

Pengaruh ekstrak daun kayu manis *Cinnamomum burmanii* terhadap respon imun non spesifik ikan patin *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*

[Effect of cinnamon, *Cinnamomum burmanii*, leaves extract for non specific immune response in striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) infected by *Aeromonas hydrophila*]

Safratilofa^{1✉}, Dinamella Wahjuningrum², Dedi Jusadi², Mia Setiawati²

¹Program Studi Ilmu Akuakultur, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Budidaya Perairan, FPIK-IPB
Jl. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680

Diterima: 10 Desember 2014; Disetujui: 15 September 2015

Abstrak

Bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat menyebabkan penyakit *Motile Aeromonads Septicaemia* pada ikan patin. Penggunaan fitofarmaka dilakukan sebagai alternatif peningkatan respon imun non spesifik ikan patin. Salah satu bahan fitofarmaka yang dapat dimanfaatkan adalah tumbuhan kayu manis *Cinnamomum burmanii*. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi daun kayu manis dalam meningkatkan respon imun non spesifik ikan patin yang diinfeksi *A. hydrophila*. Daun kayu manis diberikan dalam bentuk ekstrak melalui pakan dengan dosis 0,5% dan 1% selama 14 hari. Uji tantangan dilakukan pada hari ke-15. Metode dalam penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan enam perlakuan dan masing-masing tiga ulangan. Perlakuan pencegahan 0,5% (A) dan 1% (B), perlakuan pengendalian 0,5% (C) dan 1% (D), serta kontrol negatif (K-) dan positif (K+). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan C merupakan hasil terbaik dalam meningkatkan respon imun non spesifik pada ikan patin pasca uji tantangan. Hal tersebut terlihat dari peningkatan aktifitas fagositik $77,59 \pm 2,50\%$ dan aktifitas ledakan respiratori $0,072 \pm 0,004$ ikan patin dan juga pada dosis ini tingkat kelangsungan hidup ikan mencapai 100% sementara pada kontrol positif tingkat kelangsungan hidup ikan hanya 63,33%.

Kata penting: *Aeromonas hydrophila*, *Cinnamomum burmanii*, fitofarmaka, *Pangasianodon hypophthalmus*, respon imun

Abstract

Aeromonas hydrophila causes *Motile Aeromonads Septicemia* disease in catfish. Phytopharmaka can be performed as an alternative to increasing the nonspecific immune response of catfish. One of the potentially phytopharmaka is cinnamon, *Cinnamomum burmanii*. This study was conducted to evaluate the potential of cinnamon leaves to increase the nonspecific immune responses of infected catfish by *A. hydrophila*. Cinnamon leaf extract was given through fish diet at doses 0.5% and 1% for fourteen days. The challenge test was performed on the day 15. The method used in this study was a completely randomized design with six treatments and three replications. The six treatments were the preventive treatment of 0.5% (A) and 1% (B), the controlling treatment of 0.5% (C) and 1% (D), negative control (K-) and positive control (K+). The results showed that the controlling treatment of 0.5% (C) was the best treatment with the phagocytic activity of blood cells of $77.59 \pm 2.50\%$ and respiratory burst activity of 0.072 ± 0.004 after challenge test. Moreover, the survival rate of fish was 100% in the C treatment, whereas in the positive control (K+) only 63.33%.

Keywords: *Pangasianodon hypophthalmus*, *Aeromonas hydrophila*, immune response, fitofarmaka, *Cinnamomum burmanii*

Pendahuluan

Ikan patin *Pangasianodon hypophthalmus* merupakan salah satu ikan ekonomis penting di Indonesia. Usaha budi daya ikan patin sering me-

ngalami permasalahan yaitu kegagalan produksi yang disebabkan oleh serangan penyakit. Penyakit ini dapat disebabkan oleh adanya infeksi patogen seperti bakteri, virus, parasit dan jamur. Salah satu penyakit yang sering menyerang usaha budi daya ikan patin adalah *Motile Aeromonas Septicaemia* (MAS) yang disebabkan oleh infeksi

✉ Penulis korespondensi
Alamat surel: osa.safrat@yahoo.com

bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penyakit MAS ini dikenal juga dengan penyakit bercak merah (Angka 2005), dan menyerang ikan budi daya yang dapat mengakibatkan kematian benih patin hingga 80% (Wartono *et al.* 2010). Sampai saat ini penggunaan antibiotik dalam mengatasi serangan *A. hydrophila* masih dilakukan. Namun, pemberian antibiotik secara berkelanjutan dapat mencemari lingkungan, timbulnya bakteri patogen yang resisten, dan residu antibiotik pada ikan hasil produksi (Seyfried *et al.* 2010 dan Romero *et al.* 2012). Meningkatkan sistem pertahanan non spesifik ikan adalah salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk melawan patogen agar dapat meningkatkan kelulushidupan ikan dalam rangka meningkatkan produktifitas.

Salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah dengan memberikan suatu bahan sumber alami (fitofarmaka) yang ramah lingkungan serta dapat meningkatkan respon imun non spesifik ikan terhadap infeksi patogen yang menyerang (Chakraborty & Hancz 2011). Hal tersebut juga didukung oleh kondisi alam Indonesia yang merupakan negara tropis sehingga memiliki berbagai macam tumbuhan yang berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai fitofarmaka. Kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai bahan fitofarmaka.

