

DIFFERENTIATION OF LEUKOCYTES OF NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) WITH FEED CONSIST OF NONI FRUIT FLOUR (*Morinda citrifolia* L)

Memi Martin Ilmayati¹, Henni Syawal², Adelina²

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

ABSTRACT

This research was conducted on 10th June until 24th July 2015. The aims of this research was to determine the best dose of noni fruit flour (*Morinda citrifolia* L) addition in feed to increase immunity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *S. iniae*. This research used Completely Randomized Design (CRD) with one factor, five treatments and three replications. The treatments were addition of noni fruit flour in the feed with different concentration i.e : Kn (without addition of noni fruit flour and without infected by *S. iniae*), Kp (without addition of noni fruit flour and infected by *S. iniae*), P₁ (addition of noni fruit flour 3 g/kg of feed and infected by *S. iniae*), P₂ (addition of noni fruit flour 6 g/kg of feed and infected by *S. iniae*) and P₃ (addition of noni fruit flour 9 g/kg of feed and infected with *S. iniae*). Noni fruit flour given through artificial feed with 30% of protein content. The results showed that noni fruit flour in feed of treatment P₃ on the best dose (9 g/kg of feed) was total leukocytes 73.720 cell/mm³, lymphocytes 66.33%, monocytes 29.33%, neutrophils 4.33%, the average of weight 24.06 g and survival rate 91.67%.

Key word : Differentiation of leukocytes, *Morinda citrifolia* L, *Oreochromis niloticus*, *Streptococcus iniae*,

1. Student of Faculty Fisheries and Marine Science, University of Riau
2. Lecturer of Faculty Fisheries and Marine Science, University of Riau

PENDAHULUAN

Ikan nila (*O. niloticus*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang sudah banyak dibudidayakan di Indonesia khususnya di daerah Riau dan sekitarnya, baik itu dalam bentuk usaha pembenihan maupun pembesaran. Ikan nila termasuk ikan konsumsi yang

pertumbuhannya cepat, potensi pema-sarannya cukup baik, dan tergolong mudah dalam pemeliharannya, dikarenakan ikan ini mempunyai kemampuan adaptasi yang baik dalam lingkungan budi daya. Peluang pasar ikan nila cukup besar, baik di pasar lokal maupun ekspor. Kebutuhan pasar

dalam negeri untuk ikan nila umumnya berukuran di bawah 500 gram/ekor dengan harga berkisar antara Rp 30.000-50.000/kg (Khairuman dan Amri, 2012). Oleh karena itu upaya pengembangan usaha budi daya ikan nila masih terbuka untuk dikembangkan dalam berbagai skala usaha.

Salah satu faktor penghambat keberhasilan dalam sistem budi daya adalah kerentanan ikan terhadap serangan penyakit. Wabah penyakit yang dapat menimbulkan penyakit bahkan kematian pada ikan, adalah virus, bakteri, dan jamur. Salah satu penyakit yang banyak menyerang ikan budi daya dan berpotensi menimbulkan kerugian cukup besar adalah *streptococcosis*, yang disebabkan oleh kelompok bakteri *Streptococcus* sp. Timbulnya *streptococcosis* dapat disebabkan oleh endahnya ketahanan tubuh ikan, lingkungan pemeliharaan yang buruk, ataupun pakan yang kurang baik.

Penyebaran penyakit ini dapat menimbulkan wabah pada usaha budi daya sehingga dapat menimbulkan kerugian besar, akibat terjadinya kematian hingga 50-100% dalam waktu 3-7 hari setelah terinfeksi (Dana *et al.*, dalam Utami, 2013 dan Tukmechi *et al.*, 2009). Penyakit ini dapat ditanggulangi dengan penggunaan antibiotik. Penggunaan antibiotik dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek resisten daripada agen pathogen dan residu yang ditimbulkan pada ikan dapat membahayakan kesehatan manusia. Selain itu, harga antibiotik cukup mahal, dan dapat menyebabkan biaya produksi menjadi tinggi, sehingga kurang efisien bagi petani-petani ikan skala kecil (tradisional). Berdasarkan

efek samping yang ditimbulkan maka perlu dicari alternatif lain sebagai pengganti antibiotik yang berasal dari tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai bahan antibakteri adalah tumbuhan mengkudu (*M. citrifolia* L).

Buah mengkudu (*M. citrifolia* L) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti *ascubin*, *asperuloside*, *alizarin*, flavonoid dan beberapa zat *antraquinon*. Flavonoid berfungsi untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti inflamasi, mencegah keropos tulang dan berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan menghambat serangan bakteri (Cushnie and Lamb, 2005). Selain flavonoid, buah mengkudu juga mengandung vitamin C yang berfungsi sebagai imunostimulan dan mampu meningkatkan proliferasi limfosit sehingga dapat meningkatkan kekebalan tubuh ikan.

Beberapa penelitian terdahulu disebutkan bahwa buah mengkudu lebih sensitif terhadap bakteri gram positif, salah satunya bakteri *S. iniae*. Bakteri gram positif tidak tahan terhadap senyawa fenol dan *antraquinon* yang terdapat pada buah mengkudu (Sufiriyanto dan Indrajati, 2005). Kemudian hasil penelitian Muharrama (2015) melaporkan bahwa hasil uji LD₅₀ ekstrak buah mengkudu selama 24 jam tidak bersifat racun bagi ikan yaitu pada konsentrasi 1,42 g/L. Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian mengenai differensiasi leukosit ikan nila (*O. niloticus*) yang diberi pakan mengandung tepung buah mengkudu.

