

ID 13705_Anis Zubaidah

By Jurnal Riset Akuakultur

RESPONS KEKEBALAN BAWAAN IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIBERI PAKAN DENGAN SUPLEMENTASI DAUN ALPUKAT (*Parsea americana* Mill)

ABSTRAK

Penyakit pada budidaya ikan nila merupakan permasalahan utama yang dapat menurunkan produksi dan menyebabkan kerugian. Selama ini upaya pengobatan dan pencegahan penyakit dilakukan dengan menggunakan antibiotik dan bahan kimia yang tidak ramah lingkungan, sehingga dapat meninggalkan residu pada daging ikan dan mencemari perairan. Oleh karena itu perlu alternatif penanggulangan penyakit dengan pemanfaatan bahan alami seperti daun alpukat yang mengandung senyawa saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, dan fenol yang dapat berfungsi sebagai imunostimulan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi respons kekebalan nonspesifik ikan nila yang diberi pakan dengan suplementasi daun alpukat. Metode yang digunakan adalah eksperimen dengan rancangan acak lengkap menggunakan empat perlakuan dan tiga ulangan. Dosis perlakuan yang digunakan adalah: perlakuan P1 (suplementasi daun alpukat 0,25%); perlakuan P2 (suplementasi daun alpukat 0,5%); perlakuan P3 (suplementasi daun alpukat 0,75%); dan perlakuan P0 (kontrol tanpa suplementasi daun alpukat). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ikan nila yang diberi pakan mengandung daun alpukat menunjukkan level hematokrit, leukokrit, dan aktivitas fagositosis yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan ikan yang diberi pakan kontrol. Hematokrit tertinggi diperoleh pada dosis 0,5%; sedangkan leukokrit tertinggi diperoleh pada dosis 0,75% dan aktivitas fagositosis terbaik diperoleh pada dosis 0,75% dengan nilai sebesar 33,69, 2,44, dan 72% secara berturut-turut. Suplementasi daun alpukat pada pakan tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan nila. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa daun alpukat memiliki potensi dalam meningkatkan sistem kekebalan bawaan ikan nila, khususnya pada hematokrit dan leukokrit serta aktivitas fagositosisnya.

KATA KUNCI: aktivitas fagositosis; diferensial leukosit; hematokrit; leukosit

ABSTRACT: *The Innate Immune Responses of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fed with Feed Supplementation of Avocado (*Parsea americana* Mill) Leaves*

Disease in tilapia farming is a major problem that can reduce production and inflict irrevocable economic losses. Conventionally, efforts to treat and prevent diseases are carried out using antibiotics and chemicals that are not environmentally friendly, leaving residues on the fish flesh and polluting the aquatic environment. Therefore, alternative disease preventions and cures are increasingly researched, focusing on natural ingredients such as avocado leaves, which contain saponins, tannins, flavonoids, alkaloids, and phenols that can function as immunostimulants. This study aimed to evaluate the nonspecific immune response of tilapia fed with feed supplemented with avocado leaves. The study used experimental units consisting of four treatments and three replications arranged in a completely randomized design. The treatment doses were: treatment P1 (0.25% avocado leaves supplementation); treatment P2 (0.5% avocado leaves supplementation); treatment P3 (0.75% avocado leaves supplementation); and treatment P0 (control without avocado leaves supplementation). The results showed that tilapia fed with feed containing avocado leaves showed levels of hematocrit, leukocrit, and phagocytic activity that were significantly different ($P < 0.05$) from the fish fed with the control feed. The highest hematocrit was obtained at the dose of 0.5%; while the highest leukocrit was obtained at the dose of 0.75% and the best phagocytic activity was

obtained at the dose of 0.75% with values of 33.69, 2.44, and 72%, respectively. Supplementation of avocado leaves in feed did not have a significant effect on the growth and survival of tilapia. Based on the results, This study concludes that avocado leaves have the potential to improve the innate immune system of tilapia, especially in hematocrit and leukocrit as well as phagocytic activity.

KEYWORDS: *differential leucocytes; haematocrit; leukocrit; phagocytosis activity*

PENDAHULUAN

Ikan nila merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang banyak dibudidayakan karena memiliki beberapa keunggulan seperti pertumbuhannya yang cepat, mampu beradaptasi pada berbagai kondisi lingkungan, cara budidayanya mudah, dagingnya tebal serta rasanya enak (Aziz & Barades, 2021). Peningkatan produksi ikan nila dapat dilakukan melalui sistem budidaya intensif. Akan tetapi budidaya intensif membawa dampak berupa meningkatnya serangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri dan menjadi ancaman kerugian dalam budidaya ikan nila.

Penggunaan antibiotik selama ini digunakan untuk mengatasi penyakit bakterial pada ikan nila, namun aplikasi antibiotik dapat meninggalkan residu pada tubuh ikan yang membahayakan konsumen dan mencemari lingkungan. Oleh karena itu, perlu alternatif penanggulangan penyakit bakterial pada ikan nila dengan pemanfaatan tumbuhan alami yang memiliki properti sebagai immunostimulan. Immunostimulan mampu meningkatkan dan mengaktifkan mekanisme pertahanan imun spesifik maupun nonspesifik ikan (Payung & Manopo, 2015).

Daun alpukat memiliki potensi sebagai immunostimulan dan mengandung senyawa antibakteri seperti saponin, tanin, dan flavonoid. Kandungan senyawa daun alpukat yaitu: saponin 1,29 mg per 100 g, tanin 0,68 mg per 100 g, flavonoid 8,11 mg per 100 g, alkaloid 0,51 mg per 100 g, dan fenol 3,41 mg per 100 g (Ernawati & Sari, 2015; Patala *et al.*, 2020). Penelitian Anggorowati *et al.* (2016) menunjukkan bahwa daun alpukat mempunyai efek menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Proteus* sp.,

Escherichea sp., dan *Bacillus* sp. pada pengujian *in vitro*. Sejauh ini penelitian mengenai pemanfaatan daun alpukat sebagai antibakteri dan imunostimulan dalam dunia perikanan belum banyak dilakukan. Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai respons kekebalan bawaan ikan nila dengan pakan yang disuplementasi daun alpukat dengan tujuan untuk mengevaluasi respons imun bawaan ikan nila serta mengetahui dosis daun alpukat yang memberikan respons imun bawaan terbaik pada ikan nila.

