

## PENGAMATAN PARAMETER HEMATOLOGIS PADA IKAN MAS YANG DIBERI IMMUNOSTIMULAN

Zakki Zainun<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Teknisi Litkayasa pada Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar, Sukabumi

### ABSTRAK

Darah mempunyai peran fisiologis penting pada ikan, penyimpangan hematologis dan respon kebal ikan mencirikan terjadinya perubahan status kesehatan ikan dari kondisi normal menjadi abnormal. Perubahan gambaran darah dapat menentukan kondisi ikan atau status kesehatannya. Pengamatan parameter darah dilakukan pada ikan mas yang telah diberi imunostimulan dan kontrol. Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke-0, 7, 14, 21, dan 28. Parameter yang diamati adalah indeks fagositik, total leukosit, dan hematokrit. Hasil pengamatan indeks fagositik menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kekebalan tubuh pada perlakuan, dengan indeks fagositik berkisar 10,33%—29,77% dibandingkan kontrol dengan kisaran 9,667%—20,331%. Kisaran total leukosit pada perlakuan sebesar 21.966,7–49.800 sel/mm<sup>3</sup> sedangkan perlakuan kontrol berkisar 22.100—26.816,67 sel/mm<sup>3</sup>. Adapun nilai hematokrit pada perlakuan (A) masih dalam keadaan normal yaitu antara 27,37%—41,4% dan pada kontrol (B) 27,23%—39,63%.

**KATA KUNCI:** leukosit, hematokrit, indeks fagositik, imunostimulan

### PENDAHULUAN

Darah ikan tersusun atas sel-sel darah yang tersuspensi dalam plasma dan diedarkan ke seluruh jaringan tubuh melalui sistem sirkulasi tertutup. Sel dan plasma darah mempunyai peran fisiologis yang sangat penting. Penyimpangan fisiologis ikan akan menyebabkan komponen-komponen darah mengalami perubahan (Wedemeyer *et al.*, 1990 *dalam* Alifuddin, 1999; Krise *et al.*, 1994 *dalam* Alifuddin, 1999).

Thompson *et al.* (1985 *dalam* Saptiani, 1996) menyatakan, bahwa tanggap fisiologik ikan terhadap sakit dapat diamati melalui penyimpangan tingkah laku, anatomi, hematologis, dan respon kebal ikan. Penyimpangan tersebut merupakan indikasi terjadinya perubahan status kesehatan ikan dari kondisi fisiologik normal menjadi abnormal. Perubahan gambaran dan kimia darah baik secara kualitatif maupun kuantitatif dapat menentukan kondisi ikan atau status kesehatannya Wedemeyer *et al.* (1990 *dalam* Alifuddin, 1999) menyatakan bahwa pemeriksaan darah penting untuk memantapkan diagnostik suatu penyakit.

Anderson & Swicki (1995) menyatakan bahwa persentase volume kandungan sel eritrosit merupakan petunjuk kondisi kesehatan ikan, sedangkan total leukosit merupakan salah satu indikasi adanya fase pertama infeksi, stres ataupun leukimia. Sedangkan Woo (1995 *dalam* Alifuddin, 1999) menyatakan bahwa eliminasi dan penghancuran patogen dilakukan melalui mekanisme fagositosis oleh aktivitas fagositik sel makrofag. Fagositosis merupakan langkah awal untuk mekanisme respon imunitas berikutnya yaitu terbentuknya respon spesifik yang berupa antibodi (Walczak, 1985).

Kegiatan ini bertujuan untuk mengetahui gambaran darah ikan mas yang telah diberi imunostimulan dilakukan pengukuran indeks fagositik, total leukosit, dan pemeriksaan hematokrit ikan.

### BAHAN DAN TATA CARA

#### Bahan dan Alat

Bahan dan alat yang digunakan pada kegiatan ini antara lain: ikan uji, larutan Turk's, bakteri *Staphylococcus aureus* methanol, giemsa,

mikroskop, hematokrit sentrifuse, tabung hematokrit, hemositometer, gelas objek, dan mikropipet.