Penelitian ini bertujuan untuk mencari dosis terbaik dari tepung buah

mengkudu (*M. citrifolia* L) yang dapat meningkatkan kekebalan tubuh ikan nila (*O. niloticus*) terhadap bakteri *S. iniae* dengan melihat perubahan total

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan pada tanggal 10 Juni – 24 Juli 2015 yang bertempat di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), satu faktor dengan 5 taraf perlakuan. Untuk memperkecil tingkat kekeliruan, setiap perlakuan menggunakan tiga kali ulangan sehingga diperoleh 15 unit percobaan. Perlakuan yang dimaksud adalah penambahan tepung buah mengkudu ke dalam ransum pakan. Perlakuan yang digunakan adalah sebagai berikut:

Kn : Tanpa penambahan tepung buah mengkudu dan tidak diinfeksi

Kp : Tanpa penambahan tepung buah mengkudu dan diinfeksi *S. iniae*

P₁ : Penambahan tepung buah mengkudu 3 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*

Prosedur Penelitian

Sebelum ikan uji diberi pellet perlakuan, dilakukan adaptasi selama satu minggu. Selama masa adaptasi ikan diberi pakan pellet tanpa penambahan tepung buah mengkudu. Kemudian ikan dipuasakan selama 1 hari supaya ikan uji merasa lapar dan mau memakan pakan yang dicampur dengan tepung buah mengkudu. Selanjutnya ikan tersebut ditimbang untuk mengetahui berat awal ikan. Ikan uji dipelihara selama 45 hari dan

dan diferensiasi leukosit, untuk meningkatkan pertumbuhan dan kelulushidupan.

P₂ : Penambahan tepung buah mengkudu 6 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*

P₃ : Penambahan tepung buah mengkudu 9 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung buah mengkudu, isolat bakteri *S. iniae*, Na sitrat 3,8%, aquades, Larutan PBS, giemsa, methanol, dan ikan nila berukuran 10-12 cm sebanyak 120 ekor. Ikan dipelihara dengan padat tebar 8 ekor/wadah. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuarium berukuran 40x30x30 cm sebanyak 15 unit, timbangan analitik, gelas ukur, *syringe*, haemositometer, tabung eppendorf, Erlenmeyer, *hot plate*, tabung reaksi, cawan petri, mikropipet, aluminium foil, *Thermometer*, *pH indicator*, mikroskop, objek dan *cover glass*.

diberi pakan sebanyak 10% dari biomassa ikan uji, dengan frekuensi tiga kali sehari, yaitu pada pukul 08.00, 12.00 dan 17.00 WIB dan dilakukan penyiponan setiap hari. Pengambilan darah dilakukan setelah pemeliharaan selama 30 hari dan pada hari ke 37 setelah dilakukan infeksi dengan *S. iniae*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Leukosit

Rata-rata total leukosit ikan nila sebelum dan setelah diinfeksi bakteri *S. iniae* dapat dilihat pada Tabel 1.

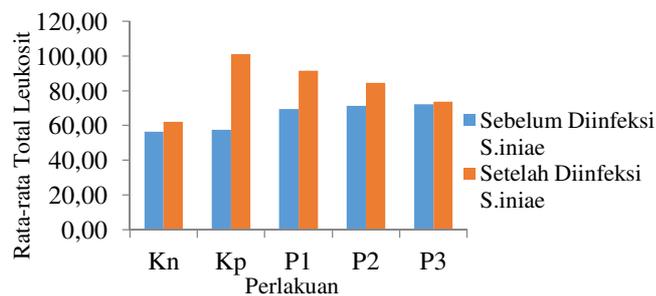
Tabel 1. Rata-rata total leukosit (sel/mm³) pada ikan nila selama penelitian

Perlakuan	Rata-rata Total Leukosit (sel/mm ³)	
	Sebelum Diinfeksi <i>S.iniae</i>	Setelah Diinfeksi <i>S.iniae</i>
Kn (0 g/kg pakan)	68.417 ± 2.05	68.950 ± 2.72 ^a
Kp (0 g/kg pakan)	68.667 ± 4.32	101.000 ± 12.22 ^d
P ₁ (3 g/kg pakan)	69.530 ± 2.97	91.630 ± 4.14 ^{cd}
P ₂ (6 g/kg pakan)	71.380 ± 4.52	84.500 ± 3.68 ^c
P ₃ (9 g/kg pakan)	72.300 ± 4.13	73.720 ± 4.13 ^b

Keterangan: Kn = kontrol negatif (tanpa penambahan tepung buah mengkudu dan tidak diinfeksi); Kp = kontrol positif (tanpa penambahan tepung buah mengkudu dan diinfeksi *S. iniae*); P₁ = tepung buah mengkudu 3 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*; P₂ = tepung buah mengkudu 6 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*; P₃ = tepung buah mengkudu 9 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*;

Tabel 1 menunjukkan bahwa total leukosit ikan nila (ukuran 10-12 cm) sebelum penginfeksian berkisar antara 68.417-72.300 sel/mm³ dan setelah penginfeksian meningkat menjadi 68.950-101.000 sel/mm³. Peningkatan jumlah sel leukosit ini merupakan respons tubuh dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel asing yang masuk ke tubuh ikan,

kemudian sel leukosit bergerak menuju daerah infeksi yang berfungsi sebagai pertahanan ikan. Naiknya jumlah leukosit merupakan indikator adanya infeksi yang mengakibatkan terjadinya inflamasi (Suhermanto *et al.*, 2013). Untuk melihat perbandingan total leukosit sebelum dan setelah penginfeksian dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Histogram rata-rata total leukosit ikan nila

Peningkatan leukosit pada perlakuan P₁, P₂, dan P₃ diiringi dengan kelulushidupan yang tinggi.