BAHAN DAN METODE

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan dan tiga kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah suplementasi daun alpukat pada pakan ikan nila sebagai berikut:

P0 (kontrol): perlakuan tanpa suplementasi daun alpukat

P1: perlakuan suplementasi daun alpukat dengan dosis 0,25% kg⁻¹ pakan

P2: perlakuan suplementasi daun alpukat dengan dosis 0,5% kg⁻¹ pakan

P3: perlakuan suplementasi daun alpukat dengan dosis 0,75% kg⁻¹ pakan

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-November 2023. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Perikanan, Fakultas Pertanian dan Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang.

Prosedur Penelitian

Persiapan Wadah dan Hewan Uji

Wadah yang digunakan pada penelitian ini adalah akuarium ukuran 40x30x30 cm³ sebanyak 12 buah dengan kapasitas 36 L. Akuarium dibersihkan dan dibilas sampai bersih kemudian dikeringkan selama 1 hari. Pengisian akuarium menggunakan air tawar yang berasal dari air sumur sebanyak 30 L. Ikan nila uji yang digunakan sebanyak 5 ekor per akuarium dengan ukuran 12-16 cm. Ikan diadaptasikan selama 7 hari agar dapat beradaptasi dengan lingkungan baru.

Pembuatan Bubuk Daun Alpukat

Pembuatan bubuk daun alpukat mengacu pada Sentat *et al.* (2017) dengan cara daun alpukat dikumpulkan, disortasi basah, dan dicuci dengan air bersih. Daun alpukat dikeringkan dengan cara digulung dan dilindungi dari sinar matahari langsung. Daun alpukat yang sudah kering dihaluskan menggunakan *blender* dan diayak menggunakan saringan ukuran 40 mesh hingga diperoleh tepung daun alpukat.

Pembuatan Pakan Uji

Pembuatan pakan uji dilakukan dengan cara menimbang tepung daun alpukat sesuai dosis yang telah ditentukan seperti pada Tabel 1. Pakan komersial yang mengandung protein 23-25% ditimbang sebanyak 1 kg untuk setiap perlakuan. Tepung daun alpukat dimasukkan dalam campuran 5 g tepung Progol sebagai perekat dan 150 mL air, kemudian diaduk rata dan disemprotkan pada pakan komersial sesuai perlakuan. Pakan uji selanjutnya dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari hingga kering dan disimpan di kulkas pada suhu 4°C sampai saat digunakan.

Tabel 1. Komposisi pakan dengan suplementasi daun alpukat
Table 1. Feed composition with supplementation of avocado leaves

Perlakuan <i>Treatments</i>	Bubuk daun alpukat (g) <i>Avocado leaves powder (g)</i>	Perekat (g) <i>Binder (g)</i>	Pakan komersial (g) <i>Commercial feed (g)</i>
PO (0%)	0 g	5 g	1000 g

P1(0,25%)	2,5 g	5 g	1000 g
P2 (0,5%)	5 g	5 g	1000 g
P3 (0,75%)	7,5 g	5 g	1000 g

Pemeliharaan Ikan Uji dan Pengambilan Sampel Darah

Perlakuan pemberian pakan uji pada ikan nila dilakukan selama 28 hari. Pakan diberikan dengan frekuensi dua kali sehari sebanyak 5% dari bobot ikan pada pagi dan sore hari, pukul 08.00 dan 16.00 WIB. Penyiponan akuarium dilakukan setiap hari untuk membersihkan kotoran dan feses. Pengukuran kualitas air berupa suhu dilakukan setiap hari selama pemeliharaan. Pengukuran pH dan oksigen terlarut atau *dissolved oxygen* (DO) dilakukan seminggu sekali selama penelitian. Pada awal dan akhir penelitian dilakukan pengukuran pertumbuhan dengan menimbang bobot dan panjang masing-masing individu ikan nila dari setiap wadah akuarium percobaan dengan cara *sampling* sebanyak tiga ekor ikan sampel pada setiap akuarium percobaan. Pengambilan sampel darah ikan dilakukan pada awal dan akhir penelitian dengan cara ikan uji dibius menggunakan minyak cengkeh dengan dosis 1 mL per 8 L air. Darah diambil dari *vena caudalis* dengan menggunakan spuit 1 mL yang telah dibasahi dengan EDTA (10%) sebagai antikoagulan. Sampel darah kemudian dimasukkan ke dalam tabung *epppendorf* untuk pengujian lebih lanjut.

Pengukuran Hematokrit dan Leukokrit

Pengukuran kadar hematokrit dan leukokrit dilakukan berdasarkan metode Hastuti *et al.* (2016) dengan cara sampel darah dimasukkan ke dalam tabung kapiler hematokrit sampai batas volume dan ditutup dengan Vitrex kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1.000 rpm selama 5 menit. Level hematokrit dapat dinyatakan dengan panjang sel darah merah di dalam tabung kapiler hematokrit dibagi dengan total panjang volume darah di dalam tabung dikalikan 100. Sementara level leukokrit dinyatakan dengan panjang sel darah putih di dalam tabung kapiler

hematokrit dibagi dengan total panjang volume darah di dalam tabung dikalikan 100.

Perhitungan kadar hematokrit dan leukokrit ditentukan dengan rumus 1 dan 2 sebagai berikut:

$$\text{Hematokrit} = \frac{\text{Panjang endapan sel darah dalam tabung}}{\text{Panjang total volume darah dalam tabung}} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{Leukokrit} = \frac{\text{Panjang endapan sel darah dalam tabung}}{\text{Panjang total volume darah dalam tabung}} \times 100 \dots\dots\dots(2)$$

Pengukuran Aktivitas Fagositosis

Pengukuran aktivitas fagositosis dilakukan berdasarkan metode Ode *et al.* (2023). Sampel darah sebanyak 50 µL dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* dan ditambahkan 50 µL suspensi bakteri *A. hydrophila* pada kepadatan (10^8 CFU mL⁻¹). Sampel dihomogenisasi dan diinkubasi pada suhu kamar selama 20 menit. Sampel diambil sebanyak 10 µL ditetaskan pada kaca preparat dan difiksasi dengan metanol selama 8 menit, kemudian direndam dalam pewarna Giemsa selama 3-4 menit. Selanjutnya kaca preparat dicuci pada air mengalir dan dikering-anginkan serta diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400X. Aktivitas fagositosis dapat dihitung dengan menggunakan rumus 3:

$$\text{Fagositosis} = \frac{\text{Jumlah sel fagosit yang memfagosit bakteri}}{100 \text{ sel fagosit yang diamati}} \times 100 \dots\dots\dots(3)$$