Kayu manis (*C. burmanii*) merupakan tumbuhan asli Indonesia yang banyak dijumpai di Sumatera Barat, Sumatera Utara, Jambi, dan Bengkulu. Daunnya kecil dan kaku dengan pucuk berwarna merah, kulitnya abu-abu dengan aroma khas serta rasanya manis dan pedas. Bagian dari pohon kayu manis yang telah dimanfaatkan yaitu kulit batang, daun, dan minyak atsiri. Kulit kayu manis memiliki zat aktif seperti flavonoid, saponin, tanin dan alkanoid (Azima *et al.* 2004). Minyak atsiri *C. burmanii* mengandung

sinamaldehyd dan eugenol (Inna *et al.* 2010). Hasil penelitian Shan *et al.* (2007) menunjukkan minyak atsiri kayu manis memiliki daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus aureus*. Begitu juga dengan daun kayu manis mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik hidrokuinon, saponin, dan tanin (Sufriadi 2006). Chang *et al.* (2001) menyatakan bahwa minyak daun kayu manis dengan dosis 250 µg mL⁻¹ efektif menghambat pertumbuhan bakteri.

Selama ini yang banyak diteliti adalah potensi minyak atsiri dari kulit batang kayu manis, sementara daun kayu manis sendiri belum banyak dikaji. Saat pohon kayu manis ditebang yang diambil hanya kulitnya, sementara daunnya dibuang dan tidak dimanfaatkan. Menurut Chang *et al.* (2001) dan beberapa penelitian lainnya yang masih berskala laboratorium, minyak daun kayu manis *Cinnamomum smaphloeum* dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Tujuan penelitian daun kayu manis ini adalah mengevaluasi potensi ekstrak daun kayu manis yang diberikan melalui pakan terhadap respon imun non spesifik ikan patin yang diinfeksi bakteri *A. Hydrophila*.

Bahan dan metode

Persiapan ikan uji dan bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* berasal dari koleksi Laboratorium Kesehatan Ikan, Departemen BDP FPIK IPB. Sebelum digunakan, bakteri tersebut diidentifikasi terlebih dahulu dengan media API 20 E. Hasil uji karakterisasi bakteri menunjukkan spesies bakteri adalah *A. hydrophila*

Persiapan ekstrak daun kayu manis *C. burmanii*

Sampel daun kayu manis *C. burmanii* diperoleh dari petani di kota Jambi. Daun kayu manis dikeringkan pada udara terbuka (kering udara) tanpa terkena cahaya matahari langsung untuk menghindari kerusakan bahan aktif yang

terdapat pada daun kayu manis. Pengeringan dilakukan sampai daun dapat dihaluskan dan diayak untuk mendapatkan serbuk daun kayu manis.

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini merujuk pada Prasad *et al.* (2009) dengan beberapa modifikasi. Serbuk daun kayu manis direndam dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10 (w/v). Serbuk daun kayu manis sebanyak 100 g direndam dalam 1000 mL etanol 96% dan dimaserasi selama 24 jam sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Hasil maserasi didiamkan hingga terbentuk dua lapisan suspensi bahan. Lapisan atas merupakan cairan hasil maserasi dan disaring menggunakan kertas saring $\pm 0,6$ mm sebagai filter pertama, sedangkan filter kedua menggunakan kertas saring Whatman no 125. Lapisan kedua merupakan endapan bubuk daun kayu manis yang kemudian ditambahkan kembali etanol 96% sebanyak 1000 mL dan dimaserasi selama 24 jam sambil diaduk. Setelah didiamkan dan mengendap, cairan maserasi kembali disaring dengan filter pertama dan filter kedua. Hal ini dilakukan berulang sampai cairan hasil maserasi menjadi bening. Cairan hasil maserasi kemudian dievaporasi. Rendemen hasil evaporasi tersebut kemudian dikeringkan dengan metode *freeze drying*. Hasil ekstraksi metode *freeze drying* dalam bentuk pasta kering sebanyak 12% kemudian disimpan dalam lemari pendingin sampai waktu akan digunakan.

Persiapan pakan

Pakan yang digunakan dalam penelitian adalah pakan komersial Hi-Provite 781-1 yang ditambahkan ekstrak daun kayu manis sebanyak 0,5%, 1% dan 0%. Penambahan ekstrak daun kayu manis ke dalam pakan dilakukan dengan metode *repelleting*. Dalam membuat 1 kg pakan

diperlukan putih telur sebanyak 20 mL sebagai perekat yang terlebih dahulu diaduk menggunakan *mixer*. Ekstrak daun kayu manis 10 g (1%) dan 5 g (0,5%), masing-masing dilarutkan dengan akuades sebanyak 20 mL, kemudian dicampurkan dengan putih telur dan diaduk hingga homogen. Campuran yang telah homogen ditambahkan pakan komersial dengan protein 28% yang sudah dihaluskan sebanyak 999 g (1%) dan 999,5 g (0,5%). Setelah campuran rata, bahan dapat dicetak kembali (*repelleting*) kemudian dikeringkan dengan *oven* pada suhu 35°C selama 24 jam. Pelet yang sudah kering kemudian disimpan dalam tempat yang kedap udara. Pada pakan kontrol dilakukan hal yang sama namun pakan kontrol tidak diberi penambahan ekstrak daun kayu manis.

