 ^a	12,67 ± 0,58 ^c	10,67 ± 0,58 ^b
	P ₁	82,00 ± 1,00 ^b	11,00 ± 0,58 ^b	7,00 ± 1,00 ^a
	P ₂	82,33 ± 2,08 ^b	10,00 ± 1,53 ^b	7,67 ± 1,15 ^a
	P ₃	86,00 ± 1,73 ^c	8,33 ± 0,58 ^a	5,67 ± 1,15 ^a
Akhir Pemeliharaan	Kn	74,67 ± 0,58 ^c	11,66 ± 0,58 ^b	13,67 ± 0,58 ^b
	Kp	53,66 ± 2,52 ^a	13,67 ± 1,15 ^b	32,67 ± 1,53 ^d
	P ₁	71,33 ± 0,58 ^b	12,34 ± 1,15 ^b	16,33 ± 1,53 ^c
	P ₂	80,34 ± 2,08 ^d	11,66 ± 0,58 ^b	8,00 ± 1,73 ^a
	P ₃	84,67 ± 0,58 ^e	8,67 ± 0,58 ^a	6,66 ± 0,58 ^a

Keterangan : Huruf *superscript* yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)

Limfosit

Persentase limfosit ikan nila hari ke 30 mengalami peningkatan yaitu berkisar antara 74,67-86,00% dan hasil ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Sani *et al.* (2014), persentase limfosit ikan nila berkisar antara 68-86%. Hal ini dipicu oleh adanya penambahan vitamin C dalam pakan. Menurut Nugroho (2013), vitamin C di dalam tubuh berfungsi dalam fungsi *biochemical* tubuh, katekolamin di sistem saraf, membantu absorpsi besi, menstimulasi aktivitas antibodi dan sel sistem imun, diantaranya adalah limfosit B (sel B) dan limfosit T (sel T).

Hasil uji statistik analisis variansi (ANOVA) dan uji Student Newman-Keuls menunjukkan bahwa pemberian pakan yang diperkaya vitamin C hari ke 30 pemeliharaan memberikan pengaruh terhadap limfosit, bahwa perlakuan Kn dan Kp berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan P₁, P₂, P₃.

Persentase limfosit tertinggi pascaujitantang terdapat pada perlakuan P₃ sebesar 84,67% dan yang terendah terdapat pada perlakuan Kp sebesar 53,66%. Hasil uji statistik analisis variansi (ANOVA) dan uji Student Newman-Keuls menunjukkan bahwa, perlakuan Kp

berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan Kn, P₁, P₂, P₃, sehingga dapat dinyatakan bahwa, penambahan vitamin C dalam pakan berpengaruh terhadap jumlah limfosit yang dihasilkan ikan nila. Menurut Tauhid (2010), pemberian imunostimulan pada ikan akan menstimulir proses produksi lisosim dan komplemen yang akan mengaktifkan limfosit B untuk berdiferensiasi sehingga akan lebih aktif dalam memproduksi antibodi spesifik.

Penurunan jumlah limfosit karena limfosit yang terdapat dalam darah difokuskan pada daerah yang mengalami peradangan. Menurut Santoso *et al.* (2013) bahwa penurunan jumlah limfosit di dalam darah perifer terjadi karena sebagian besar limfosit ditarik dari sirkulasi dan berkonsentrasi pada jaringan yang mengalami peradangan.

Neutrofil

Persentase neutrofil ikan nila hari ke 30 berkisar antara 8,33-13,33%. Hasil uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang diperkaya vitamin C memberikan pengaruh nyata terhadap neutrofil hari ke 30 pemeliharaan ($P < 0,05$). Hasil uji Student Newman-Keuls menunjukkan perlakuan Kn berbeda nyata dengan

perlakuan P₁, P₂, P₃. Menurut Sibagariang (2010), vitamin C berfungsi sebagai antioksidan, dimana fungsi antioksidan tersebut berperan dalam pemeliharaan dan pembentukan sel-sel dalam tubuh termasuk sel darah.