Perhitungan Tipe Leukosit

Perhitungan jenis leukosit dilakukan berdasarkan metode Maftuch (2018). Kaca objek direndam dalam metanol untuk menghilangkan lemak yang menempel. Sampel darah ditetaskan sebanyak 10 µL pada kaca objek kemudian dibuat ulasan darah dengan menggunakan kaca objek lainnya. Ulasan darah selanjutnya difiksasi dengan metanol selama 8 menit, kemudian diangin-anginkan. Preparat darah diwarnai dengan pewarna Giemsa selama 15 menit kemudian dicuci dan dibilas dengan air mengalir. Setelah itu dilakukan penghitungan jenis leukosit yang diamati dari 100 jumlah sel yang dihitung dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400X.

Pertumbuhan Bobot dan Panjang Absolut

Pengukuran bobot ikan uji dilakukan pada awal dan akhir penelitian. Rumus 4 digunakan untuk menghitung pertumbuhan bobot absolut adalah sebagai berikut:

$$W = W_t - W_o \dots\dots\dots (4)$$

Keterangan:

W = Pertumbuhan bobot absolut (g)

W_t = Berat akhir ikan (g)

W_o = Berat awal ikan (g)

Pengukuran panjang ikan uji dilakukan pada awal dan akhir penelitian. Rumus 5 digunakan untuk menghitung pertumbuhan panjang absolut adalah sebagai berikut:

$$L = L_t - L_o$$

Keterangan:

L: Pertumbuhan panjang absolut (cm)

L_t : Panjang akhir ikan (cm)

L_o : Panjang awal ikan (cm)

Tingkat Kelangsungan Hidup

Perhitungan tingkat kelangsungan hidup atau *survival rate* (SR) pada ikan uji dilakukan dari awal hingga akhir penelitian. Parameter SR dapat dihitung dengan rumus 6 sebagai berikut:

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100\% \dots\dots\dots (6)$$

Keterangan:

SR = Tingkat kelangsungan hidup (%)

N_t = Jumlah ikan pada akhir penelitian (ekor)

N_o = Jumlah ikan pada awal penelitian (ekor)

Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur pada penelitian ini meliputi suhu, pH, dan DO. Pengukuran kualitas suhu dilakukan setiap hari dengan menggunakan termometer. Pengukuran pH dan DO dilakukan seminggu sekali masing-masing dengan menggunakan pH *paper* dan DO *meter*.

Analisis Data

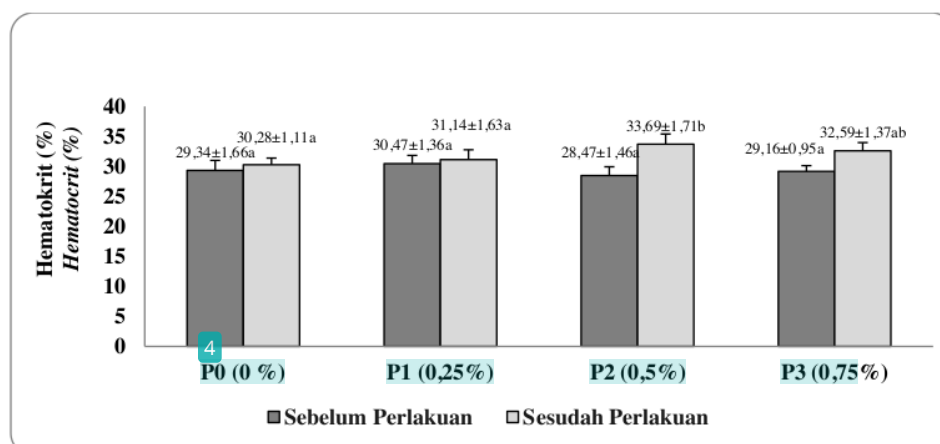
Data hasil penelitian terdiri atas kadar hematokrit (perbandingan jumlah sel darah merah dengan volume darah), leukokrit (persentase volume leukosit di dalam volume darah), aktivitas fagositosis, diferensiasi leukosit, pertumbuhan, kelangsungan hidup, dan kualitas air. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS 25 dengan *analysis of variance* (ANOVA). Jika hasil menunjukkan berbeda nyata atau berbeda sangat nyata, dilanjutkan dengan Uji Duncan untuk membandingkan nilai antar perlakuan.

Budidaya hewan uji yaitu ikan nila dalam studi ini dilakukan dengan mengikuti standar secara nasional yang berlaku, yaitu SNI pembesaran nila (SNI 7550.2009).

HASIL DAN BAHASAN

Hematokrit

Pengukuran level hematokrit pada darah ikan nila dilakukan sebelum dan sesudah ikan diberi perlakuan suplementasi bubuk daun alpukat dalam pakan. Hematokrit merupakan nilai perbandingan antara volume sel darah merah dan plasma darah yang digunakan sebagai indikator untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan (Hastuti *et al.*, 2016). Hasil pengukuran level hematokrit dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hematokrit darah ikan nila dengan penambahan tepung daun alpukat pada pakan. Huruf yang berbeda menyatakan perbedaan pengaruh antarperlakuan ($P < 0,05$)

Figure 1. Hematocrit levels in the blood of tilapia fed with feed-supplemented avocado leaves powder. Different letters indicate significant differences among treatments ($P < 0,05$)

