

**PENAMBAHAN TEPUNG BUAH MENKUDU (*Morinda citrifolia* L)
PADA PAKAN TERHADAP PERUBAHAN AKTIVITAS FAGOSITOSIS,
TOTAL ERITROSIT DAN HEMOGLOBIN
IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)**

Irma Yunita¹⁾, Henni Syawal²⁾, and Iesje Lukistyowati²⁾

Diterima : 12 Juni 2016 Disetujui : 26 Juli 2016

ABSTRACT

This research was conducted from Mei to September 2015 in the Laboratory of Parasitic Diseases of Fish Faculty of Fisheries and Marine Science, University of Riau. The purpose of this reseach was to knowing the addition of flour noni (*Morinda citrifolia* L) on feed to change the phagocytic activity, total of erythrocytes and hemoglobin of tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected *Streptococcus iniae*. This research used five treatments, 1) Kn: negative control (without a solution of addition flour noni (*Morinda citrifolia* L) and without the infection of *Streptococcus iniae*.), 2) Kp: positive control (without giving a solution of addition of flour noni (*Morinda citrifolia* L) and the infection *Streptococcus iniae*) 3) P₁: addition flour noni (*Morinda citrifolia* L) 3 g/kg feed) P₂: addition flour noni (*Morinda citrifolia* L) 6 g/kg feed) P₃: addition flour noni (*Morinda citrifolia* L) 9 g/kg feed). The research shows that the addition of flour noni (*Morinda citrifolia* L) on feed do impact the condition of fish blood because visible from the phagocytic activity is ranged between 35,33-56,66%, total erythrocytes 1,23-2,20 x10⁶ cell/mm³, and hemoglobin is ranged between 4,66-6,33 gr/%.

Keywords : *Tilapia (Oreochromis niloticus)*, *Flour noni (Morinda citrifolia L)*.

PENDAHULUAN

Penggunaan antibiotik, vaksin dan bahan-bahan kimia untuk pengendalian dan pengobatan penyakit ikan telah banyak dicoba, namun sering kali kurang efektif karena penggunaan dosis yang tidak tepat, sehingga dapat menimbulkan resistensi bakteri patogen dan residu antibiotika pada ikan dan manusia yang mengonsumsinya (Irawan, 2000 dalam Yuhana *et al.*, 2011).

Bakteri *Streptococcus iniae* merupakan bakteri patogen penyebab streptococcosis pada budi daya ikan nila yang banyak ditemukan di Indonesia. Streptococcosis dapat menyebabkan kematian lebih dari 50% populasi ikan dalam waktu tiga hingga tujuh hari setelah terinfeksi (Yuhana *et al.*, 2011).

Selain itu kasus kematian massal ikan juga terjadi di Danau Maninjau Sumatra Barat pada akhir tahun 2008 juga disebabkan oleh penyakit Streptococcosis, akibat kematian massal ini telah menimbulkan kerugian pada petani ikan hingga mencapai Rp 200 milyar

¹⁾ Laboratorium Penyakit parasit Ikan

²⁾ Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Riau

(Kadis Kelautan dan Perikanan Provinsi Sumatra Barat dalam Alternatif untuk pencegahan dan pengobatan penyakit ini adalah dengan menggunakan bahan-bahan alami salah satunya bahan obat-obatan alami yang berasal dari tumbuhan yang diketahui mengandung zat antibakteri salah satunya adalah buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L).

Penggunaan antibiotik, vaksin dan bahan-bahan kimia untuk pengendalian dan pengobatan penyakit ikan telah banyak dicoba, namun sering kali kurang efektif karena penggunaan dosis yang tidak tepat, sehingga dapat menimbulkan resistensi bakteri patogen dan residu antibiotika pada ikan dan manusia yang mengonsumsinya (Irawan, 2000 dalam Yuhana *et al.*, 2011).

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan rancangan acak lengkap (RAL), satu faktor dengan 5 taraf perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah sebagai berikut : Kn (tanpa diberi tepung buah mengkudu dan tidak diinfeksi bakteri *Streptococcus iniae*), Kp (tanpa diberi tepung buah mengkudu diinfeksi bakteri *Streptococcus iniae*), P₁ (pemberian tepung buah mengkudu 3 g/kg pakan), P₂ (pemberian tepung buah mengkudu 6 g/kg pakan), dan P₃ (pemberian tepung buah mengkudu 9 g/kg pakan).

