

## PENGGUNAAN TEPUNG BIOFLOK SEBAGAI AGEN IMUNOSTIMULAN PADA SISTEM PERTAHANAN NON SPESIFIK IKAN LELE SANGKURIANG (*Clarias gariepinus*)

Melinda Oktafiani<sup>\*†</sup>, Supono<sup>‡</sup>, Esti Harpeni<sup>‡</sup>, Berta Putri<sup>‡</sup>

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektifitas pemberian tepung bioflok sebagai agen imunostimulan dan mengetahui perlakuan terbaik pemberian tepung bioflok dalam menstimulasi sistem pertahanan non spesifik dan SR ikan lele sangkuriang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan April 2015 di Laboratorium Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan (0% tepung bioflok + 100% pakan, 5% tepung bioflok + 95% pakan, 10% tepung bioflok + 90% pakan, dan 15% tepung bioflok + 85% pakan) dengan 3 kali ulangan. Penelitian berlangsung selama 35 hari dan diamati pada awal (H0), tengah (H18) dan akhir (H35) penelitian. Data hematologi (persentase hematokrit, total leukosit, diferensial leukosit, aktivitas fagositosis), SR dan *relative percent survival* (RPS) dianalisis dengan analisis ragam (Anova). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian tepung bioflok berpengaruh terhadap peningkatan sistem pertahanan non spesifik namun tidak berpengaruh terhadap SR. Perlakuan terbaik imunostimulan tepung bioflok yang mampu menstimulasi sistem pertahanan non spesifik (total leukosit, diferensial leukosit, dan aktivitas fagositosis) ikan lele sangkuriang adalah 15% tepung bioflok + 85% pakan.

Kata kunci: lele sangkuriang, sistem pertahanan non spesifik, bioflok, hematologi, *survival rate*

### Pendahuluan

Ikan lele sangkuriang (*C. gariepinus*) merupakan salah satu komoditas yang digemari masyarakat Indonesia dan memiliki potensi besar untuk dikembangkan. Namun, penyakit menjadi salah satu masalah dalam budidaya lele karena dapat menghambat keberhasilan budidaya, yaitu selain

menurunkan kualitas produk juga menyebabkan kematian massal.

Salah satu alternatif penanggulangan penyakit ikan yang aman adalah dengan pemberian imunostimulan untuk meningkatkan sistem pertahanan non spesifik ikan. Alternatif imunostimulan yang murah, mudah didapat dan mudah pengaplikasiannya, salah satunya

\* Mahasiswa Jurusan Budidaya Perairan Universitas Lampung

† email : melinda\_oktafiani@yahoo.com

‡ Dosen Jurusan Budidaya Perairan Universitas Lampung Jl. Prof. Soemantri Brodjonegoro Gedung Meneng No. 1 Bandar Lampung 34145

adalah bioflok. Avnimelech (2009) menyatakan bahwa bioflok mampu meningkatkan sistem imun pada tilapia, nila dan udang vanamei. Bioflok tersusun atas bakteri, mikroalga, zooplankton, dan kelompok mikroorganisme lainnya (Crab *et al.*, 2009). Bakteri sebagai penyusun utama bioflok mampu menghasilkan senyawa *polyhydroxybutyrate* (PHB) yang berfungsi sebagai pembentuk ikatan, serta berperan sebagai imunostimulan (de Schryver *et al.*, 2010). Dinding sel bakteri juga mengandung peptidoglikan dan lipopolisakarida (LPS) dimana kedua senyawa tersebut mampu merangsang fagositosis sel hialin (Smith *et al.*, 2003) sehingga dapat digunakan sebagai imunostimulan.

Berdasarkan uraian tersebut, bioflok mempunyai potensi sebagai suplemen pakan untuk meningkatkan sistem pertahanan non spesifik ikan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektifitas pemberian tepung bioflok sebagai agen imunostimulan dan mengetahui perlakuan terbaik pemberian tepung bioflok dalam menstimulasi sistem pertahanan non spesifik dan SR ikan lele sangkuriang.

