

ABSTRAK

PEMANFAATAN TEPUNG BIJI MANGGA (*Mangifera indica*) DALAM PAKAN IKAN UNTUK MENINGKATKAN IMUNITAS DAN RESISTENSI BENIH IKAN GURAME TERHADAP *Aeromonas hydrophila*

Roffi Grandiosa, Rosidah, Walim Lili
FPIK Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung-Sumedang KM. 21 Bandung

Penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan tepung biji mangga dalam pakan ikan untuk imunitas dan resistensi benih ikan gurame terhadap penyakit bakterial *Aeromonas hydrophila*. Tepung biji mangga (*Mangifera indica*) ditambahkan ke dalam 1 kg pakan sebanyak 0 g (kontrol), 1 g, 5 g dan 10 g dan diberikan pada benih ikan gurame (30 g) selama 60 hari. Parameter haematologis (sel darah putih dan sel darah merah) diamati setelah 20, 40 dan 60 hari penelitian. Ikan diuji tantang dengan *A. hydrophila* (10^7 CFU/ekor) pada hari ke 60 dan kelangsungan hidup ikan diamati selama 7 hari setelah infeksi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ikan yang diberikan pakan tambahan tepung biji mangga sejumlah 5 g dan 10 g menunjukkan peningkatan jumlah SDP dan SDM yang signifikan ($P < 0.05$) bila dibandingkan dengan kontrol. Kelangsungan hidup ikan (%) dicatat selama 7 hari setelah uji tantang. Kelangsungan hidup tertinggi setelah 7 hari terdapat pada perlakuan penambahan tepung biji mangga sebanyak 10 g dengan SR 50%. Pada perlakuan kontrol, ikan mengalami kematian total 7 hari setelah uji tantang. Peningkatan dosis tepung biji mangga secara signifikan meningkatkan jumlah sel darah putih. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tepung biji mangga menstimulasi imunitas dan menyebabkan ikan gurame resisten terhadap serangan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Kata kunci: gurame, imunitas, tepung biji *Mangifera indica*, resistensi ikan

Dimuat pada *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur (Buku 2)*. 2009

ABSTRACT

EFFECT OF MANGO (*Mangifera indica*) KERNEL AS A FEED ADDITIVE ON IMMUNITY DAN RESISTANCE OF GOURAMY JUVENILES AGAINST *Aeromonas hydrophila*

Roffi Grandiosa, Rosidah, Lili Walim
FPIK Padjadjaran University
Jl. Raya Bandung-Sumedang KM. 21 Bandung

The study was conducted to determine the effect of mango (*Mangifera indica*) kernel as a feed additive on immunity dan resistance of gouramy juveniles against bacterial disease of *Aeromonas hydrophila*. Mango kernel was added to 1 kg of feed with dosage of 0 g (control), 1 g, 5 g and 10 g and fed to juvenile gurame (30 g) for 60 days. Haematological parameters (white blood cells and red blood cells) was observed after 20, 40 and 60 days of research. Fish were challenged with *A. hydrophila* (10^7 CFU/fish) on day 60 and survival of fish were observed 7 days after infection.

The results showed that the fish given additive mango kernel of 5g and 10 g showed significant increase in WBC and RBC ($P < 0.05$) when compared to fish control. Fish survival (%) was recorded 7 days after bacterial challenge test. The highest survival after 7 days of treatment was from the addition of 10 g of mango seed kernel with 50% SR. In the control treatment, fish experienced total death, 7 days after bacterial challenge test. Increasing dose of mango kernel significantly increased the number of white blood cells. The results of this research showed that mango kernel stimulates the immunity and resistance of juvenil gouramy against *Aeromonas hydrophila*.

Key words: *Osphronemus gouramy*, immunity, *Mangifera indica* kernel, fish resistance

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1. <i>Aeromonas hydrophila</i>	4
II.2 Gurame (<i>Osphronemus gouramy</i>)	5
II.3 Immnostimulasi dan Resistensi	6
BAB III TUJUAN DAN MABFAAT PENELITIAN	7
BAB IV METODE PENELITIAN	8
IV.1 Benih Ikan Gurame dan Penanganannya	8
IV.2 Biji Mangga (<i>Mangifera indica</i>) dan Penanganannya	8
IV.3 Persiapan Pakan	8
IV.4 Rancangan Percobaan dan Pemberian Pakan	9
IV.5 Kultur dari Patogen	9
IV.6 Pengumpulan Sampel Darah	9
IV.7 Penentuan Parameter Darah	10
IV.8 Uji Tantang	10
IV.9. Pertumbuhan Ikan	10
IV.10 Kelangsungan Hidup Ikan	10
IV.11 Analisa Statistik	10
BAB V PEMBAHASAN	11
V.1 Parameter Haematologis	11
V.2 Kelangsungan Hidup Ikan	13
V.3. Pertumbuhan Ikan	14
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	15
VI.1 Kesimpulan	15
VI.2 Saran	15
DAFTAR PUSTAKA	16

DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
1. Tahap Pertumbuhan Gurame.....	6
2. Jumlah Bahan Pada Pakan Kontrol dan Pakan Eksperimen.....	9
3. Pengaruh Penambahan Tepung Biji Mangga Pada Jumlah Sel Darah Putih	11
4. Pengaruh Penambahan Tepung Biji Mangga Pada Jumlah Sel Darah Merah	13
5. Pengaruh Penambahan Tepung Biji Mangga Pada Kelangsungan Hidup Ikan	13

