

PENENTUAN RANGE DOSIS IMUNOSTIMULAN DAN LAMA WAKTU PERENDAMAN TERBAIK PADA EKSTRAK KASAR *FENOL* *Gracilaria* sp. SEBELUM UJI TANTANG BAKTERI *Aeromonas* sp. DENGAN MENGGUNAKAN LC_{50}

DETERMINATION OF IMMUNOSTIMULANT DOSE RANGE AND THE BEST SOAKING TIME DURATION TO THE PHENOLIC CRUDE EXTRACT BEFORE *Aeromonas* sp. CHALLENGE TEST USING LC_{50}

Ismaningdyah Kurniawati^{1*} Maftuch² dan Anik Martinah Hariati²

¹)Program Studi Pengolahan Hasil Perikanan, Akademi Perikanan Ibrahimy, Situbondo.

²)Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

*Penulis Korespondensi: Email: ismania92@gmail.com

(Diterima Oktober 2016 /Disetujui Januari 2017)

ABSTRAK

Dosis imunostimulan yang diberikan kepada ikan harus tepat, tidak boleh kurang dan tidak boleh berlebihan. Hal ini karena sifat imunostimulan yang hanya dapat bekerja pada dosis yang optimal. Oleh karena itu, metode untuk menentukan dosis dan teknik pemberian imunostimulan harus dikaji secara mendalam. Penelitian tentang penentuan dosis dan waktu maserasi terbaik pada ekstrak kasar fenol *Gracilaria* sp. menggunakan LC_{50} ini bertujuan untuk mengetahui berapa dosis terbaik dan berapa lama waktu terbaik yang digunakan pada proses perendaman dengan ekstrak. Range dosis yang digunakan yaitu 1 g/l; 1,5g/l; 2 gr/l; 3 g/l; 4 g/l dan 5 g/l. Hasil pengamatan ini menunjukkan bahwa dosis ≥ 3 gr/l memiliki LC_{50} 10 jam. Sedangkan dosis ≤ 3 gr/l memiliki LC_{50} 14 jam. Penelitian lanjutan dilanjutkan pada range waktu untuk lama perendaman yaitu 10, 12 dan 14 jam. Hasil penelitian menunjukkan pada lama perendaman 12 jam menunjukkan LC_{50} 15 jam. Sehingga dapat disimpulkan bahwa dosis yang dapat digunakan untuk uji imunostimulan adalah 1, 1,5 dan 3 g/l dengan lama perendaman kurang dari 12 jam.

Kata Kunci: *Gracilaria* sp., LC_{50} , maserasi.

ABSTRACT

Immunostimulatory dose given to the fish to be precise, should not be less and should not be excessive. This is because the immunostimulatory properties which can only work at the optimal dose. Therefore, the method for determining the dosage and administration techniques immunostimulatory should be studied in depth. Research on the determination of the dose and the best maceration time on the crude extract phenol *Gracilaria* sp. using LC_{50} is intended to determine how best dose and how long it's best used in the immersion process to extract. range dose used is 1 g/l; 1,5 g/l; 2 g/l; 3 g/l; 4 g/l and 5 g/l. The results of these observations indicate that doses ≥ 3 g/l has a 10-hour LC_{50} . While the dose ≤ 3 g/l has a 14-hour LC_{50} . However, further research is continued in the time range for prolonged submersion namely 10, 12 and 14 hours. The results showed the soaking time 12 hours showed LC_{50} 15 hours. It concluded that the dose that can be used to test immunostimulant is 1, 1.5 and 3 g/l with a soaking time of less than 12 hours.

Keywords: *Gracilaria* sp., LC_{50} , maceration techniques.

PENDAHULUAN

Menurut Jasmanidar (2009), imunostimulan merupakan bahan yang bisa meningkatkan resistensi organisme terhadap infeksi patogen. Penggunaan imunostimulan dilakukan pada budidaya ikan karena kemoterapi yang diberikan pada ikan menyebabkan resistensi pada bakteri tertentu. Imunostimulasi merupakan cara untuk memperbaiki fungsi sistem imun dengan menggunakan bahan yang merangsang sistem tersebut. Imunostimulan merupakan bahan yang bisa meningkatkan resistensi organisme terhadap infeksi patogen. Penggunaan imunostimulan dilakukan pada budidaya ikan karena kemoterapi yang diberikan pada ikan menyebabkan resistensi pada bakteri tertentu. Sakai (1999), menambahkan bahwa imunostimulan meningkatkan daya tahan terhadap penyakit infeksi, bukan karena meningkatnya respon imun spesifik oleh karena meningkatnya mekanisme pertahanan non spesifik.

