

**PERANAN IMUNOSTIMULAN AKAR KUNING *Arcangelisia flava* Merr  
PADA GAMBARAN AKTIVASI SISTEM IMUN  
IKAN MAS (*Cyprinus carpio* L)**

***The Role of Immunostimulan Yellow Roots *Arcangelisia flava* Merr in Image  
System Immunification Description Common Carp (*Cyprinus Carpio* L)***

Maryani\*, Rosdiana

Fakultas Pertanian, Universitas Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia

\*Korespondensi email : maryani@fish.upr.ac.id

**ABSTRACT**

*One way to improve the quality of seeds from cultured fish is to increase the immune response so it is immune to disease. This study aims to improve the non-specific immune response of goldfish by administering the optimum dose of Yellow Root extract. The treatment given is the different dose of *Arcangelisia flava* Merr. Extract, where the difference in dosage is as follows: A = dose of 0 gr / kg of feed, B = dose of 2.5 gr / kg of feed, C = dose of 5.0 gr / kg of feed, D = dose 7.5 gr / kg of feed, and E = dose 10.0 gr / kg of feed. The main parameters observed were examination of Hb, He, total erythrocytes, total leukocytes, percentage of neutrophils, monocytes, lymphocytes, and survival rate (SR). Blood sampling during the study was carried out twice, namely the first blood draw was carried out on the 14th day after being given a yellow root extract, and the second blood drawn on the 30th day after being given a yellow root extract and infected with *A. hydrophila* bacteria. The results showed that the use of *Arcangelisia flava* Merr. as immunostimulant affects the number of Hb, He, total erythrocytes, total leukocytes, percentage of neutrophils, monocytes, lymphocytes and survival rate of *Cyprinus carpio* L infected by *Aeromonas hydrophila*.*

**Keywords:** *Aeromonas hydrophila*, yellow root, carp, immunostimulant

**PENDAHULUAN**

Di Indonesia, beberapa kali wabah penyakit dengan mortalitas yang tinggi menyerang pada ikan-ikan budidaya; misalnya pada tahun 1980-an wabah penyakit Bercak Merah yang diakibatkan oleh serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas, tawes dan patin terutama di Jawa Barat. Pengendalian perluasan penyakit harus dilakukan sedini mungkin, agar tidak

terjadi kerugian ekonomi. Upaya pengendalian dapat dilakukan dengan pemakain bahan kimia. Namun pemakaian bahan kimia untuk jangka panjang dapat menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan perairan, menimbulkan resistensi patogen dan residu antibiotik yang berdampak pada kesehatan konsumen dan pemasaran. Untuk menghindari hal itu, pengembangan ketahanan tubuh dengan

imunostimulan yang ramah lingkungan merupakan pilihan yang tepat.

Penggunaan tanaman obat atau fitofarmaka merupakan solusi yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut. Fitofarmaka atau tanaman obat adalah obat alamiah yang bahan bakunya disarikan dari tanaman untuk digunakan dalam pengobatan (Anonimus, 2004). Akar Kuning *Arcangelisia flava* Merr sebagai tanaman obat khas Kalimantan Tengah diketahui mengandung bahan aktif alami (fito-kimia) berupa alkaloid. Alkaloid bekerja di dalam tubuh sebagai antioksidan dan memiliki peran besar dalam proses pertahanan tubuh (Restu *et al.*, (2007). Selanjutnya Mandia *et al.*, (1999) mengatakan Akar Kuning *Arcangelisia flava* Merr mengandung bahan aktif alami yang disebut sebagai alkaloid yang dapat merangsang ketahanan tubuh ikan serta dapat meningkatkan kekebalan terhadap penyakit. Selain meningkatkan ketahanan tubuh, Akar Kuning *Arcangelisia flava* Merr juga dapat digunakan sebagai antiseptik.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas ekstrak Akar Kuning *Arcangelisia flava* Merr yang diberikan lewat pakan ikan

komersil untuk pencegahan penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) yang ditinjau dari kelangsungan hidup dan hematologi ikan mas (*Cyprinus carpio* L.).

## METODE

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Juli - Oktober 2019 yang bertempat di Laboratorium Kesehatan Ikan, Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Palangka Raya. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak *Arcangelisia flava* Merr, ikan mas (*Cyprinus carpio*) ukuran 8-12 cm, isolat bakteri *A. hydrophila*, alkohol, TSA, TSB, dan GSP, EDTA, HCl, larutan PBS, hayem, dan pellet komersil. Adapun peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain; wadah, tabung eppendof, mikropipet, timbangan analitik, tabung reaksi, cawan petri, autoclave, inkubator, syringe, mikroskop binokuler, haemositometer, object dan cover glass, DO-meter, pH-meter, spektrofotometer.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor dengan lima taraf perlakuan. Untuk mengurangi

tingkat kekeliruan maka dilakukan ulangan sebanyak tiga kali. Dosis akar kuning sebagai perlakuan terdiri dari A=0; B=2,5; C=5; D=7,5; E=10 g/kg pakan. Akar kuning sebagai perlakuan diberikan pada ikan setelah sebelumnya dicampurkan ke dalam pakan pellet.