BAB I

PENDAHULUAN

Subsektor perikanan memegang peranan penting dalam penyediaan protein hewani bagi rakyat Indonesia. Produksi perikanan Indonesia tahun 2006 adalah sebesar 7.39 juta ton (detikfinance.com, 2007) dan dari jumlah total tersebut, budidaya perikanan menyumbangkan 2.67 juta ton (Sinarharapan.co.id, 2007). Produksi budidaya ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) pada tahun 2006 adalah sebesar 35.570 ton, meningkat 113 persen dibanding tahun sebelumnya yaitu sebesar 25.442 ton (Sinarharapan.co.id, 2007). Untuk memenuhi permintaan produk perikanan yang terus meningkat, penerapan intensifikasi budidaya tidak dapat dihindarkan. Namun, intensifikasi budidaya dapat menimbulkan berbagai dampak penyakit.

Hingga kini, metode yang banyak digunakan untuk menanggulangi penyakit pada ikan budidaya adalah pengobatan dengan zat kimia atau antibiotik. Penggunaan antibiotik dan terapi kimiawi untuk penanganan penyakit ikan pada akuakultur telah mendapatkan kritikan tajam (FAO, 2002). Saat ini penelitian mengenai sarana pengobatan alternatif yang lebih ramah lingkungan seperti probiotik dan imunostimulan berbasis tanaman semakin meningkat penggunaannya. Pengetahuan dan teknologi lokal (*indigenous*) untuk mengatasi penyakit ikan semakin mendapat perhatian dalam bidang manajemen penyakit dan kesehatan ikan.

Mangifera indica L. (mangga), merupakan tanaman yang tergabung pada famili Anacardiaceae, kelompok tanaman yang ditemui pada wilayah tropis dan subtropis. Mangga mempunyai banyak manfaat dalam bidang kesehatan antara lain sebagai anti mikroba (Kabuki *et al*, 2000 dan Keita *et al*, 2004), anti virus, anti jamur (Cojocar M. *et al*, 1986), anti diare (Sairam *et al*, 2003), antioksidan (Scartezzini dan Speroni, 2002), antitumor (Garrido *et al*, 2004) dan juga sebagai immuno modulator (Makare *et al*, 2001). Biji mangga yang harganya murah dan mudah ditemui, sering tidak dimanfaatkan dan ternyata secara tradisional mulai dimanfaatkan oleh petani ikan di India pada bidang

budidaya perikanan.

Pemanfaatan tepung biji mangga telah diteliti pertama kali kegunaannya dalam stimulasi status imun ikan *Labeo rohita* terhadap *Aeromonas hydrophila* oleh Sahu *et al.* (2007). Tepung biji mangga ternyata dapat digunakan sebagai bahan pakan tambahan untuk meningkatkan status non spesifik imun ikan *Labeo rohita* terhadap serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* (Sahu *et al.* 2007).

Masalah hama dan penyakit pada usaha budidaya ikan gurame merupakan kendala yang serius karena menyebabkan tingkat kematian tinggi, terutama pada fase benih (Jangkaru, 2007). Hama dan penyakit umumnya terjadi setelah ikan mengalami gangguan non parasiter seperti kerusakan fisik, kekurangan gizi, berkurangnya kualitas air dan sanitasi lingkungan yang buruk (Jangkaru, 2007).

Hambatan yang cukup besar yang dihadapi oleh petani ikan gurame khususnya di daerah Tasikmalaya adalah penyakit yang sering menyerang antara bulan Februari dan Juni (Pikiran-rakyat.com, 2007). Berdasarkan wawancara personal (Opik, 2007), pada masa tersebut berkurangnya kualitas air disebabkan oleh curah hujan yang rendah karena telah memasuki musim kemarau. Salah satu penyakit yang disebabkan *Aeromonas hydrophila* mampu menyerang berbagai jenis ikan air tawar termasuk ikan gurame dan hal ini menjadi suatu hambatan bagi upaya pembesaran benih.

Penanganan yang dilakukan di tingkat petani bergantung pada antibiotik seperti *Oxytetracycline*, *inrofloxacin* dan malachite green (Jangkaru, 2007) namun penggunaan antibiotik yang berlebihan dapat menyebabkan resistensi dari bakteri terhadap pengobatan. Pada kondisi resistensi intrinsik, agen anti bakteri diduga tidak mampu memasuki sel bakteri dan bekerja pada target yang dituju. Di lain hal, bakteri dapat memperoleh resistensi (*acquired resistance*) karena pengaruh dari antibiotik (FAO, 2005). Pada kondisi merebaknya bakteri resisten maka antibiotik tidak dapat menyembuhkan ikan yang terkena infeksi bakteri (FAO, 2005).

Salah satu cara untuk mengantisipasi penyakit yang disebabkan *Aeromonas hydrophila* adalah dengan stimulasi imun dari organisme dan yang termasuk ke dalamnya adalah kapasitas imun spesifik dan non spesifik (Zhou Jin, 2004). Penggunaan bahan yang ramah lingkungan semakin mendapat perhatian dan bahan-bahan yang alami (*herbs*) diperhitungkan sebagai salah satu solusi untuk menstimulasi status imun dari ikan.