### Bahan dan Metode

Penelitian dilakukan pada bulan Februari hingga April 2015. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan (A : 0% tepung bioflok + 100% pakan, B : 5% tepung bioflok + 95% pakan, C : 10% tepung bioflok + 90% pakan, dan D : 15% tepung bioflok + 85% pakan) dan 3 kali ulangan. Ikan uji yang digunakan adalah ikan lele sangkuriang berukuran 5-6 cm dengan berat 2-2,5 gram. Ikan diadaptasikan selama satu minggu sebelum diberi perlakuan dengan jumlah ikan yang digunakan

sebanyak 10 ekor per wadah (30 liter). Selama masa adaptasi dan perlakuan, ikan diberi pakan sebanyak tiga kali (pagi, siang, malam).

### Pembuatan Pakan Bioflok

Pada tahap pembuatan bioflok digunakan tiga wadah, masing-masing wadah diisi air sebanyak 500 liter. Sebanyak 250 gram pakan (protein 28% yang telah difermentasi selama 2 hari) ditambah dengan 236 gram molase dimasukkan ke dalam masing-masing wadah dan diaerasi menggunakan *blower*. Biakan bakteri *Bacillus* sp. sebanyak 50 ml kepadatan  $10^6$  CFU/ml dimasukkan ke dalam bak fiber tersebut. Proses pembentukan bioflok berlangsung selama 15 hari. Setelah bioflok terbentuk, bioflok diendapkan selama 1-2 jam dan air dibuang. Bioflok dikeringanginkan selama kurang lebih 24 jam. Bioflok yang telah kering kemudian dijadikan tepung dan dicampurkan dengan pakan sesuai dengan perlakuan yang digunakan.

### Parameter Penelitian

Parameter penelitian yang diamati meliputi hematologi, *survival rate* (SR), *relative percent survival* (RPS), dan kualitas air. Pengamatan hematologi dilakukan untuk mengetahui tingkat imunitas ikan uji. Pengamatan hematologi ikan dilakukan pada awal (H0), tengah (H18) dan akhir penelitian (H35) sebanyak 3 ekor atau 30% dari total ikan per wadah. Parameter hematologi yang diamati meliputi persentase hematokrit, total leukosit, diferensial leukosit (monosit, limfosit dan neutrofil), dan aktivitas fagositosis atau *phagocytic activity* (PA). Kualitas air yang diamati selama penelitian meliputi suhu, pH dan DO yang dilakukan setiap 7 hari sekali dan uji amoniak pada awal (H0) dan akhir (H35) pemeliharaan.

### Analisis Data

Data hematologi, SR, dan RPS dianalisis dengan analisis varian (Anova) dengan selang kepercayaan 95% sementara data kualitas air dianalisis secara deskriptif.

