

**PENINGKATAN RESPON IMMUN PADA IKAN NILA  
(*Oreochromis niloticus*) DENGAN PEMBERIAN XANTONE  
YANG DIEKSTRAK DARI KULIT BUAH MANGGIS  
(*Garcinia mangostana* L)**

**TESIS  
MARDIANA**



**PROGRAM STUDI ILMU PERIKANAN  
PROGRAM PASCA SARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013**

## **LEMBAR PENGAJUAN TESIS**

**PENINGKATAN RESPON IMMUN PADA IKAN NILA  
(*Oreochromis niloticus*) DENGAN PEMBERIAN XANTONE  
YANG DIEKSTRAK DARI KULIT BUAH MANGGIS  
(*Garcinia mangostana* L)**

Disusun dan diajukan oleh

**MARDIANA**

**Nomor Pokok P 33 002 11 401**

**Menyetujui:**

**Komisi Penasehat**

**Prof.Dr.Ir. Alexander Rantetondok , M.Fish**  
**M.Sc**

**Ketua**

**Dr. Ir. Gunarto Latama,**

**Anggota**

**Ketua Program Studi**

**Ilmu Perikanan**

**Prof. Dr. Ir. Achmar Mallawa, DEA**

**Tanggal Pengesahan:**

## ABSTRAK

**MARDIANA.** *Peningkatan Respon Immun Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Dengan Pemberian Xanton Yang Diekstrak dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana Linnaeus*)* (dibimbing oleh **Alexander Rantetondok dan Gunarto Latama**)

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis berupa xantone terhadap peningkatan respon imun pada ikan nila. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*, Rancangan penelitian didesain menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan pengamatan parameter tingkat kelangsungan hidup, aktivitas lisozim, letupan respirasi dan aktifitas fagositosis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya pemberian ekstrak xantone pada ikan nila mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Aeromonas hydrophila*. Hasil analisis ragam ANOVA menunjukkan bahwa ikan nila yang diberikan ekstrak xanton, berpengaruh nyata terhadap tingkat kelangsungan hidup ikan nila ( $P < 0.05$ ). Hasil uji lanjut W-Tukey menunjukkan bahwa tingkat kelangsungan hidup tertinggi ikan nila adalah pada pemberian xanton 2,10 ppm/ekor (perlakuan C) dan tidak berbeda dengan pemberian xanton 2,15 ppm/ekor (perlakuan D) tetapi berbeda terhadap pemberian xanton 2,5 ppm/ekor (perlakuan B) dan kontrol (perlakuan A). Hasil analisis ragam ANOVA menunjukkan bahwa aktivitas lisozim antar perlakuan berpengaruh nyata ( $P < 0.05$ ) dan hasil uji lanjut W-Tukey kontrol berbeda dengan pemberian xanton 2,10 ppm/ekor, 2,15 ppm/ekor dan 2,5 ppm/ekor. Aktifitas fagositosis juga berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) antara setiap perlakuan, hasil uji lanjut W-Tukey perlakuan kontrol 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 control dan C tetapi tidak berbeda antara perlakuan B dan perlakuan D.

Kata kunci : Xanton, ikan nilai, Respon Immun.

**MARDIANA.** *The Increase of Immune Respons in Nile Tilapia (Oreochromis niloticus) Given Xantone Extracted from the Peel of Mangosteens (Garcinia Mangostana L) Supervised by Alexander Rantetondok and Gunarto Latama)*

This study aims to analyse the influence xantone extract from mangosteen peel on the increase of immune response innila tilapia.

The research was conducted in vitro and in vivo by using the complete random design. The observation parameters were the I survival rate, lysosyme activity, respiratory burst , and phagocytosis activity.

The result revealed that giving xantone extract to nile tilapia is able to inhibit the growth of phatogen bacteria (*A. hydrophilla*). The results of ANOVA variant analysis revealed that giving xantone extract had significant difference on the rate survival of nile tilapia ( $P < 0,05$ ). The result test of W-Tukey revealed that the highest level of surviva ratel in nile tilapia was found in C treatment (2,10 ppm), but it was not significand compare to D treatment (2,15 ppm). It was significant between B treatment (2,5 ppm) and A (control). The results of ANOVA( variant analysis) revealed that the lysozyme activity between the treatments had a real influence ( $P < 0,05$ ), and the results of further test of W-Tukey on A (control) were different from B, C and D treatments. The phagocytosis activities also had a real influence ( $P < 0,05$ ) in the treatments. The result of further test of W-Tukey revealed that A treatment was different from B, C and D treatments; but there was no difference between B and D treatments. The result of further test of W-Tukey revealed on respiration explosion also revealed a difference between A and C treatments, but there was no any difference between B and D treatments.

Keywords: xantone, nile tilapia, immune response

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	i
<b>KEASLIAN TESIS</b> .....	ii
<b>ABSTRAK</b> .....	iii
<b>ABSTRACT</b> .....	iv
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian .....	6
D. Manfaat Penelitian .....	6
E. Hipotesis Penelitian .....	6
F. Kerangka Pikir Penelitian .....	6
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A. Klasifikasi dan Morfologi Ikan Nila .....	9
B. Habitat dan Penyebaran Ikan Nila .....	10
C. Mekanisme Timbulnya Penyakit .....	11
D. Imunostimulan.....	13

E. Buah Manggis ( <i>Garcinia mangostana L</i> ) .....	15
F. Kandungan Kimia Buah Manggis serta Manfaatnya .....	19
G. Respon Imun.....	24
H. Letupan respirasi ( <i>Respiratory burst</i> ) .....	25
I. Aktivitas Lisozim .....	27

### **BAB III. METODE PENELITIAN**

A. Waktu dan Tempat .....	28
B. Alat dan bahan .....	28
C. Prosedur Penelitian .....	29
1. Ekstrak Kulit Buah Manggis .....	29
2. Populasi Bakteri .....	31
3. Hewan uji dan Pemberian Immunostimulan .....	32
4. Uji Tantang .....	33
D. Peubah yang diamati .....	34
1. Aktivitas letupan respirasi .....	34
2. Uji Aktifitas Fagositosis .....	35
3. Aktivitas Lisosim .....	36
4. Tingkat Kelangsungan Hidup .....	38
E. Kualitas Air .....	38
F. Analisis Data .....	38

### **BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

A. Aktifitas Letupan Respirasi .....	39
B. Aktifitas Fagositosis .....	44

C. Aktifitas lisozim .....	48
D. Sintasan (%) .....	51
E. Parameter Kualitas Air .....	53

## **BAB V. PENUTUP**

A. Kesimpulan .....	54
B. Saran .....	54

## **DAFTAR PUSTAKA**

## DAFTAR TABEL

Tabel	Teks	Halaman
1.	Rata-rata Nilai Aktifitas Letupan Respirasi .....	39
2.	Rata-rata nilai sel fagositosis dengan pemberian xantone yang diekstrak dari Kulit manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> ) .....	44
3.	Aktivitas lisozim ikan nila setelah ujiantang .....	50