Hasil pengamatan persentase neutrofil ikan nila pascaujitantang berkisar antara 8,67-13,67%, dimana yang tertinggi terdapat pada perlakuan Kp. Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang diperkaya vitamin C memberikan pengaruh nyata terhadap neutrofil pascaujitantang ($P < 0,05$). Hasil uji Student Newman-Keuls menunjukkan bahwa perlakuan Kp berbeda nyata dengan perlakuan P₂, P₃ tetapi Kp tidak berbeda nyata dengan Kn dan P₁. Jumlah neutrofil meningkat karena dalam tubuh ikan telah terbentuk sistem pertahanan tubuh, sehingga saat terjadi infeksi bakteri neutrofil diproduksi oleh limfa untuk dikirim ketempat terjadinya infeksi (Sukenda *et al.*, 2008).

Monosit

Persentase monosit ikan nila hari ke 30 berkisar antara 5,67-12%. uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang diperkaya vitamin C selama 30 hari pemeliharaan memberikan pengaruh nyata terhadap monosit ($P < 0,05$). Hasil uji Student Newman-Keuls menunjukkan perlakuan Kn dan Kp berbeda nyata dengan perlakuan P₁, P₂, dan P₃.

Persentase monosit ikan nila pascaujitantang mengalami peningkatan menjadi 6,66-32,67%, dimana persentase monosit yang tertinggi terdapat pada perlakuan Kp (32,67%). Hal ini karena monosit dalam darah berperan aktif memfagosit agen penyebab penyakit dan peningkatan pada perlakuan Kp tersebut disebabkan karena tidak ada penambahan vitamin C dalam pakan yang diberikan. Berdasarkan uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pemberian pakan yang diperkaya vitamin C memberikan pengaruh nyata terhadap monosit ikan nila

dimana Kp berbeda nyata dengan Kn, P₁, P₂, dan P₃.

Menurut Maswan (2009) menyatakan bahwa monosit melakukan migrasi dari pembuluh darah ke sel-sel yang berperan dalam memfagosit dan menyajikan antigen kepada sel limfosit. Monosit mampu menembus dinding pembuluh darah kapiler lalu masuk ke jaringan dan berdiferensiasi menjadi sel makrofag. Apabila ketersediaan vitamin dalam tubuh optimal maka pada kondisi lingkungan yang tidak baik proses sintesis kathekolamine dapat berlangsung dengan baik, sehingga ikan mampu bertahan dari perubahan fisiologis dalam tubuhnya atau tidak terjadi stres (Rachimi *et al.*, 2014). Pemberian vitamin C yang mengakibatkan stimulasi organ ginjal, timus dan limpa menghasilkan monosit lebih banyak dan mengalami sirkulasi sebelum menuju ke tempat terjadi infeksi untuk memfagosit antigen (Nuari *et al.*, 2016).

Aktivitas Fagositosis

Hasil pengamatan aktivitas fagositosis selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase Aktivitas Fagositosis Ikan

Perlakuan	Aktivitas Fagositosis (%)		
	Awal	30 hari	Akhir
Kn	33,33	31,33 ± 1,15 ^a	30,67 ± 2,08 ^a
Kp	34,00	31,67 ± 0,58 ^a	17,67 ± 1,15 ^b
P ₁	33,00	40,67 ± 1,53 ^b	38,33 ± 1,53 ^c
P ₂	33,67	41,33 ± 1,53 ^b	41,67 ± 1,53 ^d
P ₃	34,00	43,67 ± 0,58 ^c	46,00 ± 2,00 ^e

Keterangan : Huruf *superscript* yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)

Persentase aktivitas fagositosis pada hari ke 30 pemeliharaan mengalami peningkatan pada P₃ mencapai 43,67%. Hasil uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa pemberian pakan yang diperkaya vitamin C 30 hari pemeliharaan memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas fagositosis ikan nila ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut Newman-Keuls menunjukkan bahwa Kn dan Kp berbeda nyata dengan P₁, P₂ dan P₃ tetapi P₁ tidak berbeda nyata dengan P₂.