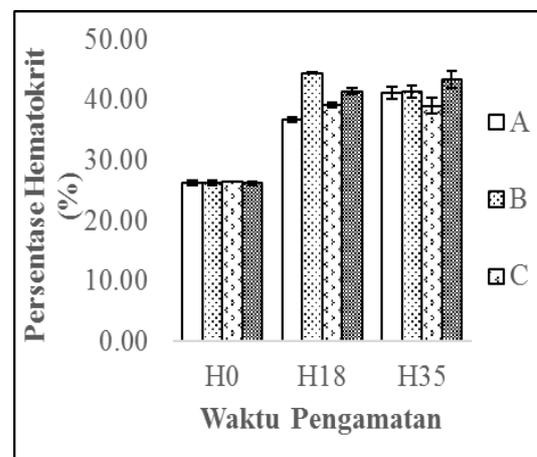
### Hasil dan Pembahasan

#### Pengamatan Hematologi

Hasil pengukuran kadar hematokrit pada berbagai perlakuan pada awal penelitian (H0) menunjukkan teradinya defisiensi eritrosit karena nilai hematokrit di bawah kisaran normal, yaitu di bawah 30%. Nilai hematokrit kembali normal pada pengamatan H18 dan H35 yaitu 36,81% – 44,47%. Hal ini sesuai dengan pernyataan Angka *et al.* (1985) bahwa batas normal nilai hematokrit lele yaitu sebesar 30,8 – 45,5%. Persentase kadar hematokrit ikan uji yang diberi perlakuan berada pada kisaran normal dan tidak jauh berbeda dengan ikan kontrol berarti pemberian imunostimulan tepung bioflok tidak berdampak buruk bagi tubuh ikan. Hal ini sesuai dengan pendapat Kwang (1996) yang menyatakan bahwa pemberian imunostimulan tidak menimbulkan efek samping bagi ikan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa persentase hematokrit setelah diberi perlakuan berada pada kisaran normal dan mengalami perubahan serta memperlihatkan bahwa penambahan imunostimulan tepung bioflok pada pakan berpengaruh positif terhadap peningkatan nilai hematokrit. Kadar hematokrit pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1.

Peningkatan persentase hematokrit ini diiringi dengan peningkatan total leukosit. Sel leukosit merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh yang bersifat non spesifik, oleh sebab itu total

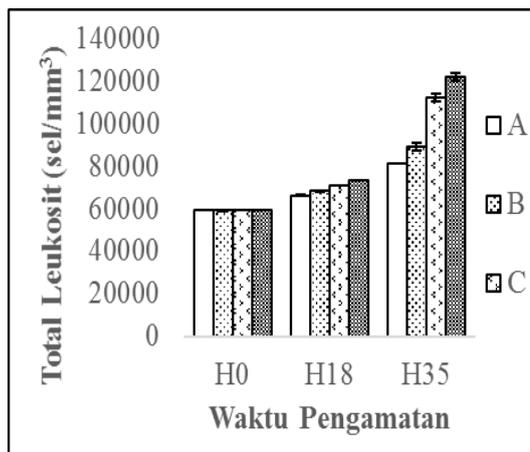
leukosit menggambarkan kemampuan pertahanan tubuh ikan. Nilai total leukosit selama penelitian berada dalam batas normal yaitu 59.322 – 122.050. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lestari *et al.* (2012) dan Noercholis *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa jumlah total leukosit normal berkisar antara 20.000 – 150.000 sel/mm<sup>3</sup>. Pada akhir perlakuan didapatkan hasil bahwa total leukosit tertinggi terdapat pada perlakuan 15% tepung bioflok + 85% pakan (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan tepung bioflok pada pakan mampu meningkatkan total leukosit ikan lele sangkuriang sehingga meningkatkan imunitas ikan. Perlakuan terbaik untuk meningkatkan total leukosit adalah perlakuan 15% tepung bioflok + 85% pakan.



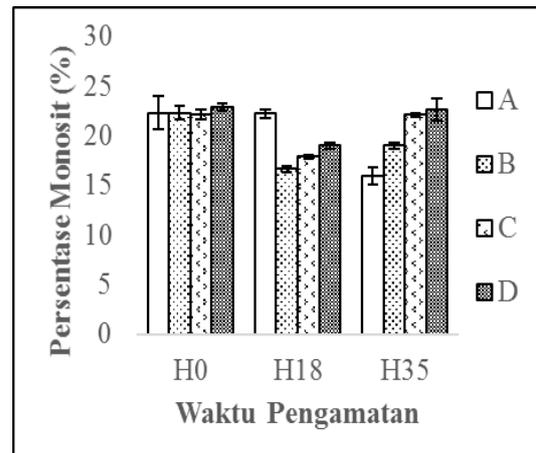
Gambar 1. Persentase hematokrit ikan lele sangkuriang pada berbagai perlakuan

