

PENGUNAAN EKSTRAK KASAR SPONS LAUT UNTUK MENINGKATKAN
RESISTENSI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) TERHADAP
INFEKSI (*Streptococcus agalactiae*)

(*The Use Of Marine Sponge Crude Extract To Improve The Resistance Of
Tilapia Fish (*Oreochromis niloticus*) To *Streptococcus agalactiae* Infections*)

Shifa Aubriana Schram¹, Reiny A. Tumbol², Reni L. Kreckhoff².

¹Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas
Sam Ratulangi, Jl. Kampus Unsrat Bahu, Manado 95115
Sulawesi Utara, Indonesia

²Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Jl. Kampus Unsrat
Bahu, Manado 95115, Sulawesi Utara, Indonesia
e-mail: shifa.schram@mail.com

ABSTRACT

This study aims to examine the effect of the use of crude marine sponge extract on the resistance of *streptococcus agalactiae* infection in tilapia, *Oreochromis niloticus*, and to establish the effective dose of crude sponge extract in improving the immune system and the growth of the fish. The sponge used in the study was *Cribrochalina* sp. taken from Malalayang waters, Manado. The fish were taken from Freshwater Aquaculture Center, Tatelu. The fish were acclimatized for a week. After being acclimatized the fish were given feed added with sponge crude extract as a treatment with different concentrations of 20 g, 40 g and 60 g / Kg of feed for 14 days as much as 5% / body weight / day with the frequency of feeding twice a day at 10:00 am and at 5:00 p.m. After being treated, the fish was challenged with *S. agalactiae*. The data collected consisted of tilapia resistance, Total Leukocyte Count (TLC) as immune parameters and absolute growth. The results showed that the addition of crude extracts of *Cribrochalina* sp. into feed can increase TLC and growth of tilapia ($p < 0.05$). The best results were achieved in fish fed with the addition of sponge crude extract of 40 g/kg feed. The survival rate of tilapia fed with treatment diet then challenged with pathogenic bacteria *S. agalactiae* showed the best results (100% survival rate) compared to controls (75%). In conclusion, feeding with a crude extract of *Cribrochalina* sp. has the potential to increase the immune system and growth of tilapia.

Keywords: Crude Extract, Marine Sponges, *Cribrochalina* sp., Tilapia, Resistance, *Streptococcus agalactiae*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh penggunaan ekstrak kasar spons laut terhadap resistensi ikan nila dalam menghadapi serangan *Streptococcus agalactiae*, mengidentifikasi spons yang digunakan, serta mengukur pengaruh serta menetapkan dosis pemberian ekstrak kasar spons untuk meningkatkan sistem imun dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan ikan nila. Spons yang digunakan dalam penelitian adalah spons *Cribrochalina* sp. yang diambil dari perairan Malalayang. Ikan uji diambil dari Balai Budidaya Air Tawar Tatelu, Provinsi Sulawesi Utara. Ikan diaklimatisasi selama seminggu. Setelah diaklimatisasi ikan diberi pakan yang ditambahkan dengan ekstrak kasar spons sebagai perlakuan dengan konsentrasi berbeda yaitu 0 g, 20 g, 40 g dan 60 g/kg pakan selama 14 hari sebanyak 5%/berat tubuh/hari dengan frekuensi pemberian pakan dua kali sehari yaitu jam 10.00 pagi dan jam 17.00 sore. Setelah diberi perlakuan, ikan diuji tantang dengan bakteri *S. agalactiae*. Data yang dikumpulkan terdiri dari kelangsunganhidup ikan nila. Total leukosit sebagai

parameter imun dan pertumbuhan mutlak. Hasil penelitian mendapatkan bahwa penambahan ekstrak kasar spons *Cribrochalina* sp. ke dalam pakan mampu meningkatkan total leukosit dan pertumbuhan ikan nila ($p < 0.05$). Dimana hasil terbaik dicapai pada ikan yang diberi pakan dengan penambahan ekstrak kasar spons sebanyak 40 g/kg pakan. Kelangsungan hidup ikan nila yang diberi pakan perlakuan yang diuji tantang dengan bakteri patogen menunjukkan hasil yang paling baik (tingkat kelangsungan hidup 100%) dibandingkan dengan kontrol (75%). Sebagai kesimpulan bahwa pemberian pakan dengan ekstrak kasar spons *Cribrochalina* sp. berpotensi untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan pertumbuhan pada ikan nila.

Kata Kunci: Ekstrak kasar, Spons laut, *Cribrochalina* sp., Tilapia, Resistensi, *Streptococcus agalactiae*

PENDAHULUAN

Spons merupakan biota laut potensial untuk menghasilkan senyawa bioaktif. Telah dilaporkan bahwa sebagian senyawa yang diisolasi dari spons mempunyai aktivitas antimikroba yang tinggi sehingga dapat dijadikan sebagai bahan maupun obat antibakteri, antikanker dan antiparasit (Amir dan Budiyanto, 1996). Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang penyebarannya cukup luas. Terdapat 15.000 spesies spons di seluruh dunia dan sekitar 45% senyawa bioaktif ditemukan pada spons (Alexander *et al.*, 2014).