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Teks	Halaman
1.	Alur Pikir Penelitian .....	8
2.	Morfologi Ikan Nila ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) .....	9
3.	Buah Manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> ) .....	16
4.	Struktur Senyawa Dasar Xanton .....	21
5.	Struktur Senyawa Mongostin .....	22
6.	Lintas Letupan Respirasi pada Neutrofil, Katalase Melakukan Fungsi yang Sama Seperti mieloperoksidase di dalam <i>Macrophage</i> .....	26
7.	Penempatan wadah penelitian setelah pemberian imunostimulan (3 Ulangan) .....	32
8.	Penempatan wadah penelitian setelah ujiantang .....	34
9.	Histogram Letupan respirasi setiap perlakuan dengan pemberian xantone yang diekstrak dari kulit buah manggis (A (kontrol), B (2,5 ppm), C (2,10 ppm), D (2,15 ppm)) .....	41
10.	Macrophage yang terfagosit (Pewarnaan Safranin, Pembesaran 1000x) .....	46
11.	Histogram nilai rata-rata aktifitas fagositosis dengan pemberian xantone yang diekstrak dari kulit manggis. (A (kontrol), B (2,5 ppm), C (2,10 ppm), D (2,15 ppm)) .....	47
12.	Grafik linier OD lisozim terhadap masing-masing perlakuan (A (kontrol), B (2,5 ppm), C (2,10 ppm), D (2,15 ppm)) .....	49
13.	Sintasan ikan nila setelah ujiantang dengan <i>A. hydrophila</i> pada akhir pengamatan (A (kontrol), B (2,15 ppm), C (2,10 ppm), dan D (2,15 ppm)) .....	52

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Teks
1.	Data Sintasan (%) pada Ikan Nila ( <i>Orheocromis niloticus</i> )
2.	Hasil Analisis Ragam ANOVA dan Uji W-Tukey Sintasan (%) ikan nila
3.	Data Letupan Respirasi pada Ikan Nila
4.	Hasil Analisis Ragam dan Uji W-Tukey Letupan Respirasi
5.	Data Aktifitas fagositosis Ikan Nila
6.	Hasil Analisis Ragam dan Uji W-Tukey Aktifitas fagositosis
7.	Nilai aktivitas lisozim ikan uji pada masing-masing perlakuan
8.	Hasil Analisis Ragam dan Uji W-Tukey aktivitas lisozim pada ikan Nila
9.	Rata-rata Nilai Kualitas air Selama Penelitian
10.	Perhitungan <i>A. hydrophila</i> dengan Metode Mac Farland
11.	Sampel uji ikan nila ( <i>O. niloticus</i> )
12.	Tahapan Proses Penelitian
13.	Gambar proses uji lisozim
14.	Gambar proses aktifitas letupan respirasi

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Sektor perikanan dan kelautan merupakan salah satu sumber andalan dalam pembangunan perikanan di Indonesia. Produksi perikanan budidaya sendiri secara keseluruhan diproyeksikan meningkat rata-rata 4,9 % per tahun (KKP, 2010). Target tersebut antara lain didasarkan atas potensi pengembangan daerah perikanan budidaya yang memungkinkan di wilayah Indonesia. Melihat besarnya potensi pengembangan daerah perikanan budidaya serta didukung pasar internasional yang masih terbuka luas, maka diharapkan sumbangan produksi perikanan budidaya semakin besar terhadap produksi nasional dan penerimaan devisa Negara dan keterkaitannya dengan tujuan untuk kesejahteraan petani dan nelayan (Khairul *dkk.*, 2008)

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan spesies yang berasal dari kawasan sungai Nil dan danau-danau sekitarnya di Afrika. Bentuk tubuh memanjang, pipi kesamping dan warna putih kehitaman. Jenis ini merupakan ikan konsumsi air tawar yang banyak dibudidayakan setelah ikan mas (*Cyrprinus carpio*) dan telah dibudidayakan di ± 85 negara. Saat ini, ikan ini telah tersebar ke negara beriklim tropis dan subtropis, sedangkan pada wilayah beriklim dingin tidak dapat hidup dengan baik. Nila disukai oleh semua kalangan karena mudah dipelihara, dapat

dikonsumsi oleh segala lapisan serta rasa daging yang enak dan tebal (Khairul *dkk.*, 2008). Tekstur daging Ikan nila memiliki ciri tidak ada duri kecil dalam dagingnya. Apabila dipelihara di tambak akan lebih kenyal, dan rasanya lebih gurih, serta tidak berbau lumpur. Oleh karena itu, Ikan nila layak untuk digunakan sebagai bahan baku dalam industri fillet dan bentuk-bentuk olahan lain. Ekspor nila dari Indonesia umumnya dalam bentuk *frozen fille* (600 g) dan surimi (Wibowo dan Yunizal , 1998).

Nila adalah nama khas Indonesia yang diberikan oleh pemerintah melalui Direktur Jenderal Perikanan (Sukardi, 2004). Ikan Nila merupakan ikan berdaging putih, dapat tersedia dalam jumlah banyak dan harganya relatif murah serta sebagai alternatif sumber protein non-kolesterol. Di dalam negeri, nila juga digemari oleh karena itu telah banyak dibudidayakan, usaha budidaya ikan sering terjangkit adanya penyakit ikan yang tidak jarang menggagalkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan sehingga mengakibatkan kematian massal pada ikan yang dibudidayakan (gagal panen). Penyakit ikan disebabkan adanya interaksi antara lingkungan, organisme patogen dan ikan yang tidak seimbang. Penyakit ikan dapat disebabkan oleh fisika, kimiawi, dan biologis (Feliatra *dkk.*, 2004). Penyakit yang diakibatkan oleh fisik maupun kimiawi pada umumnya tidak menular (non-infeksi) misalnya penyakit yang diakibatkan oleh kekurangan nutrisi, genetik, dan faktor lingkungan, sedangkan penyakit yang ditimbulkan oleh penyebab biologis kebanyakan menular (infeksi) seperti penyakit akibat infeksi parasit, bakteri, virus dan jamur.

Bakteri yang menyerang hampir semua jenis ikan air tawar yang dipelihara di tambak adalah bakteri *Aeromonas hydrophila* (Triyanto, 1990). Penyakit infeksi yang ditimbulkan oleh serangan bakteri ini memiliki ciri dimana ikan yang terserang umumnya memiliki mulut merah, tubuh bercak kemerahan, perut kembung dan putus sirip, lemah, sering berenang ke permukaan berputar-putar dan kehilangan nafsu makan. Kerugian yang ditimbulkan sangat besar, sebab dalam waktu relatif singkat ikan akan mati secara massal (Susanto, 1988). Penyakit ikan biasanya timbul berkaitan dengan lemahnya kondisi ikan yang disebabkan beberapa faktor antara lain penanganan ikan, pakan yang diberikan sangat berlebihan dan keadaan lingkungan yang kurang mendukung. Usaha penanggulangan penyakit dapat berupa pengobatan dan pencegahan. Usaha penanggulangan yang paling efisien adalah berupa pencegahan penyakit dengan cara pemberian imunostimulan.

