

## Efektivitas *Spirulina* sebagai Immunostilulan pada Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal*)

Sorta Basar Ida Simanjuntak<sup>✉1)</sup>, Achmad Maad Wirawidjaja<sup>2)</sup>, Darnas Dana<sup>2)</sup> & Hambali Supriyadi<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Fakultas Biologi Unsoed, Purwokerto

<sup>2)</sup> IPB, Bogor

<sup>3)</sup> Balai Penelitian Penyakit Ikan, Jakarta

### ABSTRACT

**Effectivity of Immunostimulant *Spirulina* to Jambal Catfish (*Pangasius djambal*).** Four kinds of diet with difference doses of *Spirulina* (0 gr.kg<sup>-1</sup> diet; 2 gr.kg<sup>-1</sup> diet; 4 gr.kg<sup>-1</sup> diet and 6 gr.kg<sup>-1</sup> diet) is experimented to jambal catfish (*Pangasius djambal* Bleeker). The aim of research to observed histology lymphoid organs. This research is done during 28 days and challenged by intraperitoneal with *Aeromonas hydrophila*, one of pathogen bacteria on the 29<sup>th</sup>. The lymphoid organs of fish as taken every weeks to observed histology until the 42<sup>nd</sup>. The result showed that difference doses of *Spirulina* influence the histology of lymphoid organs jambal catfish. The dose of *Spirulina* 4 gr.kg<sup>-1</sup> diet is effective to increase the immunity of jambal catfish bodies.

**Key Words :** *Spirulina*, immunostimulant, lymphoid organ, *Aeromonas hydrophila*, jambal catfish

### PENDAHULUAN

*Spirulina* adalah salah satu jenis mikroalga yang termasuk ke dalam famili *Cyanophyceae*, berupa lempengan hijau kebiruan. Dari segi fisiologis, *Spirulina* adalah alga biru-hijau multiseluler yang tumbuh di danau-danau yang bersifat basa yang kaya akan natrium karbonat dan natrium bikarbonat. Warna hijau gelap merupakan kombinasi karoten fitonutrien, klorofil dan fikosianin. *Spirulina* merupakan sumber dari polisakarida yang terdapat pada dinding selnya dan sulfoglikolipid (Henrikson, 2000; Ruane, 2000). Penelitian tentang pakan menunjukkan bahwa *Spirulina* dapat membangun sistem kekebalan humorai dan

seluler. *Spirulina* mempercepat produksi dari sistem kekebalan humorai, (antibodi dan sitokin), juga menghambat proteksi sekeliling invasi kuman. Sistem kekebalan seluler termasuk didalamnya sel-T, makrofag, sel-B dan sel-sel *Natural Killer* anti-kanker. *Spirulina* meregulasi kembali sel-sel dan organ-organ, meningkatkan kemampuannya untuk fungsi dari stres akibat toksin-toksin yang terdapat dalam lingkungan hidupnya dan dari agen-agen penginfeksi (Evets, 1998). Dalam usaha budidaya ikan ada kendala yang dihadapi yaitu masalah penyakit ikan, salah satu penyebabnya adalah bakteri *Aeromonas hydrophila* yang dapat menyebabkan penyakit bakterial. Kerugian yang disebabkan oleh penyakit ini sangat besar,

✉ Fakultas Biologi Unsoed, Purwokerto.

karena infeksinya kronis, akibatnya mortalitasnya dapat mencapai 100%.

Tubuh ikan patin jambal tidak ditutupi oleh sisik dan hanya dilapisi oleh lendir, berakibat mudah terluka oleh sirip ikan, sehingga mudah terserang penyakit termasuk yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri ini dapat ditemukan di semua perairan alam tropik dan merupakan salah satu patogen yang sering menyerang ikan air tawar serta menginfeksi pada semua fase kehidupan ikan (Kabata, 1985). Ikan-ikan yang terinfeksi oleh bakteri ini, akan terjadi perdarahan pada alat-alat dalamnya seperti ginjal, limpa dan hati (Supriyat, 1983).