## Tata Cara

### Pemeliharaan ikan

Ikan mas yang berukuran 10 g dipelihara pada keramba jaring apung ukuran 3 x 3 x 3 m<sup>3</sup> selama 4 minggu, pakan berupa pelet komersial dan diberi tambahan immuno-stimulan berupa *Crhomium yeast* dan ikan yang tidak diberi tambahan immunostimulan (kontrol), masing-masing sebanyak 3 ulangan.

### Pengambilan darah

Darah diambil dengan dengan spuit 1 cc pada pangkal ekor ikan (vena). Pengambilan sampel darah ikan dilakukan pada awal penebaran, kemudian pada minggu kedua, ketiga, dan keempat masa pemeliharaan.

### Pengamatan parameter darah

**Prosedur pengukuran indeks fagositik menurut Anderson & Siwicki (1993) adalah sebagai berikut:**

- Sebanyak 50 µL darah dimasukkan ke dalam mikrotube, ditambah 50 µL suspensi *Staphylococcus aureus* dalam PBS (10<sup>7</sup> sel) dicampurkan hingga homogen serta diinkubasi selama 20 menit.
- Selanjutnya dibuat sediaan ulas dengan mengambil 5 µL larutan darah dan dikering udarkan.
- Sediaan ulas difiksasi dengan methanol selama 5 menit kemudian dibilas dengan akuades dan dikeringkan.
- Setelah kering dilanjutkan pewarnaan dengan pewarna giemsa selama 15 menit.
- Preparat dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan di antara kertas tissue
- Aktivitas fagositik dihitung berdasarkan persentase sel yang menunjukkan proses fagositosis dari 100 jumlah sel yang terhitung.

**Penghitungan Total Leukosit (Blaxhall & Daisley, 1973)**

- Sampel darah dihisap dengan pipet berskala sampai 0,5 dilanjutkan dengan menghisap

larutan Turk's sampai skala 11, goyangkan pipet agar bercampur homogen. Larutan Turk's dibuat dengan cara mencampurkan Acetic acid glacial 1—1,5 mL; gentian violet 0,1 g; akuades 100 mL; bahan-bahan tersebut dicampur hingga homogen.

- Buang tetesan pertama, tetesan berikutnya dimasukkan ke dalam hemositometer dan ditutup dengan kaca penutup.
- Penghitungan dilakukan pada 5 kotak besar hemositometer.
- Jumlah leukosit sama dengan jumlah sel leukosit terhitung x 50 sel/mm<sup>3</sup>.

**Pengukuran Kadar Hematokrit (Anderson & Siwicki, 1993)**

- Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung hematokrit sampai kira-kira 4/5 bagian tabung, sumbat ujungnya (bertanda merah) dengan kretoseal.
- Sentrifuse dengan sentrifuse hematokrit selama 15 menit dengan kecepatan 3.500 rpm.
- Pengukuran kadar hematokrit dilakukan dengan membandingkan volume padatan sel darah dengan volume seluruh darah pada skala hematokrit.

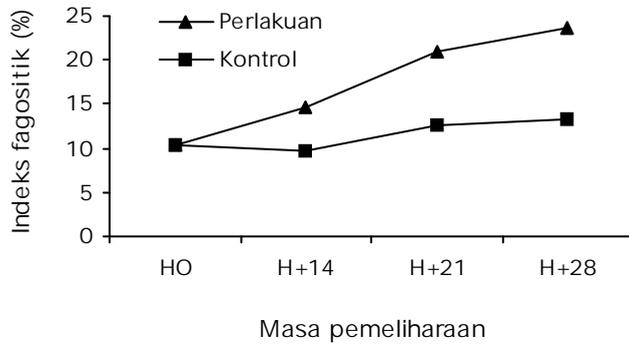
## HASIL DAN BAHASAN

Pengamatan gambaran darah dari ikan yang diberi perlakuan immunostimulan dan kontrol pada kegiatan ini adalah indeks fagositosis, total leukosit, dan hematokrit. Hasil selengkap-nya disajikan pada Gambar 1, 2, dan 3.