Imunostimulan adalah zat kimia, obat-obatan, stressor, atau aksi yang meningkatkan respon imun non-spesifik atau bawaan (innate-immune respon) yang berinteraksi secara langsung dengan sel dari sistem yang mengaktifkan respon imun bawaan tersebut (Syakuri dkk., 2003). Selanjutnya imunostimulan adalah suatu zat yang mempunyai kemampuan untuk meningkatkan ketahanan tubuh terhadap infeksi. Berbagai macam imunostimulan dapat digunakan salah satunya adalah Jinten hitam (*Nigella sativa*) yang berpotensi sebagai imunostimulan karena mampu meningkatkan system kekebalan tubuh dalam menghadapi

patogen. Tumar (2006) melaporkan bahwa ekstrak jinten hitam (*Nigella sativa*) dapat menghambat atau bahkan dapat membunuh bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Imunostimulan dapat digunakan sebagai terapi tambahan untuk penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus, bakteri dan parasit serta membantu meringankan gejala penyakit infeksi, serta mempercepat proses penyembuhan pada ikan (Rantetondok, 2002). Jika belum terkena penyakit, imunostimulan bisa dipakai sebagai tindakan preventif untuk mencegah penyakit, serta untuk meningkatkan daya tahan tubuh. Terapi tambahan disini berarti imunostimulan bukanlah merupakan obat utama yang melawan penyakit, tetapi hanya membantu mempercepat proses penyembuhannya saja. Namun demikian, imunostimulan akan lebih bermanfaat pada kondisi dimana sistem kekebalan tubuh mengalami penurunan. Oleh karena hal tersebut diatas, penelitian ini digunakan xanton yang diekstrak dari kulit buah manggis sebagai salah satu alternatif penanganan penyakit yang ramah lingkungan.

## **B. Rumusan Masalah**

Ikan nila sangat terkenal sebagai ikan yang sangat tahan terhadap perubahan lingkungan hidup, namun penggunaan beberapa antibiotik dapat menyebabkan kerusakan lingkungan akibat penggunaan yang tidak mengikuti aturan, olehnya itu sekarang banyak dilakukan penelitian untuk usaha pencegahan penyakit. Salah satu cara adalah dengan

penggunaan imunostimulan berupa pemberian Xanton yang diekstrak dari kulit buah manggis yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh baik spesifik maupun non-spesifik, karena dapat meningkatkan aktifitas fagositosis dari pertahanan seluler dan respon imun (Suksamran, 2003). Manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang berasal dari suku gutiferae merupakan salah satu buah-buahan tropis yang paling dikenal secara luas dan memiliki daya tarik universal karena kualitas dalam warna, bentuk dan flavour. Manggis dikenal sebagai “Queen of fruits” dan tersebar di seluruh India, Myanmar, Malaysia, Philippina, Sri Lanka, dan Thailand.

Pericarp (peel, kulit, dan isi) dan buah manggis yang telah matang digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati sakit perut, diare, disentri, luka infeksi, nanah, dan lambung kronis (Uksamrar, dkk., 2006). Xanthones, terpenoids dan sugars telah dilaporkan dari berbagai bagian (pericarp, buah utuh, kulit, dan daun) manggis dan beberapa dari mereka telah menunjukkan berbagai kegiatan biologis (Peres dkk., 2000). Lebih lanjut farmakologi itu juga memiliki beberapa properti termasuk antitumor, antibakteri antifungal, anti-inflamasi antioksidan, antiplasmodial (Jung, 2006) dan kegiatan cytotoxic immunostimulating aktivitas manggis belum banyak dieksplorasi. Oleh karena itu penelitian ini ini dimaksudkan untuk mengevaluasi peningkatan respon imun non-spesifik pada ikan nila (*O. niloticus*) yang diekstrak dari kulit buah manggis.

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis berupa Xanton terhadap peningkatan respon imun pada ikan nila yaitu berupa letupan respirasi, aktifitas fagositosis dan aktivitas lisosim serta tingkat kelangsungan hidup pada ikan nila.

### **D. Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai bahan informasi mengenai fungsi dari imunostimulan yang diekstrak dari buah kulit manggis berupa Xanton yang diberikan pada ikan nila sehingga dapat meningkatkan produksi ikan nila.

### **E. Hipotesis**

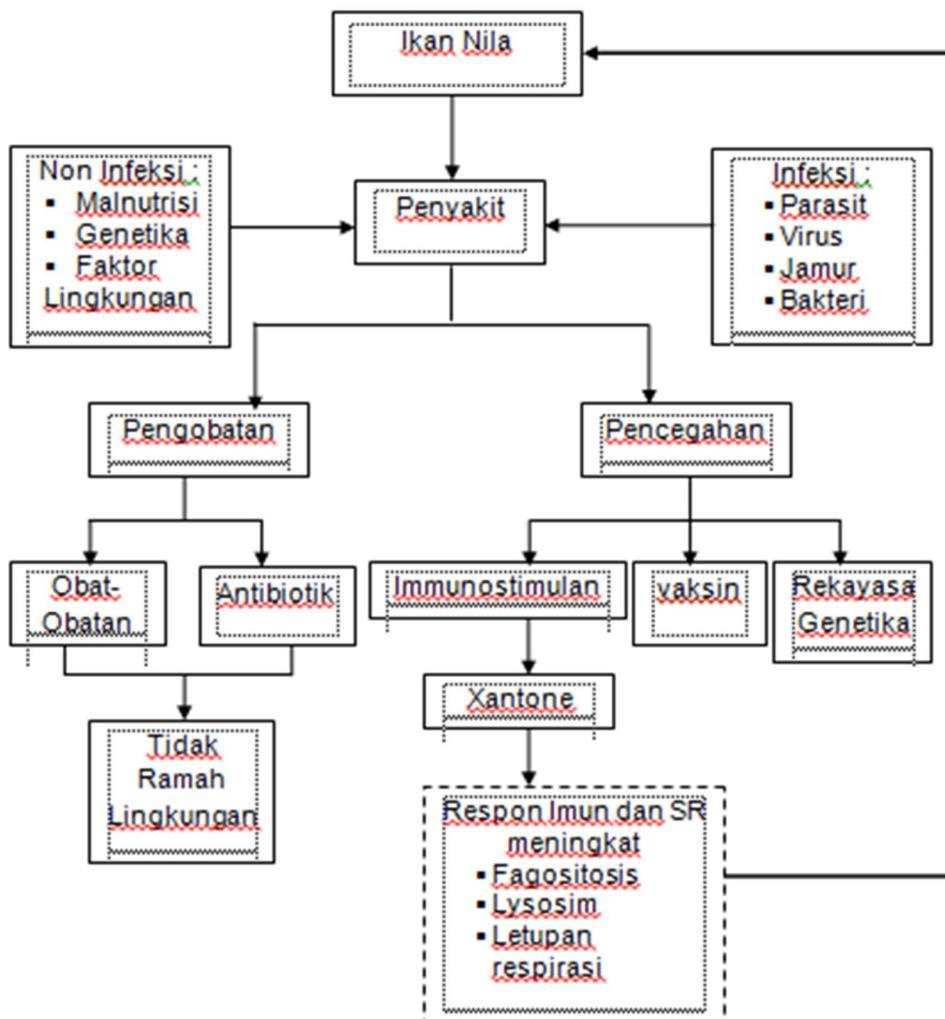
Respon imun pada ikan nila dengan pemberian Xanton dari ekstrak kulit manggis dapat meningkatkan Immunostimulan pada ikan nila sehingga dapat menunjang kelangsungan hidup.