Untuk itu perlu dilakukan usaha meningkatkan kekebalan tubuh ikan terhadap agen penyakit, yaitu dengan pemberian immunostimulator, misalnya *Spirulina*. Menurut Belay & Ota (1993), bahwa *Spirulina* dapat mempertinggi sistem imun, menurunkan toksisitas dari logam-logam berat dan mempertinggi kekebalan terhadap keracunan, serta memproteksi radiasi. Di Indonesia penggunaan *Spirulina* sebagai immunostimulan pada ikan belum pernah dilakukan, sehingga informasi mengenai dosis yang efektif untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh ikan, baik untuk ikan-ikan lokal maupun untuk ikan-ikan introduksi, belum diketahui. Oleh karena itu, dirasa perlu penelitian untuk mengetahui dosis yang efektif untuk meningkatkan kekebalan tubuh ikan dan gambaran histologis organ lymphoid akibat penambahan *Spirulina* dalam pakan.

## METODE PENELITIAN

### Bahan.

Materi yang digunakan, benih ikan patin jambal (*Pangasius djambal*) dengan ukuran 12 – 14 gram/ ekor sebanyak 420

ekor, bakteri patogen *Aeromonas hydrophila* isolat no. 26 untuk uji tantang, *Spirulina* dalam bentuk bubuk/ tepung, tangki fiber glas berisi air bersih sebanyak 12 buah dimana tiap tangki diisi 25 ekor ikan, akuarium berisi air bersih sebanyak 12 buah dimana tiap akuarium diisi 10 ekor ikan (untuk uji LD<sub>50</sub>), alat-alat sirkulasi, alat-alat dan bahan-bahan untuk pembuatan preparat histologis, pH meter, termometer dan alat pengukur kadar oksigen terlarut.

Sebelum perlakuan, ikan patin terlebih dahulu diaklimasi selama satu minggu di dalam bak penampungan. Semua peralatan yang akan digunakan terlebih dahulu disucikan dengan PK. Ikan dipelihara selama 42 hari, pada hari ke 29 dilakukan uji tantang dengan bakteri patogen *Aeromonas hydrophila* dengan cara menginjeksi ikan patin secara intraperitoneal. Setiap hari dilakukan pembuangan sisa pakan dan penambahan air bersih. Pengamatan kelangsungan hidup dilakukan setiap minggu sampai akhir pemeliharaan.

### Rancangan Percobaan.

Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sebagai rancangan dasarnya. Perlakuan yang dicobakan terdiri dari empat macam pakan dengan komposisi yang berbeda dan tiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

Adapun perlakuan yang dicobakan adalah sebagai berikut :

Kelompok A (kontrol) adalah ikan diberi pakan A (berupa pelet komersial tanpa *Spirulina*)

Kelompok B adalah ikan diberi pakan B (berupa pelet komersial dengan tambahan *Spirulina* 2 gr.kg<sup>-1</sup> pakan)

Kelompok C adalah ikan diberi pakan C (berupa pelet komersial dengan tam-

bahan *Spirulina* 4 gr.kg<sup>-1</sup> pakan) Kelompok D adalah ikan diberi pakan D (berupa pelet komersial dengan tambahan *Spirulina* 6 gr.kg<sup>-1</sup> pakan)

Masing-masing kelompok ikan diberi pakannya selama 28 hari dan pada hari ke-29 (setelah uji tantang) semua kelompok ikan diberi pakan A. Pakan diberikan dua kali sehari sebanyak 5% total populasi.

### **Pengamatan.**

Data hasil pengamatan bersifat non parametrik dan hasil identifikasi dianalisa secara deskriptif. Variabel yang diamati adalah pemeriksaan patofisiologis ikan meliputi pengamatan gejala klinis dan tingkah laku ikan, terutama setelah dilakukan uji tantang dengan bakteri patogen aktif *Aeromonas hydrophila* (kondisi ini diamati setiap hari); pengamatan kelangsungan hidup ikan yang dihitung dari jumlah ikan yang hidup pada akhir penelitian dibagi jumlah ikan mulamula dikali 100% (Efendi, 1979). Organ lymphoid ikan patin diamati sebelum dan setelah uji tantang, dengan mengambil satu ekor ikan dari masing-masing tangki dan dilakukan preparasi organ menurut metode Luna (1986) serta pengamatan gambaran histologis dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokular. Kondisi lingkungan diamati sekali seminggu dengan mengamati pH air, temperatur udara dan air serta kadar oksigen terlarut.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Patofisiologis Ikan**

Dari hasil pengamatan patofisiologis ikan terlihat bahwa pada ikan-ikan kelompok A (kontrol) diinjeksi dengan bakteri patogen *A. hydrophila* secara intraperitoneal, beberapa jam setelah penyuntikan, daerah sekitar luka akan

berwarna merah bahkan sirip punggung dan daerah sekitar tutup insang juga turut berwarna merah, bergerak lamban, selalu berada di dasar perairan atau di permukaan air, tidak nafsu makan dan tak lama ikan-ikan akan mati.