Penelitian yang menggunakan bahan-bahan alami antara lain penggunaan rempah Cina (*Astragalus radix* dan *Scutellaria radix*) dapat meningkatkan respon imun spesifik dari ikan Tilapia (*Oreochromis niloticus*) terhadap *Aeromonas hydrophila* yang dilakukan oleh Guojun Yin (2005). Beberapa peneliti Indonesia juga meneliti manfaat ekstrak daun kipahit untuk penanggulangan mycobacteriosis pada ikan gurame (Supriyadi *et al.*, 2006). Jinten hitam (*Nigella sativa*) juga berpotensi menghambat *Aeromonas hydrophila* pada penelitian secara in-vitro namun belum diketahui penggunaannya terhadap ikan air tawar (Tumar dan Boimin, 2006).

Peningkatan resistensi dengan menggunakan tepung biji mangga (*Mangifera indica*) baru pertama kali dilakukan oleh Sahu *et al* (2007) namun baru dicoba pada jenis ikan carp. Terbukti dalam penelitian Sahu *et al.* (2007) bahwa tepung biji mangga yang ditambahkan sebanyak 5 g / kg mampu meningkatkan resistensi ikan *L. rohita*. Penelitian pemanfaatan tepung biji mangga dalam pakan terhadap benih ikan gurame belum pernah dilakukan sebelumnya. Prosedur dan metoda yang dilakukan oleh Sahu *et al.* (2007), diaplikasikan pada penelitian ini dan diharapkan untuk memberikan kontribusi bagi masyarakat khususnya bagi pembudidaya gurame di wilayah Kabupaten Tasikmalaya.

Hipotesis dari penelitian ini adalah dosis tepung biji mangga sebanyak 5 g/kg dapat meningkatkan resistensi dari benih ikan gurame (*Osphronemus gouramy*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Aeromonas hydrophila

Aeromonas hydrophila menyebabkan penyakit yang dikenal dengan *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS), *Hemorrhagic Septicemia*, penyakit ulcer atau *Red-Sore Disease*. Sinonim dari penyakit ini berhubungan dengan gejala serangan penyakit yang disebabkan bakteri atau racun yang ditimbulkan bakteri yaitu septicemia pada permukaan tubuh ikan dan organ tubuh ikan lainnya. Bakteri ini adalah bakteri gram negatif berbentuk batang yang biasanya diisolasi dari kolam air tawar. Bakteri ini adalah organisme yang biasanya ditemui pada saluran pencernaan ikan. Penyakit yang diakibatkan bakteri ini menyerang berbagai jenis spesies ikan air tawar (Swann dan White, 1989).

Aeromonas hydrophila dikategorikan sebagai patogen oportunistis yaitu dapat menyebabkan penyakit bila kondisi memenuhi syarat. Pada situasi alami, kehadiran bakteri ini dianggap normal akan tetapi pada kondisi akuakultur yang intensif keberadaan bakteri ini patut diperhitungkan. Penyakit akibat bakteri ini biasanya muncul akibat dari kondisi stres pada ikan. Ahli akuakultur sepakat bahwa ikan dapat mengalami stres apabila terkondisikan pada penanganan yang kurang baik, kepadatan yang terlalu tinggi, transportasi dalam kondisi yang buruk, nutrisi yang tidak memadai dan kualitas air yang buruk. Beberapa faktor kualitas air yang dapat menyebabkan ikan rentan terserang *Aeromonas hydrophila* antara lain tingginya kandungan nitrit, rendahnya kandungan oksigen terlarut dalam air atau tingginya kandungan karbon dioksida terlarut (Swann dan White, 1989).

Ikan yang terserang penyakit dapat menunjukkan beberapa gejala antara lain kematian yang mendadak, kurangnya nafsu makan, gerakan berenang yang tidak normal, insang yang pucat, pembengkakan tubuh atau luka-luka pada ikan (Anonim, 2007).

Luka pada ikan dapat terjadi pada bagian manapun dari ikan dan biasanya gejala ini

biasanya ditunjukkan dengan luka yang dikelilingi jaringan tubuh yang berwarna merah. Organ lain yang dapat diserang antara lain insang, ginjal, pankreas, spleen bahkan otot tulang. Simptom penyakit ini bervariasi mengingat hal ini tergantung dari beberapa faktor antara lain virulensi dari bakteri, resistensi ikan terhadap infeksi, hadirnya atau tiadanya septicemia dan bacteremia dan faktor yang diasosiasikan dengan stres pada ikan (Swann dan White, 1989).

Cara pencegahan penyakit ini antara lain dengan mengurangi faktor-faktor penyebab stress melalui penanganan yang baik, kepadatan yang memadai, nutrisi, transportasi dan kualitas air, hampir dipastikan ikan akan terhindar dari penyakit ini. Sanitasi dan filtrasi yang baik juga akan berpengaruh dalam manajemen kesehatan ikan.

Saat ini perawatan untuk ikan yang terkena penyakit ini mengaplikasikan antibiotik antara lain oksitetrasiklin dan sulfonamid. Akan tetapi aplikasi antibiotik dapat menyebabkan beberapa permasalahan antara lain dosis yang tidak memadai, overdosis dan resistensi bakteri terhadap obat. Ikan yang sebetulnya sehat juga bisa terkena stres apabila diaplikasikan dengan antibiotik (Swann dan White, 1989).

Pertahanan non spesifik sebagai pertahanan awal dalam sistem imun dapat ditingkatkan dengan adanya stimulan.

II.2. Gurame (*Osphronemus gouramy*)

Gurame merupakan ikan asli perairan Indonesia yang di berbagai daerah dikenal dengan nama gurameh, gurame, kalau dan kala. Dalam bahasa Inggris dikenal dengan nama giant gouramy (Anonim, 2007).