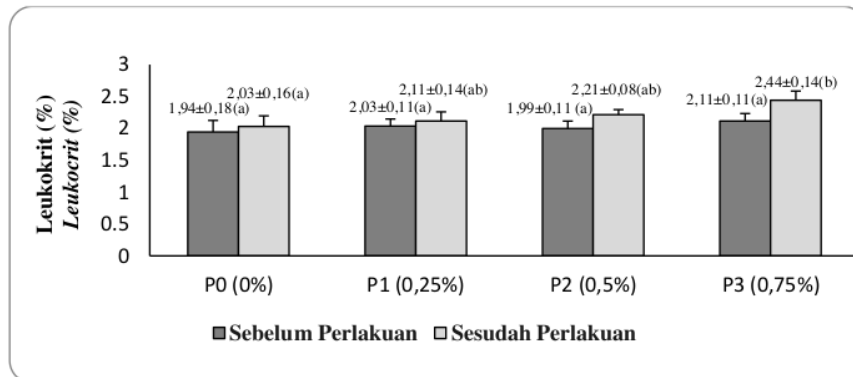
Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan suplementasi daun alpukat pada pakan ikan nila berpengaruh nyata terhadap kadar hematokrit darah dengan nilai hematokrit tertinggi terdapat pada perlakuan P2 dengan nilai sebesar 33,69%, sedangkan nilai terendah pada perlakuan P0 sebesar 30,28%. Berdasarkan hasil analisis uji *one-way* ANOVA diperoleh hasil bahwa suplementasi bubuk daun alpukat pada pakan memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar hematokrit ikan nila uji. Ikan yang diberi pakan tambahan bubuk daun alpukat mempunyai kadar hematokrit lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Kadar hematokrit pada seluruh perlakuan masih tergolong normal. Maftuch (2018) menyatakan bahwa kisaran normal hematokrit pada ikan nila adalah 20,49-38,76%. Sementara menurut Prasetio *et al.* (2017), ikan air tawar dikatakan sehat apabila kadar hematokritnya berkisar antara 22-60%. Selanjutnya dikatakan bahwa nilai hematokrit ikan di bawah 22% menunjukkan ikan mengalami anemia dan kemungkinan mengalami infeksi penyakit bakteri, kekurangan pakan, rendahnya kandungan protein pakan, dan kekurangan vitamin. Sebaliknya apabila nilai hematokrit ikan lebih besar dari 60% menandakan bahwa ikan dalam keadaan stres. Menurut Sani (2014), kadar hematokrit pada ikan bervariasi dipengaruhi oleh nutrisi, jenis kelamin, umur, ukuran tubuh, dan masa pemijahan. Osman *et al.* (2018) berpendapat bahwa nilai kadar hematokrit erat kaitannya dengan nilai kadar hemaglobin dan sel darah merah, semakin rendah jumlah eritrosit, maka semakin rendah pula kadar hematokrit dalam darah.

Peningkatan nilai hematokrit setelah suplementasi bubuk daun alpukat ke dalam pakan disebabkan karena daun alpukat mengandung senyawa seperti flavonoid dan tanin yang mampu mengaktifkan sel imun pada ikan. Ridwan *et al.* (2020) menyatakan bahwa flavonoid dapat meningkatkan kerja organ-organ penghasil darah sehingga produksi darah dapat ditingkatkan. Sementara Wahyono *et al.* (2023) melaporkan bahwa senyawa flavonoid, tanin, dan vitamin C dapat bekerja sebagai antioksidan dalam menetralisasi radikal bebas dan berperan dalam proses

perbaikan struktur sel darah. Selanjutnya dikatakan bahwa senyawa fitokimia tersebut dapat merangsang kinerja organ yang memproduksi darah seperti ginjal untuk meningkatkan produksi eritrosit dalam darah sehingga akan berdampak pada meningkatnya level hematokrit.

Leukokrit

Hasil pengukuran leukokrit pada ikan nila yang diberikan pakan dengan suplementasi daun alpukat dapat dilihat pada Gambar 2. Level leukokrit tertinggi didapatkan pada perlakuan P3 dengan nilai sebesar 2,44%, sedangkan kadar leukokrit terendah pada P0 sebesar 2,03%. Level leukokrit darah ikan nila pada penelitian ini masih dalam kisaran normal sesuai dengan laporan Riauaty & Syawal (2016) yang menyatakan bahwa level leukokrit pada ikan nila berkisar antara 1,78-3,10%. Berdasarkan hasil analisis uji *one-way* ANOVA diperoleh hasil bahwa pemberian pakan yang mengandung bubuk daun alpukat memberikan pengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap leukokrit darah ikan uji. Ikan yang diberi pakan dengan suplementasi bubuk daun alpukat memiliki leukokrit yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol.



Gambar 2. Leukokrit darah ikan nila dengan penambahan tepung daun alpukat pada pakan. Perbedaan huruf mengindikasikan perbedaan pengaruh antarperlakuan ($P<0,05$)

Figure 2. Leukocrit levels in the blood of tilapia fed with feed-supplemented avocado leaves powder. Different letters indicate significant differences among treatments ($P<0,05$)

Leukokrit merupakan persentase volume leukosit di dalam volume darah, sehingga peningkatan jumlah leukosit akan meningkatkan level leukokrit. Meningkatnya jumlah leukosit

merupakan salah satu parameter respons imun (Suseno ⁷ *et al.*, 2022). Leukosit merupakan salah satu komponen darah yang berfungsi sebagai pertahanan non-spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminasi patogen melalui proses fagositosis. Kadar leukosit dan leukokrit darah dapat bervariasi dipengaruhi oleh jenis ikan, suhu, dan musim serta adanya infeksi. Apabila ikan terinfeksi oleh suatu patogen tertentu maka akan terjadi peningkatan atau penurunan jumlah total leukosit (Riauwy & Syawal, 2016).

Menurut Prasetio *et al.* (2017), leukosit berfungsi dalam sistem imun ikan yang melindungi tubuh terhadap kuman-kuman penyakit yang menyerang tubuh dengan cara fagositosis dan menghasilkan antibodi. Sebagai tambahan Syawal *et al.* (2021) ² menyatakan bahwa peningkatan sel leukosit merupakan refleksi keberhasilan sistem imunitas ikan dalam mengembangkan respons imunitas seluler (kekebalan non-spesifik) yang memicu respons kekebalan. Kandungan flavonoid dalam daun alpukat dapat berfungsi sebagai imunomodulator ² yang dapat memengaruhi kualitas dan intensitas respons imun. Flavonoid dapat merangsang sistem imun dengan cara mengirimkan sinyal secara intraseluler pada reseptor sel sehingga kinerja sel lebih aktif. Mekanisme kerja flavonoid dalam memacu sistem imun adalah mempercepat aktivasi leukosit dan makrofag sehingga proses fagositosis terhadap benda asing dapat dilakukan dalam waktu yang cepat (Payung & Manoppo, 2015). Bahan aktif yang terkandung dalam daun alpukat seperti saponin, tanin, dan flavonoid memiliki peranan dalam meningkatkan sistem kekebalan ikan terhadap serangan penyakit. Saponin diketahui memiliki peranan sebagai antimikroba yang dapat meningkatkan kekebalan tubuh sehingga tahan terhadap infeksi penyakit dan dapat melancarkan sistem pencernaan. Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan yang dapat menjaga sistem imun tubuh. Sementara itu tanin memiliki sifat antiseptik sehingga memiliki efek yang baik pada saluran pencernaan (Veronica *et al.*, 2021).