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan mas (*Cyprinus carpio*) berukuran 25-40 gram. Ikan uji dipelihara dengan kepadatan 25 ekor dalam wadah berisi 90 l air. Selama masa aklimatisasi dan selama penelitian, ikan diberi pakan pellet komersil berkadar protein 30-40% ad libitum diberikan dengan 3 kali pemberian (pagi, siang dan sore hari). Penyiponan akuarium dilakukan setiap pagi hari dan dilakukan penambahan air sampai setinggi air semula.

### **Prosedur Penelitian**

#### **Persiapan Wadah dan Ikan Uji**

Wadah yang digunakan dalam penelitian ini adalah wadah bervolume 16 L. Wadah pemeliharaan dicuci dengan bersih dan dibilas serta diisi dengan air. Kemudian dimasukkan kalium permanganat ( $\text{KMnO}_4$ ) 25 ppm ke dalam wadah pemeliharaan dan diaerasi kuat selama 24 jam agar wadah pemeliharaan bebas dari patogen,

kemudian dibilas dan dikeringkan selama 1 hari (Asniatih, 2013).

#### **Penyediaan Biakan Bakteri *E. tarda***

Biakan bakteri *A. hydrophila* yang digunakan untuk uji tantang berasal dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Mandiangin Kabupaten Banjar Kalimantan Selatan. Biakan bakteri sebelum digunakan diisolasi pada media agar *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA) yang telah disterilkan menggunakan *autoclave*. Isolat bakteri *A. hydrophila* yang berasal dari biakan kemudian diambil menggunakan jarum ose dan selanjutnya dimasukkan ke dalam media agar dengan membentuk pola. Isolat bakteri pada media agar BHIA kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Sebelum digunakan untuk uji tantang, bakteri *A. hydrophila* ditingkatkan virulensinya dengan melakukan uji LD50 yaitu diinjeksi secara intramuskular dengan konsentrasi:  $10^9$ ,  $10^8$ ,  $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^5$ , dan  $10^4$  CFU/mL. Pengujian LD50 menunjukkan konsentrasi bakteri *A. hydrophila* yang digunakan untuk menginfeksi ikan mas adalah  $10^7$  CFU/mL sebanyak 0,1 mL/ekor.

### **Persiapan pakan uji**

Akar kuning sebagai perlakuan diberikan pada ikan setelah dicampurkan terlebih dahulu ke dalam pakan pelet. Persiapan perlakuan dikerjakan dengan cara pertama-tama akar kuning dicuci kemudian dipotong kecil-kecil dan selanjutnya dijadikan tepung dengan menggunakan blender dan disaring dengan saringan halus. Akar kuning yang sudah dalam bentuk tepung selanjutnya dicampurkan ke dalam pakan dengan cara ditimbang sesuai dosis yang diperlukan dengan menggunakan timbangan digital berketelitian 0,01 g. Akar kuning yang sudah ditimbang dilarutkan dalam sedikit air (100 ml untuk pembuatan 1 kg pakan) kemudian tambahkan ke dalam pakan pelet dengan cara disemprotkan dengan menggunakan sprayer. Pencampuran larutan akar kuning dilakukan sedemikian rupa agar tercampur secara merata pada pakan. Pakan yang sudah ditambahkan akar kuning selanjutnya dikering-anginkan dalam temperatur ruang dan setelah kering dimasukkan dalam kotak plastik atau kantong plastik dan disimpan dalam lemari pendingin sampai saat akan digunakan.

### **Pemeliharaan Ikan Uji**

Ikan mas (*Cyprinus carpio*) berukuran 8-12 cm terlebih dahulu diadaptasikan selama 5 hari di dalam bak fiber, selama adaptasi ikan diberi pakan tanpa perlakuan dengan frekuensi pemberian 3 kali sehari (pagi, siang dan sore) secara ad libitum. Ikan uji sebelum dimasukkan ke dalam wadah penelitian, terlebih dahulu ditimbang bobot tubuhnya dengan menggunakan timbangan analitik dan diukur panjang tubuhnya dengan menggunakan penggaris. Kemudian ikan dimasukkan ke dalam wadah penelitian dengan padat tebar 1 ekor/2 L air.

### **Pemeriksaan Parameter Penelitian**

Pengambilan darah selama penelitian, dilakukan sebanyak dua kali, yaitu pengambilan darah yang pertama dilakukan pada hari ke-14 setelah diberi ekstrak akar kuning, dan pengambilan darah kedua pada hari ke-30 setelah diberi ekstrak akar kuning dan diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Pengambilan darah dilakukan dengan cara alat suntik dan tabung eppendorf dibilas dengan dengan antikoagulan Natsitrat 3,8 %. Darah ikan diambil dengan menggunakan syringe 1 ml yang ditusukkan sampai tulang vertebrae dimana terdapat vena caudalis. Darah

didiamkan mengalir secara kapiler lalu dihisap dengan ditarik secara perlahan. Darah yang telah diambil, dimasukkan ke dalam tabung eppendorf untuk segera diamati gambaran darahnya.

### Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian meliputi data kelangsungan hidup ikan dan hematologi ikan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisa variansi (ANOVA) dan uji rentang Student Newman-Keuls.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

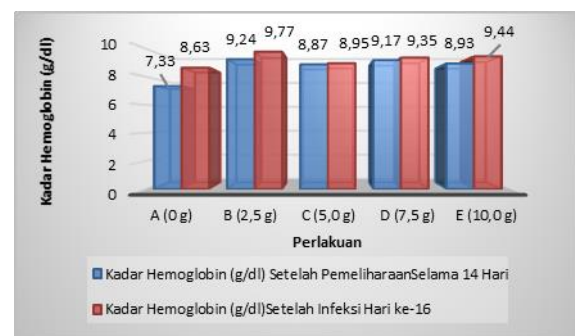
Untuk menjelaskan lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian imunostimulan yeast instant dapat dilihat dari parameter sistem imun ikan mas yaitu : hemaglobin, hematokrit, eritrosit total, leukosit total dan differensial leukosit (limfosit, monosit dan neutrophil).

### Hematologi Ikan Mas

#### 1. Kadar Hemoglobin (Hb)

Rata-rata kadar hemoglobin ikan mas setelah pemeliharaan selama 14 hari dengan pemberian imunostimulan menggunakan ekstrak akar kuning berkisar antara 7,33-9,24 g/dl,

sedangkan pasca uji tantangan dengan *A. hydrophila* kadar hemoglobin ikan mas berkisar antara 8,63-9,77 g/dl. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Svobodova & Vyukusova (1991) menunjukkan hasil kadar hemoglobin yang diperoleh untuk ikan mas adalah 6 -10 g% (gram/100cc darah). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Histogram Hemoglobin Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diberi Perlakuan *Arcangelisia flava* Merr. Selama Penelitian

Berdasarkan gambar 1, dapat diketahui bahwa kadar hemoglobin pada ikan mas mengalami peningkatan setelah penginfeksian dengan *A. hydrophila* pada tiap perlakuan kecuali pada perlakuan A (0 g) yang mengalami penurunan. Penentuan kadar hematokrit dan hemoglobin dalam cairan darah berguna untuk melihat kesehatan ikan serta hubungan antara darah dan hormon pada ikan.

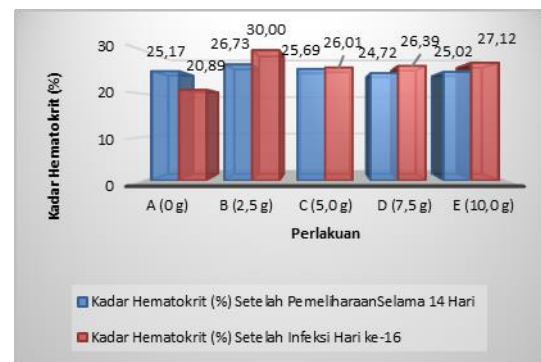
B. Blaxhall (1973) mengatakan bahwa kadar hemoglobin yang rendah merupakan indikator bahwa ikan terkena anemia. Ikan yang mengalami anemia tidak mampu menyerap besi dalam jumlah yang cukup untuk membentuk hemoglobin. Pada kondisi ini maka akan terbentuk sel darah merah yang mengandung hemoglobin dalam jumlah yang sedikit. Menurut Fujaya (2004), ada korelasi yang kuat antara hemoglobin, sel darah merah dan hematokrit, semakin rendah jumlah sel-sel darah merah, maka semakin rendah pula kandungan hemoglobin dalam darah.

**2. Kadar Hematokrit (Hc)**

Persentase hematokrit berguna untuk melihat kondisi kesehatan ikan yaitu dengan melihat persentase volume eritrosit. Rata-rata kadar hematokrit ikan mas setelah pemeliharaan selama 14 hari dengan pemberian imunostimulan menggunakan ekstrak akar kuning berkisar antara 24,72-26,73%, sedangkan pasca uji tantang dengan *A. hydrophila* kadar hematokrit ikan mas berkisar antara 20,89-30,00%. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 2.

Berdasarkan gambar 2 dapat dilihat bahwa setelah penginfeksi

dengan *A. hydrophila* terhadap ikan mas, maka kadar hematokrit meningkat pada semua perlakuan kecuali pada perlakuan A (0 g). Penurunan kadar hematokrit pada perlakuan A diduga karena menurunnya jumlah eritrosit dalam darah dan akan diikuti oleh penurunan kadar hematokrit.