Menurut Bleeker klasifikasi gurame adalah sebagai berikut:

Filum	:	Chordata
Subfilum	:	Vertebrata
Kelas	:	Pisces
Bangsa	:	Labirinthici
Suku	:	Anabantidae
Marga	:	Osphronemus
Spesies	:	<i>Osphronemus gouramy</i> Lac.

Gurame berkembang biak sepanjang tahun dan tidak tergantung musim. Setelah telur

menetas akan menghasilkan larva yang mempunyai tahapan pertumbuhan seperti tabel di bawah ini

Tabel 1. Tahap Pertumbuhan Gurame

Umur	Sebutan Ukuran	Bobot	Panjang
1- 12 hari larva		-	< 0,5 cm
12-30 hari	Biji oyong	-	0,5 – 1 cm
1 – 2 bulan	Daun kelor	0,5 – 2,5 g	1 – 2,5 cm
3 bulan	Silet	2,5 – 5 g	2,5 – 4 cm
4 bulan	Korek api	5 – 10 g	4 – 6 cm
5 bulan	Bungkus rokok	50 g	12 – 15 cm
6 bulan	Telapak tangan	150 – 200 g	-
9 bulan	Konsumsi umum	500 g	-
1 tahun ke atas	Konsumsi khusus	1 kg	-

II.3. Imunostimulasi dan Resistensi

Fagosit dari ikan setelah aktifasi dapat memproduksi anion superoksida (O_2^-) dan turunan reaktifnya pada saat konsumsi oksigen yang tinggi yaitu *respiratory burst*. Aktivitas *respiratory burst* atau pelepasan komponen oksigen yang reaktif dapat bersifat toxic bagi patogen (Hardie *et al.*, 1996). Berbagai macam agen dapat menstimulasi fagosit antara lain bakteri, yeast RNA, levamisole, bubuk merica. Peningkatan aktivitas *respiratory burst* berhubungan dengan aktifitas membunuh dari fagosit.

Penggunaan imunostimulan dari bahan tumbuhan alami (*herbs*) dapat meningkatkan respon imun dari kelompok ikan carp (Sahu *et al.* 2006 dan Rao *et al.* 2006). Respon imun non spesifik berkaitan dengan aktifitas makrofag seperti fagositosis. Sahu *et al* (2007) melaporkan bahwa tepung biji mangga mampu bersifat membunuh bakteri.

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui dosis optimal dari tepung biji mangga yang dicampur dalam pakan komersial terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan ikan serta aspek imunitas dan resistensi ikan gurame terhadap *Aeromonas hydrophila*. Hasil penelitian yang diterapkan diharapkan dapat bermanfaat bagi petani yang tergabung Unit Pembenihan Rakyat (UPR) gurame di Kabupaten Tasikmalaya.

Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi tinggi terhadap pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang akuakultur. Hasil penelitian ini juga akan bermanfaat karena memanfaatkan bahan ramah lingkungan dalam manajemen kesehatan ikan.

BAB V

METODE PENELITIAN

IV.1. Benih Ikan Gurame dan Penanganannya

Benih ikan gurame berukuran 20 g diperoleh dari Balai Pengembangan Benih Ikan (BPBI) Singaparna, Kabupaten Tasikmalaya. Ikan ditransportasi ke Lab Basah Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran, Bandung. Ikan dimasukkan ke dalam bak bundar berukuran 1000 L untuk proses adaptasi. Ikan diberikan pakan sebanyak 3% persen berat tubuh per hari selama masa aklimatisasi. Setelah aklimatisasi ikan dipindahkan ke dalam akuarium. Setiap akuarium diisi ikan sejumlah 6 ekor per akuarium. Dimensi dari akuarium adalah (p x l x t); 80 cm x 30 cm x 30 cm. Akuarium sebanyak 16 buah diletakkan sedemikian rupa sehingga kondisi dari setiap akuarium sama. Akuarium diisi air yang berasal dari sumur pompa yang telah diendapkan sehari sebelumnya. Suhu air dijaga antara 25 – 27° Celcius dengan menggunakan heater dan mengalami pergantian air sejumlah 25% setiap 1 hari sekali.

IV.2. Biji Mangga (*Mangifera indica*) dan Penanganannya

Biji mangga diperoleh dari mangga varietas harum manis dan dibeli dari pasar lokal. Buah mangga kemudian dibersihkan dan dibuang dagingnya hingga hanya pelok mangga (kernel) yang tersisa. Kernel kemudian dibelah untuk mendapatkan isi biji mangga. Isi biji mangga di oven pada suhu 60°C, dihancurkan hingga menjadi tepung dan disaring menggunakan saringan berukuran 20 µm. Tepung kemudian dicampurkan dengan komponen pakan buatan untuk membuat pakan ikan komersial dengan jumlah 1 g, 5 g dan 10 g per kg dari pakan. Pakan tanpa tepung biji mangga adalah pakan pada perlakuan kontrol.

IV.3. Persiapan Pakan

Tiga jenis perlakuan pakan dipersiapkan dengan menyatukan tepung biji mangga kering ke dalam pakan pada 1 g, 5 g dan 10 g per kg dari pakan (Tabel 2). Pertama, bahan kering diaduk hingga merata dan kemudian 1% binder ditambahkan. Air ditambahkan dan

dicampurkan ke dalam mixer selama 20 menit. Hasilnya adalah adonan yang kemudian di buat pellet, dikeringkan pada temperatur ruangan selama 48 jam dan kemudian disimpan pada wadah yang kedap udara.