Diferensial Leukosit

Leukosit terdiri atas limfosit, monosit, basofil, neutrofil, dan eosinofil yang merupakan komponen darah yang berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh (Prasetio *et al.*, 2017). Dalam penelitian ini, perhitungan diferensial leukosit dilakukan untuk mengetahui persentase limfosit, monosit, dan neutrofil darah ikan nila uji. Hasil perhitungan diferensial leukosit selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 2. Kadar limfosit darah ikan nila setelah perlakuan menunjukkan hasil tertinggi pada perlakuan P3 dengan nilai sebesar 74%, dan terendah pada P0 sebesar 65%. Berdasarkan hasil analisis uji *one-way* ANOVA diperoleh hasil bahwa suplementasi bubuk daun alpukat pada pakan memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap nilai limfosit. Nilai limfosit pada semua perlakuan masih berada pada kisaran normal yaitu antara 65-74%. Hal ini sesuai dengan pendapat Riauwaty & Syawal (2016) yang menyatakan bahwa persentase limfosit ikan nila normalnya berkisar antara 60-80%. Meningkatnya limfosit pada ikan uji dikarenakan tanaman alpukat mengandung senyawa aktif fitokimia yaitu flavonoid yang bersifat antioksidan yang dapat meningkatkan fungsi imun dengan mencegah terjadinya kerusakan sel dan memperkuat kapasitas sistem kekebalan melalui mekanisme kerja enzim dalam antioksidan. Selanjutnya dikatakan bahwa flavonoid yang terkandung dalam tanaman berperan dalam pengaturan sitokin seperti interleukin dan interferon yang berperan sebagai biokatalis dalam pembentukan sel darah putih sebagai bagian dari sistem kekebalan non-spesifik (Nhu *et al.*, 2022).

Tabel 2. Jumlah limfosit, monosit, dan neutrofil darah ikan nila yang diberi suplementasi tepung daun alpukat

Table 2. *Lymphocyte, monocyte, and neutrophile counts of tilapia fed with feed-supplemented avocado leaves powder*

Perlakuan Treatments	Sebelum treatment Before treatment			Setelah treatment After treatment		
	Limfosit (%)	Monosit	Neutrofil	Limfosit	Monosit	Neutrofil
	<i>Lymphocyte (%)</i>	<i>Monocyte (%)</i>	<i>Neutrophile (%)</i>	<i>Lymphocyte (%)</i>	<i>Monocyte (%)</i>	<i>Neutrophile (%)</i>
P0 (0%)	66 ± 2,51	12 ± 1,52	21 ± 2,08	65 ± 2,64 ^a	12 ± 2,08	22 ± 1,52
P1 (0,25%)	67 ± 1,00	13 ± 1,52	19 ± 1,52	66 ± 2,64 ^a	12 ± 0,57	21 ± 2,08
P2 (0,5%)	65 ± 3,60	14 ± 2,08	20 ± 1,52	70 ± 4,00 ^{ab}	11 ± 1,52	19 ± 2,51
P3 (0,75%)	68 ± 4,00	13 ± 2,51	18 ± 1,52	74 ± 2,30 ^b	10 ± 1,52	15 ± 1,52

Keterangan: P0 (pakan tanpa suplementasi daun alpukat); P1 (pakan dengan suplementasi daun alpukat 0,25% kg⁻¹ pakan); P2 (pakan dengan suplementasi tepung daun alpukat 0,5% kg⁻¹ pakan); dan P3 (pakan dengan suplementasi tepung daun alpukat 0,75% kg⁻¹ pakan). Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menyatakan perbedaan pengaruh antarperlakuan ($P < 0,05$).

Note: P0 (diet without avocado leaves); P1 (diet with avocado leaves supplementation at 0.25% kg⁻¹ feed); P2 (diet with 10 rado leaves supplementation at 0.5% kg⁻¹ feed); and P3 (diet with avocado leaves supplementation at 0.75 kg⁻¹ feed). Different superscripts in the same column indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$).

Limfosit merupakan jenis sel darah putih yang paling banyak ditemukan, sementara neutrofil dan monosit sedikit ditemukan. Limfosit memegang peran penting dalam sistem imun spesifik dan terdiri dari sel B dan sel T serta *natural killer* (NK) (Ode *et al.*, 2023). Harpeni *et al.* (2015) menyatakan bahwa mekanisme kerja limfosit dalam sistem imun adalah menyediakan zat imun sebagai pertahanan tubuh dengan cara mengenali antigen melalui reseptor spesifik pada membran sel. ¹Adanya sel reseptor spesifik memungkinkan sel T lebih cepat mengenali antigen yang ada sehingga langsung memberikan reaksi imun dan merangsang sel B untuk mengeluarkan antibodi. Imunostimulasi akan merangsang proses produksi lisozim dan komplemen yang akan mengaktifkan limfosit B untuk berdiferensiasi sehingga lebih aktif memproduksi antibodi spesifik. ¹Utami *et al.* (2013) mengatakan penurunan jumlah limfosit dalam darah terjadi karena sebagian besar limfosit ditarik dari sistem peredaran darah dan bersaing ke jaringan tempat terjadinya peradangan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan tepung daun alpukat pada pakan tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah monosit darah ikan uji ($P > 0,05$). Nilai monosit ikan nila dalam penelitian ini berkisar antara 10-12%, nilai tersebut dapat dikatakan normal walaupun agak rendah sesuai dengan pendapat Utami *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa nilai monosit ikan nila normal adalah sebesar 14,13%. Sementara itu Harpeni *et al.* (2015) berpendapat bahwa monosit banyak ditemukan pada area peradangan atau infeksi. Monosit akan meningkat jumlahnya jika terdapat infeksi bakteri (Utami *et al.*, 2013). Sebagai tambahan Riauaty & Syawal (2016), menyatakan bahwa monosit berfungsi memfagosit benda-benda asing termasuk agen penyakit dan memiliki kemampuan memfagosit lebih besar daripada neutrofil. Monosit berperan sebagai makrofag dalam memakan benda ¹asing yang masuk ke dalam tubuh serta memberikan informasi serangan penyakit pada leukosit. Makrofag menjalankan fungsi penting dalam kekebalan non-spesifik melalui proses fagositosis untuk mengeliminasi patogen dan