Spons laut memiliki potensi bioaktif yang sangat besar. Selama 50 tahun terakhir telah banyak kandungan bioaktif yang telah ditemukan. Kandungan bioaktif tersebut dikelompokkan menjadi beberapa kelompok besar yaitu *antiinflamatory*, antitumor, antivirus, antimalaria, antibiotik, dan antifouling. Spons telah dimanfaatkan dalam bidang farmasi karena sejak dulu berpotensi sebagai obat karena kandungan senyawa bioaktif yang ada didalamnya.

Usaha budidaya ikan yang telah berkembang pesat menyebabkan beberapa masalah akibat dari kegiatan budidaya intensif. Adanya penyebaran penyakit yang disebabkan oleh menurunnya kualitas air adanya degradasi mutu lingkungan ini membuka kesempatan bagi patogen yang

disebabkan oleh virus, bakteri, jamur maupun parasit untuk menginfeksi ikan yang akan menyebabkan penyakit. Serangan penyakit dapat mengganggu kualitas ikan yang dibudidaya bahkan mampu menurunkan nilai produksi yang pada akhirnya mengakibatkan kerugian ekonomi. Salah satu penyakit bakterial yang menyerang ikan nila adalah penyakit *Streptococcus* yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus agalactiae*.

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu jenis ikan konsumsi air tawar yang banyak digemari oleh konsumen. Usaha budidaya ikan nila telah berkembang pesat, karena pertumbuhan ikan nila yang cepat dan mudah dipelihara. Pesatnya kegiatan produksi ikan nila menyebabkan terjadinya serangan penyakit bakterial seperti *S. agalactiae* akibat dari kegiatan budidaya intensif. Penyakit yang disebabkan oleh serangan *S. agalactiae* ini dapat menyebabkan kematian 40 – 60% dalam waktu 6 hari setelah terinfeksi (Evans *et al.*, 2006) dilaporkan telah terjadi di beberapa Negara seperti Amerika Serikat, Israel, Jepang dan Thailand. Beberapa daerah di Indonesia juga dilaporkan pernah terjadi serangan bakteri *S. agalactiae* pada budidaya ikan nila, antara lain di daerah Sumatera Selatan, Jawa Tengah dan Jawa Barat (Yuasa *et al.*, 2008). Bakteri ini dapat menginfeksi ikan dan lebih virulen pada kondisi lingkungan dengan suhu 24 – 29 °C, dan suhu ini merupakan kisaran

suhu perairan di Indonesia sehingga serangan *S. agalactiae* dapat meningkat jika tidak segera ditanggulangi (Conroy, 2009). Ikan yang terinfeksi oleh *S. agalactiae* mengalami gejala antara lain nafsu makan menurun, bergerak tidak beraturan, berenang kepermukaan, lesu, tubuh menghitam, sisik mudah lepas, luka, pendarahan pada operkulum dan anus, mata keruh dan menonjol keluar (Bromage *et al.*, 1999).

Upaya pengendalian meluasnya penyakit harus dilakukan sedini mungkin, agar tidak terjadi wabah penyakit yang menyebabkan kerugian ekonomi. Beberapa upaya pencegahan seperti pemberian antibiotik, vaksin maupun imunostimulan telah banyak dilakukan untuk mencegah penyakit Streptococcuscis dan dapat memberikan ketahanan tubuh (resistensi) ikan untuk melawan serangan bakteri *S. agalactiae*. Penggunaan imunostimulan merupakan cara paling efisien dalam mencegah penyakit bakterial dan merupakan alternatif atau pengganti antibiotik maupun vaksin (Payung dan Manoppo, 2015), karena penggunaan antibiotik maupun vaksin merupakan metode pencegahan penyakit ikan yang saat ini penggunaannya telah dilarang dan mahal harganya. Berbagai bahan alami seperti tanaman obat, bakteri, ragi, rumput laut atau bahan-bahan lain yang mengandung bahan atau senyawa antimikroba telah dimanfaatkan sebagai immunsotimulan atau bahan yang dapat digunakan dalam mencegah penyakit infeksi (Galina *et al.*, 2009). Salah satu bahan alami yang mengandung senyawa antimikroba adalah spons laut.

Kandungan antibakteri pada ekstrak spons diperlukan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Namun, penelitian maupun informasi mengenai penggunaannya dalam bidang budidaya perikanan masih jarang dilakukan. Oleh karena itu, dilakukan penelitian mengenai penggunaan spons yang mengandung senyawa bioaktif yang mempunyai sifat antibakteri yang diharapkan dapat meningkatkan resistensi terhadap serangan bakteri *S. agalactiae* dan dapat meningkatkan kesehatan ikan nila.