Tabel 2. Jumlah bahan (untuk 1 kg pakan) pada pakan kontrol dan pakan eksperimen

Bahan	Group A (Kontrol)	Group B	Group C	Group D
Tepung Bungkil Kelapa	230 g	230 g	230 g	230 g
Tepung Ikan	250 g	250 g	250 g	250 g
Dedak Padi	240 g	249 g	245 g	240 g
Tepung Kedelai	250 g	250 g	250 g	250 g
Campuran vitamin dan mineral	20 g	20 g	20 g	20 g
Tepung Kanji	10 g	10 g	10 g	10 g
Tepung biji Mangga	-	1 g	5 g	10 g

IV.4. Rancangan Percobaan dan Pemberian Pakan

Benih gurame (n=240) diseleksi kemudian dibagi ke dalam 4 kelompok (A,B,C dan D) dengan 60 ikan pada setiap perlakuan. Kelompok A diberikan pakan tanpa tepung biji mangga sebagai kontrol. Kelompok yang tersisa menerima pakan yang mengandung tepung biji mangga sebanyak 1g/kg pakan (B), 5g/kg pakan (C), 10g/kg pakan (D) selama 60 hari. Sampel darah diperiksa dan dikumpulkan dari ikan dari setiap kelompok dan diperiksa beberapa parameter antara lain jumlah sel darah merah, jumlah sel darah putih. Pertumbuhan mutlak ikan dicatat pada setiap perlakuan, demikian pula dengan kelangsungan hidup ikan setelah ujiantang.

IV.5. Kultur dari Patogen

Aeromonas hydrophila dikultur dalam broth nutrien (Himedia) selama 24 jam pada suhu 37°C. Kultur disentrifugasi pada 3000 x g selama 10 menit. Supernatan dibuang dan endapan kemudian diresuspensi dengan PBS, pH 7.4) dan kemudian diukur dengan spektrofotometrik. Densitas Optik (OD) dari larutan kemudian di sesuaikan hingga menjadi 0.5 pada gelombang cahaya 456 nm. Prosedur itu akan mendapatkan larutan yang berisi

bakteri patogen sejumlah 1×10^7 sel/ml.

IV.6. Pengumpulan Sampel Darah

Sampel darah dikumpulkan dari ikan (12 dari setiap wadah budidaya) pada selang waktu 20 hari. Setelah menganestesi dengan MS-222, darah kemudian ditarik dari ekor dengan menggunakan suntikan yang sebelumnya telah dipersiapkan dengan solusi heparin. Darah dianalisa kandungan hemoglobin, jumlah sel darah putih dan jumlah sel darah merah.

IV.7. Penentuan Parameter dari Darah

Kandungan haemoglobin dengan metoda cyanmethemoglobin (Van Kampen *et al*, 1961). Penghitungan sel darah merah di lakukan dengan metoda Hendricks dengan haemocytometer sedangkan sel darah putih ditentukan dengan metoda Shaw. Pengambilan sampel di lakukan pada hari ke 20, hari ke 40 dan hari ke 60.

IV.8. Uji Tantang

Setelah 60 hari pemberian pakan, 30 ikan dari setiap perlakuan di uji tantang dengan bakteri secara intra peritoneal dengan dosis (2×10^6 CFU/ikan). Kematian ikan diobservasi selama 7 hari. Jaringan diperiksa dari tubuh ikan yang mati untuk memastikan apakah *Aeromonas hydrophila* penyebab kematiannya.

IV.9. Pertumbuhan Ikan

Laju pertumbuhan ikan diukur dengan metoda pertumbuhan mutlak.

$$GR = \frac{W_t - W_o}{t} * 100\%$$

IV.10. Kelangsungan Hidup Ikan

Kelangsungan hidup ikan diamati setiap hari selama 10 hari setelah uji tantang. Tingkat kelangsungan hidup ikan didapat dengan rumus Effendi (1979).

$$SR = \frac{N_t - N_o}{t} * 100\%$$

IV. 11. Analisa Statistik

Data dianalisa dengan menggunakan analisis varians satu arah dan bila terdapat perbedaan signifikan maka diuji lebih jauh dengan Uji Jarak Berganda Duncan. Tingkat

kepercayaan adalah pada 95%.

BAB V PEMBAHASAN

V.1. Parameter Haematologis

V.1.1. Sel Darah Putih

Hasil pengamatan terhadap sel darah putih pada ikan gurame menunjukkan bahwa tepung biji mangga memberikan pengaruh terhadap jumlah sel darah ikan. Setelah ikan diberikan pakan selama 20 hari terlihat bahwa perlakuan D secara signifikan memiliki jumlah sel darah putih yang lebih tinggi dibanding perlakuan A (kontrol) dan B. Bila perlakuan D dibandingkan dengan perlakuan C tidak terlihat perbedaan nyata.