Pasca kematianya ditandai dengan perut ikan menggembung berisi cairan kemerahan, perdarahan pada organ dalam, ginjal rusak, hati dan limpa berwarna lebih pucat.

Suntikan *A. hydrophila* pada ikan-ikan kelompok B setelah lebih dari 24 jam berakibat daerah sekitar bekas injeksi terlihat muncul borok/ luka. Borok ini pada beberapa ekor ikan makin lama makin meluas dan parah, bahkan dapat pula tembus pada sisi sebelah, sehingga berakibat sebagian besar ikan-ikan tidak tahan dan mati.

Kabata (1985) mengatakan, bahwa tanda-tanda umum ikan terinfeksi *A. hydrophila* adalah gerakannya lamban, berada di permukaan air atau diam di dasar perairan, tidak mau makan, sirip rusak, luka pada kulit dan otot, mata menonjol dan perut membengkak berisi cairan kemerahan.

Ikan-ikan yang diberi tambahan *Spirulina* 4 gr.kg<sup>-1</sup> pakan dan 6 gr.kg<sup>-1</sup> pakan dan disuntik secara intraperitoneal dengan *A. hydrophila* berakibat timbul luka namun secara perlahan-lahan langsung tertutup sebelum menjadi luka yang dalam/parah. Luka yang sudah tembus sampai ke sisi sebelah, juga lama kelamaan akan mengecil dan ditutupi oleh selaput berwarna putih. Kulit yang tadinya kelihatan kesat dan kering, lama kelamaan akan kembali licin karena ditutupi oleh lendir dan ikan sudah mulai mau makan. Disini kematian ikan lebih sedikit dibandingkan dengan ikan-ikan yang diberi tambahan *Spirulina* 2 gr.kg<sup>-1</sup> pakan (Gambar 1 a, b dan c).

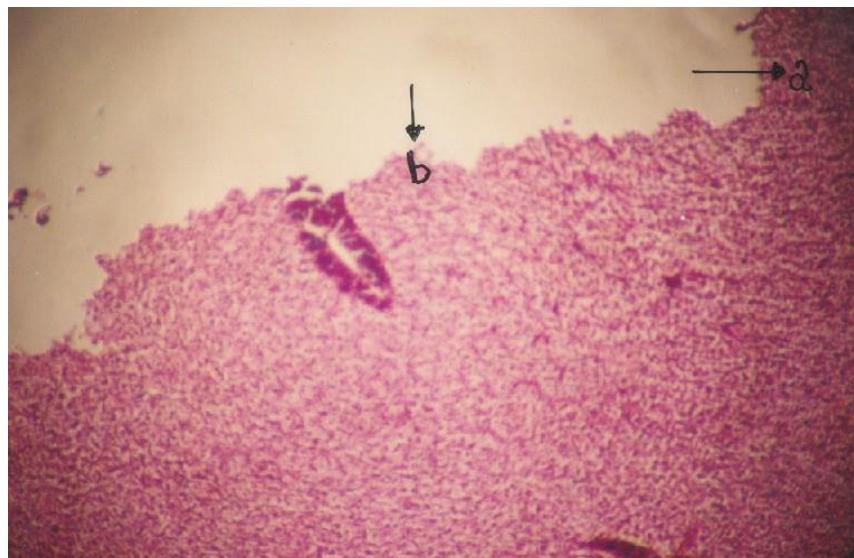


**Gambar 1.** Ikan patin jambal yang diinfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*; (a) luka parah (kontrol), (b,c) penutupan luka