METODE PENELITIAN

Waktu & Tempat Penelitian

Persiapan pakan uji dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ikan, Lingkungan dan Toksikologi untuk persiapan pakan uji. Pemeliharaan ikan dilakukan di Laboratorium Teknologi Akuakultur dan untuk kegiatan ekstraksi spons laut dilakukan di Laboratorium Bioekologi dan Farmasitika Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi Manado. Pengambilan sampel Spons diambil di Pantai Malalayang, Manado. Waktu pelaksanaan penelitian ini berlangsung dari bulan Oktober sampai Desember 2018.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang terdiri dari empat perlakuan dan masing-masing perlakuan memiliki 3 ulangan. Dengan demikian jumlah unit percobaan yang terdapat dalam penelitian ini adalah 12 unit (4x3). Sebagai perlakuan adalah ekstrak spons dengan dosis berbeda, yaitu:

Perlakuan	Dosis
A	Pakan + 0 g ekstrak kasar spons laut
B	Pakan + 20 g ekstrak kasar spons laut
C	Pakan + 40 g ekstrak kasar spons laut
D	Pakan + 60 g ekstrak kasar spons laut

Organisme Uji

Hewan uji yang digunakan adalah ikan nila sebanyak 120 ekor, berukuran panjang berkisar 5 – 8 cm/ekor. Ikan uji

diperoleh dari Balai Benih Air Tawar (BBAT) Tateli Kabupaten Minahasa Selatan Provinsi Sulawesi Utara.

Ekstrak kasar spons yang digunakan adalah spons *Cribrochalina* sp. Sampel spons diambil dari Perairan Pantai Malalayang, Manado pada kedalaman 6 – 10 m.

Identifikasi Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di Perairan Pantai Malalayang pada kedalaman 6 – 10 m menggunakan alat selam. Selanjutnya, sampel yang diambil dimasukkan dalam kantung plastik yang dilengkapi dengan penutup, kemudian dimasukan kedalam *cool box* dan di bawa ke Laboratorium Penyakit Ikan, Lingkungan dan Toksikologi. Pengidentifikasian sampel spons dilakukan dengan melihat bentuk, warna dan struktur spons. Jenis spons ditentukan dengan pencarian melalui situs www.spongeguide.org.

Ekstraksi dan Evaporasi

Proses ekstraksi sampel dimulai dengan memotong spons berbentuk kubus/dadu ukuran 1x1 cm dan dimaserasi dalam larutan etanol 96% selama 24 jam dengan perbandingan 1:2. Selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas Whatman untuk mendapatkan ekstrak spons. Ekstrak etanol sampel spons sebanyak 1 liter diuapkan dengan *Rotary vacuum evaporator* pada suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak kasar (berbentuk pasta).

Kultur *Streptococcus agalactiae*

Bakteri *Streptococcus agalactiae* dikultur terlebih dahulu sebelum digunakan dengan menggunakan media Blood Agar. Media *Blood Agar* dibuat dengan cara menimbang bubuk *Blood Agar* sebanyak 4 g dan dilarutkan dengan 100 mL aquades dalam botol schoot. Larutan kemudian dimasak di atas api bunsen sambil digoyang-goyang agar merata sampai mendidih dan berubah warna menjadi bening. Setelah mendidih, larutan diangkat dan dipindahkan dalam autoclave untuk disterilkan.

Kultur bakteri dilakukan dengan cara menggores jarum ose yang

dipanaskan diatas api bunsen. Bakteri diambil menggunakan jarum ose dan di gores secara aseptik pada permukaan media kemudian di inkubasi dalam inkubator pada suhu 28 °C selama 24 jam. Bakteri yang sudah tumbuh di simpan dalam lemari pendingin dan siap digunakan.

Persiapan Pakan Uji

Pakan yang digunakan adalah pelet komersil FF-999. Pertama-tama, pakan tersebut ditimbang sesuai dosis pemberian pakan yang ditentukan yaitu 5% dari bobot biomassa ikan. Selanjutnya, ekstrak spons ditimbang sesuai dosis yang ditetapkan yakni 0 (perlakuan A), 20 (perlakuan B), 40 (perlakuan C) dan 60 g/Kg pakan (perlakuan D). Penimbangan dilakukan menggunakan timbangan digital. Setelah ditimbang, ekstrak spons dimasukkan ke dalam wadah tabung yang sebelumnya telah diisi dengan aquades sampai 25 mL. Larutan spons 25 mL telah diuji cukup untuk menutupi permukaan pelet sebanyak 1 Kg. Tabung berisi larutan spons selanjutnya dikocok hingga ekstrak spons tersuspensi secara merata dalam air, kemudian dimasukkan kedalam sprayer dan disemprotkan secara merata pada pakan.