Uji in vivo

Ikan diberi pakan uji sebanyak dua kali sehari yaitu pagi (07.00) dan sore (16.00) secara *at satiation*. Ada enam macam perlakuan yang diberikan yaitu perlakuan pencegahan dengan penambahan ekstrak daun kayu manis 0,5% (perlakuan A), pencegahan dengan penambahan ekstrak daun kayu manis 1% (B), pengendalian dengan penambahan ekstrak daun kayu manis 0,5% (C), pengendalian dengan penambahan ekstrak daun kayu manis 1% (D), kontrol negatif (K-), dan kontrol positif (K+). Pada perlakuan pencegahan ikan diberi pakan uji selama 14 hari, pada hari ke-15 dilakukan ujiantang, setelah ujiantang ikan diberi pakan komersial. Sementara pada perlakuan pengendalian ikan diberi pakan uji sebelum dan sesudah ujiantang. Pada kontrol negatif, pakan yang diberikan adalah pakan komersial dan saat ujiantang diinjeksi dengan *Phosphat Buffer Salin* (PBS), sedangkan pada kontrol positif ikan diberi pakan komersial dan diinjeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Masing-

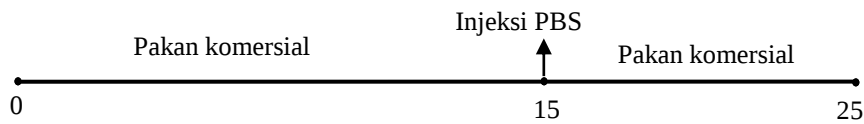
masing perlakuan dilakukan sebanyak tiga ulangan. Perlakuan selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 1.

Parameter uji

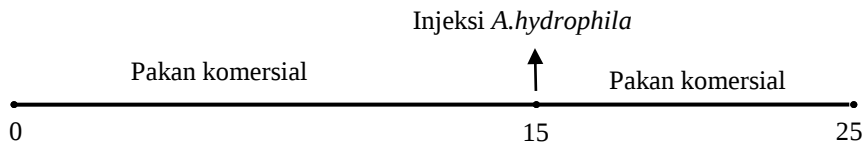
Kelangsungan hidup ikan uji diamati setiap hari pascauji tantang (hari ke-16) sampai akhir penelitian (hari ke-25). Pengamatan parameter darah dilakukan pada saat awal (hari ke-0)

dan akhir penelitian (hari ke-25), kemudian sehari sebelum uji tantang (hari ke-14), satu hari setelah uji tantang (hari ke-16) dan berikutnya setiap tiga hari sekali yaitu pada hari ke-18 dan ke-21. Adapun parameter darah yang diamati adalah total leukosit, aktifitas fagositik (Anderson & Siwicki 1993 dan Blaxhall & Daisley 1973) dan aktifitas ledakan respiratori (*respira-*

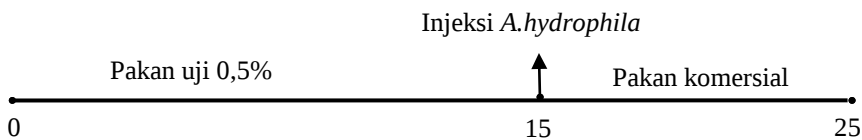
1. Kontrol (-)



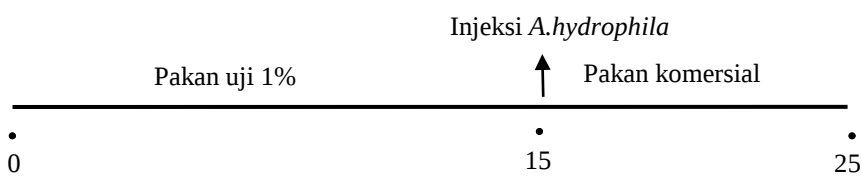
2. Kontrol (+)



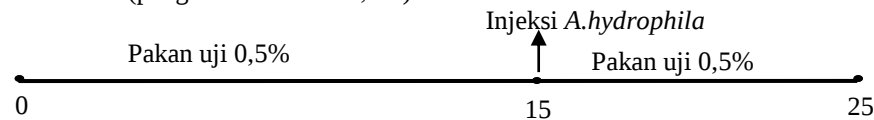
3. Perlakuan A (pencegahan dosis 0,5%)



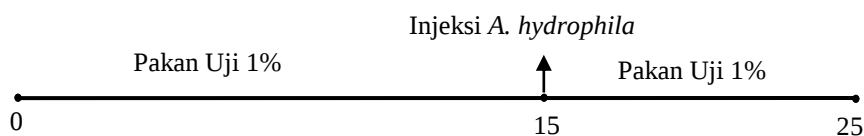
4. Perlakuan B (pencegahan dosis 1%)



5. Perlakuan C (pengendalian dosis 0,5%)



6. Perlakuan D (pengendalian dosis 1%)



Gambar 1. Skema pelaksanaan dan waktu penelitian

tory burst). Pengamatan aktifitas ledakan respiratori dari aktifitas fagositik dalam darah dilihat dengan pewarnaan nitrobluetetrazolim (*NBT-Assay*) mengacu pada metode Scomb (1990) yang telah dimodifikasi oleh Stasiack & Bauman (1996) in Singh *et al.* (2010). Pengambilan sampel darah ikan dilakukan melalui vena caudal. Sampel darah diambil 50 μ L diletakkan kedalam sumuran mikrotiter berbentuk “U”. Darah diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C hingga terjadi “adhesi” sel. Kemudian supernatan dibuang dan sumuran dicuci dengan PBS sebanyak tiga kali. Selanjutnya ditambahkan 50 μ L suspensi NBT dengan konsentrasi 0,2% dan diinkubasi selama 1 jam. Sel darah kemudian difiksasi dengan 50 μ L *metanol* 100% selama 2-3 menit kemudian supernatan dibuang dan dilakukan pencucian sebanyak tiga kali dengan methanol 30%. Sumuran dikeringanginkan, kemudian ditambahkan 60 μ L 2N *kalium hidroksida* dan 70 μ L *dimethyl sulphoxide*. Kemudian dilakukan pembacaan *Optical Density* (OD) dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 540 nm.