Seperti halnya dengan vaksin, imunostimulan dapat diberikan melalui injeksi, bersama pakan (oral) dan perendaman. Imunostimulan ini dapat diberikan secara terus menerus selama 1 minggu kepada larva ikan ketika masih dalam hapa pendederan, kemudian dihentikan pemberiannya dan diberikan kembali pada minggu ke-3 selama satu minggu. Karena itu, pada tahap awal, imunostimulan diberikan melalui perendaman, dan pada pemberian selanjutnya dapat diberikan bersama pakan. Pemilihan cara aplikasi imunostimulan didasarkan atas kepraktisan dan efisiensi dalam kegiatan budidaya (Alifuddin, 2002).

Berbeda dengan vaksin, imunostimulan tidak direspon ikan dengan mensintesis antibodi, melainkan peningkatan aktivitas dan reaktivitas sel pertahanan seluler ataupun humoral. Peningkatan ini didasarkan atas kemampuan imunostimulan menginduksi berlangsungnya transformasi limfoblastik yang ditunjukkan dengan memakai isotop tritium (H3). Aktivitas fagositik ini merupakan manifestasi peningkatan respon seluler dan pada akhirnya akan meningkatkan respon humoral (Alifudin, 2002).

Ikan yang diberikan imunostimulan biasanya menunjukkan peningkatan aktivitas sel fagositik. Aktivitas sel fagositik dapat dideteksi dengan fagositosis, killing dan chemotaxis. Limfosit juga diaktifkan oleh imunostimulan, aktivitas lisozim juga dipengaruhi oleh pemberian imunostimulan (Jasmanidar, 2009).

Ekstrak kasar dari *Gracilaria* sp. telah dibuktikan mempunyai kemampuan untuk mempertinggi aktivasi pada sel T dan oleh karena itu, dapat meningkatkan aktivitas imunostimulan secara potensial. Bagaimanapun juga, ditemukan juga kandungan sitotoksik pada konsentrasi yang lebih tinggi. Hal tersebut bisa terjadi, saat toksik timbul bersamaan dengan penambahan ekstrak yang dapat mengaktifkan kematian sel. Komponen yang ada pada ekstrak kasar dari tumbuhan dapat memberikan respon yang positif terhadap kerja imunostimulan (Kumar *et al.*, 2012).

Penggunaan imunostimulan yang optimal, akan memberikan efek yang sesuai. Sebaliknya jika pemberian imunostimulan dilakukan dengan tanpa memikirkan dosis yang tepat, efek yang diharapkan tidak akan muncul. Tujuan penelitian ini adalah mencari range dosis untuk pemberian imunostimulan dan lama perendaman terbaik yang dilakukan sebelum uji tantang dengan menggunakan bakteri *Aeromonas* sp.

METODE PENELITIAN

Material Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya adalah timbangan analitik, toples kaca, hot plate, beaker glass, akuarium, heater, selang T. Kemudian bahan yang digunakan adalah ekstrak kasar fenol *Gracilaria* sp. dan ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Bahan penunjang lainnya adalah akuades dan kertas label.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasit Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya pada bulan Januari 2013.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan adalah dengan metode deskriptif, yaitu dengan pengamatan secara langsung untuk melihat kematian yang terjadi sebanyak 50%. Hasil ini akan dinyatakan sebagai LC_{50} pada perlakuan yang diberikan.

Perlakuan yang diberikan yaitu penambahan ekstrak kasar fenol *Gracilaria sp.* dengan range dosis 1, 1,5, 3, 4, 5 g/l. Hasil LC_{50} pada penelitian ini akan dilanjutkan untuk penelitian lama perendaman sebelum diuji tantang dengan bakteri *Aeromonas sp.*

Penentuan Dosis Ekstrak Fenol *Gracilaria sp.*

Ekstrak fenol *Gracilaria sp.* ditimbang sebanyak 1; 1,5; 2; 3; 4 dan 5 g. Masing-masing bahan ekstrak dilarutkan kedalam 5 liter air. Ikan Mas (*C. carpio*) sebanyak 10 ekor, dimasukkan dalam akuarium dengan dosis ekstrak yang berbeda. Perendaman dilakukan sampai kematian ikan mencapai 50% dalam range waktu 24 jam. Hasil yang diperoleh adalah kematian ikan sampai 50% terjadi pertama pada dosis 3 gr/l sehingga diasumsikan dosis yang digunakan adalah kurang dari 3 g/l.

