

PENINGKATAN AKTIFITAS FAGOSITOSIS DAN LETUPAN RESPIRASI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) DENGAN PEMBERIAN XANTONE DARI KULIT BUAH MANGGIS

Mardiana¹ dan Rahmi²

¹) Universitas 45 Makassar

²) Universitas Muhammadiyah Makassar

e-mail: mh.selle@yahoo.com

Abstrak

Budidaya ikan nila sering mengalami kegagalan akibat adanya serangan penyakit. Salah satu upaya yang dilakukan adalah pemberian xantone yang merupakan imunostimulan sehingga mampu meningkatkan daya tahan tubuh ikan nila dari serangan penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak xantone dari kulit buah manggis terhadap peningkatan respon immune pada ikan nila. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*, untuk mengukur intensitas "Letupan respirasi" dilakukan pengukuran anion superoksida (O_2^-) karena anion superoksida adalah produk utama yang dilepaskan dan letupan respirasi. Sedangkan aktifitas fagositosis dihitung dengan jumlah sel yang aktif memfagosit sel bakteri dalam seratus sel fagositosis yang dinyatakan dalam persen. Rancangan penelitian didesain menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan parameter pengamatan adalah letupan respirasi dan aktifitas fagositosis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya pemberian ekstrak xantone pada ikan nila mampu menghambat pertumbuhan bakteri pathogen *A. hydrophila*. Hasil analisis ragam ANOVA menunjukkan bahwa ikan nila yang diberikan ekstrak xantone, berpengaruh nyata terhadap aktifitas fagositosis ikan nila ($P < 0.05$). Hasil uji lanjut W-Tukey perlakuan A berbeda terhadap perlakuan B, C dan D tetapi antar perlakuan B dan perlakuan D tidak berbeda. Hasil uji lanjut W-Tukey pada letupan respirasi juga menunjukkan perbedaan antara perlakuan C dengan perlakuan A dan Perlakuan B tetapi tidak berbeda dengan perlakuan D. Berdasarkan hasil penelitian tersebut diperoleh kesimpulan dengan pemberian xantone 2,10 ppm dapat meningkatkan respon imun yaitu letupan respirasi dan aktifitas fagositosis pada ikan nila.

Kata kunci : Xantone, ikan nila, Respon Immun.

Abstract

*Tilapia fish farming often fail due to their disease. One of the efforts is the provision xantone which is immunostimulatory so as to improve the endurance of tilapia from the disease. This study aimed to analyze the effect of extracts of mangosteen rind xantone to increase the immune response of tilapia. This study was conducted in vitro and in vivo, to measure the intensity of the "Explosion of respiration" measurement of superoxide anion (O_2^-) as superoxide anion is the main product that is released and respiratory burst. While the phagocytosis activity is calculated by the number of active cell in the bacterial cell fagocyt hundred phagocytic cells that expressed in percent. The study design was designed using completely randomized design (CRD) with observation parameter is respiratory burst activity and phagocytosis. The results showed that the extract xantone on tilapia could inhibit the growth of pathogenic bacteria *A. hydrophila*. Results of analysis of variance ANOVA showed that tilapia were given extracts xantone, significantly affected the activity of phagocytosis tilapia ($P < 0.05$). Further test results W-Tukey different treatment A against treatment B, C and D but between treatments B and D treatment did not differ. Further test results W-Tukey on respiratory outbreaks also show differences between treatment C with treatment A and treatment B but did not differ by treatment with D. Based on these results we concluded with the awarding of 2.10 ppm xantone can boost the immune response is a burst of respiration and activity phagocytosis in tilapia.*

Keywords: Xantone, tilapia, Response Immun

1. PENDAHULUAN

Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan ikan berdaging putih, dapat tersedia dalam jumlah banyak dan harganya relatif murah serta sebagai alternatif sumber protein non-kolesterol (Amri, K dan Khairuman, 2003). Di dalam negeri, nila juga digemari oleh karena itu telah banyak dibudidayakan, usaha budidaya ikan sering terganggu adanya penyakit ikan yang tidak jarang menggagalkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan sehingga mengakibatkan kematian massal pada ikan yang dibudidayakan (gagal panen).

