

## PENGGUNAAN KITOSAN UNTUK PENCEGAHAN INFEKSI *Aeromonas hydrophila* PADA IKAN LELE DUMBO *Clarias sp.*

### Use of Chitosan to Prevent *Aeromonas hydrophila* Infection on Catfish *Clarias sp.*

Sukenda, L. Jamal, D. Wahjuningrum dan A. Hasan

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Institut Pertanian Bogor, Kampus Dramaga, Bogor (16680), Indonesia

#### ABSTRACT

Immunostimulation effect of chitosan against motile aeromonas septicemia caused by *Aeromonas hydrophila* were examined in catfish (*Clarias sp.*). Experimental fish were injected with 2, 4 and 6 µg/g fish of chitosan. All fish were subsequently challenged by 10<sup>5</sup> CFU/ml of live *A. hydrophila* by injection method. Negative control injected with PBS and positive control injected with only *A. hydrophila* were included in the experiment. Results showed that total count of eritrocyte, leucocyte, level of hematocrite, haemoglobin and phagocytic index higher at fish injected with chitosan previously compared with control as well as lymphocyte, neutrophile, monocyte, and trombocyte. Either survival rate or growth of fish injected with chitosan were found to increase in accordance with dose of chitosan.

Kata Kunci : chitosan, *Aeromonas hydrophila*, immunostimulant, *Clarias sp.*

#### ABSTRAK

Efek imunostimulasi dari kitosan melawan *Motile Aeromonad Septicemia* yang disebabkan oleh *A. hydrophila* dilihat pada ikan lele (*Clarias sp.*). Ikan uji disuntik dengan larutan kitosan dengan dosis 2, 4 and 6 µg/g, yang selanjutnya diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* 10<sup>5</sup> CFU/ml melalui penyuntikan intramuskular. Kontrol negative disuntik dengan PBS dan control positif disuntik hanya dengan bakteri *A. hydrophila* disertakan dalam penelitian ini. Hasil menunjukkan bahwa jumlah eritrosit, lekosit, level hematokrit, hemoglobin dan indeks fagositik lebih tinggi pada ikan-ikan yang diberi kitosan sebelumnya dibandingkan dengan tanpa pemberian kitosan sebelumnya. Begitu pula dengan kadar limfosit, netrofil, monosit dan trombosit. Sintasan dan pertumbuhan ikan yang diberi kitosan meningkat sejalan dengan dosis kitosan yang diberikan.

Kata kunci: kitosan, *Aeromonas hydrophila*, immunostimulan, *Clarias sp.*

#### PENDAHULUAN

Penyakit *Motile Aeromonad Septicemia* (MAS) adalah penyakit bakterial yang sering menyerang ikan lele (*Clarias sp.*) dan jenis ikan air tawar tropis lainnya. Penyakit ini disebabkan oleh infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dan dikenal sebagai penyakit bercak merah (Angka *et al.*, 2004). Ikan-ikan dari golongan siluridae, ictaluridae, clariidae, serta cyprinidae adalah ikan yang rentan terhadap serangan penyakit ini (Plumb, 1999).

Pengendalian perluasan penyakit harus dilakukan sedini mungkin untuk mencegah berjangkitnya wabah penyakit yang menyebabkan kerugian ekonomi.

Pengelolaan kesehatan ikan, terutama upaya untuk mencegah penyakit merupakan langkah bijaksana dalam penanggulangan terjadinya penyakit karena lebih mudah dan murah, dibandingkan kegiatan pengobatan ketika ikan sudah mengalami sakit. Upaya pengendalian penyakit MAS pada budidaya ikan, sampai saat ini masih menggunakan antibiotik. Namun, pemakaian antibiotik untuk jangka panjang, tidak terkontrol dan tidak tepat dosis dapat menimbulkan dampak negatif. Dampak ini bukan saja dikhawatirkan dengan munculnya strain-strain bakteri resisten terhadap antibiotik yang dapat membahayakan manusia (zoonotik), tetapi juga dapat mencemari

lingkungan perairan, bahkan berdampak pada kesehatan dengan adanya residu kimia dari antibiotik pada produk perikanan yang dikonsumsi. Antibiotik adalah obat yang mahal, sehingga pada skala kolam penggunaan antibiotik menyebabkan biaya yang tinggi sehingga kurang efisien (Angka *et al.*, 2004).

Untuk menghindari dampak negatif dari penggunaan antibiotik, sehingga perlu dicari alternatif pengobatan yang efektif, murah, aman terhadap manusia dan ramah lingkungan. Upaya pencegahan dan pengobatan penyakit ikan pada sistem budidaya sedang diarahkan pada penggunaan imunostimulan dari bahan alami yang terbukti efektif dan aman untuk manusia dan lingkungan.

Kitosan merupakan limbah hasil perikanan yang berasal dari kulit krustasea setelah mengalami demineralisasi, deproteinasi, dan deasetilasi. Bahan dasar kitosan ini mudah diperoleh, tersedia dalam jumlah banyak, dan belum dimanfaatkan secara optimal. Kitosan sebagai polimer alami yang memiliki berat molekul yang tinggi, dan tidak beracun dapat merangsang sistem imun, mempercepat penyembuhan luka, dan bersifat antibakteri (Suptijah, 2006). Pemberian kitosan melalui penyuntikan dan perendaman dilaporkan dapat meningkatkan ketahanan *Salvelinus fontinalis* terhadap infeksi *Aeromonas salmonicida* (Anderson *et al.*, 1994). Sedangkan Sukenda *et al.* (2007) melaporkan juga bahwa uji *in vivo* pada udang putih, *Litopenaeus vannamei*, menunjukkan bahwa penggunaan kitosan sebagai imunostimulan mampu meningkatkan total hemosit serta indeks fagositosis (Sukenda *et al.*, 2007). Sehingga kitosan diharapkan mampu menjadi alternatif bahan alami dalam pencegahan penyakit *Motile Aeromonad Septicaemia* khususnya pada ikan lele.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kitosan dalam meningkatkan respon imun non-spesifik pada ikan lele *Clarias sp.* yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