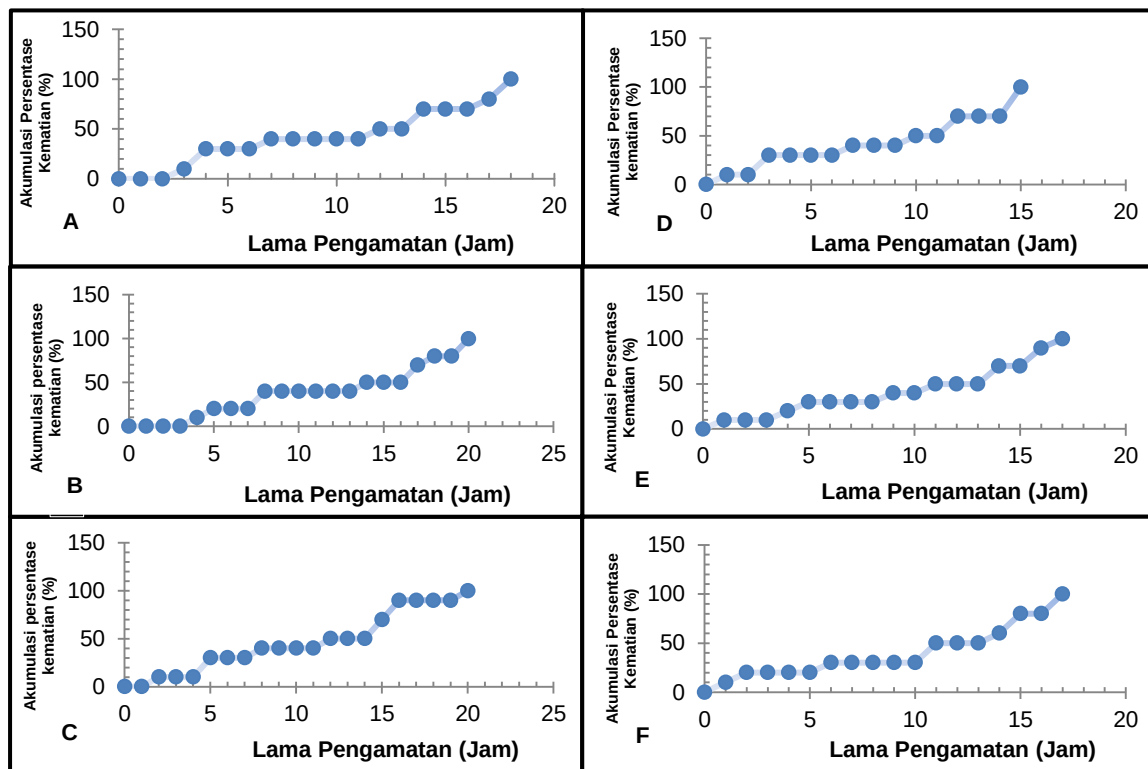
Penentuan Waktu Perendaman Terbaik dengan Ekstrak Fenol

Ikan mas (*C. carpio*) masing-masing 10 ekor direndam dengan ekstrak fenol *Gracilaria sp.* dilakukan selama 10, 12 dan 14 jam. Ekstrak fenol *Gracilaria sp.* disiapkan dengan dosis 1; 1,5 dan 2 g/l. Masing-masing perwakilan Ikan mas (yang sebelumnya telah diberi tanda) dari proses perendaman dengan waktu yang berbeda, dimasukkan kedalam akuarium dosis. Dilakukan uji tantang dengan bakteri *Aeromonas sp.* kepadatan 10^7 . Pengamatan dilakukan dengan melihat kematian ikan sebanyak 50% Hasil yang diperoleh adalah kematian ikan sebesar 50% terjadi pertama pada perendaman 12 jam, sehingga diasumsikan perendaman yang dilakukan adalah kurang dari 12 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Dosis Immunostimulan dan Waktu Perendaman

Penentuan dosis ekstrak kasar fenol *Gracilaria sp.* pada penelitian ini ditentukan berdasarkan penelitian pendahuluan dengan mencari LC_{50} . Untuk mengetahui LC_{50} , dilakukan uji pendahuluan terhadap dosis ekstrak. Secara detail ditampilkan pada Gambar 1.