Hal ini disebabkan vitamin C dan flavonoid yang terkandung di dalam buah mengkudu yang dikonsumsi oleh

ikan nila mampu meningkatkan kegiatan kemotaktik neutrofil dan makrofag (neutrofil dan makrofag bermigrasi ke jaringan yang terinfeksi) sehingga terjadi peningkatan neutrofil dan monosit. Sedangkan ikan pada perlakuan Kp (kontrol positif) mengalami peningkatan leukosit tertinggidengan tingkat kelulushidupan yang rendah (45.83%). Hal ini menunjukkan bahwa leukosit ikan Kp tidak mampu untuk melawan serangan

Diferensiasi Leukosit

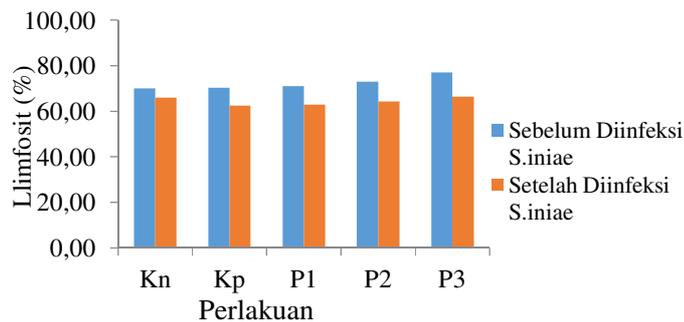
Sistem leukosit dan sel-sel jaringan dari leukosit bekerja dengan dua cara untuk mencegah penyakit yaitu dengan cara merusak melalui proses pagositosis dan membentuk antibodi. Nilai diferensiasi leukosit yang diukur merupakan rata-rata persentase tiga jenis leukosit yaitu limfosit, monosit, dan neutrofil. Limfosit adalah sel yang berfungsi memproduksi antibodi atau sebagai sel efektor dalam menanggapi antigen, sedangkan neutrofil berperan dalam respon kekebalan terhadap serangan organisme patogen dan mempunyai sifat fagositik. Monosit

Persentase sel limfosit ikan nila selama penelitian berkisar antara 70.00-77.00%, sedangkan setelah penginfeksi menurun menjadi 62.33-66.33%. Hal ini diduga karena limfosit digunakan untuk menghasilkan antibodi dalam menyerang sel-sel asing yang masuk ke dalam tubuh. Mundriyanto *et al.*, (2002), menyatakan bahwa mekanisme kerja sel limfosit dalam peranannya sebagai sistem kekebalan tubuh berfungsi menyediakan zat kebal untuk pertahanan tubuh dengan cara mengenali antigen melalui reseptor spesifik pada membran sel. Pada

bakteri *S.iniae*. Peningkatan total leukosit terjadi akibat adanya respons dari tubuh ikan terhadap kondisi lingkungan pemeliharaan yang buruk, faktor stres dan infeksi penyakit. Sedangkan penurunan jumlah leukosit disebabkan karena adanya gangguan pada fungsi organ ginjal dan limpa dalam memproduksi leukosit yang disebabkan oleh infeksi penyakit (Nuryati *et al.*, 2008).

merupakan sel dalam aliran darah yang berkembang menjadi makrofag. Makrofag berfungsi hampir sama dengan neutrofil sebagai fagosit yaitu menghancurkan benda asing yang masuk ke dalam tubuh, namun aktivitas fagosit dari sel ini relatif lama tergantung pada sifat bahan yang ditelan, jika bahan mudah dicerna oleh enzim lisosomyang banyak mengandung beragam enzim pencernaan dan senyawa bakterisidal sehingga dengan mudah menghancurkan sel bakteri (Suhermanto *et al.*, 2013).

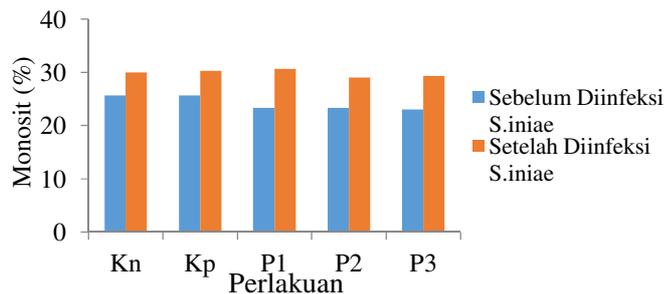
limfosit T, ketika tubuh atau jaringan terpapar oleh antigen, maka limfosit T tidak mampu mengenal antigen tersebut sendirian tanpa melalui reseptor spesifik. Dengan adanya sel reseptor spesifik ini memungkinkan sel T lebih cepat mengenali antigen yang ada sehingga langsung memberikan reaksi kekebalan dan menstimulasi sel B untuk mengeluarkan antibodi. Untuk melihat persentase sel limfosit sebelum dan setelah penginfeksi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Histogram Sel Limfosit Ikan Nila