## BAHAN DAN METODE

### Penyediaan Ikan uji dan bakteri *Aeromonas hydrophila*

Ikan lele yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari sentra budidaya ikan lele di Ciampea, Kabupaten Bogor. Bobot ikan terpilih adalah  $53,61 \pm 1,36$  gr dan diadaptasikan terhadap pakan dan lingkungan selama tiga hari sebelum digunakan penelitian. Padat tebar tiap akuarium (50x35x40 cm) adalah sepuluh ekor dan pakan diberikan dua kali sehari. Selama penelitian berlangsung, kualitas lingkungan dijaga dalam kisaran optimal untuk kehidupan ikan patin.

Biakan bakteri *Aeromonas hydrophila* berasal dari Laboratorium Kesehatan Ikan, Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB. Bakteri diinfeksi ke ikan lele untuk meningkatkan virulensinya. Bakteri yang telah diinkubasi dalam agar TSA (tryptic soy broth) diambil menggunakan jarum ose dipindahkan ke dalam TSB (tryptic soy broth) dan diinkubasikan selama 18 jam sebelum dilakukan penghitungan kepadatan bakteri dengan spektrofotometer. Dengan pengenceran berseri, selanjutnya kepadatan bakteri disesuaikan menjadi menjadi  $10^5$  CFU/ml.

### Pembuatan Larutan Kitosan

Kitosan dilarutkan dalam asam asetat, 1 – 2 %, kemudian distirer hingga larutan menjadi transparan dan berbentuk gel. Akuades steril ditambahkan ke dalam larutan kitosan untuk mencapai konsentrasi 2.144 mg/ml, 4.289 mg/ml, dan 6.433 mg/ml.

### Uji *In vivo*

Pemberian kitosan dengan menggunakan 2 kontrol yaitu kontrol negatif dan kontrol positif, dan 3 pemberian dosis berbeda dari kitosan seperti tertera di bawah :

1. Kontrol negatif (ikan hanya disuntik dengan PBS sebanyak 0,1 ml/ekor ikan)
2. Kontrol positif (ikan disuntik bakteri *A. hydrophila*  $10^5$  CFU/ml)

3. Ikan disuntik kitosan 2  $\mu\text{g/g}$  ikan, ujiantang bakteri *A. hydrophila*  $10^5$  CFU/ml
4. Ikan disuntik kitosan 4  $\mu\text{g/g}$  ikan, ujiantang bakteri *A. hydrophila*  $10^5$  CFU/ml
5. Ikan disuntik kitosan 6  $\mu\text{g/g}$  ikan, ujiantang bakteri *A. hydrophila*  $10^5$  CFU/ml

Pemberian kitosan dilakukan dengan cara penyuntikan intramuskular pada ikan, setiap perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Setelah 7 hari penyuntikan kitosan maka dilakukan uji tantang dengan menyuntikan *Aeromonas hydrophila* pada ikan uji.

Pengambilan sampel darah akan dilakukan pada hari ke-0, 2, 4, dan 6 pasca uji tantang bakteri. Tiga contoh ikan dari masing-masing perlakuan dan kontrol diambil untuk melihat jumlah eritrosit, jumlah leukosit, kadar hematokrit, kadar hemoglobin, indeks fagositik, dan diferensial leukosit berdasarkan Anderson and Sewicki (1993) Blaxhall PC (1972) dan Wedemeyer and Yasutake (1977).

Kelangsungan hidup ikan uji diamati setiap hari pasca penyuntikan sampai akhir penelitian. Tingkat kelangsungan hidup ikan uji (*survival rate*) dihitung berdasarkan Effendi (1979). Pengukuran bobot rata-rata dilakukan pada awal dan akhir perlakuan dengan timbangan digital. Pertambahan bobot ikan dihitung berdasarkan perhitungan Zonneveld *et al.* (1991).

### Analisis Data

Dari hasil pengamatan parameter meliputi gambaran darah (jumlah eritrosit, jumlah leukosit, kadar hematokrit, nilai

hemoglobin, indeks fagositik, dan diferensial leukosit), kelangsungan hidup ikan uji, respon makan, pertambahan bobot, dan kualitas air. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan masing-masing 3 kali ulangan kemudian diuji lanjut menggunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

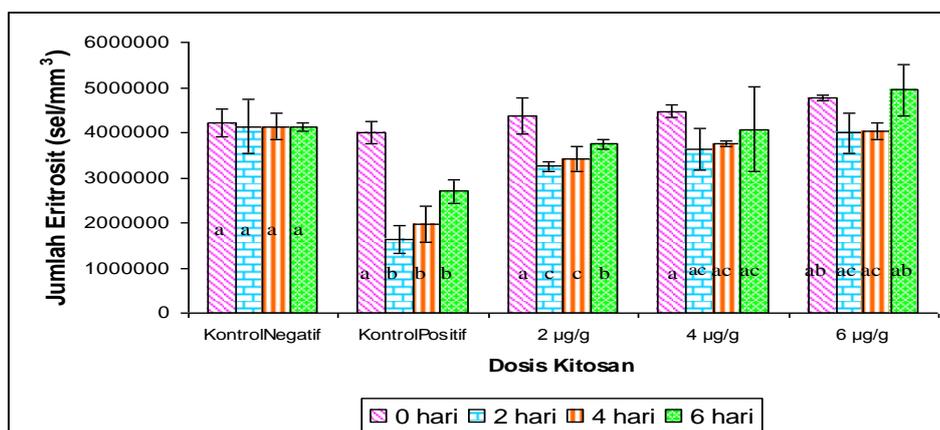
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Respon imun non-spesifik ikan lele

#### Jumlah eritrosit

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah eritrosit ikan perlakuan kitosan dengan dosis 2  $\mu\text{g/g}$ , 4  $\mu\text{g/g}$ , dan 6  $\mu\text{g/g}$ , pada hari ke-0, sesaat sebelum uji tantang, berturut-turut sebesar  $4.37 \times 10^6$ ,  $4.53 \times 10^6$ , dan  $4.77 \times 10^6$  sel/ $\text{mm}^3$ , lebih tinggi dibandingkan ikan kontrol yaitu sebesar  $4.21 \times 10^6$  dan  $4 \times 10^6$  sel/ $\text{mm}^3$ , hal ini dikarenakan adanya penambahan kitosan sebelumnya (Gambar 1).