Gambar 2. Histogram hematokrit ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diberi perlakuan *Arcangelisia flava* Merr. selama penelitian

Fujaya (2004) menyatakan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara hematokrit dan jumlah hemoglobin darah, dimana semakin rendah jumlah sel-sel darah merah maka semakin rendah pula kandungan hemoglobin dalam darah. Angka (2005) menyatakan bahwa hematokrit ikan bervariasi tergantung pada faktor nutrisi dan umur ikan. Kisaran kadar hematokrit ikan adalah 20-30% (Bond 1979). Kadar hematokrit ikan mas selama penelitian berada pada kisaran yang normal. Hal ini menunjukkan

bahwa pemberian imunostimulan akar kuning dalam pakan memberikan pengaruh yang baik terhadap hematokrit darah ikan mas.

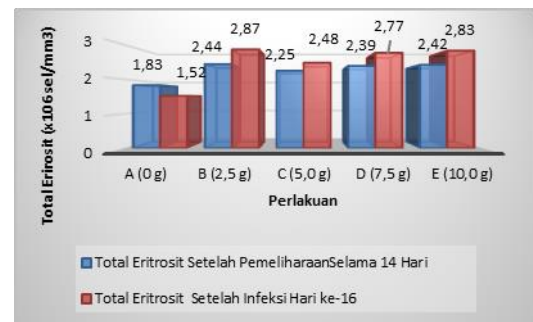
### Total Eritrosit (Sel Darah Merah)

Eritrosit ikan mempunyai inti, umumnya berbentuk bulat dan oval tergantung jenis ikannya. Inti sel eritrosit terletak sentral dengan sitoplasma terlihat jernih kebiruan dengan pewarnaan giemsa (Chinabut *et al.* 1991). Pengukuran total eritrosit dilakukan untuk melihat perubahan total eritrosit yang terjadi setelah dilakukan pemberian imunostimulan dengan ekstrak akar kuning dan setelah diinfeksi dengan *A. hydrophila*.

Rata-rata total eritrosit ikan mas setelah pemeliharaan selama 14 hari dengan menggunakan ekstrak akar kuning berkisar antara 1,83-2,44 ( $\times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>), sedangkan pasca uji tantang dengan *A. hydrophila* total eritrosit ikan mas berkisar antara 1,52-2,87 ( $\times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>). Jumlah eritrosit total selama pemberian akar kuning dalam pakan masih berada pada kisaran normal. Ketika nilai eritrosit berada dalam kisaran normal, hal ini menunjukkan bahwa pemberian imunostimulan akar kuning pada perlakuan tidak mengganggu kesehatan ikan namun

diduga dapat meningkatkan status kesehatan ikan mas.

Gambar 3. Histogram Total Eritrosit



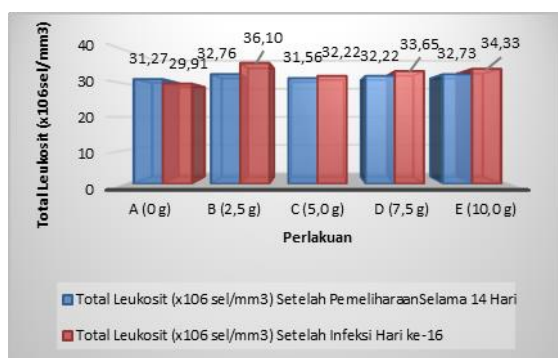
Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diberi Perlakuan *Arcangelisia flava* Merr. Selama Penelitian

### Total Leukosit (Sel Darah Putih)

Leukosit ikan terdiri dari granulosit dan agranulosit. Granulosit terdiri dari limfosit, monosit dan trombosit sedangkan agranulosit terdiri dari basofil, netrofil dan eosinofil (Lagler *et al.* 1977). Leukosit ikan merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh yang bersifat nonspesifik.

Rata-rata total leukosit ikan mas setelah pemeliharaan selama 14 hari dengan perendaman menggunakan

ekstrak akar kuning berkisar antara 31,27-32,76 ( $\times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>), sedangkan pasca uji tantang dengan *A. hydrophila* total leukosit ikan mas berkisar antara 29,91-36,10 ( $\times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>).



Gambar 4. Histogram total leukosit ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diberi perlakuan *Arcangelisia flava* Merr. selama penelitian

Hal ini menunjukkan bahwa dosis yang diberikan pada perlakuan E merupakan dosis yang tepat sehingga senyawa imunostimulan yang terkandung dalam ekstrak, dapat menstimulasi sistem imun pada tubuh ikan dengan baik.

Leukosit bertanggung jawab terhadap sistem imun tubuh dan bertugas untuk memusnahkan benda-benda yang dianggap asing dan berbahaya oleh tubuh misal virus dan bakteri. Berdasarkan hasil pengamatan selama penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah leukosit pada perlakuan yang diberikan imunostimulan akar kuning, mengindikasikan bahwa akar kuning yang diberikan melalui pakan mampu meningkatkan jumlah leukosit yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh

ikan mas sehingga sistem kekebalan tubuh ikan mas juga dapat meningkat.

### Diferensial Leukosit

Diferensial leukosit merupakan suatu nilai yang menggambarkan perbandingan jumlah sel leukosit (limfosit, netrofil, dan monosit) dengan jumlah seluruh sel darah putih.