Bila terjadi infeksi, sel-sel leukosit tersebut akan bergerak aktif menuju tempat terjadinya infeksi kemudian memfagosit benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Sel-sel fagosit yang mampu meninggalkan pembuluh darah antara lain monosit (makrofag monoklier), limfosit dan trombosit, serta neutrofil (leukosit berinti banyak)

(Esteban *et al.*, 2001). Kisaran persentase monosit yang didapatkan dari hasil pengamatan adalah 16 – 23% (Gambar 3). Jumlah tersebut masih berada dalam kisaran normal monosit pada ikan yaitu berkisar 3 – 30% (Iwana dan Nakanishi, 1966). Pengamatan persentase limfosit terbaik pada hari ke-18 terdapat pada perlakuan 15% tepung bioflok + 85% pakan sebesar 64% dan pada hari-35 terdapat pada perlakuan 5% tepung bioflok + 95% pakan sebesar 64%. Berdasarkan hasil pengamatan, semua persentase limfosit berada di bawah kisaran normal (Gambar 4). Kisaran normal persentase limfosit pada ikan teleostei yaitu sebesar 71,12 – 81,88% (Affandi dan Tang, 2002).

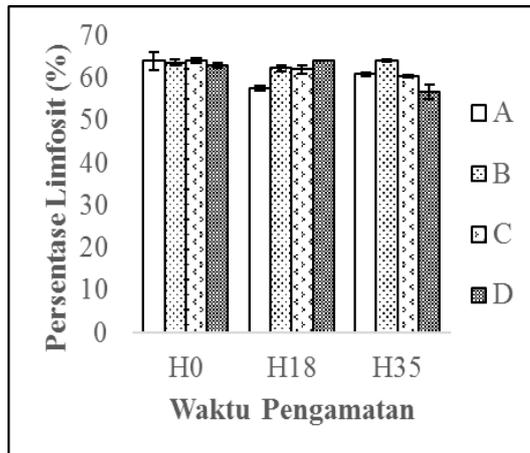


Gambar 2. Total leukosit ikan lele sangkuriang pada berbagai perlakuan

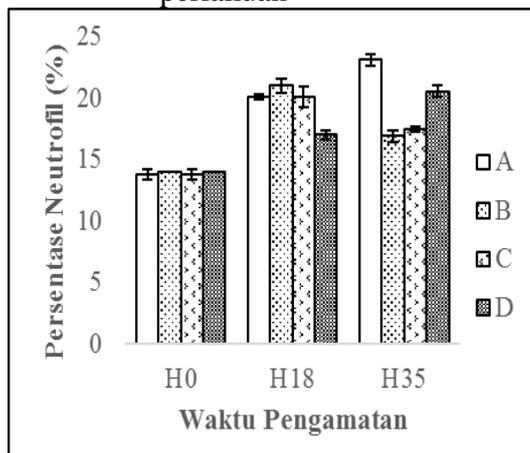


Gambar 3. Persentase monosit ikan lele sangkuriang pada berbagai perlakuan.

Kisaran persentase neutrofil pada H0, H18 dan H35 secara berturut turut adalah 14%, 17 – 20% dan 17 – 23% (Gambar 5). Peningkatan persentase neutrofil diduga karena stimulasi dari tepung bioflok yang berfungsi sebagai agen immunostimulan. Hal ini sesuai dengan pendapat Fujaya (2002) yang menyatakan bahwa sel neutrofil keluar saat terjadinya infeksi karena adanya pengaruh rangsangan kimiawi eksternal, salah satunya oleh immunostimulan. Hasil uji Anova menunjukkan bahwa persentase monosit, limfosit, dan neutrofil pada ikan yang berbeda nyata sehingga dapat dikatakan pemberian tepung bioflok berpengaruh nyata terhadap persentase monosit, limfosit, dan neutrofil ikan lele sangkuriang.