Pada hari ke-2 setelah uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* terjadi penurunan jumlah eritrosit. Penurunan jumlah eritrosit tertinggi terjadi pada kelompok ikan kontrol positif yang hanya diuji tantang dengan patogen tanpa pemberian kitosan sebelumnya. Pada hari ke-4 hingga hari ke-6 jumlah eritrosit mengalami peningkatan pada semua perlakuan pemberian kitosan (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa kitosan dapat menghambat bakteri dalam memproduksi toksin dan mempercepat penyembuhan luka pada ikan (Sandford, 1989).



Gambar 1. Jumlah eritrosit ikan lele selama penelitian

## Jumlah Leukosit

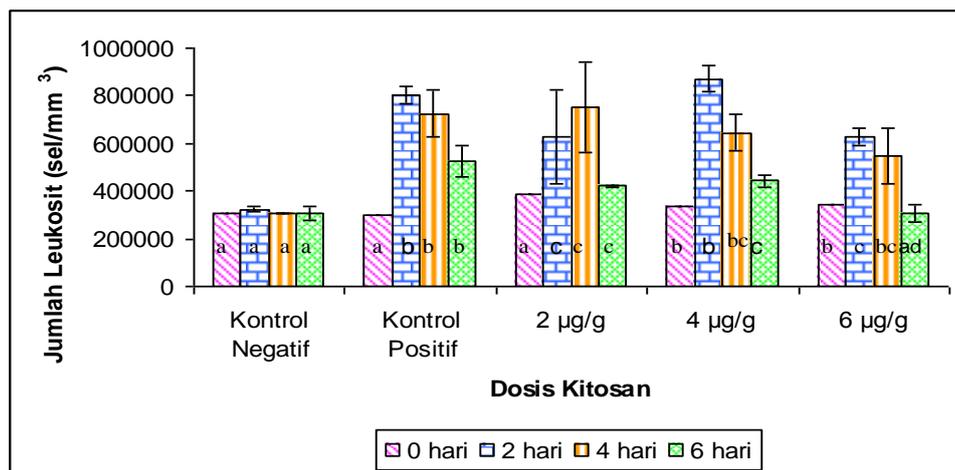
Tujuh hari setelah pemberian kitosan (hari ke-0), jumlah leukosit lebih tinggi pada perlakuan pemberian kitosan 2, 4, dan 6  $\mu\text{g/g}$  dibandingkan kontrol. Hari ke-2 pasca ujiantang, jumlah leukosit dalam darah mengalami kenaikan pada semua perlakuan. Hal ini dikarenakan leukosit berfungsi sebagai pertahanan dalam tubuh, yang bereaksi dengan cepat terhadap masuknya antigen ke dalam tubuh ikan. Jumlah leukosit ikan perlakuan kitosan 4  $\mu\text{g/g}$  yaitu  $8.7 \times 10^5$  sel/ $\text{mm}^3$  lebih tinggi dibanding dengan perlakuan yang lain. Pada hari ke-4 dan ke-6 terjadi penurunan kembali dengan total leukosit tertinggi dihasilkan pada perlakuan dengan dosis 2  $\mu\text{g/g}$  sebesar  $7.5 \times 10^5$  sel/ $\text{mm}^3$ , disebabkan pada hari ke 6 kondisi

ikan yang terinfeksi bakteri sudah menunjukkan tanda-tanda penyembuhan.

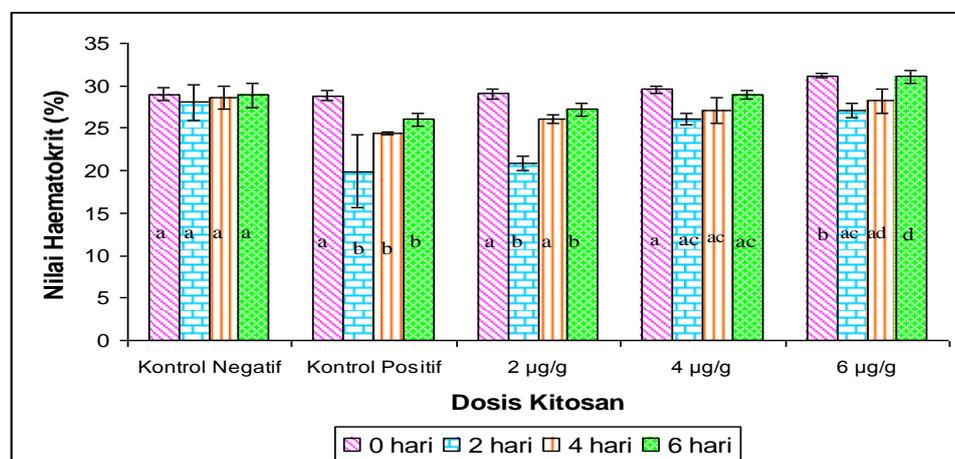
Leukosit merupakan salah satu komponen darah yang berfungsi sebagai pertahanan non-spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminir patogen melalui proses fagositosis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian kitosan sebagai imunostimulan dapat meningkatkan total leukosit.