Analisis data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor. Data dianalisis menggunakan uji ANOVA pada selang kepercayaan 95% , jika terdapat perbedaan dilakukan uji lanjut Duncan dengan menggunakan program SPSS.16.

Hasil

Aktivitas fagositik

Hasil penghitungan aktivitas fagositik ditampilkan pada Gambar 2. Aktivitas fagositik ikan patin pada awal pemeliharaan adalah

54,76 $\pm$ 4,12%. Pascauji tantang, aktivitas fagositik meningkat pada semua perlakuan. Aktivitas fagositik tertinggi diperoleh pada perlakuan C yaitu sebesar 77,59 $\pm$ 2,50% yang berbeda nyata terhadap aktivitas fagositik ikan kontrol positif yaitu sebesar 60,26 $\pm$ 3,25%.

Total leukosit

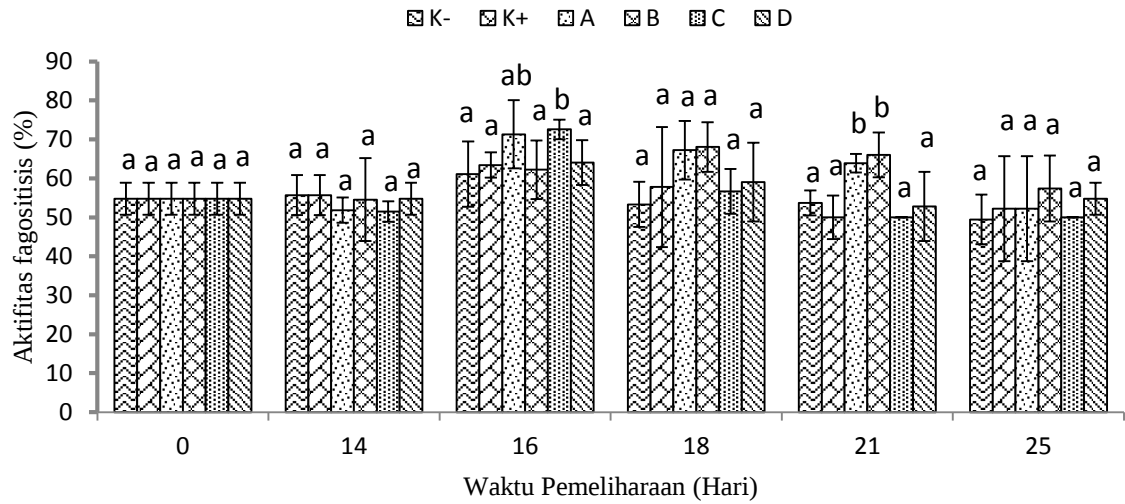
Hasil penghitungan total leukosit ditampilkan pada Gambar 3. Total leukosit ikan patin pada awal pemeliharaan adalah 1,03 $\pm$ 0,09 ($\times 10^6$ sel mL^{-1}). Pascauji tantang, total leukosit meningkat pada semua perlakuan. Total leukosit tertinggi diperoleh pada perlakuan C yaitu 1,68 $\pm$ 0,08 ($\times 10^6$ sel mL^{-1}) dan berbeda nyata terhadap kontrol positif.

Ledakan respiratori

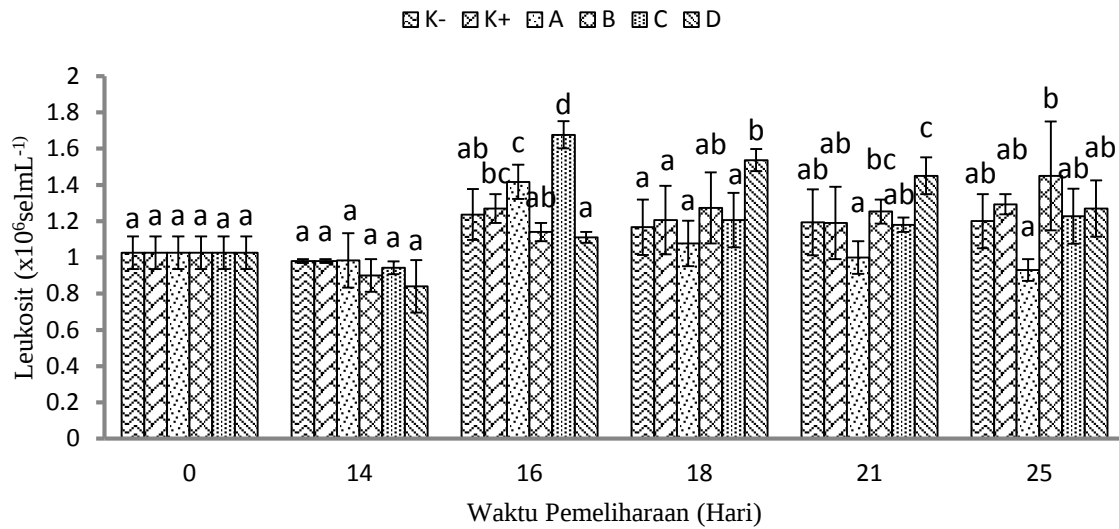
Hasil penghitungan nilai aktifitas ledakan respiratori (*NBT assay*) ditampilkan pada Gambar 4. Nilai NBT ikan patin pada awal pemeliharaan adalah 0,050 $\pm$ 0,003. Pascauji tantang, nilai NBT meningkat pada semua perlakuan. Nilai NBT tertinggi diperoleh pada perlakuan C yaitu sebesar 0,072 $\pm$ 0,004 yang berbeda nyata terhadap nilai NBT ikan kontrol positif.