Penyakit ikan dapat disebabkan oleh fisika, kimiawi, dan biologis (Feliatra dkk., 2004). Penyebab biologis kebanyakan menular (infeksi) seperti penyakit akibat infeksi parasit, bakteri, virus dan jamur. Salah satu penyakit akibat bakteri yang menyerang hampir semua jenis ikan air tawar yang dipelihara di tambak adalah bakteri *Aeromonas hydrophila* (Triyanto, 1990). Berbagai macam imunostimulan dapat digunakan salah satunya adalah Jinten hitam (*Nigella sativa*) yang berpotensi sebagai imunostimulan karena mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh dalam menghadapi patogen bakteri *Aeromonas hydrophila* (Tumar, 2006). Buah manggis memiliki potensi yang banyak tidak hanya pada buahnya saja (Lannang dkk., 2005), tetapi kulit buahnya juga dapat dijadikan sebagai imunostimulan bagi organisme (Uksamran., dkk 2006; Soosean dkk., 2010) serta memiliki aktifitas antimikroba (Llinuma dkk., 1996). Imunostimulan merupakan salah satu tindakan preventif untuk meningkatkan daya tahan tubuh dari serangan penyakit (Raa dkk., 1992). Oleh karena hal tersebut diatas, penelitian ini diarahkan untuk menganalisis pengaruh pemberian xantone yang diekstrak dari kulit buah manggis sebagai salah satu alternatif penanganan penyakit dengan meningkatkan respon imun pada ikan nila.

2. METODOLOGI

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Juni 2012. Ekstraksi Xantone dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi UNHAS. Uji Imunologis dilakukan di Laboratorium Penyakit Ikan, Jurusan Perikanan,

Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan (FIKP) Universitas Hasanuddin.

Desain penelitian ini dilakukan dalam skala laboratorium, dengan uji tantangan pada ikan nila dilakukan sebanyak tiga kali ulangan.

Untuk mengukur intensitas "Letupan respirasi" dilakukan pengukuran anion superoksida (O_2^-) karena anion superoksida adalah produk utama yang dilepaskan dan letupan respirasi. Sedangkan aktifitas fagositosis dihitung dengan jumlah sel yang aktif memfagosit sel bakteri dalam seratus sel fagositosis yang dinyatakan dalam persen.

Data respon imun dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan jika perlakuan berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji W-Tukey.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Respon imun pada ikan nila ditandai dengan nilai letupan respirasi dan sktifitas fagositosis pada ikan nila. Rata-rata letupan respirasi ($N \text{ mol } O_2^-/10^6 \text{ sel darah/ml}$) dan nilai relative terhadap kontrol pada penelitian yang diperoleh pada uji sampel darah yang diberi xantone yang diekstrak dari kulit manggis, dimana rata-rata letupan respirasi pada perlakuan A (kontrol) adalah $0,5396 N \text{ mol } O_2^-/10^6 \text{ sel}$, perlakuan B $2,0102 N \text{ mol } O_2^-/10^6 \text{ sel}$, perlakuan C $3,7242 N \text{ mol } O_2^-/10^6 \text{ sel}$ dan perlakuan D $2,6027 N \text{ mol } O_2^-/10^6 \text{ sel}$, menunjukkan bahwa pemberian xantone memberikan pengaruh terhadap letupan respirasi dari hematokrit ikan nila. Uji jarak berganda Tukey menunjukkan kontrol (perlakuan A) tidak berbeda nyata dengan perlakuan B (2,5 ppm) tetapi berbeda nyata dengan perlakuan C (2,10 ppm). Perlakuan B dengan perlakuan C juga berbeda nyata tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan D (2,15 ppm) pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-Rata Nilai Aktifitas Letupan Respirasi Dengan Pemberian Xantone Yang Diekstrak Dari Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*)

Perlakuan	Rata-rata letupan respirasi ($N \text{ mol } O_2^-/10^6 \text{ sel}$)
A	$0,5396 \pm 0,1474^a$
B	$2,0102 \pm 0,9005^a$
C	$3,7242 \pm 0,2550^b$

D	2,6027 ± 0,7222 ^{ab}
---	-------------------------------

Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menyatakan perbedaan pengaruh antar perlakuan pada taraf 0,01 (P<0,01)

Berdasarkan persentase nilai jumlah sel yang memfagositosis maka didapatkan persentase jumlah sel yang memfagosit dari dua sumuran (duplo) dan dihitung rata-ratanya terlihat bahwa persentase sel macrophage yang aktif, nampak adanya perbedaan yang nyata antara setiap kelompok yang diberi imunostimulan dengan kelompok tanpa pemberian imunostimulan (Kontrol). Nilai aktifitas fagositosis pada Perlakuan A 10,3407 %, Perlakuan B (39,814 %), C (90,6343 %) dan perlakuan D (47,1477 %). Hasil tertinggi didapatkan pada sel darah ikan nila yang diberi dosis 2,10 ppm dibandingkan dengan kontrol Tabel 2.