Hasil uji analisis variansi (ANOVA) menunjukkan bahwa penambahan tepung buah mengkudu memberikan pengaruh yang nyata terhadap total limfosit ikan nila ($P < 0.05$), dimana kontrol negatif (Kn), kontrol positif (Kp) dan P₁ berbeda nyata terhadap P₂ dan P₃. Hal ini menunjukkan bahwa vitamin C dan

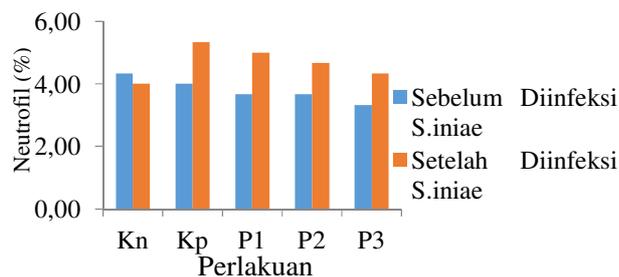
flavonoid yang terkandung di dalam tepung buah mengkudu sebagai imunostimulan, mampu meningkatkan jumlah sel limfosit pada ikan nila. Sedangkan perbandingan persentase monosit ikan nila sebelum dan setelah penginfeksian dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Histogram Sel Monosit Ikan Nila

Persentase monosit ikan nila selama penelitian berkisar antara 23.00-25.67% dan setelah penginfeksian meningkat menjadi 29.33-30.67%. Hal ini diduga terjadi pengumpulan makrofag di daerah terjadinya infeksi untuk memfagositosis bakteri *S. iniae*. Menurut Lukistiyowati *et al.*, (2007), jumlah sel monosit yang

ditemui pada ikan normal berkisar antara 1-21%, akan tetapi dapat meningkat sekitar 38%, hal ini bisa disebabkan oleh jenis ikan, suhu dan musim (Klontz 1994). Adapun hasil persentase sel neutrofil ikan nila sebelum dan sesudah uji tantangan dapat disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Histogram Sel Neutrofil Ikan Nila

Berdasarkan Gambar 4 di atas persentase sel neutrofil ikan nila sebelum ujiantang berkisar antara 3.33-4.33% dan setelah dilakukan ujiantang meningkat menjadi 4.00-6.00%. Nilai ini sedikit berbeda dengan penelitian Utami (2013) bahwa persentase neutrofil ikan nila yang diinfeksi bakteri *S. iniae* berkisar antara 7-13%. Peningkatan neutrofil pada perlakuan kontrol positif (Kp), P₁, P₂, dan P₃) diduga karena adanya aktivitas sel neutrofil dalam

mencapai dan menyerang antigen (partikel asing) masuk ke dalam tubuh yang menunjukkan terjadinya proses fagositosis. Hal ini didukung oleh pernyataan Rustikawati (2012), peningkatan jumlah sel neutrofil mengindikasikan adanya peningkatan pengumpulan makrofag di tempat terjadinya infeksi, sehingga makrofag akan lebih mudah untuk menghancurkan partikel asing.

Tingkat Kelulushidupan

Rata-rata kelulushidupan ikan selama pemeliharaan 45 hari dengan pemberian pakan yang mengandung

tepung buah mengkudu dan setelah diinfeksi dengan bakteri *S. iniae* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Kelulushidupan (%) Ikan Selama Pemeliharaan

Perlakuan	Kelulushidupan (%)	
	Sebelum Diinfeksi <i>S.iniae</i>	Setelah Diinfeksi <i>S.iniae</i>
Kn	100	100 ± 0.00 ^c
Kp	100	45.83 ± 19.09 ^a
P ₁	100	62.50 ± 17.75 ^{ab}
P ₂	100	75.00 ± 0.00 ^{bc}
P ₃	100	91.67 ± 7.21 ^c

Keterangan: Kn = kontrol negatif (tanpa penambahan tepung buah mengkudu dan tanpa diinfeksi *S.iniae*); Kp = kontrol positif (tanpa penambahan tepung buah mengkudu dan diinfeksi *S. iniae*); P₁ = tepung buah mengkudu 3 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*; P₂ = tepung buah mengkudu 6 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*; P₃ = tepung buah mengkudu 9 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*;

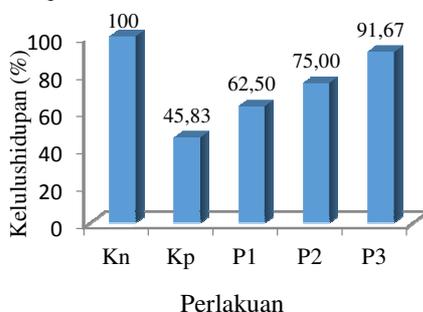
Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Berdasarkan Tabel 2 di atas kelulushidupan ikan nila pada masing-masing perlakuan sebelum diinfeksi adalah 100%. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan tepung buah

mengkudu pada pakan bisa diterima oleh ikan nila. Hasil analisis variansi (ANOVA) penambahan tepung buah mengkudu pada pakan dan setelah penginfeksian dengan bakteri *S. iniae*

terlihat bahwa kontrol positif (Kp) berbeda nyata terhadap P₂, P₃ dan kontrol negatif (Kn), namun tidak berbeda nyata dengan P₁. Untuk melihat

persentase kelulushidupan ikan nila setelah penginfeksian dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Histogram kelulushidupan ikan nila setelah diuji tantang dengan *S. iniae*