Persiapan Wadah

Akuarium sebanyak 15 buah dengan ukuran 40x30x30 cm yang dilengkapi dengan aerator, selang dan batu aerasi. Sebelum digunakan akuarium tersebut disuci dari kotoran

Supriyadi dan Gardenia, 2010).

Penelitian ini bertujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian tepung mengkudu (*Morinda citrifolia* L) yang diformulasikan pada bahan pakan terhadap perubahan aktivitas fagositosis, total eritrosit, dan hemoglobin ikan nila kemudian diinfeksi bakteri *Streptococcus iniae*.

Bakteri *Streptococcus iniae* merupakan bakteri patogen penyebab streptococcosis pada budi daya ikan nila yang banyak ditemukan di Indonesia. Streptococcosis dapat menyebabkan kematian lebih dari 50% populasi ikan dalam waktu tiga hingga tujuh hari setelah terinfeksi (Yuhana *et al.*, 2011).

dengan larutan kalium permanganat (KMnO₄) selama 24 jam, kemudian diisi air dengan ketinggian air 25 cm, dan diaerasi selama 24 jam.

Adaptasi Ikan Uji

Adaptasi dilakukan selama tujuh hari, ikan uji yang berukuran 8-12 cm dimasukkan ke dalam akuarium. Selama masa adaptasi ikan diberi pakan berupa pelet buatan dengan frekuensi pemberian tiga kali sehari (pagi, siang dan sore) dan diberikan sebanyak 10 % dari bobot biomasa ikan.

Pembuatan Tepung Buah Mengkudu

Pertama menyiapkan 2 kg buah mengkudu berwarna putih kekuningan, buah mengkudu yang sudah didapatkan dicuci terlebih dahulu selanjutnya buah mengkudu dipotong tipis dan dibuang bijinya selanjutnya dijemur di bawah sinar

matahari. Penjemuran dilakukan selama tiga hari, sampai potongan buah benar-benar kering. Setelah penjemuran dari 2 kg buah mengkudu yang segar, didapatkan

Pemeliharaan Ikan

Ikan diadaptasikan terlebih dahulu dengan padat tebar ikan 8 ekor/aquarium. Selanjutnya ikan tersebut ditimbang untuk mengetahui berat awal ikan. Pemberian pakan yang mengandung tepung buah mengkudu dilakukan 3 kali sehari diberikan sebanyak 10% dari biomasa ikan.

Pembuatan Media Tumbuh

Bakteri *Streptococcus iniae*

Media tumbuh inokulan bakteri adalah media BHI, BHIA dan media agar darah. Perbandingan dengan aquades yang telah ditentukan yaitu BHI 37 g, BHIA 37 g dan media agar darah 40 g yang diletakkan didalam erlemeyer untuk dipanaskan diatas hotplate untuk menghomogenkan media, setelah mendidih dipindahkan dan dimasukkan ke dalam autoclave untuk disterilisasi pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 30 menit.

Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah dilakukan dua kali yaitu pada hari ke-31 dan hari ke-45. Pengambilan darah dengan cara darah diambil dengan menggunakan Syringe 1 mL yang telah diberi anti koagulan EDTA 10% darah diambil pada bagian *vena caudalis*.

Aktivitas Fagositosis

Pengukuran aktivitas fagositosis mengacu pada metode Anderson dan Siwicki, 1993 dalam Nuryati *et al.*, 2015, sebelum

200 g mengkudu kering., kemudian tepung buah mengkudu ditimbang sesuai dengan dosis yang ditetapkan, yaitu 3 g/kg pakan, 6 g/kg pakan dan 9 g/kg pakan.

dilakukan uji aktivitas fagositosis, Terlebih dahulu dibuat kultur bakteri *Streptococcus iniae* dalam 10 mL media BHI dan diinkubasi selama 24 jam. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit, selanjutnya supernatant dari bakteri itu dibuang dan endapan (pellet) yang ada di bawahnya digunakan untuk uji fagositosis.

Pengambilan endapan darah mengikuti metode Dayanti (2013), sampel darah yang sudah diambil dan diberi EDTA dengan perbandingan (10:1) selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 3 menit, bagian supernatant dibuang yang merupakan plasma dengan menggunakan mikropipet.