Prosedur Penelitian

Sebelum penelitian dilakukan, ikan yang diambil dari BBAT dimasukkan dalam akuarium berukuran 60x40x40 cm untuk diaklimatisasi selama satu minggu. Selama aklimatisasi ikan diberi pakan pellet komersil yang diberikan dua kali sehari yaitu pagi jam 10.00 dan sore jam 17.00. Selama proses aklimatisasi kualitas air dipertahankan kestabilannya dengan melakukan penyiponan dan pergantian air untuk mengeluarkan kotoran dan sisa pakan dari dasar akuarium.

Setelah proses aklimatisasi selesai, ikan dipindahkan ke dalam 12 akuarium kaca masing-masing berukuran 30x40x40 cm dengan kepadatan 10 ikan/akuarium. Selama

periode penelitian, ikan diberi pakan perlakuan yang sudah disiapkan sebelumnya dengan dosis 5%/bb/hari dengan frekuensi pemberian pakan dua kali sehari yaitu pagi jam 10.00 dan sore jam 17.00. Pemberian pakan perlakuan pada hewan uji berlangsung selama 2 minggu. Kualitas air selama masa percobaan dijaga agar tetap berada dalam kondisi yang baik/terkontrol dengan cara melakukan pergantian air, menggunakan aerator dan resirkulasi air.

Ikan ditimbang 2 kali untuk diketahui pertambahan beratnya. Penimbangan dilakukan pada minggu pertama dan minggu kedua setelah ikan diberikan pakan dengan ekstrak kasar spons. Setelah 14 hari, selanjutnya 6 ekor ikan dari tiap perlakuan diambil untuk dilakukan ujiantang selama 1 minggu. Ujiantang dilakukan dengan cara dipping (perendaman). Ikan nila direndam dalam 1 liter air yang telah dicampur dengan 1×10^6 cfu/mL *S.agalactiae* (Aryanto, 2011, Rodkhum *et al.*, 2015, Taukhid *et al.*, 2018, Sukenda *et al.*, 2018). Perendaman dilakukan selama 3 jam. Selanjutnya, ikan yang dianggap sudah terinfeksi bakteri dipindahkan ke dalam akuarium. Pengamatan resistensi ikan dilakukan setiap hari selama 7 hari. Resistensi diamati setelah ikan diujiantang dengan bakteri patogen. Selama periode ujiantang ikan diberi pakan tanpa penambahan ekstrak kasar spons sebanyak 5%/bb/hari dan diberikan dua kali sehari jam 10.00 dan 17.00.

Parameter Uji Parameter Imun

Data parameter imun yang diukur yaitu menghitung Total Leucocyte Count (TLC). Untuk total leukosit maka dibutuhkan sampel darah ikan. Pengambilan darah dilakukan pada bagian vena caudalis. Perhitungan jumlah leukosit dikerjakan menggunakan haemocytometer. Darah yang telah berada di dalam microtube ditambahkan larutan Turk's sebanyak 1 ml atau perbandingan darah dan larutan

Turk's adalah 1:10. Pengamatan dan perhitungan total leukosit dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x. Jumlah leukosit dihitung dengan formula:

TCL = Jumlah leukosit rata-rata x 16 x pengenceran x 10^4 sel/ml

Resistensi Ikan Nila

Resistensi ikan nila terhadap serangan infeksi *Streptococcus agalactiae* dilihat dari tingkat kelulushidupan ikan. Tingkat kelangsunganhidup dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Zonneveld *et al.*, 1991; Nasution *et al.*, 2014):

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100 \%$$

Dimana:

SR = Tingkat kelangsunganhidup

No = Jumlah ikan pada awal penelitian

Nt = Jumlah kultivan pada akhir penelitian

Pertumbuhan

Data pertumbuhan ikan akan diukur setiap minggu sekali. Pertumbuhan ikan yang akan diukur adalah pertumbuhan mutlak yaitu selisih antara berat ikan yang diukur terakhir penelitian dan berat awal ikan. Pertumbuhan mutlak dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Effendie, 2002; Sari *et al.*, 2017):

$$\Delta G = W_t - W_o$$

Dimana:

ΔG = Pertumbuhan (g)

W_t = Berat ikan pada waktu t (g)

W_o = Berat ikan pada awal percobaan (g)

Analisis Data

Pengaruh perlakuan ekstrak spons terhadap peningkatan resistensi ikan nila terhadap *S. agalactiae*, sistem imun dan pertumbuhan ikan nila akan dikerjakan menggunakan analisis ragam (ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95%. Apabila ekstrak spons memberikan pengaruh maka akan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan, untuk mengevaluasi perbedaan pengaruh antar perlakuan. Analisis data dilakukan menggunakan

program *Statistical Product and Service Solutions (SPSS)* Versi 22 untuk windows

HASIL & PEMBAHASAN

Cribrochalina sp.

Spons laut yang digunakan dalam

penelitian adalah jenis *Cribrochalina* sp. Identifikasi jenis spons yang didapat dilakukan di website www.spongeguide.org dengan mencocokkan ciri-ciri dari spons yang digunakan.