Aktivitas fagositosis ikan nila hari ke 14 pascaujitantang dengan S.

agalactiae berkisar antara 17,67-46,00%, dimana yang terendah terdapat pada perlakuan Kp yaitu 17,67% dan tertinggi pada perlakuan P₃ yaitu 46,00%. Hasil uji statistik analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa vitamin C memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas fagositosis ikan nila pascaujitantang ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut Newman-Keuls menunjukkan bahwa Kn dan Kp berbeda nyata dengan P₁, P₂ dan P₃. Tingginya aktivitas fagositosis menunjukkan adanya peningkatan kekebalan tubuh, hal ini sesuai dengan Hardi *et al.* (2011), yang menyatakan peningkatan aktifitas sel fagosit

Kelulushidupan Ikan

Pengamatan Kelulushidupan ikan nila selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kelulushidupan Ikan Nila

Perlakuan	Kelulushidupan/SR (%)	
	Awal	Akhir
Kn	100	96,30 ± 6,41 ^c
Kp	100	7,41 ± 12,38 ^a
P ₁	100	69,20 ± 8,91 ^b
P ₂	100	76,67 ± 5,77 ^b
P ₃	100	93,33 ± 5,77 ^c

Keterangan : Huruf *superscript* yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)

Berdasarkan Tabel 9, persentase kelulushidupan ikan tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol negatif (Kn) yaitu 96,29%. Kelulushidupan ikan tertinggi selanjutnya diikuti oleh perlakuan P₃ yaitu sebesar 93,33%. Tingginya tingkat kelulushidupan ikan nila pada P₃ dikarenakan adanya penambahan vitamin C dengan dosis 2 g/kg pakan mampu meningkatkan sistem imun ikan nila, sehingga dapat meningkatkan sistem

Tabel 5. Parameter Kualitas Air Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian

Parameter	Perlakuan					
	Kn	Kp	P ₁	P ₂	P ₃	Baku Mutu*
Suhu (°C)	27-28	27-28	27-28	27-28	27-28	25-32
pH	6,9-7,3	6,9-7,4	6,8-7,4	6,8-7,3	6,8-7,3	6,5-8,5
DO (mg/L)	3,8-4,3	3,8-4,3	3,8-4,1	3,8-4,2	3,8-4,2	≥ 3
NH ₃ (mg/L)	0,01-0,02	0,01-0,02	0,01	0,01-0,02	0,01-0,02	< 0,02

* SNI : 7550 (2009)

Hasil pengukuran kualitas air pada Tabel 5 menunjukkan bahwa nilai kualitas air pada setiap perlakuan masih dalam kisaran yang layak terhadap kehidupan

mempercepat tubuh ikan menghancurkan bakteri penyebab infeksi.

Meningkatnya aktivitas fagositosis ikan nila disebabkan oleh adanya penambahan vitamin C. Vitamin C mampu menstimulasi imunitas ikan dan fungsi biokimianya mempunyai pengaruh untuk meningkatkan daya tanggap kebal non-spesifik dan spesifik secara optimal (Johnny *et al.*, 2008). Imunostimulan bekerja dengan cara meningkatkan cara meningkatkan aktivitas sel-sel fagosit untuk melakukan pemangsa terhadap partikel asing atau patogen yang masuk ke dalam tubuh (Payung dan Manoppo, 2015).

pertahan tubuh ikan dari serangan patogen penyebab penyakit seperti bakteri *S. agalctiae* dan dapat mempertahankan kelulushidupan.

Perlakuan Pemberian vitamin C menghasilkan kelulushidupan yang tinggi. Vitamin C secara fisiologis lebih aktif dan nafsu makan yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak diberikan perlakuan vitamin C. Hal ini menunjukkan bahwa selain sebagai pemacu pertumbuhan dan kelangsungan hidup, vitamin C juga berfungsi sebagai imunitas sehingga ikan lebih sehat dan aktif dalam mengkonsumsi pakan, kekurangan vitamin dapat menyebabkan kerusakan pada insang dan menurunnya kelangsungan hidup dan pertumbuhan (Abdan *et al.*, 2017).