Tabel 3. Pengaruh Penambahan Tepung Biji Mangga Pada Jumlah Sel Darah Putih

Perlakuan	Jumlah SDP (sel/mm ³) pada Hari Pengamatan		
	Hari ke 20	Hari ke 40	Hari ke 60
A	345600 ^a	340480 ^a	339840 ^a
B	373120 ^b	379520 ^b	396160 ^b
C	379520 ^{bc}	816000 ^c	847360 ^c
D	384020 ^c	896000 ^d	882560 ^d

Perlakuan A = Kontrol

Perlakuan B = Penambahan Tepung Biji Mangga (1 g / kg pakan)

Perlakuan C = Penambahan Tepung Biji Mangga (5 g / kg pakan)

Perlakuan D = Penambahan Tepung Biji Mangga (10 g / kg pakan)

Pada hari ke 40 dilakukan pengamatan kembali terhadap jumlah sel darah putih dan ternyata penambahan tepung biji mangga ke dalam pakan ikan berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel darah putih. Pada perlakuan B, ternyata menyebabkan jumlah sel darah putih meningkat dan terlihat bahwa rata-rata SDP berbeda nyata dengan

kontrol. Perlakuan C menyebabkan jumlah SDP secara signifikan lebih tinggi dibanding perlakuan B. Pada perlakuan D terlihat bahwa penambahan tepung biji mangga menyebabkan peningkatan tertinggi terhadap jumlah sel darah putih dan jumlah SDP pada perlakuan D berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Peningkatan SDP sejalan dengan peningkatan dosis tepung biji mangga dalam pakan diduga akibat tepung biji mangga yang dalam pakan. Biji mangga mengandung konten senyawa fenol serta menunjukkan aktivitas antioksidan (Song dan Barlow, 2004). Tepung biji mangga adalah dalam bentuk kasar dan bukan ekstrak namun biji mangga diduga memiliki senyawa-senyawa yang mampu mengaktifasi fagosit. Landasan empiris adalah berdasarkan penelitian Makare *et al.* (2001) yang menemukan bahwa ekstrak *Mangifera indica* yang mengandung mangiferin 2.6% dapat meningkatkan kineja humoral pada antibodi dan menunda hipersensivitas pada tikus. Penelitian Sahu *et al.* (2007) pada ikan Rohu memperkuat dugaan pengaruh *Mangifera indica* terhadap kinerja humoral pada antibodi.

Pada spesies ikan, senyawa-senyawa tertentu telah terbukti dapat meningkatkan respon imun non spesifik. Bahan kimia sintesis oligodeoxynukleotida yang mengandung CpG yang tak temetilasi meningkatkan aktivitas fagosit dan respons NBT di ikan *Cyprinus carpio* (Asmi *et al.* 2002). Pemberian ekstrak *Catharanthus roseus* or *Mentha piperata* pada ikan *Labeo rohita* telah meningkatkan aktivitas neutrophil (Thuy *et al.* 2002).

Diduga bahwa jumlah sel darah putih yang meningkat seiring peningkatan dosis tepung biji mangga dalam pakan dikaitkan dengan meningkatnya neutrophil dalam darah seiring dengan pengaruh senyawa yang terdapat dalam mangga terhadap sistem imun. Jumlah sel darah putih yang meningkat akan berguna saat terjadi proses oksidatif, karena neutrophil memproduksi oksigen radikal bebas yang mampu menghancurkan patogen.

V.1.2. Sel Darah Merah

Pengamatan terhadap sel darah merah ikan gurame dilakukan pada hari ke 20, hari ke 40 dan hari ke 60 (Tabel 3). Penambahan tepung biji mangga pada pakan menunjukkan bahwa perlakuan dengan dosis 1 g, 5 g dan 10 g tidak mempengaruhi sel darah merah karena terlihat bahwa jumlah sel darah ikan antar perlakuan tidak berbeda nyata. Namun Rodriguez *et al.* (2006) menemukan bahwa *Mangifera indica* dalam bentuk ekstrak mangiferin dapat melindungi sel darah merah sebagai anti

oksidan mengingat kandungan tepung biji mangga yang mengandung poliphenol dengan kemampuan mengkonsumsi radikal bebas.

Tabel 4. Pengaruh Penambahan Tepung Biji Mangga Pada Jumlah Sel Darah Merah (SDM)

Perlakuan	Jumlah SDM (sel/mm ³) pada Hari Pengamatan		
	Hari ke 20	Hari ke 40	Hari ke 60
A	2330000 ^a	2570000 ^a	2630000 ^a
B	2330000 ^a	2590000 ^a	2640000 ^a
C	2340000 ^a	2580000 ^a	2630000 ^a
D	2420000 ^a	2640000 ^a	2650000 ^a

V.2. Kelangsungan Hidup Ikan

Tabel 5. Pengaruh Penambahan Tepung Biji Mangga Pada Kelangsungan Hidup Ikan

Perlakuan	Kelangsungan Hidup Ikan Setelah Uji Tantang (%) setelah transformasi arc sin						
	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5	Hari 6	Hari 7
A	77.5 ^a	45 ^b	33 ^c	28.78 ^d	7.35 ^d	7.35 ^d	1.8 ^d
B	83.47 ^a	61.92 ^a	48.84 ^b	37.22 ^c	35.21 ^c	35.21 ^c	26.07 ^c
C	89.43 ^a	66.14 ^a	61.71 ^a	56.79 ^b	50.85 ^b	50.85 ^b	45 ^b
D	89.43 ^a	68.85 ^a	66.14 ^a	66.14 ^a	66.14 ^a	66.14 ^a	66.14 ^a

Untuk melihat dampak penambahan tepung biji mangga pada kelangsungan hidup ikan, maka 30 ekor ikan dari setiap perlakuan melalui uji tantang dengan peyuntikan *Aeromonas hydrophila* sejumlah 10⁷ CFU/ml. Dalam setiap perlakuan dibagi 3 ulangan yang masing-masing berisi 10 ekor. Hasil uji tantang menunjukkan bahwa kelangsungan hidup benih ikan gurame dipengaruhi oleh tepung biji mangga yang terkandung dalam pakan.