Tingkat kelulushidupan ikan yang terendah terdapat pada perlakuan kontrol positif (Kp), yakni sebesar 45,83%. Hal ini terjadi karena ikan tidak diberi perlakuan apapun, hanya diinfeksi dengan bakteri *S. iniae*. Ikan nila uji hanya dapat mengandalkan kekebalan tubuh yang terdapat dalam tubuhnya sendiri sehingga ikan kontrol positif (Kp) banyak yang mati dibandingkan dengan perlakuan yang diberi pakan yang mengandung tepung buah mengkudu (P₁, P₂, dan P₃). Kemudian P₁ menunjukkan tingkat kelulushidupan terendah yang ke-2 yaitu sebesar 62,50%. Hal ini diduga adanya senyawa flavonoid dan vitamin C yang terkandung di dalam buah mengkudu,

sehingga mampu membentuk sistem kekebalan tubuh yang dapat dilihat melalui peningkatan total leukosit. Tingkat kelulushidupan tertinggi terdapat pada perlakuan P₃, bila dibandingkan dengan P₁, P₂ dan Kp yakni sebesar 91,67%.

Pertumbuhan Bobot Mutlak

Hasil pengamatan terhadap perubahan bobot ikan nila pada setiap perlakuan yang diperoleh selama 45 hari mengalami peningkatan. Pakan dengan penambahan tepung buah mengkudu menghasilkan bobot rata-rata ikan lebih tinggi dibandingkan dengan pakan tanpa penambahan tepung buah mengkudu (disajikan pada Tabel 3).

Tabel 3. Bobot rata-rata individu ikan nila selama penelitian

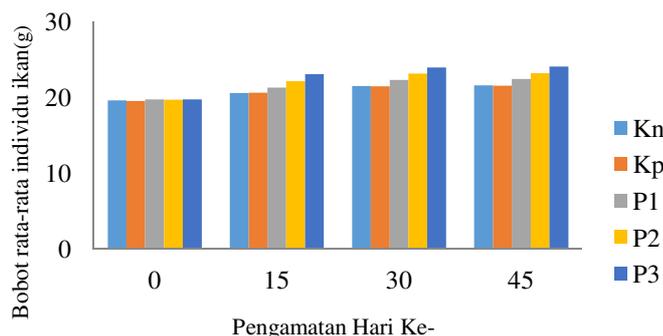
Perlakuan	Penimbangan Hari ke- (g)			
	0	15	30	45
Kn (0g/kg pakan)	19.59	20.53	21.51	21.58
Kp (0 g/kg pakan)	19.52	20.59	21.43	21.55
P ₁ (3g/kg pakan)	19.72	21.30	22.30	22.42
P ₂ (6 g/kg pakan)	19.67	22.10	23.14	23.17
P ₃ (9 g/kg pakan)	19.71	23.05	23.93	24.06

Keterangan: Kn = kontrol negatif (tanpa penambahan tepung buah mengkudu dan tanpa diinfeksi *S. iniae*); Kp = kontrol positif (tanpa penambahan tepung buah mengkudu dan diinfeksi *S. iniae*); P₁ = penambahan tepung buah mengkudu 3 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*; P₂ = penambahan tepung buah

mengkudu 6 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*; P₃ = penambahan tepung buah mengkudu 9 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*;

Berdasarkan Tabel 3 di atas dapat dilihat bahwa pemberian pakan dengan penambahan tepung buah mengkudu 9 g/kg pakan (P₃) menghasilkan bobot ikan tertinggi (24.06 g) dan bobot terendah pada Kp (21.55 g). Hal ini disebabkan karena

pakan yang mengandung tepung buah mengkudu disukai oleh ikan dan mampu dimanfaatkan untuk pertumbuhan ikan nila. Untuk lebih jelasnya pertumbuhan bobot rata-rata individu ikan nila pada setiap perlakuan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Histogram pertumbuhan bobot rata-rata individu ikan nila

Berdasarkan Gambar 6 di atas dapat dilihat bahwa pada 15 hari pertama pertumbuhan ikan nila pada setiap perlakuan masih relatif sama, namun pada P₃ sudah terlihat pertumbuhan yang lebih tinggi daripada perlakuan lainnya. Pada pengamatan hari ke 30 hingga ke 45 sudah terlihat Tabel 4. Pertumbuhan bobot mutlak ikan nila

pertumbuhan bobot dari tiap perlakuan dan perlakuan P₃ menunjukkan pertumbuhan bobot rata-rata tertinggi dibandingkan dengan P₂, P₁, Kn dan Kp. Untuk melihat laju pertumbuhan bobot mutlak ikan nila dapat dilihat pada Tabel 4.