## Kadar Hematokrit

Kadar hematokrit adalah persentase volume sel darah merah dalam darah yang diperoleh dari sampel darah total yang ada di tabung kapiler. Seiring meningkatnya jumlah eritrosit maka nilai hematokrit ikut meningkat pula.



Gambar 2. Jumlah leukosit ikan lele selama penelitian



Gambar 3. Hematokrit ikan lele selama penelitian

Terjadinya penurunan nilai hematokrit setelah pasca injeksi, disebabkan karena infeksi bakteri *A. hydrophila* yang mampu melisis sel-sel darah merah. Menurut Amlacher (1970), selain dari infeksi bakteri respon makan pun dapat memberi pengaruh pada komposisi darah termasuk jumlah eritrosit yang juga berpengaruh terhadap hematokrit. Pada hari ke-4 hingga ke-6 terjadi kenaikan pada semua perlakuan. Diduga dengan bertambahnya dosis kitosan dapat meningkatkan sistem pertahanan pada ikan lele dengan mempercepat menyembuhkan luka. Namun nilai hematokrit pada dosis 6 $\mu$ g/g menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p>0.05$ ) dan nilainya lebih tinggi sebesar 31.09% dari perlakuan 2 $\mu$ g/g dan 4 $\mu$ g/g (Gambar 3). Nilai hematokrit ikan lele (*Clarias batrachus*) normal adalah 30.8 - 45,5% sedangkan ikan lele yang terserang ulcer mempunyai kadar hematokrit sebesar 34.4 - 48,2% (Chinabut *et al.*, 1991). Anderson and Sewicki (1993) menyatakan kandungan hematokrit menunjukkan kondisi kesehatan ikan, apabila kandungan hematokrit rendah menunjukkan kondisi ikan anemia.

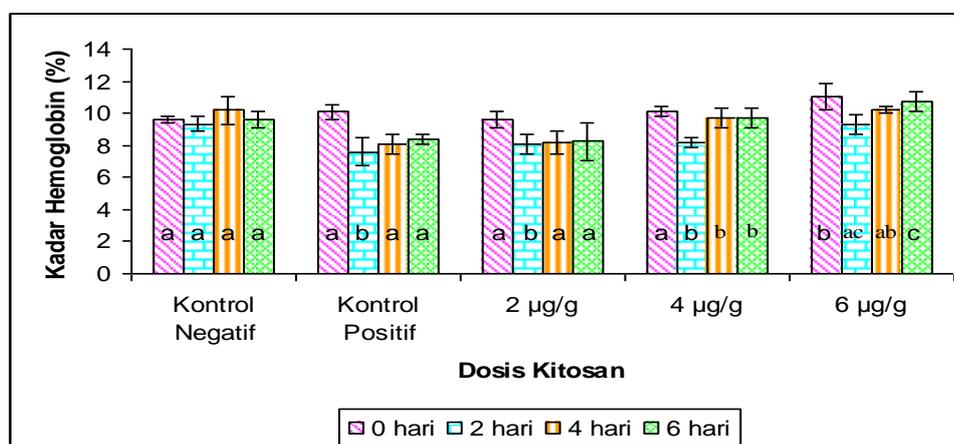
### Kadar Hemoglobin

Menurut Lagler *et al.*, (1977), kadar hemoglobin dalam darah ikan berhubungan dengan nilai hematokrit dan eritrosit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tujuh hari pasca pemberian kitosan (hari ke-0), dosis kitosan 6  $\mu$ g/g ikan menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p>0.05$ ) dan lebih tinggi dari perlakuan yang lain sebesar 11.08%.

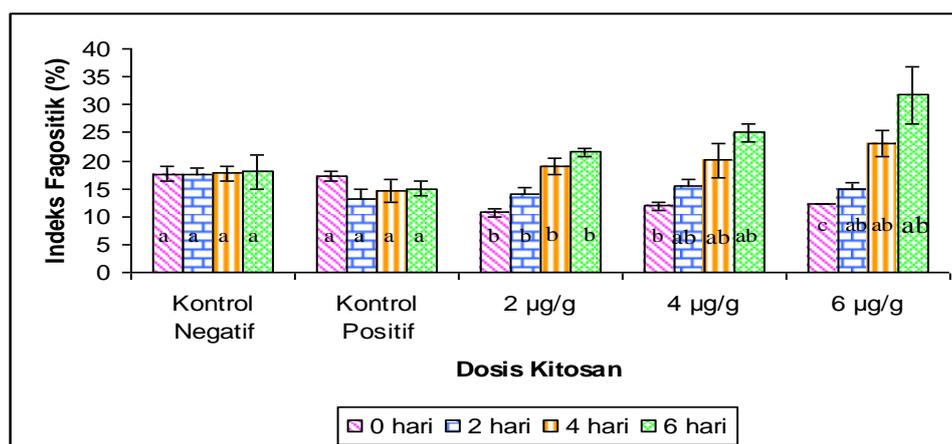
Sedangkan pada hari ke-2 pasca ujiantang mengalami penurunan akibat terjadinya hemolisis karena diinfeksi oleh bakteri sehingga kadar hemoglobin rendah. Pada hari ke-4 hingga ke-6 pasca ujiantang, kadar hemoglobin mengalami peningkatan pada kelompok ikan perlakuan, diduga sistem imun ikan lele sudah mulai terbentuk dan ikan mengalami pemulihan dari infeksi. Pada hari ke-6 pasca ujiantang dapat dilihat kadar hemoglobin dengan dosis 6  $\mu$ g/g menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p>0.05$ ) antar perlakuan dan kontrol (Gambar 4). Kadar hemoglobin ikan lele (*Clarias batrachus*) normal yaitu sebesar 10.3-13.5% dan ikan lele yang terserang ulcer mempunyai kadar hemoglobin sebesar 10.9-13 % (Alifuddin, 1999).