Peningkatan jumlah tepung biji mangga dapat meningkatkan kelangsungan hidup benih ikan gurame, terlihat dari perlakuan D (10 gr tepung biji mangga/kg pakan) yang lebih tinggi secara signifikan dengan perlakuan lainnya pada hari ke 4, hari ke 5, hari ke 6 dan hari ke 7. Kelangsungan hidup pada perlakuan A menunjukkan kelangsungan hidup terendah bila dibandingkan perlakuan lainnya semenjak hari ke 2. Adapun perlakuan C menyebabkan kelangsungan hidup benih ikan gurame, secara signifikan lebih tinggi dibanding perlakuan B. Semakin tinggi kandungan tepung biji mangga dalam pakan maka pengaruh tepung biji mangga terhadap sistem imun ikan semakin tinggi. Hal ini diduga karena tepung biji mangga mengaktifasi fagosit (Sahu *et al.* 2007). Beberapa bahan antara lain bakteri (Lamas dan Ellis, 1994), glucan (Secombes, 2006) dan bawang (Sahu *et al.* 2006) dapat mengaktifasi fagosit dalam tubuh ikan. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran untuk mengetahui aktifitas fagosit.

Secata teoritis, fagosit setelah teraktivasi mampu memproduksi anion superoksida (O_2^-) dan derivat reaktifnya (antara lain hidrogen peroksida dan radikal bebas dalam bentuk hidroksil) pada saat kondisi tubuh sedang melakukan konsumsi ikan tinggi (Secombes dan Fletcher, 1992). Senyawa tersebut sangat mematikan bagi bakteri patogen termasuk *Aeromonas hydrophila*.

Telah diketahui bahwa imunostimulan berbasis tanaman dapat meningkatkan respon ketahanan tubuh terhadap patogen seperti virus, bakteri dan parasit pada ikan mas (Rao *et al.* 2006). Respon non spesifik dalam sistem imun ikan diasosiasikan dengan aktifitas makrofag seperti fagositosis dan kemotaksis. Tepung biji mangga juga diduga mengandung zat anti stressor dengan menurunkan kadar glukosa (Muruganandan S 2005), namun pada penelitian ini tidak dilakukan pengamatan terhadap kadar glukosa.

Untuk mengetahui lebih spesifik pengaruh tepung biji mangga maka perlu dilakukan pengamatan terhadap parameter antara lain NBT, glukosa darah, albumin dan globulin. Uji tambahan diperlukan untuk mengetahui efek spesifik tepung biji mangga terhadap fagosit.

V.3 Pertumbuhan Ikan

Berdasarkan analisa varian (ANOVA) terhadap parameter pertumbuhan maka tingkat pertumbuhan ikan antar perlakuan tidak berbeda nyata. Penambahan tepung biji mangga tidak mengakibatkan perbedaan karena biji mangga mengandung hanya

sedikit protein (Elegbede *et al.* 2007). Untuk pertumbuhan optimal, ikan memerlukan protein yang optimal serta asam amino esensial.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Tepung biji mangga yang ditambahkan ke dalam pakan sejumlah 1 g, 5 gr dan 10 gr berpengaruh terhadap peningkatan imunitas ikan terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penambahan tepung biji mangga ke dalam pakan sebanyak 10 gr /kg pakan menghasilkan kelangsungan hidup ikan tertinggi setelah uji tantang.

Penambahan tepung biji mangga ke dalam pakan berpengaruh terhadap jumlah sel darah putih. Penambahan tepung biji mangga sebanyak 10 g/ kg pakan menghasilkan jumlah sel darah putih paling tinggi.

Saran

Perlu ditambahkan parameter pengamatan antara lain aktivitas lyzozyme, uji anti bakteri, uji glukosa darah.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2007. Panduan lengkap budidaya gurami, Agro Media Jakarta. 164 hal.
- Asmi CM, Tassakka AR, Sakai M. 2002. CpG oligonucleotides enhance the non-specific immune responses in carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture* (2):1-10.
- Cojocar M, Droby S, Glotter E, Goldman A, Gottlieb HE dan Jacoby B. 1986. 5-(12-heptadecenyl)-resorcinol, the major component of the antifungal activity in the peel of mango fruit. *Phytochemistry* (1986)25:1093-1095.
- Detikfinance.com. 2007. Produksi ikan 2007 naik 20%. Download 5 Februari 2007.
- Effendi, M. I. 1979. Metode Biologi Perikanan. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Elegbede JA, Achoba II and Richard H. 2007. Nutrient composition of Mango (*mangifera indica*) seed kernel from Nigeria. *Journal of Food Biochemistry*. Volume 19 (5): 391-398
- FAO, 2002. Antibiotic residues in aquaculture products. *The State of World Fisheries and Aquaculture*. pp 74-83.
- FAO, 2005. Responsible use of antibiotics in aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper*, Rome, FAO. 2005. 97 p.
- FAO, 2006. Report of a joint FAO/OIE/WHO expert consultation on antimicrobial use in aquaculture and antimicrobial resistance: Seoul, Republic of Korea, 1 – 16 June 2006.
- Garrido G, Delgado R, Lemus Y, Rodriguez J, Garcia D, Nunze-Selles AJ. 2004. Protection against septic shock and suppression of tumor necrosis factor alpha and nitric oxide production on macrophage and microgila by the standard aqueous extract of *Mangifera indica* L. (VIMANG*). *Pharmacol Res* 50:165-172.
- Guojun Yin, Jeney G, Racz T, Xu P, Jun X and Jeney Z. 2006. Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 253 (issue 1-4): 39-47.
- Hardie LJ, Ellis AE and Secombes CJ. 1996. In vitro activation of rainbow trout macrophages stimulates inhibition of *Renibacterium salmoninarum* growth concomitant with augmented generation of respiratory burst products. *Dis Aquat Org*. 1996(25):175-183.
- Jangkaru Z. 2007. Memacu Pertumbuhan Gurami. Penebar Swadaya. Jakarta. 92 hal.