Perlakuan	Bobot awal (g)	Bobot akhir (g)	Bobot Mutlak (g) ± SD
Kn	19.59	21.58	1.99 ± 0.14 ^a
Kp	19.52	21.55	1.95 ± 0.36 ^a
P ₁	19.72	22.42	2.15 ± 0.13 ^b
P ₂	19.67	23.17	3.49 ± 0.03 ^c
P ₃	19.71	24.06	4.34 ± 0.15 ^d

Keterangan: Kn = kontrol negatif (tanpa penambahan tepung buah mengkudu dan tidak diinfeksi *S. iniae*); Kp = kontrol positif (tanpa penambahan tepung buah mengkudu dan diinfeksi *S. iniae*); P₁ = tepung buah mengkudu 3 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*; P₂ = tepung buah mengkudu 6 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*; P₃ = tepung buah mengkudu 9 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*;
Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Tingginya pertambahan bobot ikan pada P₃ diduga karena adanya senyawa flavonoid yang terkandung dalam buah mengkudu dapat meningkatkan nafsu makan pada ikan

nila. Respons makan dan pertumbuhan pada ikan sangat erat hubungannya. Apabila respons nafsu makan ikan menurun maka pertumbuhan bobot ikan akan ikut terhambat dan apabila

pertumbuhan bobot ikan terhambat maka hal ini dapat mengganggu aktivitas fisik ikan khususnya daya tahan tubuh ikan akan menjadi rentan terkena serangan penyakit. Senyawa flavonoid yang dikandung buah mengkudu berfungsi sebagai kontrol hormon somatotropin yang menekan pertumbuhan ikan. Hormon

somatotropin mampu merangsang pertumbuhan dan metabolisme, meningkatkan respon makan, mencegah kerusakan hati, dan terbukti memiliki sifat imunostimulan serta meningkatkan aktivitas makrofag dan aktivitas hemolitik pada serum darah (Zairin, 2003 dalam Utami, 2009).

Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis merupakan salah satu indikator untuk menentukan status kesehatan ikan. Gejala klinis yang diamati meliputi

pergerakan tubuh, tingkah laku ikan, dan nafsu makan ikan nila. Pengamatan gejala klinis dilakukan setelah penginfeksi bakteri sampai 14 hari pasca penginfeksi. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Gejala klinis ikan nila (*O. niloticus*) setelah diinfeksi bakteri *S. iniae*

Perlakuan	Gejala Klinis					
	Pergerakan ikan	Produksi lendir	Nafsu makan	Warna tubuh	Mata	Sirip/sisik
Kn	Bergerombol dan lincah	Normal	Ikan mau makan	Cerah	Cerah	Sirip dan sisik utuh
Kp	Lambat, mudah terkejut, dan diam di dasar	Produksi lendir banyak	Ikan tidak mau makan	Pucat	Kornea mata berwarna putih	Semua sirip geripis dan sisik lepas
P1	Berenang lemah didasar dan mudah terkejut	Produksi lendir banyak	Nafsu makan menurun	Warna tubuh kehitaman atau gelap	Menonjol	Sirip ekor geripis
P2	Ikan lebih sering bergerombol mendekati aerasi, berenang ke permukaan	Produksi lendir banyak	Nafsu makan menurun, dan kembali normal pada hari ke-8	Pucat, terdapat bercak kemerahan di permukaan kulit	Menonjol	Sirip dan sisik utuh
P3	Ikan lebih sering bergerombol mendekati aerasi	Produksi lendir banyak	Nafsu makan menurun, dan kembali normal pada hari ke-6	Pucat	Menonjol	Sirip dan sisik utuh

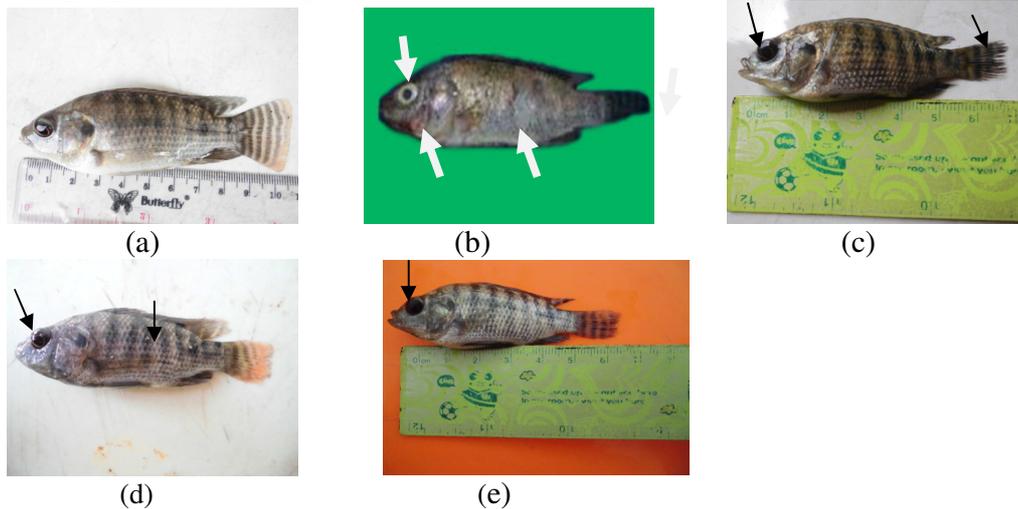
Keterangan: Kn = kontrol negatif (tanpa penambahan tepung buah mengkudu dan tidak diinfeksi); Kp = kontrol positif (tanpa penambahan tepung buah mengkudu dan diinfeksi *S. iniae*); P₁ = tepung buah mengkudu 3 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*; P₂ = tepung buah mengkudu 6 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*; P₃ = tepung buah mengkudu 9 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*;

Berdasarkan hasil pengamatan bahwa pada perlakuan P₃ (penambahan tepung buah mengkudu 9 g/kg pakan) masih terdapat gejala klinis berupa mata menonjol namun tidak menyebabkan kematian pada ikan. Nafsu makan ikan

pada perlakuan yang diberi mengkudu (P₃) mulai membaik pada hari ke 6, pergerakan ikan mulai lincah, warna tubuh kembali cerah. Hal ini disebabkan karena flavonoid yang terkandung di dalam buah mengkudu efektif untuk

menyembuhkan infeksi bakteri *S. iniae*. Sesuai dengan pendapat Djauhariya (2003), menyatakan bahwa flavonoid merupakan senyawa yang mempunyai efek antibakteri dan paling banyak terdapat pada buah mengkudu.