Kualitas Air

Rata-rata hasil pengukuran parameter kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.

ikan nila. Suhu air pada setiap perlakuan berkisar antara 27-28 °C, masih berada pada kisaran normal. Menurut Monalisa dan Minggawati (2010), suhu yang baik

bagi pertumbuhan ikan nila yaitu 25-30 °C. Suhu yang menyebabkan kematian ikan nila yaitu di bawah 6°C atau di atas 42 °C. Derajat keasaman air (pH) selama pemeliharaan berkisar antara 6,8–7,4. Menurut Aisiah (2012) kisaran pH yang baik untuk kehidupan ikan nila pada 6,5–7,6, pH kurang dari 4 akan membunuh ikan, pH >8,5 akan membahayakan ikan dan pH 11 dapat menyebabkan kematian pada ikan. Kandungan oksigen terlarut (DO) selama pemeliharaan berkisar antara 3,8–4,3 ppm. Kandungan oksigen terlarut pada penelitian cukup baik untuk kehidupan ikan nila, sesuai dengan penelitian Kursistiyanto *et al.* (2013) kadar oksigen terlarut yang layak untuk hidup ikan nila gesit 5,39– 6,02 mg/L. Dengan demikian pengukuran DO selama masa pemeliharaan menunjukkan kisaran yang masih dapat ditolerir oleh ikan. Kandungan amoniak (NH₃) berkisar antara 0,01–0,02 mg/L. Hal ini sesuai dengan SNI7550 (2009), kandungan amoniak yang normal untuk kehidupan ikan nila yaitu <0,02 mg/L. Menurut Monalisa dan Minggawati (2010), ikan tidak dapat bertoleransi terhadap kadar amoniak bebas terlalu tinggi karena dapat mengganggu proses pengikatan oksigen oleh darah.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh pemberian pakan yang diperkaya vitamin C terhadap imunitas ikan nila (*O. niloticus*) dimana perlakuan terbaik terdapat pada P₃ (2 g/kg) dengan rata-rata total leukosit sebesar $8,02 \times 10^4$ sel/mm³, limfosit sebesar 84,67%, neutrofil sebesar 8,67%, monosit sebesar 6,66%, aktivitas fagositosis yaitu sebesar 46,00% dan kelulushidupan mencapai 93,33%.

Saran

Penulis menyarankan untuk meningkatkan kesehatan ikan nila dan mencegah penyakit *Streptococcus* dapat menggunakan pemberian vitamin C dengan dosis 2 g/kg pakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdan, M., Demiyan, I., Hasri, I. 2017. Aplikasi Vitamin C dalam Pakan Komersil Dengan Metode Oral Pada Benih Ikan Pedih (*Tor sp.*). Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah. II (1) : 130-140 hlm.
- Aisiah, S. 2012. Efikasi Ekstak Mengkudu (*Morinda citifolia*) Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan Toksisitasnya Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Jurnal Sains Akuakultur. XIV (1) : 55-63 hlm.
- Effendie, M, I. 2002. Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nustama. Yogyakarta. 163 hlm.
- Evans, J.J., D.J. Pasnik, P.H.Klesius, and S. Al-Ablani. 2006. First report of *Streptococcus agalactiae* and *Lactococcus garviae* from a wild bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). Journal of Aquatic Animal Health 18: 212- 216 hm.
- Hardi, E, H. 2011a. Kandidat Vaksin Potensial *Streptococcus agalactiae* untuk Pencegahan Penyakit *Streptococcosis* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Jurnal Veteriner. XII (2) : 152-164 hlm.
- Ikun, F. Y, Saloso., LNL, Toruan. 2013. Kondisi Darah Ikan Lele yang Dibudidayakan Di Lokasi yang Berbeda Di Kabupaten Timor Tengah Utara (TTU). Prosiding Seminar Nasional Kelautan dan Perikanan I. Universitas Nusa Cendana. Kupang. 16 hlm.
- Johnny, F., D, Roza., A, Priyono. 2008. Peningkatan Imunitas Benih Ikan Kerapu Lumpur, *Epinephelus coioides* terhadap Infeksi Virus Irido Dengan Aplikasi Vitamin C dan Bakterin. Jurnal Perikanan. X (2) : 149-157 hlm.
- Kursistiyanto, N, Anggoro, S, Suminto. 2013. Penambahan Vitamin C Pada