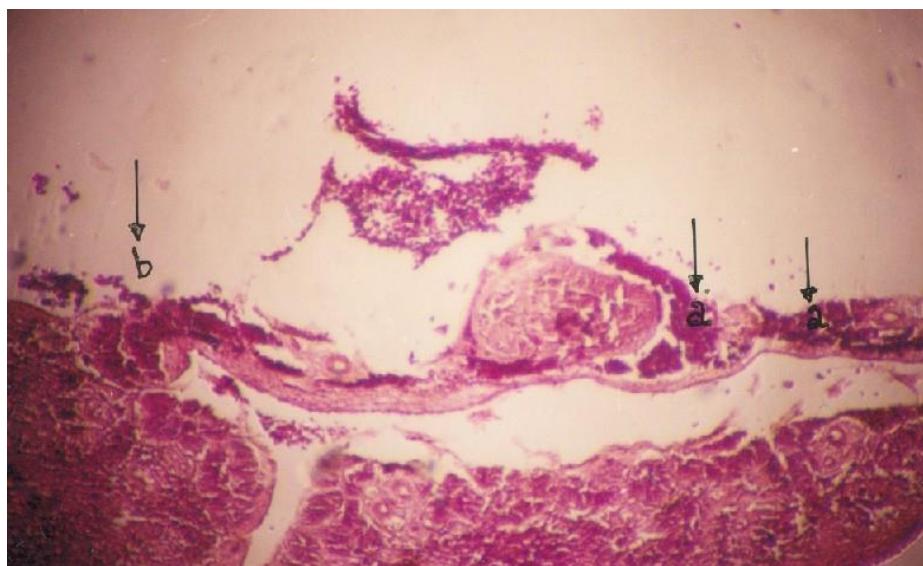
#### **Histologis Organ Lymphoid Ikan-ikan Yang Diinfeksi Dengan *Aeromonas hydrophila***

Organ *lymphoid* ikan-ikan kelompok A (kontrol), yang langsung disuntik dengan bakteri patogen *Aeromonas*

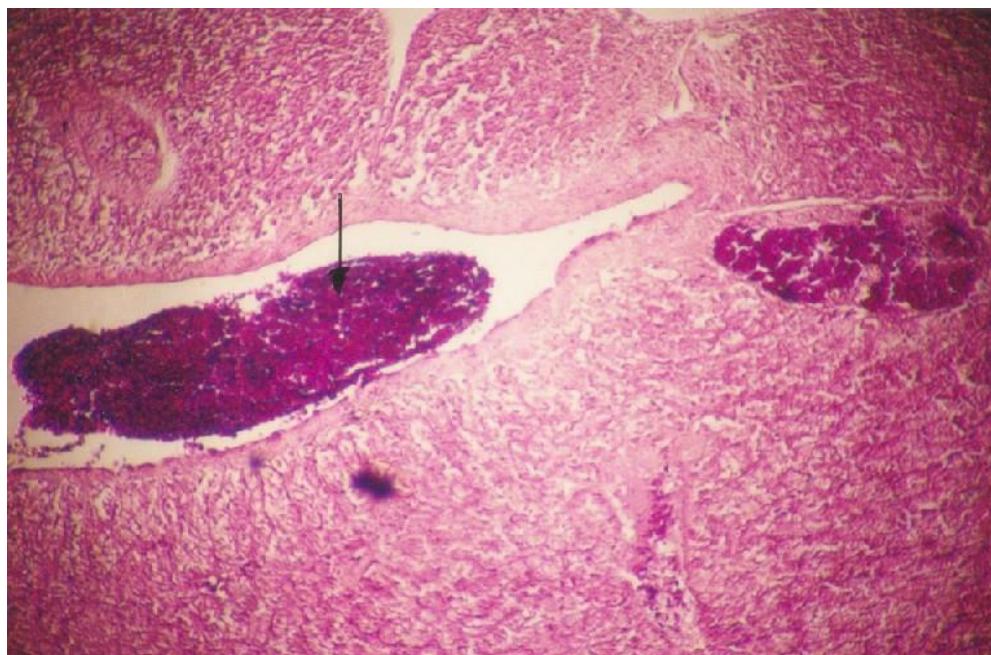
*hydrophila* secara intraperitoneal, terlihat terjadi nekrosis pada sel-selnya, sebagian organ hati dan epithelium organ juga mengalami kerusakan (Gambar 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 dan 9).