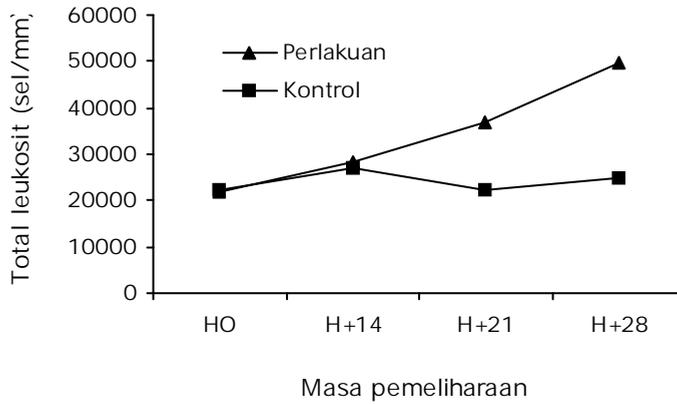
### Indek Fagositik

Hasil pengamatan indeks fagositosis rata-rata selama masa pemeliharaan disajikan pada Gambar 1.

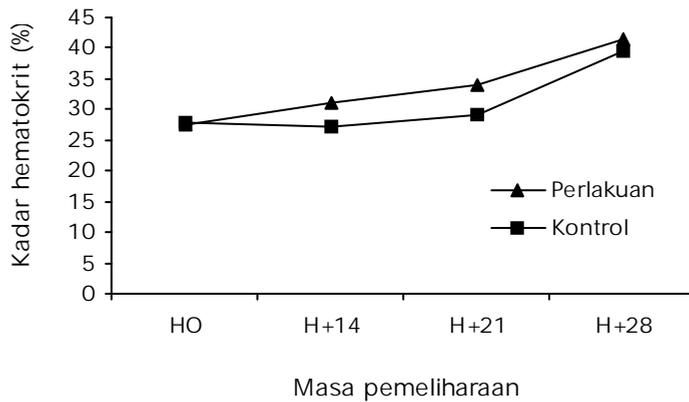
Berdasarkan Gambar 1 terlihat bahwa kisaran indeks fagositosis pada perlakuan lebih tinggi (10,33%—23,67%) dibandingkan dengan perlakuan kontrol dengan kisaran 9,667%—13,33%. Meningkatnya indeks fagositosis menunjukkan adanya peningkatan kekebalan tubuh, sebagaimana diungkapkan Brown (2000), yang menyatakan bahwa peningkatan kekebalan tubuh dapat diketahui dari peningkatan aktivitas sel fagosit dari hemosit. Sel fagosit ini berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh inang. Fagositosis adalah ingesti bahan partikel terutama bakteri ke



Gambar 1. Hasil pengamatan indeks fagositosis



Gambar 2. Hasil perhitungan rata-rata total leukosit (sel/mm<sup>3</sup>)



Gambar 3. Rataan kadar hematokrit selama kegiatan

dalam sitoplasma sel darah. Pola peningkatan persentase indeks fagositik ini merupakan fungsi dari peningkatan total leukosit maupun presentasi jenis leukosit masing-masing pada limfosit, monosit, dan neutrofil (Amrullah, 2004).

## Total Leukosit

Hasil perhitungan total leukosit rata-rata selama masa pemeliharaan disajikan pada Gambar 2.