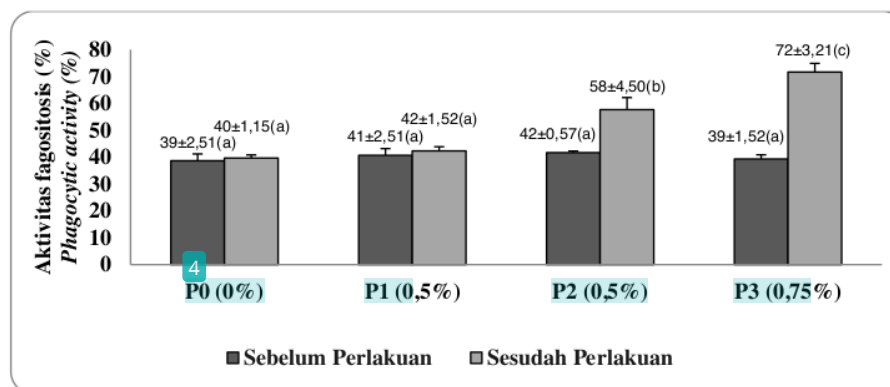
selanjutnya mensekresi berbagai sitokin seperti IL-4, IL-6, dan IL-12 untuk memfasilitasi produksi dan pematangan sel T. Han *et al.* (2022) melaporkan bahwa flavonoid dapat mengatur fungsi makrofag pada tikus secara *in vitro*.

Neutrofil merupakan bagian dari leukosit yang berperan dalam mekanisme pertahanan tubuh. Aktivitas neutrofil dalam menyerang antigen yang masuk ke dalam tubuh dilakukan melalui proses fagositosis (Utami *et al.*, 2013). Hasil penelitian menunjukkan bahwa neutrofil tertinggi ditemukan pada perlakuan P0 yaitu sebesar 22% dan terendah pada perlakuan P3 sebesar 15%. Nilai tersebut tergolong normal pada ikan nila sesuai dengan pendapat Utami *et al.* (2013) yang menyatakan nilai neutrofil ikan nila normal sebesar 22,73%. Neutrofil melindungi tubuh dari infeksi bakteri melalui sekresi enzim proteolitik dan lisozim untuk menghancurkan bakteri (Ode *et al.*, 2023). Hartika *et al.* (2014) mengatakan bahwa rendahnya nilai neutrofil menunjukkan tidak adanya serangan mikroorganisme sehingga neutrofil belum banyak diproduksi oleh tubuh ikan, sementara peningkatan jumlah neutrofil merupakan akibat dari mekanisme imun yang bekerja sebagai respons terhadap infeksi di dalam tubuh serta menunjukkan peningkatan aktivitas pengumpulan makrofag di tempat infeksi, sehingga makrofag akan lebih mudah menghancurkan partikel asing. Han *et al.* (2022) menyatakan bahwa flavonoid yang terkandung dalam tumbuhan mampu meningkatkan fungsi neutrofil.

Aktivitas Fagositosis

Aktivitas fagositosis merupakan reaksi pertahanan non-spesifik yang berperan dalam menghadapi serangan patogen. Hasil pengukuran aktivitas fagositosis ikan nila dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa aktivitas fagositosis tertinggi ditemukan pada perlakuan P3 dengan nilai sebesar 72%, disusul perlakuan P2 sebesar 58%, sedangkan nilai terendah pada perlakuan P1 sebesar 42%, dan P0 sebesar 40%. Berdasarkan hasil analisis uji *one-way* ANOVA diketahui bahwa suplementasi

bubuk daun alpukat dalam pakan memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap aktivitas fagositosis. Ikan yang diberi perlakuan suplementasi bubuk daun alpukat menunjukkan aktivitas fagositosis lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Nursida & Putri (2020) menyatakan bahwa aktivitas fagositosis merupakan suatu proses predasi benda asing yang masuk ke dalam tubuh yang terlihat dengan teknik pewarnaan bakteri yang disimpan dalam neutrofil. Sel yang mengalami proses fagositosis ditandai dengan adanya bakteri yang menempel pada permukaan sel fagosit atau terdapat pada sitoplasma sel fagosit. Utami *et al.* (2013) berpendapat bahwa aktivitas fagositosis merupakan pertahanan pertama respons seluler yang dilakukan oleh monosit (makrofag) dan granulosit (neutrofil). Limfosit yang teraktivasi akan berdiferensiasi dari sel kognitif yang mengenali antigen menjadi sel efektor yang berfungsi membuang antigen. Sel T-sitolitik yang terdiferensiasi memiliki lebih banyak butiran sitoplasma yang mengandung protein yang berfungsi untuk melisiskan sel target. Limfosit B berdiferensiasi menjadi sel plasma penghasil antibodi.