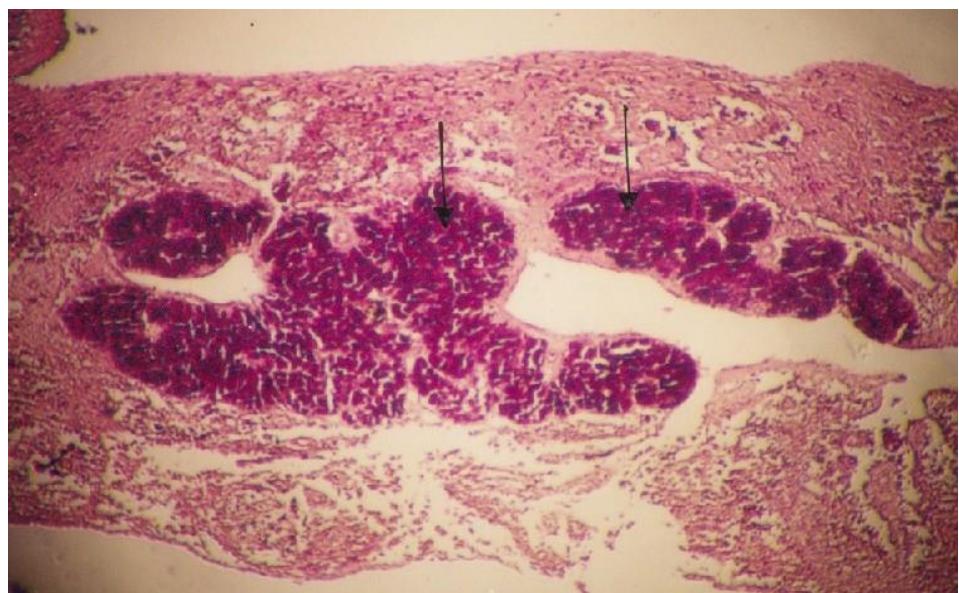
**Gambar 2.** Organ Hati ikan kelompok A (kontrol) setelah uji tantang dengan bakteri patogen *Aeromonas hydrophila* (a) nekrosis, (b) kerusakan dinding organ (Perbesaran 150 X)



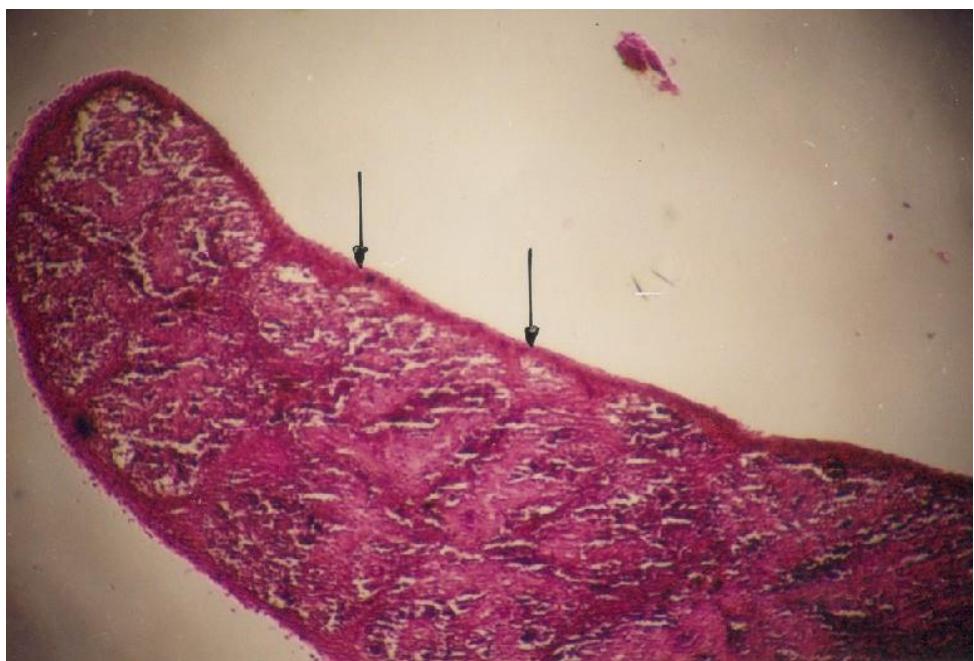
**Gambar 3.** Organ Limpa ikan kelompok A (kontrol) setelah uji tantang dengan bakteri patogen *Aeromonas hydrophila* (a) nekrosis, (b) kerusakan organ dan dinding organ (Perbesaran 150 X)