### Indeks Fagositik

Fagositosis adalah proses pemasukan partikel asing yang kecil ke dalam individu sel-sel fagosit seperti netrofil dan monosit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa indeks fagositik pada hari ke-0 terlihat indeks fagositik ikan uji perlakuan dosis 2, 4, dan 6  $\mu$ g/g terus mengalami kenaikan sampai hari ke-7 pasca ujiantang. Indeks fagositik tertinggi terjadi pada hari ke-7 pasca injeksi pada ikan perlakuan kitosan 6  $\mu$ g/g yaitu sebesar 31.72% (Gambar 5). Peningkatan ini terjadi seiring dengan peningkatan dosis kitosan yang diberikan. Dengan demikian kitosan mampu meningkatkan indeks fagositik ikan yang merupakan salah satu parameter untuk mengetahui tanggap kebal ikan terhadap infeksi penyakit.



Gambar 4. Hemoglobin ikan lele selama penelitian



Gambar 5. Indeks fagositik ikan lele selama penelitian

Pada pengamatan indeks fagositik, sel fagosit yang lebih banyak ditemukan melakukan fagositosis adalah monosit. Menurut Fujaya (2002), monosit lebih kuat dibanding neutrofil dalam memfagositosis bakteri, bahkan dapat memfagositosis partikel yang lebih besar. Makrofag merupakan monosit matang yang mampu memfagosit 100 bakteri. Sedangkan satu neutrofil hanya dapat memfagosit 5 sampai 20 bakteri sebelum neutrofil menjadi tidak aktif dan mati. Affandi dan Tang (2002) menyatakan bahwa peranan sel neutrofil ikan dalam respon peradangan masih belum dapat dimengerti dengan baik. Sel-sel neutrofil nampaknya mempunyai fungsi fagositik, namun beberapa laporan menunjukkan bahwa fagositosis mungkin bukan merupakan fungsi utama.

## Diferensial Leukosit

### Limfosit

Menurut Moyle dan Cech (1988) menyatakan bahwa limfosit berfungsi sebagai penghasil antibodi untuk kekebalan tubuh dari gangguan penyakit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata-rata total limfosit ikan yang diberi perlakuan kitosan dengan dosis 6 µg/g lebih tinggi dan berbeda nyata dengan perlakuan lain pada awalnya. Nilai total limfosit dari perlakuan 2 µg/g, 4 µg/g, dan 6 µg/g yaitu 53.33, 53.33 dan 60.33%. Sedangkan total limfosit kontrol negatif dan kontrol positif sebesar 53 dan 53.67%. Hari ke-2 pasca uji tantangan total

limfosit mengalami peningkatan dosis 4 µg/g dan 6 µg/g. Diduga bahwa peningkatan dosis kitosan meningkatkan proliferasi dari sel-sel limfosit. Sedangkan pada kontrol positif dan dosis 2 µg/g jumlah limfosit yang dihasilkan lebih rendah, diduga karena jumlah limfosit yang diproduksi tidak sebanding dengan limfosit yang dikirim ke jaringan tubuh yang terinfeksi.

### Netrofil

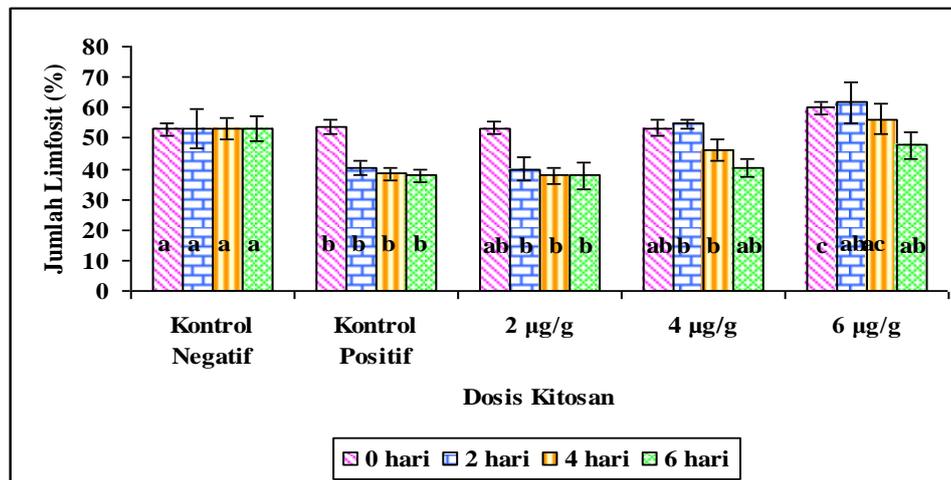
Neutrofil merupakan sel-sel pertama yang meninggalkan pembuluh darah yang penting karena mengandung vakuola yang berisi enzim untuk menghancurkan organisme yang dihancurkannya (Chinabut *et al.*, 1991). Pada hari ke-0 jumlah neutrofil ikan perlakuan kitosan 2 µg/g, 4 µg/g, dan 6 µg/g berturut-turut 16.67, 19.33, dan 16.67%. Sedangkan antara semua perlakuan tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata ( $p > 0.05$ ). Pada hari ke-2 pasca injeksi mengalami peningkatan jumlah neutrofil, hal ini diduga karena dalam tubuh ikan telah terbentuk sistem pertahanan tubuh sehingga saat infeksi bakteri maka neutrofil diproduksi oleh limfa untuk dikirim ke tempat infeksi. Semakin hari jumlah neutrofil menurun karena tubuh tidak memerlukan neutrofil lagi dan perannya sudah banyak diambil alih oleh sistem pertahanan spesifik. Jumlah neutrofil yang tertinggi terdapat pada dosis 6 µg/g hari ke-2 sebesar 23.33 sel/mm<sup>3</sup> tapi tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P > 0.05$ ) dengan kontrol. Pada hari ke-4 perlakuan kitosan dengan dosis 2 µg/g dan 6

$\mu\text{g/g}$  memperlihatkan perbedaan yang nyata ( $p>0.05$ ). Menurut Dellman dan Brown (1989), pada saat terjadi infeksi bakteri, biasanya jumlah neutrofil dalam darah meningkat, hal ini disebabkan oleh limfoid perlu melepas leukosit untuk melawan infeksi.