- Pakan Dan Pengaruhnya Terhadap Respon Osmotik, Effisiensi Pakan Dan Pertumbuhan Ikan Nila Gesit (*Oreochromis* sp.) Pada Media Dengan Osmolaritas Berbeda. Jurnal Saintek Perikanan Vol. 8, No. 2 : 66-75 hlm.
- Mardiana., S, Budi. 2017. Respon Imun Ikan Nila *Oreochromis niloticus* dengan Pemberian Xanton yang Diekstraksi dari Kulit Buah Manggis *Garcinia mangostana*. Jurnal Octopus. VI (1) : 7 hlm.
- Hardi, E. H., Sukenda., Harris, E., Lusiastuti, A, M. 2011b. Karakteristik dan Patogenitas *Streptococcus agalactiae* Tipe B-hemolitik dan Non-Hemolitik pada Ikan Nila. Jurnal Veteriner. XII (2) : 151-164 hlm.
- Maswan, N, A. 2009. Pengujian Efektivitas Dosis Vaksin DNA dan Korelasinya terhadap Parameter Hematologi Secara Kuantitatif. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. 70 hlm.
- Monalisa, S.S dan I. Minggawati. 2010. Kualitas Air yang Mempengaruhi Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis* sp.) Di Kolam Beton dan Terpal. Fakultas Perikanan Universitas Kristen Palangkaraya. Palangkaraya. 5(2): 526–530 hlm.
- Nuari, C, R., Supono. Wardiyanto.S, Hudaidah. 2016. Penambahan Tepunfg Bioflok Sebagai Suplemen pada Pakan Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*). Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan. IV (2) : 6 hlm.
- Rachimi., Hambali., Sunarto. 2014. Pengaruh Vitamin C pada Pakan Buatan Terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Benih Ikan Tengadak. Jurnal Ruaya III (1) : 9-16 hlm.
- Schram, S, A., R, A, Tumbol., Kreckhoff. 2019. Penggunaan Ekstrak Kasar Spons Laut untuk Meningkatkan Resistensi Ikan Nila (*O. niloticus*) terhadap Infeksi (*Streptococcus agalactiae*). Jurnal Ilmiah Platax. VII (2) : 11 hlm.
- Sibagariang, E., E, Julianie., Rismalinda., Nurzannah., S. 2010. Buku Saku Metodologi Penelitian untuk Mahasiswa Diploma Kesehatan. Jakarta : Trans Info Media. 143 hlm.
- Sukenda, L., D, Jamal. Wahyuni. A, Hasan. 2008. Penggunaan Kitosan untuk Pencegahan Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.). Jurnal. VII (2) : 159-169 hlm.
- Taukhid., A, M, Lusiastuti. 2010. Efektivitas Penambahan Vitamin C (*Ascorbic acid*) Pada Pakan Komersial Untuk Pengendalian Penyakit Koi Herpesvirus (KHV) Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). J. Ris. Akuakultur V (3) : 425-436 hlm.
- Thabri, M., Sukendi., Syafriadiman. 2017. Pengaruh Penambahan Vitamin C (APM) pada Pakan Terhadap Kemampuan Tubuh Mengatasi Stres dan Pertumbuhan Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). Berkala Perikanan Terubuk. XLV (2) : 40–48 hlm.
- Utami, D, T., S, B, Prayitno., S, Hastuti., A, Santika. 2013. Gambaran Parameter Hematologis Ikan Nila (*Oreochomis niloticus*) yang Diberi Vaksin DNA *Streptococcus iniae* Dengan Dosis yang Berbeda. Journal of Aquaculture Managemen and Technology. II (4) : 7-20 hlm.
- Zulkarnain, L, A., S, Hastuti., Sarjito. 2017. Pengaruh Penambahan Vitamin C Pada Pakan Sebagai Imunostimulan Terhadap Performa Darah, Kelulushidupan, dan Pertumbuhan Ikan Tawes (*Puntius javanicus*). Journal of Aquaculture Management and Technology VI (3) : 159-168 hlm.