50µl darah ikan dicampur dengan 50 µl suspensi sel bakteri *S. iniae* diletakkan ke dalam microplate Campuran antara darah ikan dengan suspensi bakteri *S. iniae* diinkubasi dalam suhu ruangan selama 20 menit. 5µl campuran tersebut diletakkan pada gelas objek untuk dibuat preparat apus darah tipis. kemudian preparat diwarnai dengan Giemsa selama 10-15 menit, selanjutnya mengamati sampel dengan mikroskop pembesaran 1000X. Rumus perhitungan aktivitas fagositosis menurut Anderson dan Siwicki (2003) dalam Hartika *et al.*, (2012) adalah sebagai berikut :

$$AF = \frac{\text{Jumlah Sel Fagositosis}}{100 \text{ leukosit}} \times 100\%$$

Total Eritrosit

Total eritrosit dihitung dengan cara menggunakan alat hisap eritrosit berupa kapiler dengan batu

kecil di dalamnya bewarna merah hingga garis menunjukkan 0,5 ml, selanjutnya ditambah dengan larutan dengan membentuk angka delapan kemudian darah dibuang dua tetes untuk membuang gelembung udara, lalu diteteskan pada kamar hitung dan ditutup dengan cover glass, selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000X.

Pengukuran Hemoglobin (Hb)

Pengukuran hemoglobin yaitu dengan cara metode Shali dalam Susanti (2014). pertama diukur setelah HCL 0,1 N dimasukkan ke dalam tabung sahlometer sampai skala 10 (garis paling bawah pada sahlometer), lalu tabung ditempatkan diantara dua warna standar. Setelah itu, darah dipipet dengan tabung Sachli 0,02 ml

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis dilakukan setelah ikan diinfeksi bakteri *S. iniae* pada hari ke-31 sampai hari ke-45, pada perlakuan P₃ (penambahan tepung buah mengkudu 9 g/kg pakan) menunjukkan gejala klinisnya terdapat mata menonjol (eksophtalmia) tetapi tidak menyebabkan kematian pada ikan yang memiliki gejala mata menonjol, gejala yang sama juga terdapat pada perlakuan P₂ (penambahan tepung

Hayem hingga larutan mencapai 11 ml. Setelah itu larutan dihomogenkan dengan cara di goyang-goyang

Perhitungan total eritrosit dihitung dengan rumus Blaxhall dan Daisley dalam Alifuddin (1999).

$$\text{Total Eritrosit} = \Sigma N \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$$

ΣN : (Jumlah total 5 lapangan

pandang pada haemositometer).

kemudian darah dipindahkan ke dalam tabung sahli yang telah diisi HCl 0,1 N dan dibiarkan sambil diaduk selama 3 menit. Pengenceran selanjutnya dilakukan dengan ditambahkan aquades sedikit demi sedikit dengan menggunakan pipet, sampai warnanya sama dengan warna standar, dan hasilnya dinyatakan dalam g%.

buah mengkudu 6 g/kg pakan) dan P₁ (penambahan tepung buah mengkudu 3 g/kg pakan), sedangkan pada perlakuan P₃ nafsu makan ikan mulai membaik dan ikan kembali mengonsumsi pakan secara normal pada hari ke enam setelah infeksi. Hal ini disebabkan karena kandungan flavonoid yang ada didalam buah mengkudu terbukti efektif untuk mencegah infeksi bakteri *S.iniae*. sesuai dengan pendapat Djauhariya(2003),(Tabel 1)

Aktivitas Fagositosis

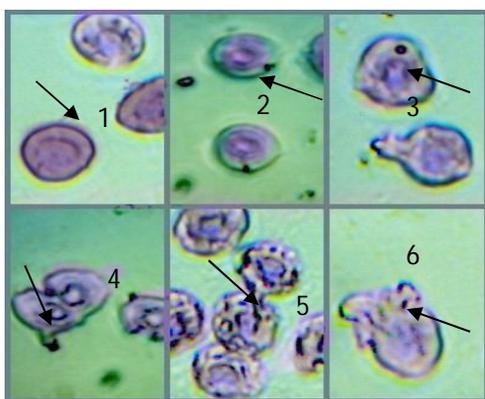
Tabel 1. Perhitungan aktivitas fagositosis ikan nila selama penelitian