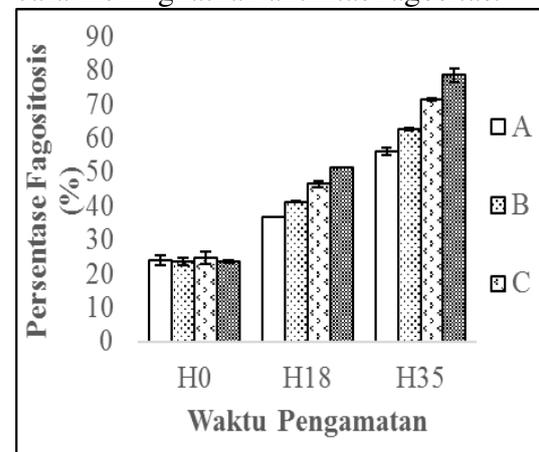
Gambar 4. Persentase limfosit ikan lele sangkuriang pada berbagai perlakuan



Gambar 5. Persentase neutrofil ikan lele sangkuriang pada berbagai perlakuan

Salah satu cara untuk melihat respon imun non spesifik adalah dengan pengamatan aktivitas fagositosis. Aktivitas fagositosis terjadi jika terdapat benda asing. Untuk menghancurkan benda asing tersebut, maka sel leukosit akan memperluas membran plasmanya untuk membungkus membran di sekeliling benda asing hingga terbungkus. Sel leukosit yang berfagosit memiliki tiga tahap yaitu pelekatan, fagosit, dan pencernaan. Peningkatan sistem pertahanan tubuh dapat dilihat dari

meningkatnya total leukosit. Peningkatan total leukosit akan meningkatkan persentase aktivitas fagositosis. Peningkatan persentase fagositosis ini menunjukkan bahwa pemberian imunostimulan tepung bioflok mampu meningkatkan sistem pertahanan non spesifik ikan lele sangkuriang. Hal ini sesuai dengan penelitian Johnny *et al.* (2001) bahwa imunostimulan mampu meningkatkan respon imun non spesifik ikan dengan cara meningkatkan aktifitas fagosit.



Gambar 6. Persentase fagositosis ikan lele sangkuriang pada berbagai perlakuan.

Peningkatan sistem pertahanan non spesifik ikan uji dikarenakan tepung bioflok mengandung *polyhydroxybutyrate* (PHB), lipopolisakarida dan peptidoglikan. *Polyhydroxybutyrate* pada bioflok ini mampu menghambat serangan bakteri *Vibrio alginolyticus* sehingga semakin tinggi dosis perlakuan maka persentase aktivitas fagositosis semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian Boon *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa PHB mampu menghambat patogen di usus dan berperan sebagai antimikroba bagi *Vibrio*, *E coli*, dan *Salmonella*. Penelitian Suguna *et al.* (2014) bahwa PHB yang diekstrak dari bakteri

*Bacillus thurigiensis* mampu menstimulasi sistem imun non spesifik maupun sistem imun spesifik pada *Oreochromis mossambicus*. Perlakuan terbaik dalam peningkatan aktivitas fagositosis terdapat pada perlakuan 15% tepung bioflok + 85% pakan.

#### *Survival Rate (SR) dan Relatives Percent Survival (RPS)*

Penambahan tepung bioflok pada pakan setelah dianalisis dengan Anova tidak berpengaruh nyata terhadap nilai SR

dan RPS ikan lele sangkuriang, namun secara deskriptif penambahan tepung bioflok pada pakan mampu meningkatkan nilai SR dan RPS. Tepung bioflok mampu meningkatkan SR dan RPS karena memiliki kandungan PHB. Hal ini sesuai dengan penelitian Laranja *et al.* (2014) bahwa PHB mampu meningkatkan SR dan pertumbuhan *Panaeus monodon* pada fase postlarva. Nilai SR dan RPS pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai SR dan RPS