### **F. Kerangka Pikir Penelitian**

Ikan nila terkenal sebagai ikan yang sangat tahan terhadap perubahan lingkungan hidup baik tawar maupun payau, tapi salah satu kendala pembenihan maupun budidaya adalah serangan dari beberapa penyakit yang menyebabkan gagal panen oleh sebab itu untuk

meningkatkan ketahanan tubuh maka ikan yang di budidaya diberi imunostimulan berupa ekstrak kulit buah manggis.

Penanganan penyakit ini dapat berupa pengobatan dengan menggunakan obat-obatan dan bahan kimia, selain itu juga dapat dilakukan dengan pemberian imunostimulan, vaksin, dan rekayasa genetik, tetapi dengan pemakaian obat-obatan dan antibiotik dapat menyebabkan resistensi bakteri dan berdampak negatif sehingga dapat merugikan karena tindakan tersebut tidak ramah lingkungan. Dengan meningkatkan imun berupa senyawa Xanton yang diekstrak dari kulit buah manggis diharapkan menjadi alternatif dalam pertahanan terhadap serangan penyakit khususnya bakteri *Aeromonas hydrophila*.



Gambar 1. Alur Pikir Penelitian

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Klasifikasi dan Morfologi Ikan Nila



Gambar 2. Morfologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Ikan nila mempunyai bentuk tubuh lebih pendek. Tubuhnya lebih tebal, warna tubuhnya hitam keputihan, kepalanya relatif kecil, sisik berukuran besar, kasar, tersusun rapi, matanya besar, menonjol dan bagian tepinya berwarna putih. Gurat sisi (*linea lateralis*) terputus dibagian tengah badannya, dagingnya cukup tebal dan tidak terdapat duri-duri halus di dalamnya (Gambar 2).

Ikan nila memiliki lima buah sirip, yakni sirip punggung (*dorsal fin*), sirip dada (*pectoral fin*), sirip perut (*ventral fin*), sirip anus (*anal fin*) dan sirip ekor (*caudal fin*). Sirip punggungnya memanjang dari bagian atas tutup insang hingga bagian atas sirip ekor, terdapat juga sepasang sisip dada dan sirip perut yang berukuran kecil. Sirip anusya hanya satu buah dan berbentuk agak panjang, sedangkan sirip ekornya berbentuk bulat dan

hanya berjumlah satu buah .Ikan nila merupakan jenis ikan konsumsi air tawar dengan bentuk tubuh memanjang dan pipih ke samping dan warna putih kehitaman.

Menurut Amri dan Khairuman (2003) secara taksonomi ikan nila diklasifikasikan sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Super kelas	: Pisces
Kelas	: Osteichtyes
Famili	: Chilchilidae
Ordo	: Percoidea
Genus	: Oreochromis
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>

## **B. Habitat dan Penyebaran Ikan Nila**

Ikan nila bersifat euryhaline sehingga habitat hidupnya sangat luas, meliputi perairan tawar, muara sungai dan payau, serta tahan terhadap perubahan kondisi lingkungan yang cukup ekstrim. Akan tetapi, pada fase benih masih rentan terhadap perubahan lingkungan yang drastis terutama adalah salinitas (Arie U, 2000). Secara langsung, salinitas air mempengaruhi tekanan osmotik cairan tubuh ikan. Apabila osmotik lingkungan (salinitas) berbeda jauh dengan tekanan osmotik cairan tubuh (kondisi tidak ideal) maka osmotik media/air akan menjadi

beban bagi ikan sehingga dibutuhkan tekanan yang osmotik besar untuk mempertahankan osmotik tubuhnya agar tetap berada pada keadaan yang ideal. Dengan demikian, semakin jauh perbedaan tekanan osmotik antara cairan tubuh dan lingkungan, semakin banyak energi metabolisme yang dibutuhkan untuk melakukan osmoregulasi sebagai upaya adaptasi.

### **C. Mekanisme Timbulnya Penyakit**

Rantetondok (2011) mengemukakan penyakit didefinisikan sebagai suatu keadaan patologi pada tubuh yang ditandai dengan adanya kondisi abnormal baik secara histologi maupun fisiologi. Selanjutnya Austin dan Austin (1999) mengemukakan terjadinya penyakit infeksi dalam sistem budidaya disebabkan oleh interaksi inang, patogen dan lingkungan atau stressor eksternal yaitu perubahan lingkungan yang tidak menguntungkan, tingkat higienik yang buruk dan stres.

Timbulnya penyakit berhubungan erat dengan keadaan lingkungan. Organisme penyebab penyakit seperti parasit, jamur, dan virus akan cepat menimbulkan penyakit, karena lingkungan yang kurang baik. Hal ini sejalan dengan pernyataan Tashlihan *dalam* Irianto (2005) bahwa penyakit timbul apabila keadaan lingkungan yang tidak stabil, misalnya salinitas yang tiba-tiba menurun secara drastis akibat turun hujan, temperatur terlalu tinggi, kadar oksigen terlalu rendah sehingga organisme air mengalami stres. Menurut Rantetondok (2011) penyakit dapat disebabkan oleh berbagai jenis penyebab penyakit seperti protozoa, bakteri, cendawan, dan virus. Ditambahkan oleh Rukyani (1993) penyakit

pada organisme diklasifikasikan menjadi dua bentuk, yaitu (1) Penyakit infeksi/parasit, apabila penyakit disebabkan oleh organisme seperti virus, jamur, protozoa dan cacing; (2) Penyakit non-infeksi/non-parasiter, apabila penyakit bukan disebabkan oleh organisme tetapi dapat disebabkan berupa parameter lingkungan, defisiensi nutrisi, keracunan dan faktor genetis.