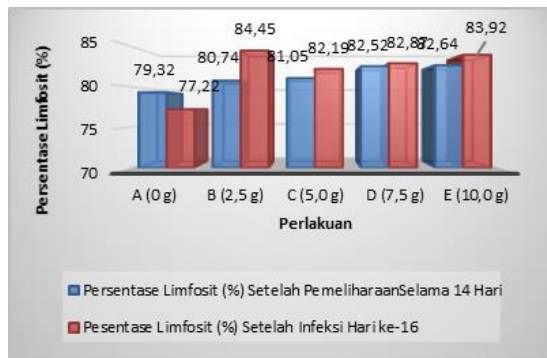
#### a. Persentase Limfosit

Limfosit merupakan proporsi sel darah putih terbanyak (Takashima & Hibiya, 1995). Secara morfologi, limfosit berupa sel darah kecil dengan nukleus yang besar (menempati bagian terbesar dari sel) tidak bergranula dan dikelilingi sejumlah kecil sitoplasma (Chinabut *et al.*, 1991). Berdasarkan hasil presentase jumlah limfosit yang teramati selama penelitian seperti disajikan pada Tabel 5 menunjukkan bahwa persentase jumlah limfosit ini meningkat untuk semua perlakuan kecuali pada perlakuan A (0 g). Persentase limfosit menurut Svobodova dan Vyukusova (1991) adalah 76 –97,5 % dari total leukosit.

Rata-rata persentase limfosit ikan mas setelah pemeliharaan selama 14 hari dengan perendaman menggunakan ekstrak akar kuning berkisar antara 79,32-86,52 ( $\times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>), sedangkan pasca uji tantang dengan *A. hydrophila* persentase



limfosit ikan mas berkisar antara 77,22-84,45 ( $\times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>).



Gambar 5. Histogram persentase limfosit ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diberi perlakuan *Arcangelisia flava* Merr. selama penelitian

Data pada Gambar 5, menunjukkan bahwa jumlah limfosit pada perlakuan A, B, C, D dan E terus meningkat dan menurun pada perlakuan F. Peningkatan jumlah limfosit tertinggi pada perlakuan E = 21,75 %, dan terendah pada perlakuan F = 16,50%.

Peningkatan prosentase limfosit merupakan refleksi keberhasilan sistem imunitas ikan dalam mengembangkan respon imunitas seluler (non spesifik) sebagai pemicu untuk respon kekebalan. Pada dasarnya sel limfosit terdiri dari dua populasi : sel B dan sel T. Sel B mempunyai kemampuan untuk bertransformasi

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa terjadinya peningkatan persentase limfosit pada semua perlakuan yang

diberikan imunostimulan akar kuning, kecuali pada perlakuan A (0 g) terjadi penurunan persentase limfosit, hal ini mengindikasikan bahwa ikan memberi respon tanggap kebal terhadap adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Peningkatan persentase limfosit tersebut terkait dengan peran sel limfosit sebagai sel pertahanan tubuh Pada dasarnya sel limfosit terdiri dari dua populasi : sel B dan sel T. Sel B mempunyai kemampuan untuk bertransformasi menjadi sel plasma yaitu sel yang memproduksi antibodi. Sedangkan sel T sangat berperan dalam kekebalan berperantara sel (sel T sitotoksik) dan mengontrol respon imun (sel T supresor). Limfosit yang teraktivasi akan berdiferensiasi dari sel kognitif yang mengenal antigen menjadi sel efektor yang berfungsi menyingkirkan anti gen menjadi sel efektor yang berfungsi menyingkirkan antigen (Kresno, 2001). Setelah terjadi pengikatan antigen dengan reseptor antigen sel limfosit, maka sel limfosit akan membelah dan berdiferensiasi menjadi sel efektor dan sel memori (Tizard, 1988). Sel T-sitolitik yang berdiferensiasi mempunyai granula sitoplasmik lebih banyak yang mengandung protein yang berfungsi melisiskan sasaran. Limfosit B berdiferensiasi menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi (Kresno, 2001).

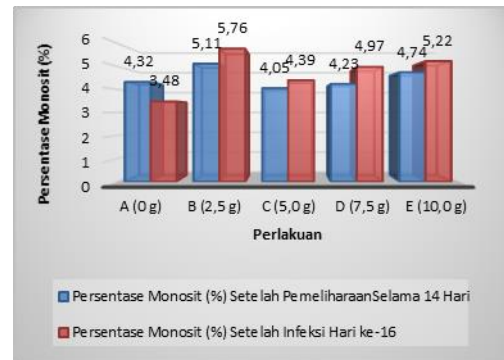
**b. Monosit**

Monosit ikan berbentuk bulat atau oval, intinya terletak di tengah sel dengan sitoplasmanya tidak bergranula (Takashima & Hibiya, 1995). Monosit mampu masuk ke jaringan dan berdeferensiasi menjadi makrofag. Peran monosit sangat penting sebagai sel fagosit utama dalam menghancurkan berbagai patogen yang menyerang dan berperan pula sebagai antigen presenting cells (APC) yang berfungsi untuk menyajikan antigen kepada sel limfosit (Kresno, 2001 ; Kollner *et al*, 2002). Monosit dihasilkan dari jaringan haemopoietik dalam ginjal yang siap untuk melakukan fungsinya dalam jaringan, kisaran jumlah monosit sebesar 3 -5 % dari jumlah leukosit (Svobodova & Vyukusova, 1991).