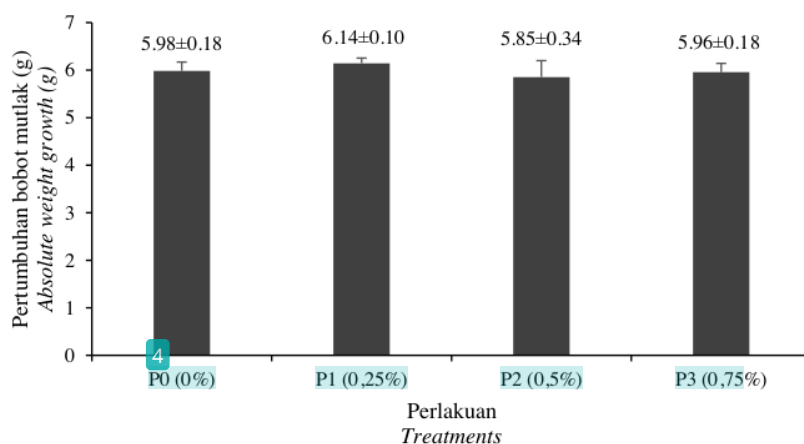
Gambar 3. Aktivitas fagositosis darah ikan nila dengan suplementasi tepung daun alpukat pada pakan. Huruf yang berbeda menyatakan perbedaan pengaruh antarperlakuan ($P < 0,05$)
 Figure 3. Phagocytic activity in the blood of tilapia fed with feed-supplemented avocado leaves powder. Different superscripts indicate significant differences among treatments ($P < 0,05$)

Menurut Wahyono *et al.* (2023), peningkatan aktivitas fagositosis mengindikasikan peningkatan jumlah leukosit. Kandungan antioksidan flavonoid dalam daun alpukat diduga dapat meningkatkan performa sistem imun termasuk aktivitas fagositosis ikan nila. Peningkatan

aktivitas fagositosis disebabkan karena flavonoid berperan dalam limfokin yang diproduksi oleh sel T dan akan menstimulasi sel fagosit untuk melakukan respons (Utami *et al.*, 2013). Antioksidan dari flavonoid dapat meningkatkan aktivitas fagositosis yang merupakan respons imun non-spesifik. Mekanisme antioksidan dari flavonoid dalam meningkatkan aktivitas fagositosis dengan cara menghambat pelepasan oksigen dan radikal bebas. Wahyono *et al.* (2023) menambahkan tanin juga merupakan senyawa fitokimia yang banyak terkandung dalam bahan pakan asal tumbuhan. Tanin dapat menstimulasi aktivitas fagositosis sel sebagaimana polifenol dan flavonoid. Tanin dan flavonoid bersifat merusak dinding sel bakteri dan memudahkan sel fagosit untuk melakukan fungsinya dalam memfagosit agen penyakit melalui mekanisme opsonin. Opsonin merupakan bahan yang berfungsi untuk meningkatkan aktivitas fagositosis.

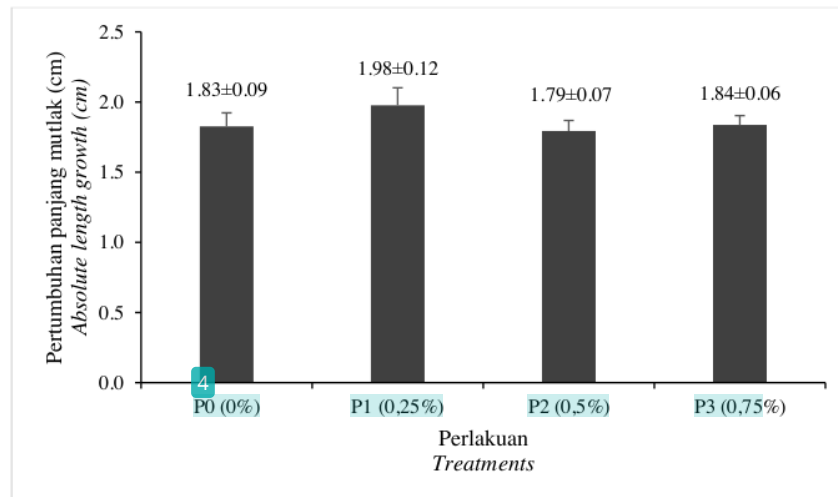
Pertumbuhan Bobot dan Panjang Mutlak

Pertumbuhan mutlak diperoleh dari hasil pengurangan bobot akhir ikan dengan bobot awal ikan. Pertumbuhan panjang mutlak adalah total panjang ikan di akhir penelitian dikurangi total panjang ikan di awal. Hasil pertumbuhan bobot dan panjang mutlak selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 4 dan 5.



Gambar 4. Pertumbuhan bobot absolut ikan nila dengan pakan yang disuplementasi tepung daun alpukat

Figure 4. Absolute weight growth of tilapia fed with feed-supplemented avocado leaves powder



Gambar 5. Pertumbuhan panjang mutlak ikan nila dengan pakan yang disuplementasi tepung daun alpukat

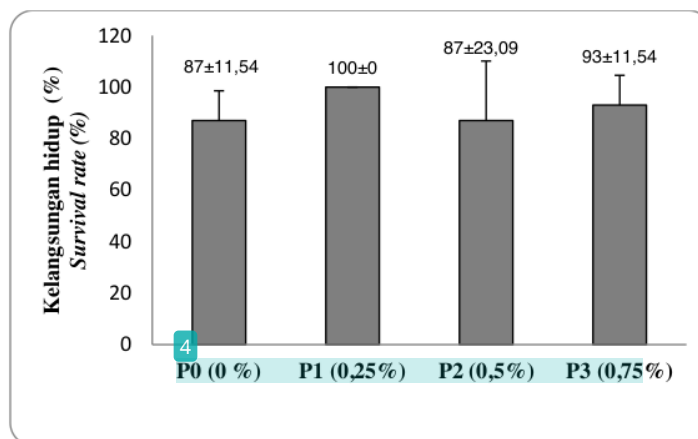
Figure 5. Absolute length growth of tilapia with diet-supplemented avocado leaves powder

Berdasarkan hasil analisis uji *one-way* ANOVA diperoleh hasil bahwa suplementasi bubuk daun alpukat pada pakan tidak memberikan pengaruh ($P>0,05$) terhadap pertumbuhan bobot dan panjang absolut ikan nila. Hal ini dikarenakan kandungan yang terdapat pada daun alpukat tidak mampu memenuhi kebutuhan protein dan nutrisi ikan. Anggraeni dan Abdulgani (2013) berpendapat bahwa pertumbuhan ikan erat kaitannya dengan ketersediaan protein dalam pakan. Protein digunakan sebagai sumber energi bagi ikan dan merupakan zat gizi yang dibutuhkan ikan untuk pertumbuhannya. Selain itu adanya kandungan bahan antinutrisi dalam tumbuhan yang ditambahkan dalam pakan ikan dapat mengganggu pertumbuhan ikan. Hal ini sebagaimana yang dilaporkan oleh Safrida *et al.* (2021) bahwa kandungan tanin dalam bahan pakan dapat menekan pertumbuhan hewan ternak disebabkan tanin yang dapat berikatan dengan protein dan menurunkan daya cerna protein. Nhu *et al.* 2022 menambahkan bahwa bahan pakan yang berasal dari tumbuhan selain mengandung nilai nutrisi tetapi juga mengandung bahan antinutrisi. Bahan antinutrisi tersebut di antaranya adalah senyawa

polifenol seperti flavonoid, senyawa fenolik seperti tanin, dan senyawa terpenoid seperti saponin. Keberadaan senyawa ini dapat menghambat aktivitas enzim pencernaan sehingga dapat menghambat pertumbuhan dan menurunkan *survival* ikan. Bahan antinutrisi dapat memengaruhi efisiensi pakan dan pencernaan ikan yang menyebabkan penurunan dalam mekanisme penyerapan nutrisi (Nhu *et al.*, 2022).