Berdasarkan Gambar 2, terlihat bahwa kisaran total leukosit pada perlakuan maupun kontrol masih dalam kondisi normal. Rastogi (1977) menyatakan jumlah leukosit ikan normal sekitar 20.000—150.000 sel/mm<sup>3</sup> darah, memiliki satu inti, dua inti, atau lebih. Secara umum, pada perlakuan immunostimulan maupun kontrol menunjukkan terjadinya peningkatan jumlah leukosit. Namun demikian, pada perlakuan immunostimulan peningkatannya lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi peningkatan kekebalan tubuh pada ikan. Anderson (1992 dalam Alifuddin, 1999) menyatakan bahwa leukosit merupakan salah satu komponen sel darah yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminasi patogen.

## Hematokrit

Hematokrit merupakan perbandingan antara volume sel darah dan plasma darah. Kadar hematokrit menunjukkan kondisi kesehatan ikan. Hasil pengamatan kadar hematokrit rata-rata disajikan pada Gambar 3.

Berdasarkan Gambar 3, terlihat bahwa persentase hematokrit pada masa pemeliharaan cenderung mengalami peningkatan baik pada perlakuan maupun kontrol, akan tetapi masih berada pada kisaran normal, Wedemeyer & Yasutake (1977) menyatakan bahwa kisaran hematokrit pada ikan rainbow trout antara 24%—43%. Kisaran persentase hematokrit selama masa pemeliharaan berturut-turut adalah perlakuan immunostimulan 27,37%—41,4%, dan pada kontrol (tanpa immunostimulan) 27,23%—39,63%.

## KESIMPULAN

1. Indeks fagositosis pada perlakuan pemberian immunostimulan selama masa

pemeliharaan lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol

2. Total leukosit pada ikan yang diberi tambahan immunostimulan meningkat jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol
3. Pemberian immunostimulan tidak memberikan dampak negatif pada ikan jika dilihat dari kadar hematokrit perlakuan immunostimulan dan kontrol yang berada pada kisaran normal.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada rekan-rekan di Kelompok Kesehatan Ikan Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar, Sukabumi atas segala dukungannya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin, M. 1999. Peran Immunostimulan (Lipopolisakarida, Saccharomyces cerevisiae dan Levamisol) pada gambaran Respon Imunitas Ikan Jambal Siam (*Pangasius Hypophthalmus*).
- Amrullah. 2004. Penggunaan Immunostimulan *Spirulina platensis* Untuk Meningkatkan Ketahanan Tubuh Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) terhadap Virus Herpes. Tesis S2. Program Pasca Sarjana Institute Pertanian Bogor, 101 pp.
- Anderson, D.P. dan A.K Siwicki. 1993. Injection or Immersion Delivery of Selected Immunostimulant to Trout Demonstrate Enhancement of Non Specific Defence Mechanism and Protective Immunity In Discase in Asian Aquaculture II. Shariff, M.J., R. Arthur, R.P. Subasinghe (Eds.). Fish Health Section Asian Society, p. 413—426.
- Blaxhall and K.W. Dasley. 1973. Dasley. Routine Haematological Methods for Use With Fish Blood. Jurnal Fish. Biology, 5: 577—581.
- Brown KMT. 2000. Applied Fish Pharmacology. Kluwer Academic Publisher. Netherland. 309 ps
- Rastogi, S.C. 1977. Essensial of Animal Physiology. Willey Eastern Limited, New Delhi, Bangalore, Bombay, Calcuta, p. 204—223.
- Saptiani, G. 1996. Gambaran Sistem Kekebalan Non Spesifik pada Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy*) akibat Pemberian Immunostimulan. Program Pasca Sarjana IPB. Bogor, 60 pp.
- Walczak, B.Z. 1985. Immune Capability of Fish. A Literatur Review. Canadian Technical

Report of Fisheries and Aquatic Science,  
1,334: 1—33.

Wedemeyer, G.A. dan W.T. Yasutake. 1977. Clinical Methods for the Assessment of the Effect Environmental Stress on Fish Health. Technical Papers of the U.S. Fish and Wildlife Service. Us. Departement of the Interior, 89: 1—18.