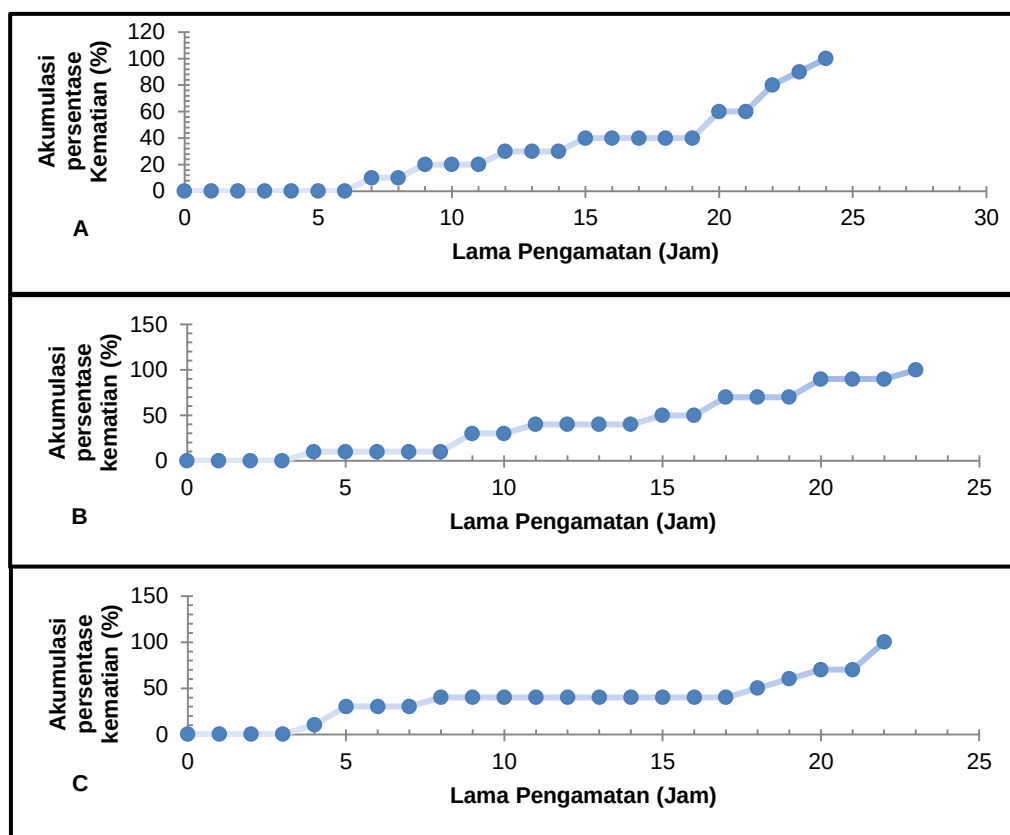


Gambar 1. Data uji penelitian pendahuluan LC_{50} terhadap ekstrak kasar fenol *Gracilaria sp.* dengan dosis A (1 g/l); B (1,5 g/l); C (2 g/l); D (3 g/l); E (4 g/l) dan F (5 g/l).

Pada gambar 1, LC₅₀ ditentukan oleh kematian ikan pada berbagai dosis dengan melihat kematian sebesar 50% pada ikan. Kematian 50% terjadi pertama kali pada gambar D(3 gr/l) diikuti oleh dosis E(4 gr/l) dan F(5 gr/l) secara bersamaan berturut-turut pada 10 dan 11 jam pengamatan. Pada gambar A(1gr/l) dan C(2 gr/l), kematian 50% terjadi pada 12 jam pengamatan. Sedangkan pada gambar B(1,5 gr/l), kematian 50% pada 14 jam pengamatan.

Data hasil LC₅₀ terhadap lama perendaman pada penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Gambar 2. Perbedaan waktu perendaman yang diujikan sebelum dilakukan uji tantang terhadap bakteri *Aeromonas* sp. adalah 10, 12 dan 14 jam. Nilai tersebut didapatkan dari hasil LC₅₀ yang dilakukan sebelumnya pada berbagai dosis yang berbeda ditunjukkan pada Gambar 2.