Kelangsungan Hidup

Menurut Iskandar dan Elrifadah (2015), *survival rate* (SR) adalah persentase ikan uji yang hidup pada akhir pemeliharaan dari jumlah ikan uji yang ditebar pada saat pemeliharaan dalam suatu wadah. Hasil SR selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Kelangsungan hidup ikan nila yang diberi pakan yang disuplementasi tepung daun alpukat

Figure 6. Survival rate of tilapia fed with a diet supplemented with avocado leaves powder

Berdasarkan hasil analisis uji *one-way* ANOVA diketahui bahwa suplementasi bubuk daun alpukat pada pakan tidak memberikan pengaruh ($P>0,05$) terhadap kelangsungan hidup. Hal ini menunjukkan kandungan racun pada bubuk daun alpukat tidak membahayakan tubuh ikan tetapi menghambat pertumbuhan ikan. Iskandar dan Elrifadah (2015) menyatakan bahwa kelangsungan hidup ikan nila sangat ditentukan oleh pakan dan kondisi lingkungan. Pemberian

pakan dengan kualitas dan kuantitas yang cukup serta kondisi lingkungan yang baik dapat menunjang kelangsungan hidup ikan nila.

Kualitas Air

Kualitas air merupakan faktor yang sangat penting dan berpengaruh dalam pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan. Kualitas air yang diukur dalam penelitian ini meliputi suhu, pH, dan DO. Hasil pengukuran kualitas air selama pemeliharaan masih berada pada kisaran normal bagi kehidupan ikan yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kualitas air media pemeliharaan ikan nila yang diberi suplementasi tepung daun alpukat

Table 3. Water quality of rearing media of tilapia feed with feed-supplemented avocado leaves powder

Perlakuan <i>Treatments</i>	Parameter kualitas air <i>Water quality parameters</i>		
	Suhu (°C) <i>Temperature (°C)</i>	pH	Oksigen terlarut (mg L ⁻¹) <i>Dissolved oxygen (mg L⁻¹)</i>
P0 (0%)	25-28	6-8	4,5-5
P1 (0,25%)	25-28	6-8	4,5-5
P2 (0,5%)	25-28	6-8	4,5-5
P3 (0,75%)	25-28	6-8	4,5-5
SNI 7550.2009 (Badan Standarisasi Nasional, 2009)	25-32	6,5-8,5	>3

Keterangan: P0 (pakan tanpa suplementasi daun alpukat); P1 (pakan dengan suplementasi daun alpukat 0,25% kg⁻¹ pakan); P2 (pakan dengan suplementasi tepung daun alpukat 0,5% kg⁻¹ pakan); dan P3 (pakan dengan suplementasi tepung daun alpukat 0,75% kg⁻¹ pakan).

Note: P0 (diet without avocado leaves); P1 (diet with avocado leaves supplementation at 0.25% kg⁻¹ feed); P2 (diet with avocado leaves supplementation at 0.5% kg⁻¹ feed); and P3 (diet with avocado leaves supplementation at 0.75 kg⁻¹ feed).

Parameter kualitas air dari hasil penelitian menunjukkan suhu berkisar antara 25-28°C, pH pada kisaran 6-8, dan DO 4,5-5 ppm. Kualitas air selama penelitian masih sesuai dengan SNI 7550:2009 yaitu oksigen terlarut optimal untuk pembesaran ikan nila adalah > 3 mg L⁻¹, suhu optimal dalam pembesaran ikan nila adalah sekitar 25-32°C, dan pH optimal untuk kegiatan pembesaran ikan nila adalah 6,5-8,5.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa suplementasi daun alpukat pada pakan memberikan pengaruh nyata terhadap kadar hematokrit, leukokrit, aktivitas fagositosis, dan keragaman leukosit. Kadar hematokrit terbaik terdapat pada perlakuan P2 (dosis 0,5% daun alpukat dalam pakan), kadar leukosit, aktivitas fagositosis, limfosit, monosit, dan neutrofil paling baik terdapat pada perlakuan P3 (dosis 0,75%). Daun alpukat memiliki potensi dalam meningkatkan kekebalan bawaan pada ikan nila. Untuk meningkatkan pertumbuhan disarankan agar daun alpukat dapat difermentasi terlebih dahulu untuk menurunkan zat antinutrisi yang terkandung di dalamnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Rektor Universitas Muhammadiyah Malang beserta stafnya. Ucapan terima kasih juga diberikan kepada Dekan Fakultas Pertanian Peternakan yang telah memberikan pendanaan dalam penelitian ini lewat skema *Block Grant* Fakultas.

10%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	media.neliti.com Internet	118 words — 2%
2	ojs.unud.ac.id Internet	75 words — 1%
3	www.ejournal.unmus.ac.id Internet	68 words — 1%
4	id.123dok.com Internet	67 words — 1%
5	repository.unmuhpnk.ac.id Internet	57 words — 1%
6	123dok.com Internet	37 words — 1%
7	repository.ub.ac.id Internet	36 words — 1%
8	ejournal.unsrat.ac.id Internet	34 words — 1%
9	journal.ipb.ac.id Internet	34 words — 1%
10	www.ejfa.me Internet	

34 words — 1%

EXCLUDE QUOTES	ON	EXCLUDE SOURCES	< 1%
EXCLUDE BIBLIOGRAPHY	ON	EXCLUDE MATCHES	< 10 WORDS