Tingkat kelangsungan hidup ikan

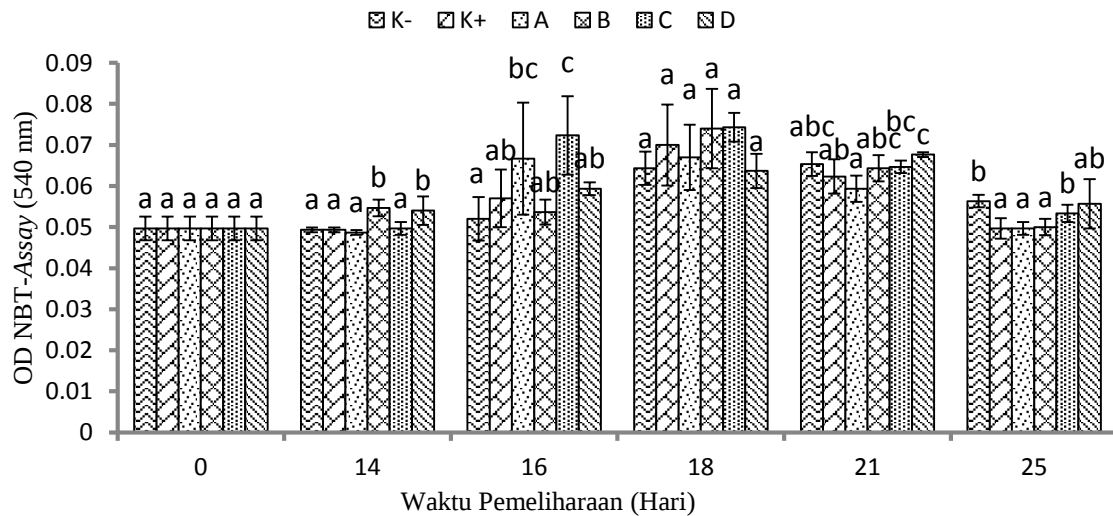
Tingkat kelangsungan hidup ikan setelah uji tantang dapat dilihat pada Gambar 5. Data kelangsungan hidup menunjukkan bahwa ekstrak daun kayu manis dapat meningkatkan pertahanan tubuh ikan patin. Tingkat kelangsungan hidup ikan tertinggi terdapat pada perlakuan C yaitu 100% yang berbeda nyata terhadap kontrol positif yaitu 63,33%.



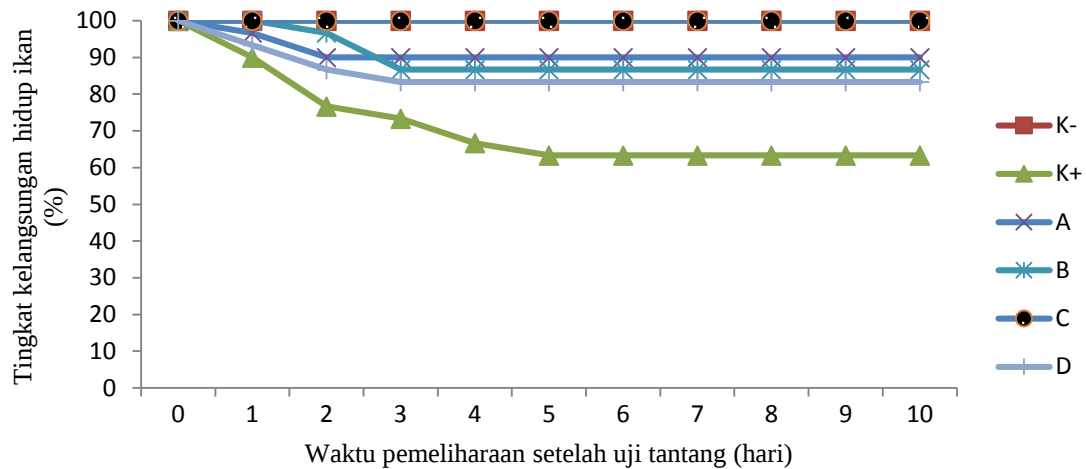
Gambar 2. Aktifitas fagositik ikan patin selama pemeliharaan dan pascauji tantang



Gambar 3. Total leukosit ikan patin selama pemeliharaan dan pascauji tantang



Gambar 4. Nilai Nitro Blue Tetrazolium (NBT-Assay) ikan patin selama pemeliharaan dan pascauji tantang



Gambar 5. Tingkat kelangsungan hidup ikan uji setelah uji tantang

Pembahasan

Penyakit ikan merupakan salah satu kendala dalam usaha budi daya. Secara ekonomis masalah penyakit dapat merugikan usaha budi daya karena dapat menurunkan produksi dan kualitas ikan, bahkan dapat menyebabkan kematian massal atau kegagalan produksi. Selama ini, masalah penyakit ikan banyak diatasi dengan menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik secara kontinu akan mengarah pada pengembangan resistensi patogen sehingga dapat mengurangi khasiat obat (Smith *et al.* 1994). Selain itu, resistensi antibiotik dapat ditransfer dari bakteri patogen ke manusia dan lingkungan, sehingga menimbulkan ancaman bagi kesehatan masyarakat (Cabello 2006). Fitofarmaka merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengurangi atau menghindari ketergantungan budi daya pada antibiotik dan meningkatkan sistem imun ikan terhadap infeksi patogen yang menyerang. Menurut Corbel (1975), ikan memiliki sistem pertahanan tubuh yang terdiri atas sistem pertahanan tubuh spesifik dan non spesifik. Sistem pertahanan tubuh non spesifik me-

rupakan garis pertahanan tubuh yang berfungsi untuk melawan semua jenis patogen yang masuk.