Gambar 1. Morfologi sampel spons yang diambil dari perairan Malalayang (*Cribrochalina* sp.)

Cribrocallina masuk dalam kelas spons Demospongiae berbentuk kerucut terbalik yang halus, berbentuk telinga atau berbentuk kipas. Adapula yang berbentuk bercabang (tegak lurus atau dengan ujung tumpul) dan biasanya *Cribrochalina* yang berbentuk cabang merupakan spesies *Cribrochalina* dura. Berwarna coklat, ungu violet dan coklat dengan sedikit kehitaman. Spons ini memiliki konsistensi atau bertekstur keras.

Cribrchalina mengandung sebuah variasi senyawa bioaktif yang mengandung antimikroba yaitu cribrosatins 2 dan 4 (Pettit *et al.*, 2000; Pettit *et al.*, 2004). Spons jenis ini juga telah ditemukan berpotensi sebagai antijamur dan sedang dikembangkan sebagai obat antikanker pada penderita kanker ovarium manusia (Calabresi *et al.*, 2001). Menurut Latundra dan Ahmad (2008), *Cribrochallina* yang diisolasi dari perairan Sulawesi Selatan menunjukkan adanya senyawa protein bioaktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Salmonella typhy*, *Vibrio cholera*, *Staphylococcus aureus* dan *Echerichia coli*.

Resistensi Ikan Nila.

Setelah pemeliharaan selama 14 hari, selanjutnya dilakukan ujiantang pada ikan nila dengan menginfeksi ikan dengan bakteri *Streptococcus agalactiae* (konsentrasi 10^6 cfu/mL) dengan cara perendaman. Ikan nila diamati selama 7 hari, dan tidak lagi diberikan pakan dengan penambahan ekstrak spons. Kelangsungan hidup ikan yang diberikan pakan dengan ekstrak kasar spons (perlakuan B, C dan D) menunjukkan tingkat kelangsungan hidup 100%. Sedangkan pada perlakuan A (kontrol) tingkat kelangsungan hidupnya tidak sampai 100%, yaitu hanya sebesar 72,22%. Tingginya tingkat kelangsungan hidup ikan nila terhadap *S. agalactiae* karena spons *Cribrochalina* telah dilaporkan mengandung senyawa antimikroba yang mampu menghambat bakteri patogen (Pettit *et al.*, 2004 dan Latundra & Ahmad, 2008).

Total Leukosit

Hasil perhitungan menunjukkan bahwa total leukosit yang didapat perlakuan C (penambahan ekstrak kasar spons sebanyak 40 g/kg pakan)

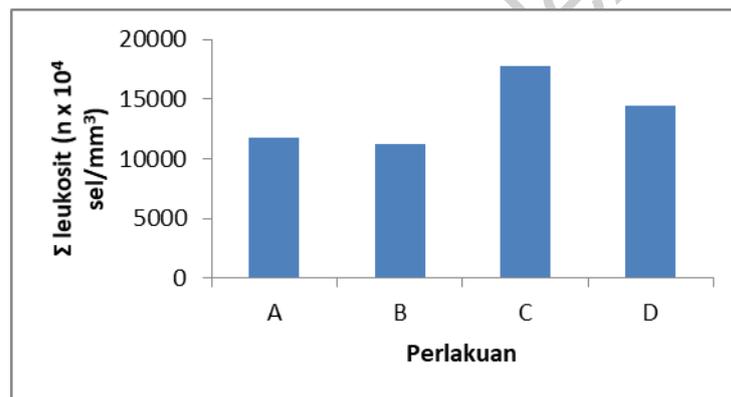
menghasilkan total leukosit tertinggi diikuti oleh perlakuan D (penambahan ekstrak kasar spons 60 g/kg pakan). Sedangkan total leukosit pada perlakuan A (kontrol) lebih tinggi dibandingkan dengan total leukosit pada perlakuan B (penambahan ekstrak kasar spons 20 g/kg pakan).

Leukosit (sel darah putih) merupakan sistem pertahanan tubuh ikan untuk melawan berbagai macam penyakit (Ellis, 1997). Leukosit

merupakan unit sistem pertahanan tubuh paling aktif dan beredar di dalam sirkulasi darah. Fungsi leukosit sendiri adalah untuk merusak bahan-bahan infeksius dan toksis melalui proses fagositosis dengan membentuk antibodi (Erika, 2008). Total leukosit rata-rata yang didapat berdasarkan hasil perhitungan adalah 13.777,8 sel/mm³. Sasongko (2001) melaporkan bahwa jumlah leukosit ikan berkisar antara 20.000 – 150.000 sel/mm³.