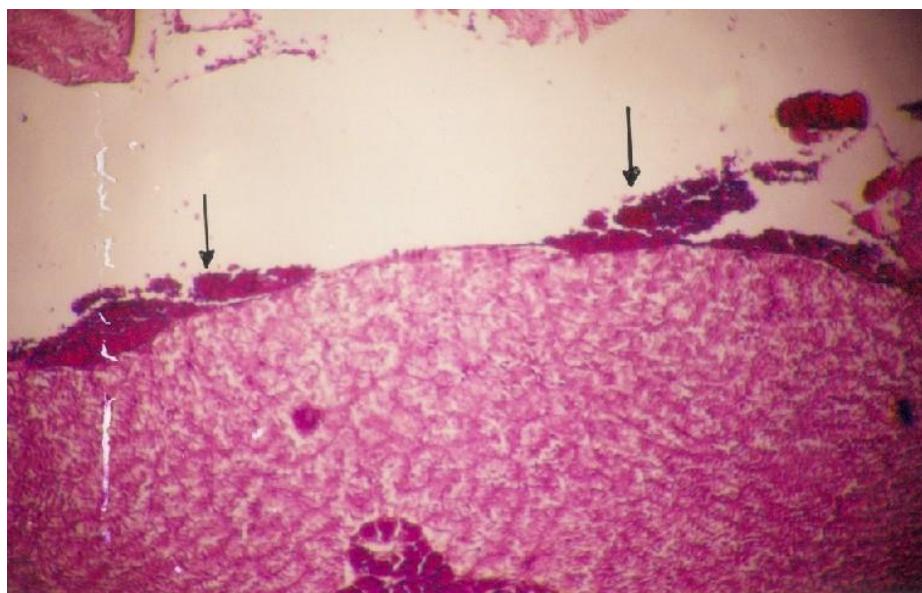
**Gambar 4.** Organ Hati ikan kelompok B. Terlihat adanya kumpulan sel berinti di dalam vakuola (Perbesaran 150 X)



**Gambar 5.** Organ Limpa ikan kelompok B. Terlihat adanya sel-sel melanomakrofag di dalam organ (Perbesaran 150 X).



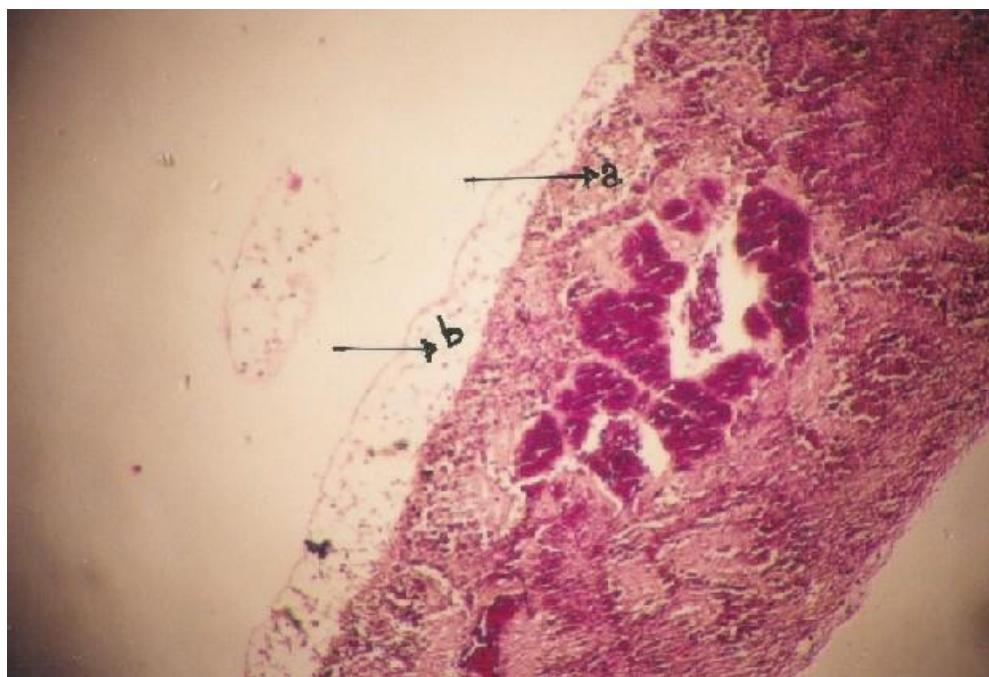
**Gambar 6.** Organ Limpa ikan kelompok C. Terlihat adanya lapisan sel-sel berinti disekehingga dinding organ akibat uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* (Perbesaran 150 X)



**Gambar 7.** Organ Hati ikan kelompok C. Terlihat adanya kumpulan sel berinti pada dinding organ akibat uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* (Perbesaran 150 X)



**Gambar 8.** Organ Hati ikan kelompok D. Terlihat pembesaran pada sel-sel sinusoid (a) dan adanya lapisan sel-sel lemak di sekeliling dinding organ (b) (Perbesaran 150 X)



**Gambar 9.** Organ Limpa ikan kelompok D. Terlihat pembesaran sel (a) dan adanya lapisan sel-sel lemak di sekeliling dinding organ (b) (Perbesaran 150 X)

Pada dinding organ limfoid terlihat adanya lapisan transparan dari sel-sel lemak yang tidak sama tebalnya dan di bagian lain juga terlihat adanya sel-sel berinti. Selanjutnya terlihat adanya vakuola-vakuola yang terisi oleh sel-sel berinti berwarna lebih cerah. Volume sel dan inti juga bertambah (Gambar 8 dan 9).