Kemampuan organisme mempertahankan diri dari serangan penyakit tergantung pada kesehatan organisme dan kondisi lingkungan. Jika kesehatan organisme menurun atau kondisi lingkungan yang kurang mendukung, maka organisme akan mengalami stres. Hal ini akan menyebabkan kemampuan organisme mempertahankan diri dari serangan penyakit menurun sehingga patogen dengan mudah menyerang organisme. Selanjutnya Menurut Irianto (2005) stres adalah suatu keadaan saat suatu hewan tidak mampu mengatur kondisi fisiologis yang normal karena berbagai faktor merugikan yang mempengaruhi kondisi kesehatannya. Lebih jauh dijelaskan bahwa stres adalah sebagai pengaruh segala bentuk perubahan atau tantangan lingkungan yang mendorong homeostatik atau proses-proses penyeimbang lainnya melebihi batas kemampuan normal segala tingkatan organisasi biologis, seperti populasi, atau ekosistem. Stres akan mempengaruhi faktor perlindungan alami ikan seperti mukus, sisik, kulit, lisozim, antibodi, dan reaksi inflamasi

#### D. Immunostimulan

Imunostimulan adalah zat yang dapat menyebabkan peningkatan *Innate Immunity dan Adaptive Immunity* (Anderson dalam Malina, 2005). Sakai dalam Malina (2005) mengkaji penelitian status penggunaan imunostimulan pada ikan. Imunostimulan seperti glucan, citin, lactoferin, levamisol, serta faktor gizi seperti vitamin B dan C, hormon pertumbuhan dan prolactin merupakan imunostimulan yang dapat meningkatkan *innate immunity* seperti aktifitas sel fagositosis, aktivitas lisosim. Namun, beberapa imunostimulan tidak dapat digunakan karena berbagai kekurangan, seperti biaya tinggi, efektifitas terbatas dan lain-lain.

Imunostimulan adalah zat kimia, obat-obatan, stressor, atau aksi yang meningkatkan respon imun non-spesifik atau bawaan (*innate immune respon*) yang berinteraksi secara langsung dengan sel dari sistem yang mengaktifkan respon imun bawaan tersebut. Imunostimulan adalah zat-zat yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh terhadap infeksi penyakit, bukan meningkatkan respon imun spesifik (*acquired immune respon*), tetapi meningkatkan respon imun non-spesifik baik melalui mekanisme pertahanan humoral maupun pertahanan seluler (Sakai, 1999). Ikan telah diketahui lebih mengandalkan mekanisme sistem kekebalan non-spesifiknya atau bawaan (*innate immune sistem*) dari pada sistem kekebalan spesifiknya atau adaptif (Anderson, 1992)

Keuntungan imunostimulan dalam budidaya;

1. Efektif dan ramah lingkungan

2. Tidak ada efek samping
3. Mengembangkan ketahanan terhadap resiko berbagai penyakit
4. Tersedia secara lokal
5. Immunostimulan bertindak melalui mekanisme sebagai berikut:  
stimulator Limfosit- T, levamisol, adjuvant, glucan, murmyl dipeptida
6. Stimulator sel-B, lipopolysaccharides
7. Agen inflamasi menginduksi chematoxis-silia dan partikel carbon
8. Faktor Nutrisi-Vitamin C dan E
9. Cytokine leukotriene, interferon

Pada umumnya, immunostimulan meningkatkan aktifitas macrophage, melengkapi, fagosit, limfosit dan sel toxic non-spesifik, mengakibatkan perlawanan dan perlindungan terhadap berbagai penyakit.

Pengaruh senyawa  $\beta$ -glucan tergantung pada reseptor sel untuk mengikat sistem imun. Setelah mengikat reseptor sinyal intraseluler dapat terjadi yang mengakibatkan produksi enzim, melengkapi komponen, oksida radikal dan sitokin sebagai komponen dasar immunostimulan. Beberapa immunostimulan bisa merangsang sel-sel pertahanan untuk memproduksi antibody misalnya melengkapi komponen, memfasilitasi lisis bakteri sedangkan immunostimulan lain dapat menyebabkan peningkatan pemberantasan mikroorganisme tergantung pada reseptor yang terlibat.

Imunostimulan dapat digunakan sebagai terapi tambahan untuk penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus, membantu meringankan gejala penyakit infeksi, serta mempercepat proses penyembuhannya. Jika belum terkena penyakit, imunostimulan bisa dipakai sebagai tindakan preventif untuk mencegah penyakit, serta untuk meningkatkan daya tahan tubuh. Terapi tambahan disini berarti imunostimulan bukanlah merupakan obat utama untuk mengobati penyakit, tetapi hanya membantu proses pengobatan dan penyembuhan. Namun demikian, imunostimulan akan lebih bermanfaat pada kondisi dimana sistem kekebalan tubuh mengalami penurunan. Dan imunostimulan tidak dianjurkan bagi orang yang menderita penyakit dimana sistem kekebalan tubuhnya sendiri beraksi berlebihan (disebut penyakit *autoimun*), seperti *lupus*, *multipel sklerosis*, *rematoid arthritis*; atau juga pada pasien yang telah menjalani transplantasi organ tubuh dan mendapatkan obat untuk menekan reaksi penolakan tubuh terhadap organ transplant (Raa, 1996).

#### **E.. Buah Manggis (*Garcinia mangostana L*)**

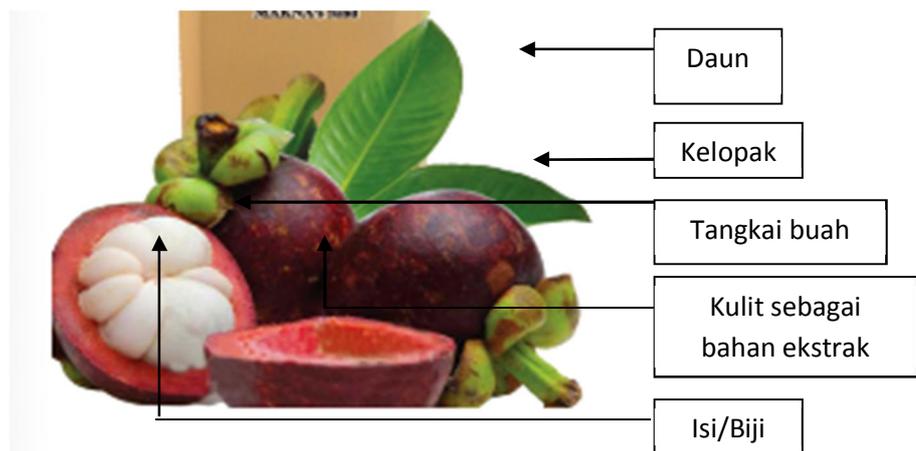
Taksonomi dari tumbuhan buah Manggis dapat dilihat pada sistematika di bawah ini :

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae  
Bangsa : Parietales  
Suku : Gutiferae  
Marga : *Garcinia*  
Spesies : *Garcinia mangostana* L (Anonim, 2005).

Secara jelasnya buah manggis dapat dilihat pada gambar 3



Gambar 3. Buah Manggis (*Garcinia mangostana*)

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan tanaman buah berupa pohon yang berasal dari hutan tropis yang teduh di kawasan Asia Tenggara yaitu hutan belantara Malaysia atau Indonesia. Di Indonesia manggis disebut dengan berbagai macam nama lokal, seperti manggu (Jawa Barat), manggus (Lampung), manggusto (Sulawesi Utara), manggista (Sumatera Barat).