Rata-rata persentase monosit ikan mas setelah pemeliharaan selama 14 hari dengan pemberian imunostimulan menggunakan ekstrak akar kuning berkisar antara 4,05-5,11 (%), sedangkan pasca uji tantang dengan *A. hydrophila* persentase monosit ikan mas berkisar antara 3,48-5,76 (%). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 6.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa terjadinya peningkatan persentase monosit pada semua perlakuan yang diberikan imunostimulan akar kuning,

kecuali pada perlakuan A (0 g) terjadi penurunan persentase monosit.



Gambar 6. Histogram persentase monosit ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diberi perlakuan *Arcangelisia flava* Merr. selama penelitian

Menurut Fujaya (2004), monosit merupakan sel yang lebih kuat dalam memfagosit partikel atau antigen dibandingkan dengan neutrofil. Monosit yang berdiferensiasi menjadi makrofag di jaringan bahkan mampu memfagosit partikel yang berukuran besar dalam jumlah yang banyak hingga 100 bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase jumlah monosit meningkat dengan persentase tertinggi yaitu pada perlakuan B (5,0 g) sebesar 5,76 ± 2,54%. Ketika terjadi infeksi, terjadi alih fungsi yaitu respon imun yang bekerja terlebih dahulu adalah respon imun non spesifik berupa aktivitas fagositosis yang dilakukan oleh monosit dan neutrofil (Iwama, 1996).

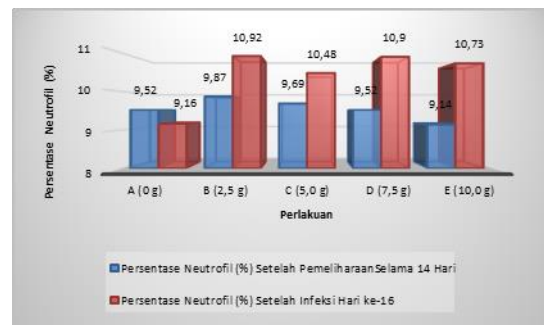
**c. Neutrofil**

Netrofil berbentuk bulat dengan inti dapat memenuhi sebagian ruang sitoplasma dan terdapat granula dalam sitiplasmanya (Chinabut *et al.*, 1991). Selain neutrofil terkadang dapat pula ditemukan granulosit lainnya yakni basofil dan eosinofil (Ferguson, 1989). Seperti halnya monosit, sel neutrofil berperan pula dalam respon non spesifik dengan melakukan fagositosis untuk menyingkirkan mikroorganisme patogen yang menyerang (Kresno, 2001 ; Kollner *et al.*, 2002). Jumlah neutrofil berkisar antara 2 –10 % dari total leukosit (Svobodova & Vyukusova, 1991).

Rata-rata persentase neutrofil ikan mas setelah pemeliharaan selama 14 hari dengan pemberian imunostimulan menggunakan ekstrak akar kuning berkisar antara 9,14-9,87 (%), sedangkan pasca uji tantang dengan *A. hydrophila* persentase monosit ikan mas berkisar antara 9,16-10,92 (%). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 7.

Persentase neutrofil cenderung meningkat selama uji tantang. Menurut Delman dan Brown (1989), umumnya jumlah neutrofil meningkat pada saat terjadi penyakit bakteri karena neutrofil keluar dari pembuluh darah menuju daerah infeksi. Fungsi utama neutrofil adalah

penghancuran bahan asing melalui proses fagositik. Proses fagositosis yaitu kemotaksis, perlekatan partikel pada sel, penelanan partikel oleh sel dan penghancuran partikel oleh enzim lisosom di dalam fagosom (Tizard, 1989). Keluarnya neutrofil dari pembuluh darah pada saat terjadinya infeksi disebabkan karena adanya pengaruh rangsangan kimiawi eksternal atau kemotaksis (Misra *et al.*, 2006).



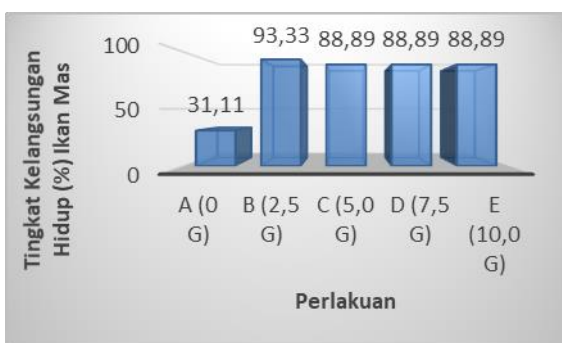
Gambar 7. Histogram persentase neutrofil ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diberi perlakuan *Arcangelisia flava* Merr. selama penelitian