Tabel 2. Rata-Rata Nilai Sel Fagositosis Dengan Pemberian Xantone Yang Diekstrak Dari Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*)

Perlakuan	Aktifitas fagositosis (%)
A	10,3407 ± 0,7811 ^a
B	39,8140 ± 6,2598 ^b
C	90,6343 ± 1,5062 ^c
D	47,1477 ± 2,7417 ^b

Keterangan : Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menyatakan perbedaan pengaruh antar perlakuan pada taraf 0,01 (P<0,01)

Berdasarkan hasil analisis ragam perlakuan yang diberikan berpengaruh nyata terhadap aktifitas fagositosis (P<0,05) dan berdasarkan uji lanjut W-tukey didapatkan bahwa perlakuan A (Kontrol) berbeda dengan perlakuan B (2,5 ppm), C (2,10 ppm) dan D (2,15 ppm), tetapi antar perlakuan B dan perlakuan D tidak berbeda nyata.

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak xantone mampu meningkatkan respon imun pada ikan nila terutama pada aktifitas fagositosis dan nilai letupan respirasi pada ikan tersebut. Adanya perbedaan nilai letupan respirasi pada ikan nila ini disebabkan adanya ekstrak xantone pada perlakuan dimana ekstrak kulit manggis ini memiliki kemampuan untuk menghambat poliferasi sel bakteri karena

mengandung senyawa antioksidan berupa xantone (Soosean dkk., 2010), sejalan dengan pendapat Gopalakrishan dkk., (1997) bahwa tanaman yang mengandung produk seperti D-limonene, Ugenol, hinokinol, Citral andallyl-isothiocyanate, xantone memiliki aktifitas antimikroba dan imunostimulan.

Letupan respirasi merupakan lintasan metabolik yang tidak nampak pada sel dalam keadaan tenang karena dimaksudkan untuk menghasilkan substansi yang sangat mematikan bakteri dengan cara reduksi oksigen secara partial. Letupan respirasi timbul pada setiap gangguan membran sel *macrophage* dan tidak tergantung pada proses fagositosis (Wu D dan Medani, 1999). Hal ini dibuktikan dengan memberikan zat yang larut termasuk imun kompleks dapat terjadi letupan respirasi tanpa adanya fagositosis (Tumar, 2006). Pada letupan respirasi dilakukan pengukuran anion superoksida (O₂⁻) karena anion superoksida adalah produk utama yang dilepaskan dari letupan respirasi.

Aktifitas fagositosis ditandai dengan tehnik pewarnaan bakteri yang terfagosit dalam neutrophil. Dalam pewarnaan antara sel yang aktif dan yang tidak aktif akan terwarnai. Hal ini menandakan aktifitas fagositosis pada ikan uji berbeda dengan ikan yang tidak diberi bahan uji berupa xantone. Aktifitas fagositosis macrophage merupakan suatu fenomena yang kompleks dan dipengaruhi oleh *macrophage activating factor* (MAF) akan merangsang transkripsi berbagai gen yang menyandi berbagai protein yang diperlukan untuk aktifasi makrofage (Suksamran dkk., 2003). Oleh karena itu aktifitas macrophage akan meningkat setelah pemberian imunostimulan berupa xantone yang diekstrak dari kulit manggis dan mengandung zat yang dapat berperan sebagai *macrophage activating factor*. Makrophage mempunyai masa hidup yang lebih lama daripada sel fagosit granulositik dan tetap dapat bekerja pada pH yang rendah (Subowo, 2007) Aktifitas fagositosis ini menyebabkan ikan uji memiliki kemampuan yang tinggi untuk melawan penyakit yang disebabkan oleh *A. hydrophyla*.

Nilai aktifitas fagositosis merupakan salah satu indikator untuk menentukan patogenitas bakteri yang difagosit. (Wulansari, 2009). Semakin rendah nilai aktifitas fagositosis maka

semakin pathogen bakteri tersebut (Syakuri dkk., 2003) Dalam penelitian yang dilakukan, aktifitas fagositosis terendah terjadi pada perlakuan kontrol dimana tidak diberikan ekstrak xantone tetapi diberikan larutan fisiologis. Hal ini sejalan dengan Salasia (1998) dalam penelitiannya membuktikan bahwa bakteri pathogen dan non pathogen dapat difagosit oleh neutrophil, namun bakteri pathogen difagosit dalam jumlah yang lebih sedikit bila dibandingkan dengan bakteri non pathogen.

4. SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, analisis data serta pembahasan yang telah diuraikan menunjukkan pemberian xantone yang diekstrak dari kulit manggis dapat meningkatkan respon imun yaitu aktifitas letupan respirasi, aktifitas fagositosis pada ikan nila sebagai hewan uji. Dosis xantone yang paling baik dan dapat merespon sistem imun pada ikan nila adalah 2,10 ppm/ekor ikan. Diharapkan pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan kajian lebih lanjut mengenai zat aktif xantone yang dapat meningkatkan system imun serta perbandingan pemberian xantone melalui oral atau perendaman.