*G. mangostana* adalah salah satu dari genus tumbuhan buah dalam famili Guttiferae dengan jumlah spesies yang banyak. Genus tumbuhan ini terkenal dengan nama kelompok manggis-manggisan,

tersebar di daerah dataran rendah hutan tropis Asia, Afrika, New Caledonia, dan Polynesia. Di Indonesia sekitar 91 spesies tersebar di pulau Sumatera, Jawa, Sulawesi, dan Maluku. Secara tradisional beberapa spesies dari genus ini telah digunakan untuk pengobatan.

Buah manggis (*G. mangostana L.*), termasuk dalam family Guttiferae dan merupakan species terbaik dari genus Garcia. Manggis termasuk buah eksotik karena memiliki warna yang menarik dan kandungan gizi yang tinggi, karena itu buah manggis memiliki prospek yang cukup baik untuk dikembangkan. Potensi manggis tidak hanya terbatas pada buahnya saja, tetapi juga hampir seluruh bagian tumbuhan manggis menyimpan potensi yang sangat bermanfaat bagi kehidupan manusia (Heyne, 1987).

Beberapa spesies dari genus ini telah diteliti secara berkesinambungan baik kandungan kimia maupun aktivitas biologinya. Pada genus *Garcinia* ini banyak ditemukan senyawa xanton, benzofenon, depsidon dan triterpen yang bersifat anti bakteri, antioksidan, dan antikanker (Uksamranr *dkk.*, 2006). Beberapa senyawa antioksidan yang ditemukan dari genus ini menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi, dibandingkan dengan senyawa antioksidan yang sudah dikenal.

Ekstrak manggis mempunyai efek anti mikroba terhadap *Propionibacterium acne*. *Alfa mangostin* juga mempunyai aktivitas anti bakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis*. Tanaman manggis yang

mengandung xanton telah terbukti dapat digunakan sebagai antioksidan, anti inflamasi, anti malaria, antiacne, dan anti mikroba (Melviani, 2010).

Kulit kayu, kulit buah, dan lateks kering *Garcinia mangostana* mengandung sejumlah zat warna kuning yang berasal dari dua metabolit yaitu *alfa mangostin* dan *β-mangostin* yang berhasil diisolasi. *Alfa mangostin* merupakan komponen utama sedangkan *β-mangostin* merupakan konstituen minor. Metabolit baru yaitu 1,3,6,7-tetrahidroksi-2,8-di(3-metil-2-butenil) santon yang diberi nama alfa mangostanin dari kulit buah *Garcinia mangostana* (Mardawati dkk, 2008).

*Alfa mangostin* adalah serbuk tak beraturan yang berwarna kuning, dengan titik lebur antara 180-181 °C, pada pengukuran dengan UV  $\lambda$  maksimum yang diperoleh adalah 215, 243, 317 nm, sedangkan pada IR diperoleh  $\lambda$  maksimum sebesar 3422, 2922, 1642, 1610 nm. *Alfa mangostin* larut dalam heksan (Suksamrarn dkk, 2003).

Buah manggis selain terkenal karena rasanya, ternyata mengandung banyak sekali nutrisi. Buah ini banyak mengandung serat dan karbohidrat, serta mengandung banyak sekali vitamin A, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> dan vitamin C dan berbagai mineral seperti zat besi, kalsium, dan kalium. Kandungan *stilbenes* pada buah manggis *Garcinia mangostana L* juga sangat bermanfaat sebagai anti fungi (Suksamrarn, 2006).

#### **F. Kandungan Kimia Buah Manggis Serta Manfaatnya**

Kandungan senyawa kimia hasil metabolit sekunder buah manggis adalah xanton, mangostin dan tanin (Heyne, 1987). Menurut

hasil penelitian, kulit buah manggis memiliki aktivitas HIV tipe I (Chen, 1966), antibakteri, antioksidan dan anti metastasis pada kanker usus (Tambunan, 1998). Tumbuhan ini menghasilkan berbagai macam senyawa aktif yang memberikan efek farmakologi. Umumnya, senyawa aktif tersebut tidak berperan penting dalam metabolisme tumbuhan, sehingga sering disebut sebagai metabolit sekunder (Stepp dan Moerman, 2001). Metabolit sekunder telah lama diketahui sebagai sumber terapi medis yang efektif dan penting, misalnya sebagai obat antibakteri dan anti-kanker (Sukamat dan Ersam. 2006). Senyawa ini secara terus menerus menjadi sumber utama berbagai obat berkhasiat penting (Harvey, 2000).

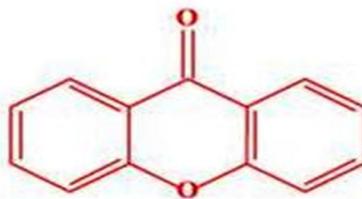
Kulit buah manggis merupakan bagian buah manggis yang membungkus daging buah dan kulit buah manggis mengandung air 62,05%, abu 1,0%, lemak 0,63%, protein 0,71%, total gula 1,17%, dan karbohidrat 35,61% (Llinuma *dkk.*, 1996). Sedangkan kandungan yang terdapat dalam daging buah manggis antara lain gula sakarosa, dekstrosa, dan levulosa. Rasio bagian buah yang dikonsumsi dengan bagian buah yang dibuang, dalam hal ini kulit buahnya yang mencapai 2/3 bagian buah atau 66,6% (Suksamranr, 2006). Oleh sebab itu diperlukan upaya untuk memanfaatkannya. Kendala dalam pemanfaatan kulit buah manggis adalah rasanya pahit. Rasa pahit pada kulit buah manggis tersebut ada kaitannya dengan kandungan tanin yang terdapat di dalam jaringan kulit buah manggis. Senyawa tannin merupakan asam tannat,

secara teoritis suatu senyawa yang bersifat asam basa dapat dinetralkan dengan larutan basa, yang akan membentuk garam tannat dan air.

Menurut Heyne (1987) kandungan senyawa kimia hasil metabolisme sekunder buah manggis adalah :

### 1. Xanton

Xanton merupakan derivat dari difenil- $\gamma$ -pyron, yang memiliki nama IUPAC 9H-xantin-9-on. Xanton terdistribusi luas pada tumbuhan tinggi, tumbuhan paku, jamur, dan tumbuhan lumut. Sebagian besar xanton ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi yang dapat diisolasi dari empat suku, yaitu *Guttiferae*, *Moraceae*, *Polygalaceae* dan *Gentianaceae* (Herlina dan Taslim, 2006). Xanton dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi sebagai anti bakteri, antifungi, antiinflamasi, antileukemia, antiagregasi platelet, selain itu xanton dapat menstimulasi sistem saraf pusat dan memiliki aktivitas antituberkulosis secara *in-vitro* pada bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Bruneton, 1999). Xanton jenis gentisin dan mangiferin memiliki aktivitas sebagai antitumor dan inhibitor monoamin oksidase (Robinson, 1995). Disamping itu juga xanton sebagai antimikrobakteri (Suksamran dkk, 2003), dan juga sebagai antiradikal bebas atau antioksidan (Lannang dkk, 2005).