Perlakuan	SR (%)	Kematian Tiap Ulangan			Rerata Kematian (%)	RPS (%)
		U1	U2	U2		
A	73±5,77	2/10	3/10	3/10	27 <sup>a</sup>	-
B	77±11,55	3/10	3/10	1/10	23 <sup>a</sup>	15
C	77±11,55	3/10	3/10	1/10	23 <sup>a</sup>	15
D	80±10,00	2/10	1/10	3/10	20 <sup>a</sup>	26

Keterangan : <sup>a</sup> huruf yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata

#### *Kualitas Air Penelitian*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai pH dan DO masih berada pada kisaran optimum kebutuhan hidup ikan lele, nilai pH dan DO secara berturut-turut yaitu 7,72 – 7,92 dan 4,69 – 8,05 mg/l. Untuk nilai amoniak pada awal penelitian (H0) berada di bawah batas baku mutu nilai amoniak yaitu yaitu

0,004 mg/l, namun di akhir penelitian (H35) nilai amoniak melebihi batas optimum yaitu 0,099 mg/l. Meskipun nilai amoniak berada di atas kisaran normal, namun ikan masih bergerak aktif dan tumbuh dengan baik, Tabel 2 menunjukkan parameter kualitas air (suhu, pH, DO, dan amoniak) selama penelitian.

Tabel 2. Kualitas Air Pemeliharaan Ikan Lele Sangkuriang

Variabel	Waktu Pengamatan	Perlakuan				Standar Optimum
		A	B	C	D	
Suhu (°C)	Pagi	27-28	27-28	27-28	27-28	25 – 30 (BSN, 2000)
	Siang	29-31	29-31	29-31	29-31	
	Sore	29-31	29-31	29-31	29-31	
pH	Pagi	7,86	7,81	7,77	7,72	6,5 – 8,6 (BSN, 2000)
	Siang	7,79	7,92	7,85	7,77	
	Sore	7,88	7,80	7,77	7,73	
DO (mg/l)	Pagi	6,05	5,55	6,40	5,72	>4 (BSN, 2002)
	Siang	7,80	8,05	7,83	7,96	
	Sore	5,21	4,69	5,29	5,18	
Amoniak (mg/l)	Awal	0,004	0,006	0,004	0,009	<0,01 (BSN, 2002)
	Akhir	0,094	0,099	0,066	0,083	

### Kesimpulan

Penggunaan tepung bioflok sebagai imunostimulan berpengaruh terhadap peningkatan sistem pertahanan non spesifik, namun tidak berpengaruh terhadap SR. Perlakuan terbaik imunostimulan tepung bioflok yang mampu menstimulasi sistem pertahanan non spesifik (total leukosit, diferensial leukosit, dan aktivitas fagositosis) ikan lele sangkuriang adalah 15% tepung bioflok + 85% pakan komersial.