Perlakuan	Persentase	
	Aktivitas Fagositosis (%)	
	Setelah Perlakuan±SD	Setelah diinfeksi±SD
Kn	35,33 ± 3,2 ^{ab}	*35,33 ± 3,21 ^a
Kp	28,00 ± 1,00 ^a	37,33 ± 2,88 ^a
P ₁	33,33 ± 6,42 ^{ab}	46,66 ± 3,21 ^b
P ₂	35,00 ± 1,00 ^{ab}	54,66 ± 2,08 ^c
P ₃	37,33 ± 0,57 ^b	56,66 ± 2,51 ^c

Berdasarkan Tabel 1. di atas bahwa rata-rata aktivitas fagositosis ikan nila setelah perlakuan menunjukkan perlakuan Kp tidak berbeda nyata terhadap perlakuan P₁ dan P₂ sedangkan antara Kp dan P₃ berbeda nyata, hal ini disebabkan dosis Kandungan zat dalam buah mengkudu yang diindikasikan mampu menstimulasi peningkatan aktivitas fagositosis adalah senyawa polisakarida, dalam buah mengkudu

pemberian tepung buah mengkudu pada perlakuan P₃ lebih besar dari perlakuan P₁ dan P₂, selain itu keadaan fisiologis ikan masih belum terganggu karena belum diinfeksi bakteri *S.iniae*.

polisakarida berperan sebagai modulator dan stimulator sistem pertahanan tubuh dalam melawan invasi agen asing yang masuk kedalam tubuh (Utomo *et al*, 2006).



Gambar 1. Aktivitas fagositosis ikan nila yang diberi pakan tepung buah mengkudu (*Morinda cytrifolia*) yang diinfeksi *S. iniae*, 1. Sel monosit, 2. pelekatan, 3. Aktivitas membran, 4.permulaan fagositosis, 5. penghancuran, dan 6. Pelepasan dan mengeluarkan hasil fagositosis.

Proses fagositosis dilakukan dengan cara mendekati partikel asing dan mengeluarkan pseudopodi kesegala arah sekitar partikel (rangsangan kimiawi eksternal), satu neutrofil dapat memfagosit 5–20

bakteri sebelum kemudian menjadi tidak aktif lagi (Tizard, 1982 *dalam* Suhermanto *et al*, 2013).

Perhitungan Eritrosit

Pemeriksaan total eritrosit bertujuan untuk melihat kesehatan ikan apakah

ikan sedang mengalami stres ataupun kondisi ikan normal setelah diinfeksi dengan bakteri *S. iniae*. (Tabel 2)

Tabel 2. Rata-rata total eritrosit ikan nila setelah perlakuan dan setelah infeksi bakteri *S. iniae*.

Perlakuan	Total Eritrosit ($\times 10^6 / \text{mm}^3$)	
	Setelah perlakuan \pm SD	Setelah Infeksi \pm SD
Kn	1,23 \pm 0,02 ^a	*1,23 \pm 0,02 ^a
Kp	1,18 \pm 0,01 ^a	1,45 \pm 0,06 ^a
P ₁	1,45 \pm 0,06 ^b	2,04 \pm 0,23 ^b
P ₂	1,55 \pm 0,06 ^b	2,11 \pm 0,07 ^b
P ₃	1,55 \pm 0,09 ^b	2,20 \pm 0,12 ^b

Setelah dilakukan analisis variansi (ANOVA) menunjukkan ikan nila yang diberi pakan mengandung tepung buah mengkudu setelah 30 hari perlakuan menunjukkan pengaruh yang nyata ($P < 0.05$) dimana perlakuan Kn dan

Menurut Patria (2013) jumlah eritrosit dalam darah dipengaruhi oleh banyaknya jumlah mikromineral dan vitamin yang dikonsumsi. Banyaknya jumlah mikromineral zat besi (Fe) yang dikonsumsi dapat meningkatkan jumlah eritrosit, hal ini disebabkan pembentukan eritrosit terjadi ketika zat besi berinteraksi

Kp tidak berbeda nyata dan berbeda nyata terhadap P₁, P₂, dan P₃. Sedangkan perlakuan P₁, P₂ dan P₃ tidak berbeda nyata. Hasil statistik setelah infeksi analisis variansi hasil memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0.05$).

dengan vitamin A. Menurut Bestari (2005) bahwa sari buah mengkudu mengandung vitamin A, vitamin C dan sejumlah mineral (kalium, natrium, kalsium, zat besi), sehingga mengkudu berfungsi dalam meningkatkan jumlah eritrosit. Hasil selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

Perhitungan Kadar Hemoglobin

Tabel 3. Rata-rata kadar hemoglobin pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*)