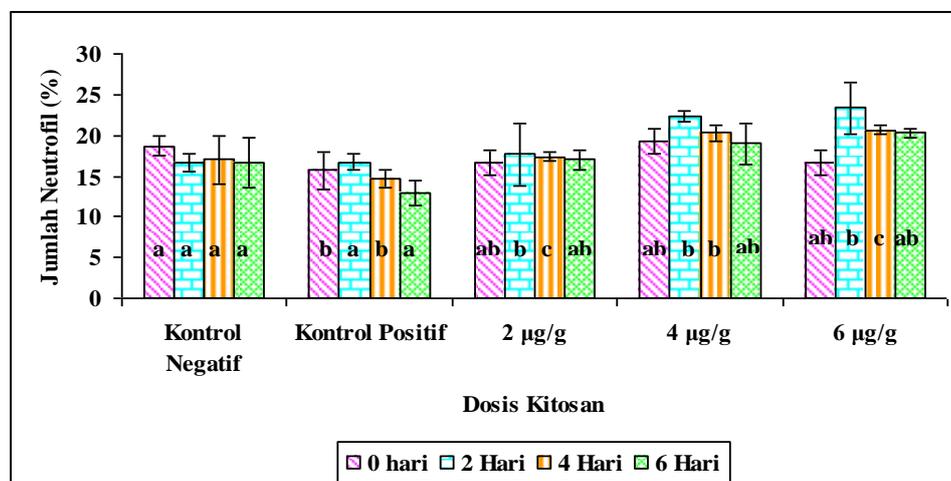
### Monosit

Moyle dan Cech (1988) menyatakan bahwa monosit berfungsi sebagai fagosit terhadap benda-benda asing, termasuk agen penyakit. Prosentase monosit ikan perlakuan kitosan  $2 \mu\text{g/g}$ ,  $4 \mu\text{g/g}$ , dan  $6 \mu\text{g/g}$  pada hari ke-0 lebih tinggi dibanding kontrol sebesar 14.33, 16.33, dan 17.33 %, diduga pemberian

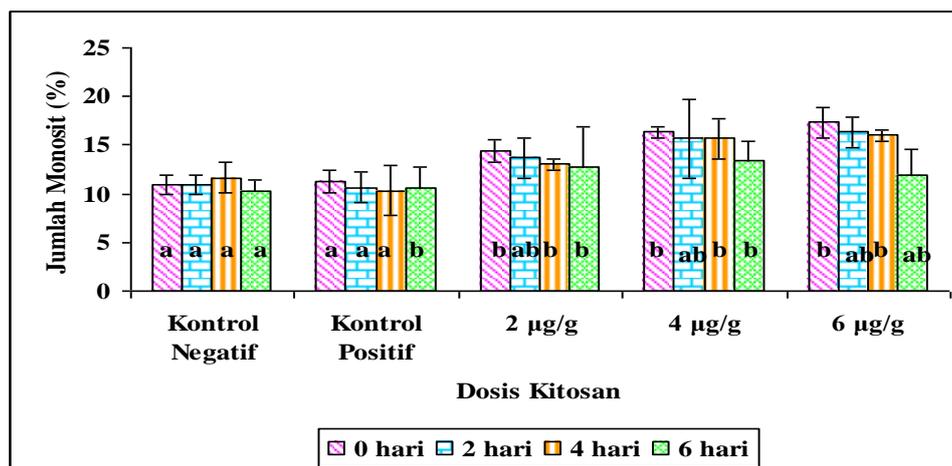
kitosan dapat meningkatkan jumlah monosit pada hari ke-0. Akan tetapi, pada hari ke-2 pasca injeksi hingga akhir pengamatan terjadi penurunan jumlah monosit, hal ini diduga bahwa monosit meninggalkan pembuluh darah menuju daerah yang terinfeksi dan memfagosit bakteri. Selain itu, jumlah neutrofil meningkat pada kedua jenis leukosit ini karena monosit memiliki kemampuan memfagosit lebih besar dari pada neutrofil (Fujaya, 2004). Jumlah monosit pada hari ke-0, 2, 4, dan 6 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p>0.05$ ) antar semua perlakuan. Total monosit tertinggi dihasilkan pada perlakuan dengan dosis  $6 \mu\text{g/g}$  pada hari ke-0 sebesar 17.33%.