Apabila di uji tantang dengan bakteri patogen *Aeromonas hydrophila*, maka akan terlihat adanya lapisan sel-sel berinti di sekeliling dinding organ limfoid (Gambar 6 dan 7). Tidak terlihat terjadinya nekrosis pada sel dan dinding organ juga tidak terlihat kerusakan.

### Hasil Pengamatan Kelangsungan Hidup Ikan

Hasil pengamatan terhadap kelangsungan hidup ikan dapat diikuti pada Tabel 1.

Dilihat dari hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian pakan dengan penambahan *Spirulina* 2 gr.kg<sup>-1</sup> pakan menunjukkan tingkat kelangsungan hidup ikan masih rendah, yaitu 36,7%. Ternyata dengan penambahan *Spirulina* 2 gr.kg<sup>-1</sup> pakan masih belum cukup baik untuk meningkatkan kekebalan tubuh ikan patin jambal, sehingga setelah diuji tantang banyak ikan yang mati. Kelangsungan hidup ikan pada kelompok C dengan perlakuan penambahan *Spirulina* 4 gr.kg<sup>-1</sup> pakan memberikan hasil lebih baik, yaitu dengan persentase kelangsungan hidup ikan mencapai 66,7%, yang tidak berbeda dengan ikan kelompok D yang diperlakukan dengan penambahan *Spirulina* 6 gr.kg<sup>-1</sup> pakan, yaitu 66,7%.

Dari hasil pengamatan organ limfoid ikan kelompok B, C dan D, setelah dilakukan uji tantang dengan

**Tabel 1.** Persentase kelangsungan hidup ikan.

Ikan	Perlakuan (gr.kg <sup>-1</sup> )	Ulangan			Persentase ikan hidup (%)
		1	2	3	
Kelompok A (kontrol)	0	10	10	10	100
Kelompok B	2	3	4	4	36,7
Kelompok C	4	7	7	6	66,7
Kelompok D	6	7	7	6	66,7

bakteri patogen *A. hydrophila*, terlihat bahwa pada kelompok B terdapat sebidang kecil kerusakan pada epithelium organ, yang tidak terdapat pada kelompok C dan D, bahkan volume sel dan inti pada kelompok C dan D bertambah besar. Pada limpa terlihat adanya sel-sel melanomakrofag.

Hal ini membuktikan bahwa penggunaan tambahan *Spirulina* dalam pakan ikan nampak efektif meningkatkan kekebalan tubuh ikan patin jambal. Hal ini sesuai dengan yang dikatakan oleh Sakai (1998) dan Henrikson (2000), bahwa *Spirulina* berpotensi dalam meningkatkan sistem kekebalan beberapa jenis hewan termasuk ikan.

Selanjutnya Henrikson (2000) mengatakan, bahwa *Spirulina* aman untuk dimakan karena tidak mengandung zat yang berbahaya, rendah kandungan logam-logam berat dan tidak mengandung zat-zat yang berbahaya bagi tubuh manusia bahkan akibat pemberian *Spirulina* dapat memperkuat sistem imunitas, dapat menyangga kesehatan kardiovaskular dan merendahkan kolesterol, dapat meningkatkan kesehatan gastrointestinal dan pencernaan, dapat menghambat masuknya racun-racun dari alam serta dapat menurunkan risiko kanker dengan proteksi rendah antioksidan.

Dilaporkan lebih lanjut bahwa penelitian terhadap tikus, tupai, ayam, kalkun, kucing dan ikan yang diberi makan *Spirulina* terjadi peningkatan fungsi sistem imun. Ahli-ahli kedokteran menemukan

*Spirulina* tidak hanya menstimulasi sistem imun, kenyataannya mempertinggi kemampuan tubuh untuk membentuk sel-sel darah baru. Bagian terpenting sistem imun seperti : sel-sel sumsum tulang belakang, makrofag, sel-T dan sel-sel *natural killer*, limpa dan kelenjar *thymus*, memperlihatkan peningkatan aktivitas.