Pada gambar dapat dilihat bahwa kematian pertama sebesar 50% terjadi pada 15 jam pengamatan dengan lama perendaman ekstrak kasar fenol *Gracilaria* sp. selama 12 jam. Berikutnya perendaman dengan ekstrak selama 10 dan 14 jam mengalami kematian 50% pada 20 dan 18 jam pengamatan. Hasil tersebut mendasari penelitian lanjutan untuk melakukan perendaman dengan ekstrak kasar fenol *Gracilaria* sp. kurang dari 12 jam sebelum dilakukan perendaman terhadap bakteri *Aeromonas* sp. Waktu perendaman ekstrak yang digunakan adalah 10 jam perendaman.



Gambar 2. Data uji penelitian pendahuluan LC₅₀ terhadap lama perendaman ekstrak kasar fenol *Gracilaria* sp. dengan lama perendaman A (10 jam); B (12 jam) dan C (14 jam).

Pada penelitian pendahuluan yang dilakukan didapatkan hasil semakin tinggi ekstrak kasar fenol *Gracilaria* sp. dan semakin lama dilakukan perendaman dengan ekstrak dapat menyebabkan meningkatnya kematian sebesar 50% pada ikan. Hal tersebut diduga karena pekatnya ekstrak kasar fenol *Gracilaria* sp. dapat mengganggu proses pernafasan pada ikan. Menurut Kabata (1985), bahan obat yang larut dalam air dapat diserap dengan baik oleh insang. Oleh karena itu, dosis yang terlalu tinggi akan dapat mengganggu proses pernafasan.

Pada dosis ekstrak kasar fenol yang terlalu tinggi, ikan Mas sudah tidak dapat mentolerir pekatnya konsentrasi fenol yang diberikan. Karena dosis yang terlalu tinggi dapat menjadi immunosupresor, hal tersebut sesuai dengan pernyataan Ridlo dan Pramesti (2009), senyawa aktif akan menunjukkan aktivitasnya jika dapat mencapai di lokasi targetnya yang berarti harus dapat diserap oleh darah untuk selanjutnya dibawa ketempat dimana zat itu akan memberikan efek aktifitasnya

atau jumlah senyawa aktif yang lebih kecil dari jumlah minimal yang diperlukan untuk memunculkan efek imunostimulan atau bahkan sebaliknya dosisnya terlalu tinggi sehingga tidak memberikan efek atau berperilaku sebagai inhibitor.

Pelczar dan Chan (1988), menambahkan bahwa semakin tinggi dosis antibakteri yang digunakan maka semakin cepat sel bakteri akan terbunuh. Namun penggunaan dosis yang terlalu tinggi tidaklah efektif. Di samping akan menimbulkan resistensi bakteri terhadap antibakteri tertentu, juga dapat membunuh ikan dan kurang ekonomis dalam pemakaiannya. Suatu bahan antibakteri pada hakekatnya adalah sebagai racun bagi penyakit dan apabila racun tersebut berlebihan justru akan menimbulkan kematian bagi organisme. Sehingga, berdasarkan data penelitian pendahuluan tersebut, untuk mendapatkan hasil yang optimal dosis yang digunakan adalah kurang dari 3 g/l.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa, range ekstrak kasar fenol *Gracilaria* sp. yang dapat digunakan untuk imunostimulan adalah ≤ 3 g/l dengan lama perendaman kurang dari 12 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulan Pada Hewan Akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*.1 (2):87-92.
- Jasmanidar, Y. 2009. *Penggunaan Ekstrak Gracilaria verrucosa untuk Meningkatkan Sistem Ketahanan Udang Vaname (Litopenaeus vannamei)*. [Tesis]. Universitas Brawijaya. 97 hal.
- Kabata, Z., 1985. *Parasiter and Disease of Fish Cultured in the Tropic*. Taylor. In Francis Inc. 242. Chery St. Phidelphia. p. 318.
- Kumar, A.A., V.S. Meena., S. Chattopadhyay., K.C. Paningrahi. 2012. Novel immunodulatory effect of gracilaria verrucosa and potamogetin pectinatus extracts on in vitro activation of t cells. *Journal International of Life Science and Pharma Research*. 2 (3):233-239.
- Pelczar, M. J dan E. C. S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi I*. Universitas Indonesia. Jakarta. 443 hal.
- Ridlo. A., R. Pramesti. 2009. Aplikasi Ekstrak Rumput Laut Sebagai Agen Imunostimulan Sistem Pertahanan Non Spesifik Pada Udang (Litopenaeus vannamei). *Jurnal Ilmu Kelautan*. 14 (3):133-137.
- Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* : 172:63-92.