### Daftar Pustaka

- Affandi, R. dan U.M. Tang. 2002. *Fisiologi hewan Air*. Uni Press. Riau.
- Anderson, D.P. dan A.K. Siwicki. 1993. *Basic Hematology and Serology for Fish Health Programs*. Asian Fisheries Society. 17 hal.
- Angka S.L., G.T. Wongkar, and Karwani. 1985. Blood Picture and Bacteria Isolated from Ulcered and Crooked Black (*Clarias batrachus*). Symposium On Pract. Measure for Preventing and Controlling Fish Disease. BIOTROP. 17 hal.
- Avnimelech, Y. 2009. *Bioflok Technology – A Practical Guide book*. The World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisiana, United States. 182 hal.
- Boon, N., T. Defoirdt, W. de Windt, T. Van De Wiele dan W. Verstraete. 2010. Hydroxybutyrate and PolyHydroxybutyrate as Components of Animal Feed or Feed Additives. *Patent Application Publication*. April : 1-4.
- Badan Standarisasi Nasional. 2000. *Produksi Benih Ikan Lele Dumbo (Clarias gariepinus x C.fuscus) Kelas Benih Sebar*. SNI : 01- 6484.4 – 2000.
- Badan Standarisasi Nasional. 2002. *Ikan Lele Dumbo (Clarias gariepinus) Kelas Pembesaran di Kolam*. SNI 01- 6484.5-2002.
- Crab, R., M. Kochva, W. Verstraete, dan Y. Avnimelech. 2009. Bio-flocs Technology Application in Overwintering of Tilapia. *Aquaculture Engineering*. 40 : 105 – 112.
- De Schryver, P., A.K. Sinha, P.S. Kunwar, K. Baruah, dan W. Verstraete. 2010. Poly-Beta-Hydroxybutyrate (PHB) Increases Growth Performance and Intestinal Bacterial Range-Weighted Richness in Juvenile European Sea Bass, *Dicentrarchus labrax*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 86 : 1535 – 1541.
- Esteban, M.A., A. Cuesta, J. Oetuna, dan J. Meseguer. 2001. Immunomodulatory Effects of Dietary Intake of Chitin on Gilthead Seabream (*Sparus auratus* L) Innate Immun System. *J. Fish and Shellfish Immunology*. Vol 11 : 303 – 313.
- Fujaya, Y. 2004. *Fisiologi Ikan: Dasar Pengembangan Teknologi Perikanan*. Penerbit Rineka Cipta, Jakarta. Hal 95-109.
- Johnny F, I. Kuesharyani, D. Roza, Tridjoko, N.A. Giri, dan K. Suwirya. 2001. Respon Ikan Kerapu Bebek, *Cromileptes altivelis* terhadap Imunostimulan Peptidoglikan Melalui Pakan Pelet. *Jurnal penelitian Perikanan Indonesia*. Vol. 7 (4): 52-56
- Iwana, G. dan T. Nakanishi. 1996. *The Fish immune System, Organism, Pathogen, and Environment*. Academic Press. San Diego, California, USA.
- Kwang, L.C. 1996. Immune Enhancer in The Control of Disease in

- Aquaculture. *Encap Technology Pte Ltd, Singapore*. 99-128.
- Laranja, J.L.Q., G.L. Ludevese-Pascual, E.C. Amar, P. Sorgeloos, P. Bossier, dan P. De Schryver. 2014. Poly-b-hydroxybutyrate (PHB) Accumulating *Bacillus* spp. Improve The Survival, Growth and Robustness of *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) Postlarvae. *Veterinary Microbiology*. 173 : 310 – 317.
- Lestari, E.P., Feliatra, dan D. Yoswati. 2012. Uji Efektivitas Bakteri Asam Laktat dalam Mengatasi *Vibrio alginolyticus* pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Fakultas Pertanian dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru.
- Noercholis, A., M.A. Muslim, dan Maftuch. 2013. Ekstraksi Fitur Roundness untuk Menghitung Jumlah Leukosit dalam Citra Sel Darah Ikan. *Jurnal EECCIS*. 7 : 35 – 40.
- Purnomo, P.D. 2012. Pengaruh Penambahan Karbohidrat pada Media Pemeliharaan terhadap Produksi budidaya Intensif Nila (*Oreochromis niloticus*). *Skripsi*. Universitas Diponegoro.
- Smith, V.J., J.H. Brown, dan C. Hauton. 2003. Immunostimulation in Crustaceans: Does it Really Protect Against Infection. *Fish & Shellfish Immunology*. 15 : 71 – 90.
- Suguna, P., C. Binuramesh, P. Abirami, V. Saranya, K. Poornima, V. Rajeswari, dan R. Shenbagarathai. 2014. Immunostimulation by poly- $\beta$  hydroxybutyrate–hydroxyvalerate (PHB–HV) from *Bacillus thuringiensis* in *Oreochromis mossambicus*. *Fish and Shellfish Immunology*. Vol 36 (1) : 90 – 97.