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa persentase jumlah neutrofil terjadi peningkatan untuk semua perlakuan kecuali pada perlakuan A (0 g). Baratawidjaja (2006) menyatakan, sel neutrofil hanya berada dalam sirkulasi kurang dari 48 jam sebelum bermigrasi dan berpindah sangat cepat ke daerah infeksi. Dibawah kondisi normal populasi neutrofil disimpan untuk keadaan darurat di dalam

jaringan limfoid dari ginjal. Ketika terjadi rangsangan sebagai akibat peradangan atau inflamasi, sel akan bermigrasi ke dalam aliran darah dan kemudian masuk ke dalam luka inflamasi. Kemudian bakteri patogen akan difagosit oleh sel tersebut lalu dimasukkan dalam fagosom yang didalamnya terdapat enzim hidrolase asam, mieloperoksidase dan lisozim yang akan melisis dan mencerna sel bakteri patogen. Iwama (1996), menyatakan bahwa ketika awal terjadi serangan bakteri patogen, sel yang pertama kali sampai pada daerah infeksi adalah neutrofil. Neutrofil bergerak lebih cepat dibandingkan dengan monosit dan dapat sampai di daerah infeksi dalam waktu 2-4 jam.

**Kelangsungan Hidup Ikan Mas**

Data penghitungan kelangsungan hidup ikan nila dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Histogram persentase kelangsungan hidup ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diberi perlakuan *Arcangelisia flava* Merr. selama penelitian

Data pada Gambar 8, menunjukkan bahwa kelangsungan hidup pada perlakuan B lebih tinggi yakni 93,33% dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Kelangsungan hidup terendah terjadi pada perlakuan A (0 g) yakni 31,11%.

Rendahnya kelangsungan hidup pada perlakuan A (kontrol) disebabkan ikan mas tidak diberi perlakuan ekstrak *Arcangelisia flava* Merr. sehingga tidak tahan terhadap serangan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hal ini memperlihatkan bahwa ekstrak *Arcangelisia flava* Merr. mengandung senyawa yang berfungsi sebagai imunostimulan yang dapat menginduksi ketahanan tubuh terhadap serangan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Menurut Maryani et al., (2013) *Arcangelisia flava* Merr terdeteksi mengandung senyawa metabolit sekunder yakni alkaloid, saponin, terpenoid dan flavonoid. Menurut Anderson (1992), steroid, flavonoid, fenol, dan tanin tergolong paraimunitas yang bekerja sebagai mitogen, yang dapat mengaktivasi sel pertahanan seluler. Perlakuan B merupakan konsentrasi terbaik dengan kelangsungan hidup 93,33%. Hal ini diduga senyawa immunostimulator sudah mencapai titik optimal dalam meningkatkan imunitas ikan

nila karena adanya senyawa-senyawa metabolit sekunder yang dikandung ekstrak akar kuning untuk melawan serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* yang ditandai pada hasil presentasi jumlah sel darah putih tertinggi di antara perlakuan lain. Senyawa-senyawa tersebut diantaranya adalah flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, glikosida dan steroid. Flavonoid selain dapat menghambat pertumbuhan bakteri, menghambat produksi enteroksin juga memacu sistem imun (Vieira dalam Dadang 2014). Optimalnya jumlah konsentrasi membuat senyawa-senyawa tersebut bekerja maksimal dalam membuat pertahanan non spesifik benih gurame semakin kuat yang ditandai dengan jumlah sel darah putih yang tinggi setelah diberi perlakuan, sehingga setelah diuji tantang mekanisme pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* menjadi terhambat dan tingkat patogenitas menurun. Dengan maksimalnya kerja immunostimulator menjadikan benih gurame pada perlakuan ini sehat yang ditandai dengan tidak adanya gejala klinis fisik, gerak renang, nafsu makan dan refleksi yang normal sehingga energi yang dikeluarkan oleh benih pada perlakuan ini tidak terlalu besar hanya digunakan untuk melawan serangan bakteri.

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Penggunaan *Arcangelisia flava* Merr. sebagai imunostimulan mempengaruhi jumlah Hb, He, total eritrosit, total leukosit, persentase neutrofil, monosit, limfosit dan tingkat kelangsungan hidup *Cyprinus carpio* L yang terinfeksi oleh *Aeromonas hydrophila*.
2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah Hemoglobin (Hb) tertinggi pada perlakuan B (2,5 gr/kg pakan) 9,77% dan terendah pada perlakuan A (0 gr/kg pakan) 8,63%, jumlah Hematokrit (He) tertinggi pada perlakuan B (2,5 gr/kg pakan) 20,89% dan terendah pada perlakuan A (0 gr/kg pakan) 30,00%, jumlah eritrosit tertinggi pada perlakuan B (2,5 gr/kg pakan)  $2,87 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup> dan terendah pada perlakuan A (0 gr/kg pakan)  $1,52 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>, jumlah leukosit tertinggi pada perlakuan B (2,5 gr/kg pakan)  $36,10 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup> dan terendah pada perlakuan A (0 gr/kg pakan)  $29,91 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>, jumlah limfosit tertinggi pada perlakuan B (2,5 gr/kg pakan) 84,45% dan terendah pada perlakuan A (0 gr/kg pakan) 77,22%, jumlah monosit tertinggi pada perlakuan B (2,5 gr/kg pakan) 5,76 % dan terendah pada perlakuan A (0 gr/kg pakan) 3,48%,