Perlakuan	Hemoglobin g%	
	Setelah Perlakuan \pm SD	Setelah diinfeksi \pm SD
Kn	5,20 \pm 0,20 ^a	*5,20 \pm 0,20 ^a
Kp	4,66 \pm 0,41 ^{ab}	5,00 \pm 0,20 ^a
P ₁	5,93 \pm 0,30 ^{ab}	5,86 \pm 0,41 ^{ab}
P ₂	5,06 \pm 0,11 ^b	6,33 \pm 0,30 ^b
P ₃	5,66 \pm 0,57 ^b	6,13 \pm 0,64 ^b

Peningkatan hemoglobin pada ikan dapat disebabkan oleh aktivitas flavonoid dalam kandungan

senyawa aktif tanaman. Aktivitas flavonoid dapat meningkatkan kerja organ-organ penghasil darah

sehingga produksi darah meningkat (Wahjuningrum *et al.*, 2008). Selain flafonoid zat lain yang terkandung dalam buah mengkudu adalah dapat membantu dalam memperbaiki dan mengaktifkan hemoglobin yang rusak (Heinicke, 1985 *dalam* Wang, 2002).

Pengukuran kualitas air selama penelitian dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada awal, pertengahan dan akhir penelitian.

xeronine, dalam mengkudu berfungsi dalam memperbaiki dan mengaktifkan molekul protein yang rusak.

Kualitas Air Selama Penelitian

Parameter yang diamati adalah pH, suhu, DO dan Ammoniak (NH₃), Tabel 4.

Tabel 4. Parameter Kualitas Air Selama Penelitian

Perlakuan	Parameter			
	Suhu (°C)	Do (mg/L)	pH	Amoniak (mg/L)
Kn	27-28	3,9-4,3	6-7	0,02-0,07
Kp	25-28	4,0-4,2	6-7	0,02-0,08
P ₁	27-28	4,0-4,4	6-7	0,03-0,05
P ₂	25-28	3,9-4,2	6-7	0,02-0,06
P ₃	27-28	4,0-4,6	6-7	0,02-0,04

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dosis terbaik dari tepung buah megkudu yang diberikan pada ikan nila selama 45 hari dan diinfeksi *S.iniae* adalah perlakuan P₂ (6 g/kg pakan) memberikan pengaruh terbaik pada ikan uji, yang di tandai dengan peningkatan total aktivitas fagositosis meningkat sebanyak 56% (dari 35% menjadi 54,66 %), kadar hemoglobin tertinggi terdapat pada perlakuan P₂ meningkat sebanyak

24% (dari 5,06 g% menjadi 6,33 g%), dan total eritrosit terbaik pada P₃ meningkat sebanyak 41 % (dari 1,55 x10⁶ sel / mm³ menjadi 2,20 x10⁶ sel / mm³),

Saran

Diharapkan penelitian lebih lanjut untuk melihat gambaran histopatologi ikan nila setelah dipelihara yang diberi pakan megandung tepung buah mengkudu dan setelah diinfeksi dengan bakteri *S.iniae*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin, M. 1999. Peran Imunostimulan (Lipoolisakarida, Saccaromyces, Cerevisiae Dan Levamisol) Pada Gambaran Imunitas Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*). Kertas Kaeya, Program Pasca Sarjana IPB. Bogor, 48 Hlm (Tidak Diterbitkan).
- Djauhariya, E. 2003. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Tanaman Obat Potensial, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. J. Perkembangan Teknologi TROL, Vol. XV, No. 1, p. 21.
- Suhermanto, A, Andayani, S., Maftuch. 2013. Pengaruh Total Fenol Teripang Pasis (*Holothuria scabra*) Terhadap Respon Imun Non Spesifik Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Bumi Lestari*.13(2):225-233.
- Supriyadi, H. dan L. Gardenia. 2010. Streptococcosis Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Budi Daya di Danau Maninjau. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*: hlm 905-910.
- Yuhana, S.A, R. Kusdarwati, D.K. Meles. 2011. Daya Ati Bakteri Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap Bakteri *Streptococcus iniae* Secara In Vitro. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Air Langga. Surabaya.
- Wahjuningrum, D, N. Ashry, Dan S. Nuryati. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia gattapa*) Untuk Pencegahan dan Pengobatan Ikan Patin (*Pangasionodon hypophthalmus*) yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*.7(1):79-94.