Aktivitas fagositik merupakan indikator utama peningkatan respon imun non spesifik. Aktivitas ini dianggap sebagai mekanisme pertahanan yang penting terhadap infeksi bakteri patogen (Nya & Austin 2009). Aktivitas fagositik yang diamati mengalami peningkatan pasca uji tantang untuk setiap perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun kayu manis dalam pakan dapat meningkatkan respons imun non spesifik ikan patin. Aktivitas fagositik tertinggi diperoleh pada perlakuan C yaitu perlakuan yang diberi pakan dengan penambahan ekstrak daun kayu manis 0,5% dengan nilai aktivitas fagositik sebesar $77,59 \pm 2,50$ % yang berbeda nyata terhadap aktivitas fagositik ikan kontrol positif. Peningkatan aktivitas fagositik sejalan dengan peningkatan total leukosit yang teramati. Mudjiutami *et al.* (2007) menyatakan bahwa peningkatan persentase aktivitas fagositik merupakan fungsi dari peningkatan persentase leukosit. Hasil penelitian Nugroho (2012) menyatakan bahwa flavonoid dari buah sirih dan

daun miyana yang dikombinasikan dengan madu dan kuning telur dapat meningkatkan aktivitas dan kapasitas fagositik sel makrofag pada mencit Swiss, di mana flavonoid bekerja terhadap limfokin yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositik. Hal yang sama terjadi pada penelitian ini di mana ekstrak daun kayu manis yang diberikan juga mengandung flavonoid. Ekstrak daun kayu manis pada penelitian ini selain mengandung flavonoid juga mengandung senyawa saponin, tanin, fenolik, alkanoid, steroid dan glikosida. Diduga senyawa-senyawa inilah yang memengaruhi kerja sistem imun non spesifik ikan patin.

Leukosit berfungsi sebagai salah satu garis pertama pertahanan tubuh dan jumlah leukosit meningkat tajam saat terjadi infeksi (Talpur & Ikhwanudin 2013). Setelah diberi perlakuan penambahan ekstrak daun kayu manis melalui pakan pada ikan patin selama 14 hari, total leukosit pada setiap perlakuan mengalami peningkatan pascauji tantang. Peningkatan yang diamati berbeda nyata untuk setiap perlakuan. Penambahan ekstrak daun kayu manis dosis 0,5% menunjukkan total leukosit tertinggi dari total leukosit ikan setiap perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun kayu manis dosis 0,5% dapat meningkatkan total leukosit ikan patin. Hasil penelitian Lukistyowati (2012) menyatakan bahwa peningkatan jumlah leukosit pada ikan patin *Pangasius hypophthalmus* yang diberi sambiloto, disebabkan sambiloto mengandung flavonoid yang dapat mengaktifkan sistem limfe sehingga dapat meningkatkan produksi sel darah putih ikan patin yang diinfeksi dengan bakteri *Edwardsiella tarda*. Hal yang sama juga terjadi pada penelitian ini di mana kandungan di dalam ekstrak daun kayu manis dapat mengaktifkan sistem limfe pada ikan patin

dengan meningkatkan produksi leukosit dalam melawan patogen yang masuk. Anderson (1993) menyatakan bahwa peningkatan leukosit menunjukkan ikan mengalami infeksi akibat serangan patogen yang diinjeksikan, sehingga leukosit yang merupakan sistem pertahanan non spesifik akan menfagosit dengan cara melokalisasi dan mengeliminasi patogen yang menyerang. Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa tumbuhan herbal dapat meningkatkan fungsi kekebalan tubuh dengan memengaruhi sel-sel darah (Sahu *et al.* 2007, Nya & Austin 2009, dan Talpur & Ikhwanuddin 2013).

Aktivitas ledakan respiratori dapat diukur dengan *nitro blue tetrazolium* (NBT) assay untuk mengetahui jumlah radikal intraseluler superoksida yang diproduksi oleh leukosit (Sahu *et al.* 2007). Produksi oksigen radikal bebas akan digunakan untuk melawan patogen yang masuk. Pascauji tantang, nilai NBT tertinggi diperoleh pada perlakuan C. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan C memberikan perlawanan yang paling baik terhadap patogen. Semakin tinggi kemampuan sel fagosit dalam aktifitas ledakan respiratori ditunjukkan dengan semakin tingginya nilai NBT (Sugiani *et al.* 2013). Hasil penelitian Ardo *et al.* (2008) menyatakan bahwa ikan nila yang diberi ekstrak *Astragalus membranaceus* dan *Lonicera japonica* melalui pakan baik diberikan tunggal atau kombinasi, dapat meningkatkan aktivitas fagositik dan aktivitas ledakan respiratori. Beberapa studi terdahulu telah melaporkan bahwa pemberian ekstrak tumbuhan melalui injeksi atau oral pada jenis ikan yang berbeda menunjukkan hasil yang baik pada parameter imun seperti peningkatan aktivitas lisozim, aktivitas fagositik, aktivitas komplemen, aktivitas ledakan respiratori dan peningkatan protein plasma (globulin dan albumin) (Yuan *et al.* 2007 dan Wu *et al.* 2010). Se-

jalan dengan penelitian tersebut maka penambahan ekstrak kayu manis juga dapat meningkatkan aktivitas ledakan respiratori ikan patin.