Tabel 1. Resistensi ikan nila setelah diinfeksi *Streptococcus agalactiae*

Perlakuan	SR (%)
A	72.22
B	100
C	100
D	100



Gambar 1. Grafik total perhitungan leukosit ikan nila yang diberi pakan dengan penambahan ekstrak spons

Total leukosit yang dihitung jumlahnya jauh dibawah dari jumlah leukosit ikan normal seperti yang dilaporkan oleh Sasongko (2001). Penurunan total leukosit ikan dapat disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah stress. Stress pada ikan bias dipicu oleh beberapa faktor abiotik lingkungan (perubahan suhu, pH, konsentrasi O₂), interaksi biotik (gangguan predator, masuknya parasit maupun bakteri atau adanya kompetitor yang kuat), serta oleh aktivitas manusia yang berhubungan dengan penanganan dan pemanenan ikan (Witeska, 2005 dan Lubis *et al.*, 2016). Modra *et al.*, 1998 menjelaskan bahwa stress pada ikan

dapat menyebabkan diferensial total leukosit, yang menyebabkan total leukosit menjadi naik ataupun turun. Penurunan jumlah leukosit saat perhitungan dalam penelitian ini, diduga disebabkan karena adanya stress pada ikan, baik yang disebabkan oleh faktor abiotik di lingkungan ikan tinggal, faktor biotik (adanya infeksi awal sebelum dijadikan objek penelitian) ataupun oleh manusia. Penurunan leukosit yang diakibatkan oleh adanya infeksi, karena total leukosit yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik digunakan untuk melokalisasi dan mengeliminir patogen melalui fagositosis (Prasetio *et al.*, 2017).

Namun demikian, walaupun jumlah leukosit yang dihitung masih dibawah rata-rata jumlah leukosit normal ikan, masih terlihat adanya perbedaan jumlah perlakuan dimana perlakuan C (pemberian ekstrak kasar spons 40 g/kg pakan) menunjukkan hasil yang tertinggi. Hasil uji lanjut Duncan (Lampiran 6) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan C dengan perlakuan A, juga pada perlakuan C dan perlakuan B, sedangkan antar perlakuan lainnya tidak terdapat perbedaan signifikan (Gambar 13). Perbedaan signifikan antara perlakuan C (penambahan ekstrak spons 40 g/kg pakan) dengan perlakuan A (tanpa perlakuan) diduga akibat penambahan ekstrak kasar spons dalam pakan yang diberikan pada ikan uji.

Peningkatan jumlah leukosit dapat dipicu oleh pemberian imunostimulan. Imunostimulan merupakan berbagai bahan (zat kimia, obat-obatan maupun bahan lainnya) yang dinyatakan dapat meningkatkan daya tahan tubuh terhadap penyakit (Handayani, 2015). Berbagai ekstrak tumbuhan telah dilaporkan dapat berfungsi meningkatkan pertumbuhan, merangsang nafsu makan dan memiliki sifat antimikroba, serta bertindak sebagai imunostimulan dalam budidaya ikan (Chi *et al.*, 2016). Senyawa flavonoid yang terdapat dalam tanaman herbal meningkatkan sistem kekebalan atau respon imun (Parlinaningrum *et al.*, 2014 dan Rauf *et al.*, 2016). Kandungan

flavonoid juga telah dilaporkan terdapat dalam spons laut *Callyspongi aerizusa* (Rumampuk *et al.*, 2017) dan pada spons *Axinella cateri* Dendy (Rivai *et al.*, 2010).

Spons mirip dengan hewan sesil laut lainnya, menampung banyak spesies bakteri dalam hubungan simbiosis (Thomas *et al.*, 2010). Mikroba simbiosis ini menghasilkan senyawa aktif sebagai respon terhadap kondisi ekstrim terhadap lingkungannya melalui mekanisme pertahanan tubuhnya. Bakteri simbiosis beserta dengan senyawa aktif yang dihasilkan dapat bersifat sebagai stimulus apabila dihadirkan dalam tubuh inang. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak kasar spons bukan hanya berfungsi sebagai bahan antimikroba melainkan sebagai bahan imunostimulan. Reha *et al.*, (2013) telah berhasil mengisolasi beberapa jenis protein yang dapat menjadi imunostimulan baik yang ada dalam spons sendiri maupun bakteri simbiosisnya. Natori *et al.*, (1993) dalam Yang *et al.*, (2004) melaporkan bahwa spons laut juga memiliki aktivitas imunostimulan dari α -C-galactosylceramide yang berasal dari spons *Agelas mauritanus*.

Pertumbuhan Mutlak

Penambahan ekstrak kasar spons *Cribrochalina* sp. dengan konsentrasi yang berbeda setiap perlakuan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan mutlak ikan nila.