jumlah neutrofil tertinggi pada perlakuan B (2,5 gr/kg pakan) 10,92 % dan terendah pada perlakuan A (0 gr/kg pakan) 9,16%, tingkat kelangsungan hidup tertinggi pada perlakuan B (2,5 gr/kg pakan) 93,33 % dan terendah pada perlakuan A (0 gr/kg pakan) 31,11%.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, D.P. 1992. Immunostimulant, adjuvant and vaccine carrier in fish : Applications to aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases* 21 : 281 – 307.
- Angka, S.L. 2005. *Kajian Penyakit Motile Aeromonad Septicaemia (MAS) pada Ikan Lele Dumbo (Clarias sp.) : Patologi, Pencegahan dan Pengobatannya dengan Fitofarmaka*. Tesis. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Anonim. 2004. *Pedoman Praktikum Penyakit Ikan*. Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta.
- Baratadjaja, K.G. 2006. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 572 hlm.
- Blaxhall, P.C. and Daisley, K. W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal Fish Biology* 5 : 577 – 581.
- Bond, C.E. 1979. *Biology of fishes*. Saunders. Philadelphia: College Publishing. 514 p.
- Chinabut, S., C. Limsuwan and P. Kitsawat. 1991. *Histology of the Walking Catfish (Clarias batrachus)*. Canada: FDRC, , 76p.
- Dadang, D. 2014. *Efektivitas Ekstrak Kipahit Tithonia diversifolia dan Kirinyuh Eupatorium inulaefolium Untuk Pencegahan dan Pengobatan Penyakit Akibat Infeksi Aeromonas hydrophila Pada Ikan Lele Clarias sp. Melalui Pakan*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Delman, H. D., and Brown, E. M. 1989. *Textbook of Veterinary Histology 3<sup>rd</sup> Edition*. Philadelphia: Lea & Febiger,
- Ferguson, H. W., 1989. *Systematic Pathology of Fish*. Ames: Iowa State University Press.. 3-10 hal.
- Fujaya, Y. 2004. *Fisiologi Ikan : Dasar Pengembangan Teknologi Perikanan*. Jakarta : Rineka Cipta. 179 hlm.
- Iwama, G. and Nakanishi, T. 1996. *The Fish Immune System. Organism, Pathogen, and Environment*. California San Diego.. USA: Academic Press.
- Kollner, B. and Kotterba, G., 2002. Temperature dependent activation of leucocyte population of rainbow trout *Onchorinchus mykiss* after intraperitoneal immunization with *Aeromonas salmonicida*. *Journal Fish & Shellfish Immunology*. 12: 35 - 48.
- Kresno, S.B., 2001. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium Edisi IV*. Jakarta: Fakultas Kedokteran, UI Press,.
- Lagler, K.F., Bardach, J.E., Miller, R. R., and Dora, D. P. 1977. *Ichthyology*. New York: John Willey and Sons, Inc.. 505 p.
- Mandia, E. H, Ridsdale, C. E, Horsten, S.F.A.J, Aguinaldo, A.M. 1999. *Arcangelisia flava L.Merr. in Plant Resources of South-East Asia*. Leinden: Backhuys Publisher. No (12)1 : 129 -132.
- Maryani. 2013. The phytochemistry and the anti bacterial activity of yellow root (*Arcangelisia flava* Merr.)

- Against *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Biology and Life Science*. Vol. 4 No. 2. August 2013.
- Misra., C. K., Das, B. K., Mukherjee, S. C., Pattnaik, P. 2006. Effect of Long-Term Administration of Dietary Beta Glukan on Immunity, Growth and Survival of *Labeo rohita* Fingerlings. *Aquakultur* 255: 85-92.
- Restu K.W., Indriati, T., 2007. Penjaringan dan identifikasi senyawa alkaloid dalam batang kayu kuning (*Arcangelisia Flava Merr*). *Jurnal Ilmu Dasar*, Vol. 8 No. 1, 2007 : 24-29
- Rijkers, G.T., Frederix-Wolters, E.M., and Muiswinkel, W.B. van. 1980. The immune system of cyprinids carp. Kinetic and temperature dependence of antibody producing cells in carp (*Cyprinus carpio*). *Immunology*. 41 : 91-97.
- Takashima and Hibiya, T. 1995. *An atlas of fish histologi, Normal and Pathological* Feature Second Edition. Tokyo: Kodansha Ltd., 195p.
- Tizard, I. R. 1988. *Pengantar Immunologi Veteriner*. (Terjemahan). Surabaya: Universitas Air Langga. 497 hal.