Perlakuan C lebih cepat kembali pada kondisi pemulihan dibanding perlakuan lain. Hal ini juga dilihat dari hasil penelitian di mana parameter gambaran darah yang diamati mengalami peningkatan dan penurunan nilai menuju kondisi normal atau sehat selama 3-10 hari pengamatan pascauji tantang dan nilai parameter yang relatif sama dengan kontrol perlakuan. Aktivitas fagositik mulai menurun pada hari ke-3 pascauji tantang yang diikuti dengan penurunan total leukosit pada setiap perlakuan dan tidak berbeda nyata terhadap kontrol negatif. Nilai NBT semakin menurun sejalan dengan peningkatan kesehatan ikan patin melalui peningkatan respon imun pada hari ke-3 sampai hari ke-10 pascauji tantang.

Penambahan ekstrak daun kayu manis dalam pakan sebanyak 0,5% memberikan hasil terbaik hampir pada semua parameter gambaran darah, mengindikasikan bahwa dosis ini adalah dosis yang optimum dalam meningkatkan respon imun non spesifik ikan patin. Hal ini sejalan dengan tingkat kelangsungan hidup ikan di mana pada penambahan ekstrak daun kayu manis dosis 0,5%, tingkat kelangsungan hidup ikan patin mencapai 100% sementara pada kontrol positif tingkat kelangsungan hidup ikan patin hanya 63,33%. Rattanachaikunsopon & Pumkhachorn (2010) melaporkan bahwa tidak ada kematian (tingkat kelangsungan hidup 100%) pada ikan nila *Oreochromis niloticus* yang diinfeksi *Streptococcus iniae* yang diberi pakan dengan penambahan minyak kayu manis sebanyak 0,3% dibandingkan dengan tanpa penambahan minyak kayu manis di mana terjadi kematian sebanyak 50% (kelangsungan hidup 50%).

Pada perlakuan B dan D yaitu perlakuan yang diberi pakan dengan penambahan ekstrak daun kayu manis 1% sudah melebihi kebutuhan ikan sehingga tidak memberikan pengaruh pada sistem imun bahkan bersifat toksik bagi ikan patin. Hasil penelitian Syawal *et al.* (2008) menyatakan bahwa tingginya dosis ekstrak siwak *Salvadora persica* L. yang diberikan pada ikan mas *C. carpio* menyebabkan ikan tidak mampu beradaptasi dan menjadi stres, dengan demikian daya tahan tubuhnya dapat menurun. Lebih lanjut menurut El-Mostehy *et al.* (1998) in Syawal *et al.* (2008), siwak mengandung tanin dan saponin yang dalam konsentrasi tinggi dapat menjadi toksik. Kandungan senyawa kimiawi yang sama juga terkandung dalam ekstrak daun kayu manis pada penelitian ini yaitu tanin dan saponin, di mana dosis pada perlakuan B dan D berada dalam konsentrasi tinggi sehingga bersifat toksik. Efek produk tumbuhan pada ikan bergantung kepada dosis yang diberikan dan adanya kemungkinan potensi untuk overdosis, sehingga penentuan konsentrasi ekstrak perlu dipastikan (Harikrishnan *et al.* 2011). Reverter *et al.* (2014) menyatakan bahwa sifat menguntungkan dan kemanjuran produk tumbuhan herbal pada kesehatan ikan budi daya bergantung kepada bagian tumbuhan, metode ekstraksi, dan konsentrasi ekstrak.

Kesimpulan

Penambahan ekstrak daun kayu manis 0,5% dalam pakan yang diberikan selama 14 belas hari dan dilanjutkan pemberiannya setelah uji tantang dapat meningkatkan respon imun non spesifik pascauji tantang yaitu aktifitas fagositik dan ledakan respiratori ikan patin. Pada dosis 0,5% tingkat kelangsungan hidup ikan mencapai 100%.