Gejala klinis ikan nila setelah diuji tantang dengan bakteri *S. iniae* pada tiap perlakuan dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Gejala klinis ikan nila setelah dilakukan uji tantang

Keterangan: (a). Kn (normal), (b). Kp (mata putih, sisik lepas dan pendarahan pada operculum), (c). P₁ (mata menonjol dan sirip ekor geripis) (d) P₂ (mata menonjol, produksi lendir banyak, dan warna tubuh pucat), (e) P₃ (mata menonjol)

Menurut English *et al.*, (1993), gejala klinis yang timbul akibat *streptococcosis* antara lain adalah warna tubuh menjadi gelap, eksophtalmia, kekeruhan pada kornea (*cornea opacity*), hemoragi yang meluas ke tingkat ulser dan nekrosis. Sedangkan perubahan dari aspek tingkah laku diantaranya adalah ikan akan berenang tegak (*erratic swimming*) dan menjadi lemah.

Komponen utama yang berkhasiat dalam buah mengkudu adalah flavonoid. Flavonoid bersifat anti inflamasi sehingga dapat mengurangi peradangan serta membantu mengurangi rasa sakit bila terjadi pendarahan atau

pembengkakan pada luka bersifat anti bakteri dan anti oksidan, mampu meningkatkan kerja sistem imun karena leukosit sebagai pemakan benda asing lebih cepat dihasilkan dan sistem limfa lebih cepat diaktifkan. Selain mengandung flavonoid buah mengkudu juga mengandung saponin. Saponin merupakan salah satu senyawa yang dihasilkan tumbuhan dan berfungsi sebagai anti bakteri dan anti virus, mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh, mampu mengurangi kadar gula darah dan mengurangi penggumpalan darah (Utami, 2009).

Kualitas Air

Pengukuran kualitas air dilakukan sebagai data pendukung pada

penelitian. Pengamatan kualitas air dilakukan sebanyak 3 kali yaitu pada awal, tengah, dan akhir penelitian. Data

kualitas air selama pemeliharaan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Kualitas Air Media Pemeliharaan Selama Penelitian

Parameter	Perlakuan					Kordi (2010)
	Kn	Kp	P ₁	P ₂	P ₃	
Suhu (°C)	27-28	25 – 28	27 – 28	25 - 28	27- 28	25 - 33
DO (mg/L)	3,9 - 4,3	4,0 - 4,2	4,0 - 4,4	3,9 - 4,2	4,0-4,6	> 3
pH	6,8 – 7,0	6,0-7,2	6,3-7,2	6,5-7,2	6,2-7,1	6,0 -8,5
Amoniak (mg/L)	0,02-0,07	0,02-0,08	0,03-0,05	0,02-0,06	0,02-0,04	< 0,1

Keterangan: Kn = kontrol negatif (tanpa penambahan tepung buah mengkudu dan tidak diinfeksi *S.iniae*); Kp = kontrol positif (tanpa penambahan tepung buah mengkudu dan diinfeksi *S. iniae*); P₁ = tepung buah mengkudu 3 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*; P₂ = tepung buah mengkudu 6 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*; P₃ = tepung buah mengkudu 9 g/kg pakan dan diinfeksi *S. iniae*;

Hasil pengukuran kualitas air pada Tabel 6 menunjukkan bahwa nilai kualitas air pada setiap perlakuan masih dalam kisaran yang layak terhadap kehidupan ikan nila. Suhu air pada setiap perlakuan berkisar antara 25-28°C, kisaran ini masih berada pada kisaran yang wajar. Hal ini sesuai dengan pendapat Monalisa dan Minggawati (2010) dalam Warasto *et al.*, (2013) bahwa suhu yang mendukung 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 6,0– 7,2. Menurut Suyanto (2003), pada umumnya pH yang sangat cocok untuk semua jenis ikan berkisar antara 6,7 -8,6. Dengan demikian kisaran pH selama masa pemeliharaan masih termasuk dalam kisaran yang baik bagi kelangsungan hidup ikan nila.