Tabel 2. Pertumbuhan mutlak ikan nila yang diberi perlakuan selama 14 hari

Perlakuan	Pertumbuhan Mutlak
A	2.45±0.97 ^{ab}
B	2.64±0.38 ^{ab}
C	4.90±2.33 ^b
D	1.10±1.79 ^a

Keterangan : *superscript* yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Penelitian ini menunjukkan bahwa pertumbuhan terbaik dicapai pada ikan yang diberi pakan dengan penambahan ekstrak spons mengandung 40 g/kg pakan (perlakuan C), disusul oleh ikan

yang diberi ekstrak spons 20 g/kg pakan (perlakuan B) dan hasilnya tidak jauh berbeda dengan pertumbuhan mutlak ikan yang tidak diberi ekstrak spons (perlakuan A). Hal ini menunjukkan

bahwa jumlah ekstrak spons yang ditambahkan pada perlakuan B mungkin masih belum cukup (jumlahnya masih terlalu sedikit) untuk memberikan respon yang optimal terhadap pertumbuhan ikan nila.

Pada penambahan ekstrak spons yang lebih tinggi (60 g/kg pakan) yaitu pada perlakuan D pertumbuhan yang teramati lebih kecil dari perlakuan A. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak spons dengan jumlah yang lebih tinggi pada (60 g/Kg pakan), pertumbuhan ikan nila semakin menurun. Hasil ini diduga karena konsentrasi yang diberikan diduga dosis yang diberikan sudah melebihi dosis optimum, maka spons yang mengandung berbagai bahan aktif dapat menekan sel-sel tubuh ikan dan dapat menjadi racun di dalam tubuh jika jumlahnya sudah terlalu banyak (Tabel 3).

Berdasarkan hasil analisis ragam pertumbuhan ikan nila setelah 14 hari diberi pakan dengan penambahan ekstrak kasar spons diperoleh nilai signifikansi (sig.) sebesar 0,039 menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa pertumbuhan mutlak ikan nila pada perlakuan A, B dan D berbeda nyata dengan C namun di antara ketiga perlakuan tersebut tidak terdapat perbedaan nyata.

KESIMPULAN

1. Jenis spons yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Cribrochalina* sp.
2. Pemberian ekstrak kasar spons *Cribrochalina* sp. dapat meningkatkan resistensi ikan nila terhadap infeksi bakteri *Streptococcus agalactiae*.
3. Pemberian ekstrak kasar spons dalam pakan memberikan pengaruh yang baik terhadap pertumbuhan dan sistem imun ikan nila.
4. Dosis ekstrak kasar spons *Cribrchaliina* sp. yang efektif secara optimal dalam meningkatkan

pertumbuhan ikan nila dicapai pada perlakuan C (penambahan ekstrak kasar spons 40 g/kg pakan).

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander BE, Liebrand K, Osinga R, Gees HGV, Admiraal W, Cleutjens JPM, Schutte B, Verheyen F, Ribes M, Loon EV, Goeij JM. 2014. Cell Turnover and Detritus Production in Marine Sponges from Tropical and Temperate Benthic Ecosystems. PLOS ONE International Journal, 9(10): 1 – 11.
- Amir I, Budiyanto A. 1996. Mengenal Spons Laut (Demospongiae) Secara Umum. Jurnal Oseana, 21:15 – 31.
- Aryanto, EW. 2011. Patogenitas *Streptococcus agalactiae* Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Bromage ES, Thomas A, Owens L. 1999. *Streptococcus iniae*, a Bacterial Infection in Barramundi *Lates calcarifer*. Journal of Diseases of Aquatic Organisms, 36: 177 – 181.
- Calabresi, P., F.A. Goulette, J.W. Darnowski. 2001. Taurolidine: Cytotoxic and Mechanistic Evaluation Asa Novel Antineoplastic Agent. Journal of Cancer Res 61, 6816–6821.
- Conroy G. 2009. Tilapia streptococcosis: Prevalence of *Streptococcus* species in Latin America and their pathological manifestations. Proceedings Managing *Streptococcus* in Warmwater Fish. 15-20.
- Ellis, A.E. 1997. Leukocytes of Fish – Review. Journal of Fish Biology, 11: 453 – 491.
- Erika Y. 2008. Gambaran Diferensiasi Leukosit Pada Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) di Derah Ciampea Bogor. Skripsi.