Gambar 4. Struktur Senyawa Dasar Xanton (Uksamranr, 2006)

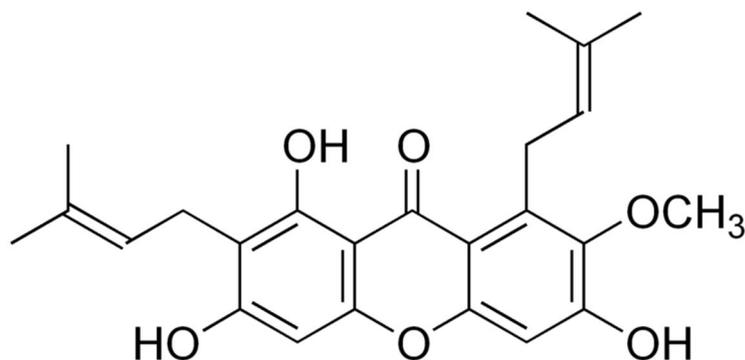
Xanton adalah senyawa polifenol dari senyawa keton siklik polifenol dengan rumus molekul  $C_{13}H_8O_2$ . Struktura dasar xantone terdiri atas tiga benzene dengan satu benzene yang terdapat ditengahnya berupa keton (Gambar 4). Khasiat Xanton dari kulit buah manggis merupakan substansi kimia alami yang tergolong senyawa polyphenolic. Senyawa Xanton dan derivatnya dapat diisolasi dari kulit buah manggis (pericarp) dan mengandung 3-isomangostin, alpha-mangostin, beta-mangostin, gamma-mangostin, garcinone A, garcinone B, C, dan D, maclurin, mangostenol, catechin, potassium, calcium, phosphor, besi, vitamin B1, B2, B6, dan vitamin C. Xanton sebagai antioksidan yang kuat, sangat dibutuhkan dalam tubuh sebagai penyeimbang prooxidant (reducing radicals, oxidizing radicals, carboncentered, sinar UV metal, dll). (Suksamrarn, 2006).

## **2. Mangostin**

Mangostin merupakan senyawa turunan dari xanton (Gambar 5) yang dihasilkan oleh buah manggis yang sangat berperan sebagai antioksidan. Senyawa ini dapat menghambat HIV-AIDS (Chen, 1966). Untuk menghambat separuh virus HIV membutuhkan 5,7  $\mu\text{g/mL}$  ekstrak *G. mangostana*. Semakin kecil dosis berarti semakin kuat ekstrak dalam menghambat virus.

Kulit buah manggis mengandung senyawa antioksidan tinggi yaitu alfa mangostin dan gammamangostin. Berkat antioksidan itu kekebalan tubuhpun meningkat. Antioksidan bereaksi dengan radikal bebas dengan

cara mengurangi konsentrasi oksigen, mencegah pembentukan singlet oksigen yang reaktif, mencegah inisiasi rantai pertama dengan menangkap radikal primer seperti radikal hidroksil, mengikat katalis ion logam, mendekomposisi produk-produk primer radikal bebas. Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron sel tersebut, dan mengakibatkan reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas baru (Putri, 2007).



Gambar 5. Struktur Senyawa Mongostin (Uksamranr, 2006)

Kandungan *alpha-mangostin* dan *gamma-mangostin* pada buah manggis juga bersifat sebagai anti bakteri. Alpha-mangostin juga diketahui mempunyai efektivitas yang sama baiknya dengan antibiotika yang berada di pasaran seperti ampicillin dan minocycline (Uksamranr, 2006).

### 3. Tanin

Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) dan dapat

membentuk kompleks dengan protein. Berdasarkan strukturnya, tanin dibedakan menjadi dua kelas yaitu taninterkondensasi (*condensed tannins*) dan tanin-terhidrolisiskan (*hydrolysable tannins*). Tanin-terhidrolisiskan merupakan derivat dari asam galat (1) yang teresterkan. Berdasarkan strukturnya, tanin ini dibedakan menjadi dua kelas yaitu, gallotanin dan ellagitanin. Perbedaan struktur keduanya adalah adanya ester asam galat (1) pada gallotanin dan ester asam heksahidroksidifenat (HHDP) (2) pada ellagitanin. Kedua ester asam tersebut berikatan dengan glukosa. Ellagitanin yang dihidrolisis akan menghasilkan asam elagat (3) (Harbone, 1996). Oksidasi perangkaian (*oxidative coupling*) pada gugus galoil (4) dari gallotanin akan menghasilkan ellagitanin. Seperti halnya dengan metabolit sekunder lainnya, sejauh ini ellagitanin diketahui tidak memiliki fungsi yang penting bagi metabolisme tumbuhan. Justru dalam hal fungsi morfologi dan ekologi, ellagitanin menunjukkan perannya. Lepas dari fungsi tersebut, ellagitanin diketahui memiliki nilai tersendiri bagi manusia, khususnya dalam dunia kesehatan (Moosophin dkk., 2010).

Aktivitas biologis dan farmakologi yang telah diketahui antara lain, penghambatan karsinogenesis, anti-tumor, antivirus, anti-oksidasi (peroksidasi lipida, lipoksigenase, oksidasi xanthin, dan oksidasi monoamin), anti hipertensi, anti bakteri dan jamur, anti diabetes. Tanin dapat menghambat pembentukan oksigen aktif yang dapat menyebabkan oksidasi. Baik gallotanin maupun ellagitanin, merupakan senyawa anti-oksidan yang cukup berpotensi (Moosophin dkk., 2010).

## **G. Respon Imun**

Menurut Yuwono (2008), Imun atau kekebalan merupakan sistem mekanisme pada organism yang melindungi tubuh dari pengaruh biologis luar dengan mengidentifikasi dan membunuh pahogen serta sel tumor. Sistem ini mendeteksi berbagai macam pengaruh biologis luar yang luas, organisme akan melindungi tubuh dari infeksi bakteri, virus sampai cacing parasit serta menghancurkan zat-zat asing dan memusnahkan dari sel organisme yang sehat dan jaringan agar tetap dapat berfungsi seperti biasa. Deteksi sistem ini sulit karena adaptasi pathogen dan memiliki cara baru agar dapat menginfeksi organisme.

Agen asing yang terdapat dalam imunitas dapat dikenali dan dapat memicu produksi molekul protein khusus secara umum disebut antibody. Anti bodi merupakan senjata utama respon humoral. Reseptor sel T yang akan mengenali agensia asing tersebut secara spesifik dan mengikatnya molekul yang dapat diikat oleh reseptor sel T yang disebut antigen (*antibody generating surface*).