Gambar 6. Jumlah limfosit ikan lele selama penelitian



Gambar 7. Jumlah neutrofil ikan lele selama penelitian



Gambar 8. Jumlah monosit ikan lele selama penelitian

### Trombosit

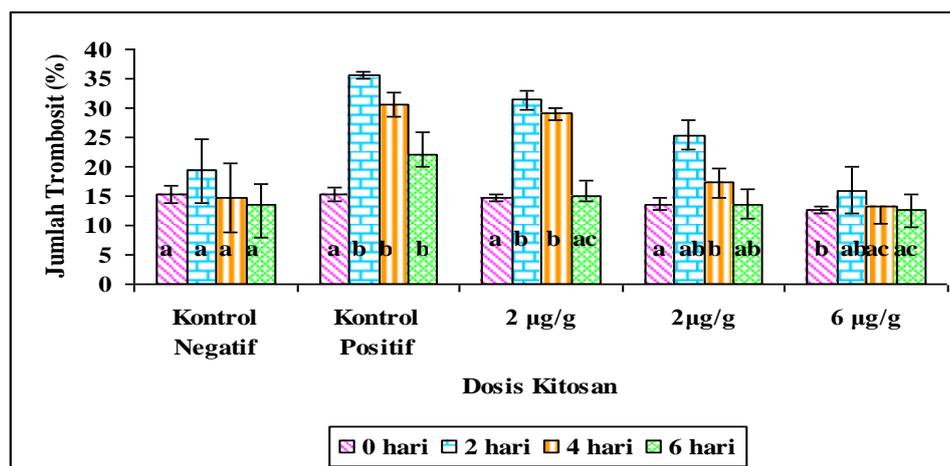
Trombosit berperan penting dalam proses pembekuan darah dan juga berfungsi untuk mencegah kehilangan cairan tubuh pada kerusakan-kerusakan di permukaan. Trombosit awal tertinggi dihasilkan oleh ikan perlakuan kitosan 6 µg/g sebesar 15.33% dan berbeda nyata bila dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Sedangkan total trombosit ikan perlakuan kitosan 2 µg/g dan 4 µg/g yaitu 14.67 dan 15%, tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif dan kontrol positif yaitu 12.67 dan 13.67%. Pada hari ke-2 pasca injeksi jumlah trombosit mengalami peningkatan, hal ini diduga ikan lele mengalami infeksi yaitu penyuntikan bakteri *Aeromonas hydrophila* sehingga trombosit diproduksi untuk menjaga kebocoran pembuluh darah (Fujaya, 2004). Trombosit tertinggi pada perlakuan kontrol positif yaitu 35.67%. Saat ikan dalam fase penyembuhan jumlah trombosit cenderung turun. Trombosit meningkat karena hemoragi dan tukak, trombosit diproduksi agar darah membeku guna mencegah pendarahan lebih banyak (Angka *et al.*, 2004).

### Respon Makan dan Perubahan Bobot Ikan

Ikan uji mampu makan satu hari pasca ujiantang *A. hydrophila* dan mengalami respon makan yang kurang hingga akhir pengamatan. Akan tetapi, pada hari ke-3 hingga hari ke-6 pasca tantang nafsu makan

ikan meningkat dan dosis tertinggi terdapat pada dosis 6 µg/g. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis kitosan yang diberikan pada ikan dapat meningkatkan nafsu makan pada ikan tersebut.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa pertambahan bobot tubuh dari ikan uji pada semua perlakuan berbeda. Peningkatan bobot yang paling besar yaitu 2,86 gr terjadi pada kontrol negatif sedangkan pertambahan bobot ikan uji pada kontrol positif yaitu 0.53 gr (terendah). Perlakuan 6 µg/g menunjukkan pertambahan bobot yang baik bila dibandingkan dengan 2 µg/g dan 4 µg/g. Hal ini disebabkan karena ikan uji masih memiliki nafsu makan yang baik sedangkan pada 2 µg/g dan 6 µg/g nafsu makannya kurang baik. Rendahnya pertambahan bobot pada kontrol positif dikarenakan menurunnya respon makan ikan uji akibat penginfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* terhadap ikan uji. Plumb (1999) menyatakan ikan yang terinfeksi oleh *motile aeromonad septicaemia* akan kehilangan nafsu makan. Begitu Kabata (1985) menyatakan bahwa respon makan yang rendah merupakan salah satu gejala infeksi bakteri *A. hydrophila*. Bakteri *A. hydrophila* juga dapat menyebabkan pendarahan pada organ hati (Runnels *et al.*, 1965). Cipriano *et al.* (1984) menyatakan bahwa hati merupakan salah satu organ target *A. hydrophila* dan terganggunya hati berpengaruh terhadap proses metabolisme.



Gambar 9. Jumlah trombosit ikan lele selama penelitian

Hati merupakan pusat metabolisme tubuh, di dalam organ hati glikogen dan lemak disimpan, menghasilkan cairan empedu sebagai emulsifikator lemak yang berperan penting dalam proses pencernaan makanan sehingga lemak dapat diserap oleh dinding usus dan berfungsi sebagai metabolisme karbohidrat, lemak dan protein (Lagler *et al.*, 1977). Kerusakan jaringan hati, ginjal dan empedu pada kontrol positif mengakibatkan ikan bertambah sakit serta kehilangan nafsu makan sehingga menyebabkan berat badan menurun. Jika kesehatan tubuh ikan uji menurun maka ikan akan mengalami stres sehingga menurunkan kemampuannya untuk mempertahankan diri dari serangan penyakit. Stres dapat mengganggu sistem imunitas yang berdampak negatif pada pertumbuhan.

### Kelangsungan Hidup Ikan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelangsungan hidup tertinggi dicapai pada kontrol negatif yaitu 100%, hal ini dikarenakan bahwa pada kontrol negatif ikan disuntik dengan PBS tanpa diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Kelangsungan hidup terendah terjadi pada kontrol positif yaitu 53.33%, disebabkan bahwa kontrol positif disuntik dengan bakteri *A. hydrophila* tanpa disuntik dengan kitosan sebelumnya. Pada perlakuan dengan dosis 2 µg/g, 4 µg/g, dan 6 µg/g kelangsungan hidup ikan uji berturut-turut sebesar 80%, 83.33% dan 93.33%. Kelangsungan hidup pada perlakuan dosis 2 µg/g, 4 µg/g, dan 6 µg/g lebih tinggi

dibandingkan dengan kontrol positif dikarenakan, adanya pemberian kitosan yang dapat menghambat infeksi *A. hydrophila* sehingga dapat mempertahankan kelangsungan hidup ikan. Umumnya kematian ikan uji karena kelainan klinis berupa tukak, namun beberapa ikan uji juga mengalami kematian karena radang, hemoragi dan nekrosis. Hal ini menurut Angka *et al.* (2000) karena *A. hydrophila* menghasilkan produk yang bersifat toksin sehingga menyebabkan darah mengalami hemolisis, kemungkinan hemolisis ini yang menyebabkan kematian walaupun kelainan klinis yang terlihat dari luar karena peradangan.