Daftar pustaka

- Anderson DP, Siwicki AK. 1993. Basic haematology and serology for fish health programs. *Prosiding Second Symposium on Diseases in Asia Aquaculture "aquatic animal health and the environmental"*. Phuket Thailand. pp. 185-202
- Angka SL. 2005. Kajian penyakit motile *Aeromonas septicaemia* pada ikan lele dumbo *Clarias* sp. : Patologi dan pencegahannya dengan bahan nabati. Disertasi. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Ardo L, Yin G, Xu P, Varadi L, Szigeti G, Jeney Z, Jeney G. 2008. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 275(1-4): 26–33.
- Azima F, Muchtadi D, Zakaria FR, Priosoeryanto. 2004. Potensi anti-hiperkolesterolemia ekstrak cassia vera (*Cinnamomum burmanni* Nees et Blume). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 15(2): 145-153
- Blaxhall PC, Daisley KW. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal Fish Biology*, 5(6): 577-581
- Cabello FC. 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology*, 8(7): 1137–1144.
- Chakraborty SB, Hancz C. 2011. Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture. *Reviews in Aquaculture*, 3(3): 103–119.
- Chang ST, Chen PF, Chang SC. 2001. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum smophloeum*. *Jurnal of Ethnopharmacology*, 77(1): 123–127
- Corbel M J. 1975. The immune response in fish: A review. *Journal of Fish Biology*, 7 (4): 539-563.
- Syawal H, Syafriadiman, Hidayah S. 2008. Pemberian ekstrak kayu siwak (*Salvadora persica* L.) untuk meningkatkan kekebalan ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) yang dipelihara dalam keramba. *Biodiversitas*, 9(1): 44-47
- Harikrishnan R, Balasundaram C, Heo MS. 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317(1-4): 1–15
- Inna M, Atmania N, Prismasari S. 2010. Potential use of *Cinnamomum burmanni* essential oil-based chewing gum as oral antibiofilm agent. *Journal of Dentistry Indonesia*, 17(3): 80-86
- Lukistyowati I. 2012. Studi efektifitas sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) untuk mencegah penyakit *Edwardsiellosis* pada ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*). *Berkala Perikanan Terubuk*, 40(2): 56-74
- Mudjiutami E, Ciptoroso, Zainun Z, Sumajo, Rahmat. 2007. Pemanfaatan imunostimulan untuk pengendalian penyakit pada ikan mas. *Jurnal Budidaya Air Tawar*, 4(1): 1-9
- Nugroho YA. 2012. Efek pemberian kombinasi buah sirih (*Piper betle* L), daun miyana *Plectranthus scutellarioides* (L.), madu dan kuning telur terhadap peningkatan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag. *Media Litbang Kesehatan*, 22 (1): 1-5
- Nya EJ, Austin B. 2009. Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 32(11): 963–970
- Prasad KN, Dong BYX, Jiang G, Zhang H, Xie H, Jiang Y. 2009. Flavonoid contents and antioxidant activities from *Cinnamomum* species. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(4): 627–632
- Rattanachakunsopon P, Phumkhachorn P. 2010. Potential of cinamon (*Cinamomum verum*) oil to control *Streptococcus iniae* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Japan Fisheries Science*, 76 (2): 287-293
- Reverter M, Bontemps N, Lecchini D, Banaigs B, Sasal P. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433: 50–61
- Romero J, Feijoó CG, Navarrete P. 2012. Antibiotics in aquaculture - use, abuse and alternatives. In: Carvalho ED, David GS, Silva RJ (Eds.). *Health and Environment in Aquaculture*. InTech, Rijeka, Croatia 159-198
- Sahu S, Das BK, Mishra BK, Pradhan J, Sarangi N. 2007. Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita*

- infected with *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Applied Ichthyology*, 23(1): 80–86
- Seyfried EE, Newton RJ, Rubert KF, Pedersen JA, McMahon KD. 2010. Occurrence of *tetracycline* resistance genes in aquaculture. Facilities with varying use of *oxytetracycline*. *Microbial Ecology*, 59 (4): 799–807
- Shan B, Cai YZ, Brooks JD, Corke H. 2007. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extract. *Food Microbiology*, 17(1): 112–9.
- Smith P, Hiney MP, Samuelesen OB. 1994. Bacterial resistance to antimicrobial agent used in fish farming: a critical evaluation of method and meaning. *Annual Review OF Fish Diseases* 4: 273–313
- Singh SK, Tiwari VK, Chadha NK, Prakash C, Sukham M, Das P, Mandal SC, Chenu TI. 2010. Effect of *Bacillus curculas* and fructooligosaccharide supplementation on growth and haemo-immunological function of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) fingerlings exposed to sub-lethal nitrite stress. *The Israeli Journal of Aquaculture*, 64: 1–11
- Sufriadi A. 2006. Manfaat daun kayu manis (*Cinnamomum burmanni*) terhadap khasiat antioksidasi mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff. Boerl) selama penyimpanan. *Skripsi*. Program Studi Biokimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. 33 hlm.
- Sugiani D, Sukenda, Harris E, Lusastuti AM. 2013. Vaksinasi ikan tilapia (*Oreochromis niloticus*) menggunakan vaksin bivalen untuk mencegah penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* dan *Streptococcosis*. *Jurnal Riset Akuakultur*, 8(2): 229–239
- Syawal H, Syafriadiman, Hidayah S. 2008. Pemberian ekstrak kayu siwak (*Salvadora persica* L.) untuk meningkatkan kekebalan ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) yang dipelihara dalam keramba. *Biodiversitas*, 9(1): 44–47
- Talpur AD, Ikhwanuddin M. 2013. *Azadirachta indica* (neem) leaf dietary effects on the immunity response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* challenged with *Vibrio harveyi*. *Fish & Shellfish Immunology*, 34(1): 254–264
- Wartono H, Emmawati L, Lusastuti AM. 2010. Peningkatan produksi benih ikan patin di unit pembenihan rakyat (UPR) melalui penerapan kekebalan bawaan (*Maternal immunity*). *Prosiding forum inovasi teknologi akuakultur*. Pusat Riset Perikanan Budidaya. pp 957–961
- Wu CC, Liu CH, Chang YP, Hsieh SL. 2010. Effects of hot-water extract of *Toona sinensis* on immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Oreochromis mossambicus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 29(2): 258–263.
- Yuan C, Li D, Chen W, Sun F, Wu G, Gong Y, Tang J, Shen M, Han X. 2007. Administration of a herbal immuno-regulation mixture enhances some immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 33(2): 93–101