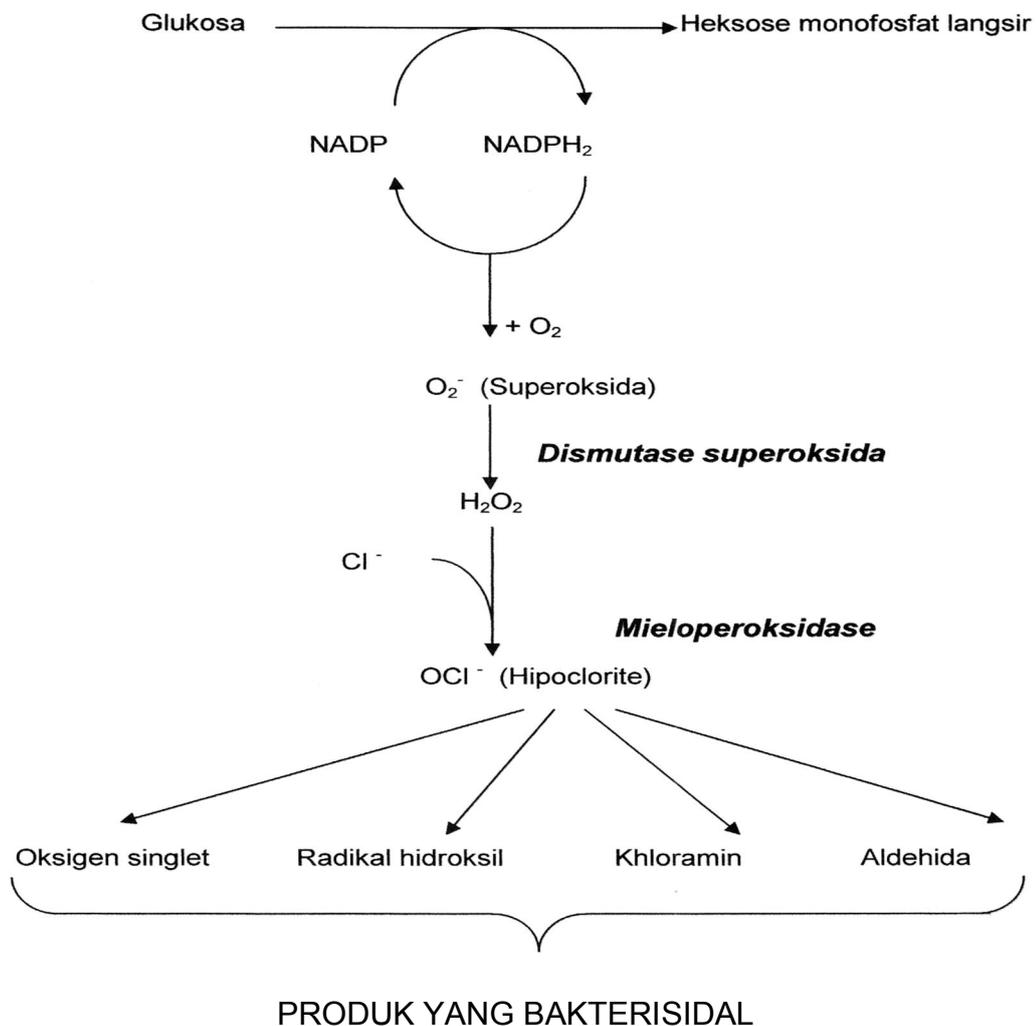
Salah satu yang berperan dalam sistem imun pada ikan yaitu sel darah, yang membawa oksigen, bahan makanan, produk eksresi melalui tubuh pada jaringan dan organ yang berbeda. Darah disirkulasi oleh aksi mekanis organ khusus yang disebut jantung. Darah terdiri dari sel-sel darah dan plasma darah yang berperan dalam sel darah putih. Sel darah putih dikenal dengan leukosit. Leukosit berbeda dengan sel lain di dalam tubuh karena leukosit tidak berasosiasi secara ketat dengan organ atau

jaringan tertentu. Melainkan bekerja secara independen seperti organism sel tunggal dan mampu bergerak secara bebas dan berinteraksi dan menangkap serpihan seluler, partikel asing atau mikroorganisme penyusup (Yuwono, 2008).

#### **H. Letupan respirasi (*Respiratory burst*)**

Bila partikel (mikroorganisme) ditelan oleh neutrofil terjadilah suatu rangkaian peristiwa biokimiawi yang meningkatkan penghancuran partikel dan pertama terjadi peningkatan glikolisis yang menyebabkan produksi sejumlah besar asam laktat dalam fagolisosim. Keadaan ini membantu menyediakan lingkungan yang optimal bagi aktivitas enzim proteolitik lisozom. Kedua adalah peningkatan dan “heksosa monofosfat langsir” yang tercerinin dari peningkatan nyata konsumsi zat asam di dalam sel. “letupan respirasi” ini mengakibatkan peningkatan pergantian nikotinamid adenine dinukleotida fosfat tereduksi (NADPH<sub>2</sub>) Pemutaran kembali NADPH<sub>2</sub> dengan perantaran enzim dismutase superoksida (SOD) dan mieloperoksidase menghasilkan pembentukan metabolit zat asam yang sangat reaktif. Termasuk di dalamnya hydrogen peroksida, superoksida anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), zat asam singlet (O), radikal hidroksil, kloramin dan aldehida yang bersifat toksik bagi mikroorganisme. Pentingnya letupan respirasi ini diperlihatkan oleh pengamatan bahwa hewan yang kekurangan dismutase superoksida atau mieloperoksidase menderita infeksi bakteri berulang (Tizard, *dalam* Rantetondok, 2002).

Untuk jelasnya letupan respirasi dapat dilihat pada Gambar 6 di bawah ini: .



Gambar 6. Lintas Letupan Respirasi pada Neutrofil., Katalase Melakukan Fungsi yang Sama Seperti mieloperoksidase di dalam *Macrophage* (Tizard, dalam Rantetondok, 2002).

## I. Aktivitas Lisozim

Lisozim merupakan respon imun non-spesifik yang sangat berperan dalam pertahanan tubuh ikan. lisozim adalah enzim yang memutuskan ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida antara asam-N-asetil glukosamin dengan asam-N-asetil muramat pada peptidoglikan sehingga dapat merusak dinding sel bakteri. Air kemudian dapat masuk ke dalam sel dan menyebabkan sel menggelembung dan akhirnya pecah, proses tersebut disebut dengan lisis (Gabriel, *et al.*, 2009). Lisozim dapat ditemukan pada sekresi hewan termasuk air mata, saliva, dan cairan tubuh yang lainnya sebagai mekanisme pertahanan tubuh terhadap infeksi bakteri.

Lisozim dapat membunuh bakteri apabila lingkungan tempat bakteri tersebut tidak berada dalam keadaan isotonis yaitu konsentrasi zat terlarut di dalam sel dan di luar sel (lingkungan) seimbang sehingga sekalipun dinding sel bakteri pecah, air tidak akan masuk ke dalam sel dan lisis tidak terjadi. Dalam hal ini, sel yang sudah kehilangan dinding sel tersebut dinamakan sebagai protoplas. Keadaan isotonis tersebut dapat dibuat dengan cara menambahkan zat terlarut seperti sukrosa pada lingkungan sel (biasanya berupa cairan seperti air). Sebaliknya, apabila sel berada dalam lingkungan yang hipotonis yaitu konsentrasi zat terlarut di dalam sel lebih tinggi daripada lingkungannya, air akan berdifusi masuk ke dalam sel dan menyebabkan sel pecah (lisis).