### KESIMPULAN

Pemberian kitosan pada ikan lele memberikan respon imun non-spesifik yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol. Pemberian kitosan telah meningkatkan jumlah eritrosit, leukosit dan kadar hematokrit, hemaglobin dan indeks fagositik ikan uji. Disamping itu prosentase limfosit, netrofil, monosit dan trombosit pada lebih baik pada ikan-ikan yang diberi kitosan dibandingkan ikan kontrol dengan prosentase tertinggi pada kelompokkan yang diberi kitosan 6 µg/g.

Pemulihan nafsu makan ikan pasca uji tantang dengan *A. hydrophila* lebih baik pada kontrol negatif dan ikan yang diberi

kitosan sebelumnya yang ditandai dengan penambahan bobot tubuh ikan lele hingga akhir pengamatan. Sedangkan nafsu makan terendah terjadi pada ikan kontrol positif yang diuji tantang *A. hydrophila*, yang ditandai dengan nilai perubahan bobot terendah dari semua perlakuan. Sedangkan kelangsungan hidup ikan selama penelitian menunjukkan bahwa peningkatan dosis kitosan yang diberikan memberikan proteksi yang lebih baik pada ikan ditandai dengan peningkatan sintasan ikan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin, M. 1999. Peran Imunostimulan (Lipopolisakarida, *Saccharomyces cerevisiae* dan Levamisol) Pada Gambaran Respon Imunitas Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*) Fowler. [Tesis]. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Amlacher, E. 1970. Textbook of Fish Disease. Conroy D.A., R.L. Herman (eds) TFH Publ. Neptune. New York. 302p.
- Anderson D.P, A.K. Siwicki. 1993. Basic Haematology and Serology for Fish Health Programs. Paper Presented in Second Symposium on Diseases in Asian Aquaculture "Aquatic Animal Health and the Environment". Phuket, Thailand. 25-29 th Oktober 1993. p185-202.
- Anderson, D.P., A.K Siwicki. 1994. Duration of Protection Against *Aeromonas salmonicida* in Brook Trout Immunostimulated with Glucan or Chitosan by Injection or Immersion. The Progressive Fish-Culturist; 56:258-261p.
- Anderson, D.P. 1974. Fish Immunology. TFH Publication Ltd Hongkong. 239 p.
- Angka, S.L, B.P. Priosoeryanto, B.W. Lay dan E. Harris. 2004. Penyakit *Motile Aeromonas Septicaemia* pada ikan lele dumbo. Forum Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Blaxhall P.C. 1972. The Haematological assesment of the health of fresh water fish. A Review of Selected Literatur. Journal Fish Biology. 4:593-604.
- Chinabut, S, Limsuwan C, Kitsawat P. 1991. Histology of The Walking Catfish *Clarias batrachus*. Departement of Fisheries Thailand. Thailand. 96p.
- Cipriano R.C, G.L Bullock, S.W Pyle. 1984. *Aeromonas hydrophila* and *Motile Aeromonad Septicemias* of fish. Fish Diseases Leaflet 68, US. Fish and Wildlife Service. West Virginia. p20-23.
- Dellman, H.D. dan Brown, E.M. 1989. Buku teks histologi veteriner. I. Hartono (penerjemah). UI. Press. Jakarta.
- Effendi, M.I. 1979. Metode biologi perikanan. Yayasan Dewi Sri. Bogor. 128 hlm.
- Fujaya, Y. 2004. Fisiologi ikan. Dasar Penyembangan Teknologi Perikanan. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta.
- Kabata Z. 1985. Parasites and disease of fish cultured in the tropics. Taylor and Francis Press, London and Philadelphia. 318p.
- Lagler, K. F., J. E. Bardach, R. R. Miller and D. R. M. Passino. 1977. Ichthyology. John Wiley and Sons Inc. New York. 506p.
- Moyle, P.B dan Cech Jr, J.J 1988. Fishes. An Introduction to Ichthyology. Prentice Hall, Inc. USA. 559p.
- Nabib, R dan Pasaribu FH. 1989. Patologi dan penyakit ikan. Bogor : Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Plumb, J.A. 1999. Health maintenance of cultured fishes. CRC Press. London.
- Sandford, P.A. 1989. Chitosan: Commercial uses and potential application. In Chitin and Chitosan: Sources, Chemistry, Biochemistry, Physical Properties and Application. Elsevier Applied Science. New York.
- Sukenda, Y.T. Trianggoro, D. Wahyuningrum dan Rahman. 2007. Penggunaan kitosan untuk pengendalian infeksi *vibrio harveyi* pada udang putih *Litopenaeus vannamei*. Jurnal Akuakultur Indonesia, 6 (2): 205-209.
- Suptijah, P. 2006. Deskriptif karakteristik fungsional dan aplikasi kitin kitosan. Prosiding Seminar Nasional Kitin Kitosan. Departemen Teknologi Hasil Perikanan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Stickney, R.R 1993. Principle of warm Water aquaculture. A Wiley. Interscience Publication. John and Sons. USA, 130p.
- Wedemeyer G.A., W.T. Yasutake. 1977. Clinical methods for the assessment of the effect environment stress on the fish health. Technical Papers of the US Fish and Wildlife Service. US Depart of the Interior Fish and Wildlife Service. 89:1-17
- Zonneveld, N. E., A. Huisman, J.H. Boon. 1991. Prinsip-prinsip budidaya ikan. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.