Kandungan oksigen terlarut (DO) selama pemeliharaan berkisar antara 3,9-4,6 ppm. Kandungan oksigen terlarut pada penelitian cukup baik untuk kehidupan ikan nila. Berbeda dengan hasil penelitian Alfia *et al.*,

(2013) kisaran DO selama penelitian berkisar 1,8-2,5 ppm dengan kelulushidupan sebesar 91,67%. Dengan demikian pengukuran DO selama masa pemeliharaan menunjukkan kisaran yang masih dapat ditoleril oleh ikan. Kandungan amoniak (NH₃) yang terbaik adalah pada perlakuan P₃, yakni berkisar antara 0,02-0,04 mg/L. Hal ini dapat dilihat dari rata-rata tingkat kelulushidupan ikan nila, yakni sebesar 91,67%. Menurut Monalisa dan Minggawati (2010), bahwa amonia terlarut yang baik untuk kelangsungan hidup ikan kurang dari 1 mg/L. Ikan tidak dapat bertoleransi terhadap kadar amonia bebas terlalu tinggi karena dapat mengganggu proses pengikatan oksigen oleh darah.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dosis terbaik dari tepung buah mengkudu yang diberikan pada ikan nila selama 45 hari dan diinfeksi *S.iniae* adalah 9 g/kg pakan (P₃) memberikan pengaruh terbaik pada ikan uji, yang ditandai dengan total leukosit 73.720

sel/mm³ darah, limfosit 66,33%, monosit 29,33%, neutrofil 4,33%, bobot rata-rata individu 24,06 g/ekor, dan kelulushidupan 91,67%.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat gambaran

histopatologi ikan setelah dipelihara dengan pemberian pakan yang mengandung tepung buah mengkudu dan pasca ujiantang dengan bakteri *S.iniae*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfia, A.R, E. Arini dan T. Elfitasari. 2013. Pengaruh Kepadatan yang Berbeda Terhadap Kelulushidupan dan Pertumbuhan Ikan Nila (*O. niloticus*) pada Sistem Resirkulasi dengan Filter *Bioball*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2(3): 86-93.
- Cushnie, T.P.T. and A.J Lamb. 2005. Review: Antimicrobial Activity of Flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agent*, 26: 343-356.
- Djauhariya E. 2003. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L). Tanaman Obat Potensial. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. *Pengembangan Teknologi TRO*. 15(1) : 1-16.
- English V., RJ Robert., NR Bromage. 1993. Chapter 12, Streptococcal Infections. In *Bacterial Diseases of Fish*, Halsted Press, Jhon Wiley & Son, inc., NY. 196-197 p
- Khairuman dan Amri, K. 2012. *Pembesaran Nila di Kolam Air Deras*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 92 hlm.
- Klontz, G.W. 1994. *Fish Hematology. Techniques in Fish Immunology-3*. Sos Publications, Fair Haven, NJ 07704-3303. USA. 121-131 hlm.
- Lukistyowati, I., Windarti dan M, Riau waty. 2007. Hematologi Ikan Air Tawar. Lembaga Penelitian Universitas Riau Pekanbaru. 50 hlm (tidak diterbitkan)
- 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.
- Muharrama, A.R.W. 2015. Sensitivitas Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L) Terhadap Bakteri *Streptococcus agalactiae*. Skripsi. FAPERIKA, Universitas Riau Pekanbaru. 63 hlm (tidak diterbitkan).
- Mundriyanto, H., Taufik, P., dan Tauhid. 2002. Respon Histologis Tubuh Kodok (*Rana catesbeiana* Shaw) Terhadap

- Infeksi Bakteri Patogen dan Potensi *Saccharomyces cerevisiae* Sebagai Immunostimulan. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 8 (3): 53-63.
- Nuryati, S., Suparman dan Hadiroseyani. 2008. Penggunaan Ekstrak Daun Paci-paci (*Leucas sp.*) untuk Pencegahan Penyakit Mikotik pada Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy Lac.*). *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 7(2): 205-212 hlm.
- Roslina. 2015. Profil Diferensiasi Leukosit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Terinfeksi Ektoparasit di Kolam Budi Daya Kelurahan Simpang Tiga Kota Pekanbaru. Skripsi. FAPERIKA, Universitas Riau Pekanbaru. 47 hlm (tidak diterbitkan)
- Rustikawati, I. 2012. Efektifitas Ekstrak *Sargassum sp.* Terhadap Diferensiasi Leukosit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi *Streptococcus iniae*. *Jurnal Akuatik*. 3(2) : 125-134 hlm.
- Suhermanto, A., S, Andayani dan Maftuch. 2013. Pengaruh Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Respons Imun Non Spesifik Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Bumi Lestari*. 13(2): 225-233 hlm.
- Supriyanto dan M Indraji. 2005. Uji *in vitro* dan *in vivo* Ekstrak Campuran Mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan Bawang Putih (*Alium sativum*) pada Sapi Perah Penderita Mastitis Sub Klinis. *J. Anim. Prod.* 7: 101-105.
- Suyanto S.R. 2003. *Pembenihan dan Pembesaran Nila*. Penebar Swadaya. Jakarta. 124 hlm.
- Tukmechi A., R, Hobbenaghi, and A Morvaridi. 2009. Streptococcosis in a pet Fish, *Astronotus ocellatus*: A Case Study. *Int. J. Biol. Life. Sci.*, 1(1): 30-31.
- Utami, D.T. 2013. Gambaran Parameter Hematologis pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi Vaksin DNA *Streptococcus iniae* dengan Dosis yang Berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2(4): 7-20 p.
- Utami, W.P. 2009. Efektivitas Ekstrak Paci-Paci *Leucas Lavandulaefolia* yang Diberikan Lewat Pakan Untuk Pencegahan dan Pengobatan Penyakit Mas *Motile Aeromonas Septicemia* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias Sp.* Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. 80 hlm.
- Warasto, Yulisman, dan M, Fitriani. 2013. Tepung Kiambang (*Salvinia molesta*) Terfermentasi Sebagai BahanPakan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *JurnalAkuakultur Rawa Indonesia* a. 1(2): 173-183.