- Kabuki T, Nakajima H, Arai M, Ueda S, Kuwabara Y and Dosako S. 2000. Characterization of novel antimicrobial compounds from Mango (*Mangifera indica* L.) kernel seeds. *Food Chem* 71:61-66.
- Lamas J, Ellis AE. 1994. Atlantic salmon (*Salmo salar*) neutrophil responses to *Aeromonas salmonicida*. *Fish Shellfish Immunol* 4:201-219.
- Keita Y, Kone O, Ly AK, Hakkinen V. 2004. Chemical and antibacterial activity of some Guinean mango varieties distillates. *Comptes Rendus CXhimie* 2004;7(10-11):1095-100.
- Makare N, Bodhankar S, Rangari V. Immunomodulatory activity of alcoholic extract of *Mangifera indica* L. in mice. *J Ethnopharmacol* 78:133-137.
- Muruganandan S, Srinivasan K, Gupta S, Gupta PK, Lal J. 2005. Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol*: 97:497-501.
- Opik. 2007. Wawancara personal dengan staf BBI Singapura Tasikmalaya, Januari 2007.
- Pikiran-rakyat.com. 2007. Permintaan Pasar Gurame Mencapai 5 ton/hari (<http://pikiran-rakyat.com/cetak/2007/112007/01/0604.htm>). Kamis November 2007.
- Rao YV, Das BK, Pradhan J and Chakrabarti R. 2006. Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunol* (2006)20:263-273.
- Rodríguez J, Di Pierroa D, Gioiaa M, Monaco S, Delgadob R, Colettaa M dan Marinia S. 2006. Effects of a natural extract from *Mangifera indica* L, and its active compound, mangiferin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. Volume 1760, Issue 9, September 2006, p. 1333-1342
- Sairam K, Hemalata S, Kumar A, Srinivasan T, Ganesh J, Shankar M, et al. 2003. Evaluation of anti-diarrhoeal activity in seed extracts of *Mangifera indica*. *J Ethnopharmacol* 84:11-15.
- Sahu S, Das BK, Mishra BK, Pradhan J, Sarangi N. 2006. Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *J Appl Ichthyol* 2006:22:1-6.
- Sahu S, Kumar B, Pradhan J, Mohapatra BC, Mishra BK and Sarangi N. 2007. Effect of *Mangifera indica* kernel as a feed additive on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* fingerlings. *Fish and Shellfish Immunology* 23 (2007): 109-118.
- Scartezzini P and Speroni E. 2002. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J Ethnopharmacol* 71:23-43.
- Secombes CJ and Fletcher TC. 1992. The role of phagocytes in the protective mechanism in fish. *Annu Rev Fish Dis* 1992(2):53-71.
- Secombes CJ. 2006. The non-specific immune system: cellular defenses. In: Iwama G, Nakanishi T, editors. *The fish immune system: organism, pathogens and environment*. San Diego, CA: Academic Press; 1996. p. 63-103.

- Sinarharapan.co.id., 2007. Perbankan Jauhi Pembiayaan Budidaya Perikanan (<http://www.sinarharapan.co.id/berita/0704/14/eko02.html>), 14 April 2007.
- Song and Barlow. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chemistry*. 88, Issue 3 (2004): 411-417.
- Supriyadi H, Maharani F, Priono B, Kusriani E, Sugiani D. 2006. Penggunaan beberapa materi bahan alami bagi upaya penanggulangan penyakit ikan gurame (*Osphronemus gouramy*). Prosiding Semnaskan UGM. p. 227-235. Thuy NTT, Mukherjee SC, Pani Prasad K. 2002. Studies on the immunostimulatory effect of certain of certain plant extracts on fish. In: The Sixth Indian Fisheries Forum, Mumbai, India; 2002. Abstracts AH-13. p. 153.
- Swann and White. 1989. Diagnosis and treatments of *Aeromonas hydrophila* infection of fish. A Guide to Approved Chemicals in Fish Production and Fishery Resource Management. University of Arkansas Cooperative Extension Service, USA.
- Tumar dan Boimin. 2006. Efektifitas penggunaan jinten hitam (*Nigella sativa*) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* secara in vitro. Prosiding Semnaskan UGM. p. 236-243.
- Van Kampen EJ, Zijlstra WG. 1961. Recommendations for haemoglobinometry in human blood. *British J Haematol* 1961;13 (Supplemented):71.
- Zhou Jin. 2004. Application of immunostimulants in larviculture: feasibility and challenges. Network of Aquaculture Centres in Asia Pacific. www.enaca.org/modules/weblog/print.php?blog_id=10.