5. DAFTAR PUSTAKA

Amri, K dan Khairuman. (2003). Budidaya Ikan Nila Secara Intensif. Agro Media Pustaka. Jakarta.

Feliatra, Efendi, I, Suryadi, S. (2004). Isolasi dan identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*) dala Upaya Efisiensi Pakan Ikan. Jurnal Nature Indonesia 6(2): 75-80.

Gatesoupe, FJ. (1999). The Use of Probiotics in Aquaculture. Aquaculture 180:147-165.

Gopalakrishnan, G, B. Banumathi and G. Suresh. (1997). Evaluation of the antifungal activity of natural xanthenes from *Garcinia mangostana* and their synthetic derivatives. Journal of Natural Products 60(5): 519-524.

Lannang, A.M., Komguem, J., Ngninzeko, F.N., Tangmouo, J.G., Lontsiji, D., Ajaz, A., Choudhary, M.I., Ranjit, R.,

Devkota, K.P., Sodengam, B.L. (2005). Bangang xantheone A and B, two xanthenes from the Stem bark of *Garcinia poliantha* Oliv., *Phytochemistry*, 66, 2351-2355.

Llinuma, M, H. Tosa, T. Tanaka, F. Asai, Y. Kobayashi, R. Shimano and KI. Miyauchi, (1996). Antibacterial activity of xanthenes from guttiferaceous plants against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Pharmacy and Pharmacology 48(8):861-865.

Raa, J., Rørstad, G., Engstad, R., Robertsen, B., (1992). The use of immunostimulants to increase resistance of aquatic organisms to microbial infections. In: Diseases in Asian Aquaculture.

Salasia, S.I.O. (1998). Sifat Adhesive dan fagositosis *Streptococcus equi* Sub Sp *Zooepidemicus* Isolat Indonesia. Jurnal sains Veteriner. 16:42-50pp.

Soosean, C. K. Marimuthu, S.Sudhakaran dan R. Xavier. (2010). Effect of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L) extract as a feed additive on growth and hematological parameters of African catfish (*Clarias geripeneus*) Fingerlings. European Review for Medical and Pharmacological Science; 14:605-611pp.

Suksamrarn, S., Suwannapoch, N., Phakhodee, W., Thanuhiranlert, J., Ratananukul, P., Chimnoi, N., and Suksamrarn, A. (2003). Antimycobacterial Activity of Prenylated Xanthenes from the Fruit of *Garcinia mangostana*, *Chem. Pharm. Bull.*, 51 (7), 857-859 (*Gentianaceae*), Drukkerij Elinkwijk bv, Utrecht, pp 109 –114.

Subowo. (2007). Immunobiologi. Penerbit Angkasa. Bandung.

Syakuri, H., Triyanto dan K.H. Niitimulyo. (2003). Perbedaan Daya Tahan Non Spesifik Lima Spesies Ikan Air Tawar Terhadap Infeksi *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada Vol V (2): hal 1-10.

Triyanto. (1990). Patogenitas Beberapa Isolat *Aeromonas hydrophila* Terhadap Ikan Lele (*Clarias batracus* L). Prosiding Seminar nasional II Penyakit Ikan dan Udang. Balai Penelitian Perikanan Air Tawar, Pusat Penelitian dan

- Pengembangan Perikanan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Hal 116-122.
- Tumar. (2006). Pengaruh Pemberian Ekstrak Jinten Hitam sebagai Imunostimulan terhadap Hematologi Ikan Lele Dumbo. Prosiding Seminar nasional II Penyakit Ikan dan Udang. Balai Penelitian Perikanan Air Tawar. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Hal 116 – 122.
- Uksamranr S, Komutib O, Ratanukul P, C Himnol N, Lartpormmmatuleen, Sukamranr. (2006). A. Cytotoxic prenylated xanthenes from the young fruit of *Garcinia mangostana*. Chem Pharm Bull. 54: 301-305.
- Wu, D dan Medani, S.N. (1999). Antioxidant and Immune Function, Diet Nutrition and Health. Edited by Papas A.M. CRC Press Boca Roton. London. New York. Washington DC.
- Wulansari. (2009). Pengaruh Ekstrak Air dan Ethanol *Alpinia* spp terhadap aktifitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Macrophage yang Diinduksi dari Bakteri *Stapilococcus Epidermis* Secara In Vitro. Pusat Penelitian Biologi LIPI. Bogor.