Baojiang (1994) dari penelitiannya pada tikus yang diberi pakan *Spirulina* mengatakan bahwa, polisakarida *Spirulina* dapat memperbaiki fungsi imunitas seluler nonspesifik dan fungsi humorai spesifik.

Immunostimulan mampu meningkatkan ketahanan ikan terhadap tekanan lingkungan yang buruk, misalnya pada kasus pencemaran akibat logam berat (Nakanishi, 1994). Selanjutnya Duncan and Klesius (1996) dari penelitiannya pada *catfish* mengatakan bahwa, immunostimulan *Spirulina* dapat menaikkan respon imun nonspesifik dan memproteksi infeksi berulang pada ikan.

*Spirulina* mengandung pigmen seperti : *phycocyanin*, dapat menstimulasi sistem imun, membentuk sel-sel darah merah dan darah putih serta membantu menetralkan racun; klorofil, dapat membersihkan dari keracunan; dan karotenoid, mempertinggi memproteksi antioksidan. *Spirulina* juga mengandung vitamin-vitamin, dapat membersihkan tubuh dari keracunan; lipopolisakarida, dapat menstimulasi produksi antibodi makro dan mikroglobulin serta menunjukkan secara *significant* kenaikan makrofag dan mikrofag (Besednova, 1979;

Belay & Ota, 1993; Baojiang, 1994; Henrikson, 2000).

Menurut Sakai (1998), bahwa komponen karbohidrat dan asam nukleat yang terdapat pada dinding bakteri gram-negatif bisa dipakai sebagai imunostimulan, apabila dicampur ke dalam pakan akan memberikan respon kekebalan.

Dari hasil yang diperoleh, maka dapat dikatakan bahwa *Spirulina* dapat digunakan sebagai immunostimulator, yang dapat membentuk/meningkatkan atau merangsang timbulnya kekebalan tubuh ikan dalam menghadapi infeksi bakteri patogen yang banyak terdapat di perairan, khususnya terhadap infeksi bakteri patogen *Aeromonas hydrophila*.

## KESIMPULAN

*Spirulina* yang digunakan berfungsi sebagai immunostimulator. Pemberian *Spirulina* 4 gr.kg<sup>-1</sup> pakan telah efektif meningkatkan kekebalan tubuh ikan patin jambal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Baojiang G. 1994. Study on effect and mechanism of polysaccharides of *spirulina* on body immune function improvement. South China Normal Univ. China. *Proc. of second Asia Pacific Conf. on Algal Biotech. Univ. of Malaysia*. h.33-38.
- Belay A, & Y. Ota. 1993. Current knowledge on potential health benefits of *spirulina*. *Publ. in Journal of Appl. Phycology*, 5:235-241.
- Besednova, L. 1979. Immunostimulating activity of lipopolysaccharides from blue-green algae. *Publ. in Zhurnal Mikrobiologii*, 56 (12) h. 75-59.
- Duncan, P.L. & P.H. Klesius. 1996. Effect of feeding *spirulina* on specific and nonspecific immune responses of channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health*. h. 308-313.
- Effendi, M.I. 1979. *Biologi Perikanan. Bagian I*. Fakultas Perikanan IPB. Bogor.
- Evets, L. 1998. *Means to normalize the levels of immunoglobulin E., using the food supplement Spirulina* at <http://www.spirulina.com>.
- Henrikson, R. 2000. *Spirulina : Health discoveries from the source of life*. <http://www.earthrise.com/a:\spirul-3.htm> [1 November 2000].
- Kabata, Z. 1985. *Parasites and diseases of fish cultured in the tropics*. Taylor and Francis. London and Philadelphia. h.99-100.
- Luna, L.G. 1986. *Manual of histologic staining methods of the armed forces Institut of pathology*. Third Ed. McGraw-Hill Book Company.
- Nakanishi, T. 1994. Current topic in fish immunology and fish health. *Seminar on Fish Physiology and Prevention of Epizootics*. Jakarta. 3 h.
- Ruane, J.J. 2000. *Green Foods. Spirulina, Blue Green Algae, and Chlorella. Wellnes Web*.
- Sakai, M. 1998. Current research status of fish immunostimulant. *Journal Aquaculture* 172 (19): 63-92.
- Supriyadi, H. 1983. Vaksinasi benih ikan lele (*Clarias batracus* L.) dengan cara perendaman. *Buletin Penelitian Perikanan Darat*, Vol. 7, No. 1, h. 1-5.