- Fakultas Kedokteran Hewan;
Institut Pertanian Bogor.
- Evans JJ, Pasnik DJ, Klesius PH, Al-Ablani S. 2006. First Report of *Streptococcus agalactiae* and *Lactococcus garvieae* From a Wild Bottlenose Dolphin (*Tursiops Truncatus*). *Journal of Wildlife Diseases*. 42(3) : 561-569.
- Galina J, Yin G, Ardo L, Jeney Z. 2009. The Use of Immunostimulating Herbs in Fish. An Overview of Research. *Fish Physiol Biochem*, 35: 669 – 676.
- Lubis, N.G., Sugito, Zuhrawati, Zuraidawati, N. Asmilia, Hamny, U. Balqis. 2016. Efek Peningkatan Suhu Terhadap Jumlah Leukosit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Medika Veterania*, 10(1): 31 – 33.
- Modra, H., Z. Svobodova, J. Kolarova. 1998. Comparison of Differential Leukocyte Counts in Fish of Economic and Indicator Importance. *Acta Veterinaria Brno. Article*, 67(4): 215 – 226.
- Nasution, I., A. Supardi, F. Basuki, S. Hastuti. 2014. Analisis kelulushidupan dan Pertumbuhan Benih Nila Salin. *Jurnal of Aquaculture Management and Technology*, 3(2).
- Parlinaningrum, D., S. Widyarti, M. Rifa'i. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol *Annona muricata* Linn. Terhadap Peningkatan Jumlah B220 Pada *Mus musculus*. *Jurnal Biotropika*, 2(5): 269 – 272.
- Payung, C.N., & Manoppo, H. 2015. Peningkatan Respon Kebal Non-spesifik dan Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Melalui Pemberian Jahe, *Zingiber officinale*. *Jurnal Budidaya Perairan*, 3(1): 11 – 18.
- Pettit, R.K., B.R. Fakoury, J.C. Knight, C.A. Weber, G.R. Pettit, G.D. Cage, S. Pon. 2004. Antibacterial Activity of The Marine Spone Sonstituent Cribrostatin 6. *Journal of Medical Microbiology*, 53: 61 – 65.
- Prasetio, E., M. Fakhrudin, H. Hasan. 2017. Pengaruh Serbuk Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Hematologi Ikan Jelawat (*Leptobarbus hoevenii*) Yang Diuji Tantang Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Ruaya*, 5(2): 44 – 54.
- Rauf, A., Haeria, D. Anas. 2016. Efek Immunostimulan Fraksi Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr.) Terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Makrofag Pada Mencit Jantan (*Mus Musculus*). *Jurnal Farmasi*, 4(1): 9 – 15.
- Reha, W., A. Noor, A. Ahmad, N.L. Nafie, D. Salama. 2013. Karakterisasi Protein Aktif Dari Spons dan Mikroba Simbionnya Sebagai Usaha Awal Menuju Agen Immunostimulan. *Jurnal Marina Chimica Acta*, 14(1): 1 – 11.
- Rivai, H., Meliyana, D. Handayani. 2010. Karakterisasi Ekstrak Spon Laut *Axinella carteri* Dendy Secara Fisika, Kimia dan Fisikokimia. *Jurnal Farmasi Higea*, 2(1): 1 – 12.
- Rodkhum, C., P. Kayansamruaj, N. Piratat. 2015. Effect of Water Temperature on Seseptibility to *Streptococcus agalactiae* Serotype Ia Infection in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Thai Vet Med*, 41(3): 309 – 314.
- Sari, I.P., Yulisman, Muslim. 2017. Laju Pertumbuhan dan Efisiensi Pakan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Dipelihara Dalam Kolam Terpal yang Dipuaskan Secara Periodik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 5(1): 45 – 55.
- Sasongko A. 2001. Biomassa Bakteri Nitrifikasi Pada Berbagai Bahan Filter Dalam Sistem Resirkulasi Aliran Tertutup dan Pengaruhnya Terhadap Kondisi Ikan: Gambaran Darah. Tesis. Program Pasca

- sarjana, Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Sukenda, S., A.L. Firmansyah, R. Rahman, S. Nuryati, D. Hidayatullah. 2018. Efikasi Vaksin *Streptococcus agalactiae* Strains N₃M and N₄M IN Pada Benih Ikan Nila yang Diinfeksi Strain *S. agalactiae* Jurnal Akuakultur Indonesia, 17(2): 168 – 180.
- Taukhid, T. Sumiati, S. Andriyanto. 2018. Efektivitas Metode Aplikasi Vaksin Trivalen Untuk Pencegahan Penyakit Bakteri Potensial Pada Budiadaya Ikan Air Tawar. Jurnal Riset Akuakultur, 13(1): 67 – 76.
- The Sponge Guide. A Picture Guide To Caribbean Sponges. Dalam laman: <http://spongeguide.org>. Diakses pada: 15/01/2019.
- Thomas, T.R.A., D.P. Kavlekar, P.A. LokaBharati. 2010. Marine Drugs from Sponge-Microbe Association – A Review. Article in National Center for Biotechnology Information (NCBI), 8(4): 1417 – 1468.
- Witeska, M. 2005. Stress in Fish – Hematological and Immunological Effects of Heavy Metals. Electronic Journal of Ichthyology, 1: 35 – 41.
- Yang, G., J. Schmieg, M. Tsuji, R.W. Franck. 2004. The C-Glycoside Analogue of the Immunostimulant α -Galactosylceramide (KRN7000): Synthesis and Striking Enhancement of Activity. Journal of Angewandte Chemie International, 43: 3818 – 3822.
- Yuasa, K.T., K. Kamaishi, M. Hatai, P. Bahnnan, Borisuthpeth. 2008. Two Cases of Streptococcal Infections of Cultured Tilapia in Asia. Journal of Diseases in Asian Aquaculture, 4: 259-268. Fish Health Section, Asian Fisheries Society: Manila.