

EFEK PEMBERIAN PROBIOTIK TERHADAP IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG TERINFEKSI *Myxobolus* sp.

Effect of Probiotics Treatment on Koi Carp (Cyprinus carpio) Infected With Myxobolus sp.

Nico Rahman Caesar¹, Uun Yanuhar² dan Muhammad Musa²

¹Program Studi Magister Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

²Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

Jl. Veteran, Malang 65145

Email : nicorahmancaesar@gmail.com, doktoruun@ub.ac.id, musa_fpi@ub.ac.id

Diserahkan tanggal 27 April 2019, Diterima tanggal 10 Juli 2019

ABSTRAK

Myxobolus merupakan ektoparasit yang berbahaya dan dapat mengakibatkan kematian hingga 80%. Dalam praktek akuakultur, probiotik telah digunakan dalam beberapa tahun terakhir probiotik menjadi bagian integral dari praktik budaya untuk meningkatkan pertumbuhan dan ketahanan terhadap penyakit. Tujuan penelitian ini mengetahui pengaruh pemberian probiotik terhadap hematologi dan respon imun ikan koi yang terserang *Myxobolus* sp. yakni eritrosit dan leukosit serta ekspresi *Nuclear Factor-kappa Beta* (NF-kB). Metode yang digunakan yaitu metode eksperimen. Dalam penelitian ini dibagi ke dalam 4 perlakuan yaitu, perlakuan (A) Kontrol, (B) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp., (C) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian probiotik dosis 0,55 ml dan (D) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian probiotik dosis 1,1 ml. Metode pemberian perlakuan dengan menambahkan probiotik pada 30 liter air pada bak pemeliharaan. Kemudian dilakukan pengamatan eritrosit dan leukosit. Serta dilakukan Immunohistokimia menggunakan antibodi NF-kB pada jaringan insang. Berdasarkan hasil pengamatan eritrosit diperoleh nilai rata – rata pada perlakuan A sebesar 1.666.667 sel/mm³, perlakuan B sebesar 1.940.000 sel/mm³, perlakuan C sebesar 1.776.667 sel/mm³ dan perlakuan D sebesar 1.836.667 sel/mm³. Hasil pengamatan leukosit diperoleh nilai rata – rata pada perlakuan A sebesar 119.800 sel/mm³, perlakuan B sebesar 492.800 sel/mm³, perlakuan C sebesar 308.533 sel/mm³ dan perlakuan D sebesar 318.400 sel/mm³. Selanjutnya, berdasarkan hasil Immunohistokimia didapatkan hasil pada perlakuan A nilai DAB sebesar 15,1%, perlakuan B nilai DAB sebesar 31,7%, perlakuan C nilai DAB sebesar 53,5% dan pada perlakuan D nilai DAB sebesar 47,5 %. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian probiotik berpengaruh terhadap eritrosit dan leukosit serta dapat meningkatkan ekspresi NF-KB sebagai respon imun pada ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Dosis optimal pemberian probiotik yaitu pada dosis 0,55 ml.

Kata kunci: Probiotik; *Cyprinus carpio*; *Myxobolus* sp.; Eritrosit; Leukosit; Immunohistokimia; NF-KB

ABSTRACT

Myxobolus is a dangerous parasite that can kill up to 80% on koi carp pond.. Probiotic intake has been proven to change the composition of the microbiota, and therefore helps in the recovery of microbiota that are disrupted (by antibiotics or other risk factors) into favorable or normal compositions. The purpose of this study was to determine the effect of probiotic administration on hematology and the immune response of koi fish attacked by *Myxobolus* sp. namely erythrocytes and leukocytes and expression of *Nuclear Factor-kappa Beta* (NF-kB). The method used was an experimental by providing probiotics to fish that promoted *Myxobolus* sp. In this study it was divided into 4 treatments namely, (A) Control, (B) koi carp infected by *Myxobolus* sp., (C) koi carp infected by *Myxobolus* sp. with probiotic doses of 0.55 ml and (D) koi fish infected by *Myxobolus* sp. by administering a probiotic dose of 1.1 ml. The treatment methods were the fish immersed into 30 L of water that added by Probiotic. The hematological observation of koi fish, erythrocytes and leukocytes, was observed and immunohistochemistry using NF-KB antibodies in the gill tissue which is the target of the entry of *Myxobolus* sp. on Koi fish. Based on the results of the treatment of erythrocytes obtained the value of A handling is 1,666,667 cells / mm³, handling B is 1,940,000 cells / mm³, handling C is 1,776,667 cells / mm³ and handling D is 1,836,667 cells / mm³. The results of leukocyte observations obtained an average value on treatment A of 119,800 cells / mm³, treatment B was 492,800 cells / mm³, treatment C was 308,533 cells / mm³ and treatment D was 318,400 cells / mm³. Furthermore, based on the results of Immunohistochemistry, the results of handling A DAB value of 15.1%, handling B DAB value of 31.7%, handling C DAB value of 53.5% and at the time of treatment D DAB value of 47.5%. From this study it can be concluded that the treatment of probiotics affects erythrocytes and leukocytes and can increase the expression of NF-KB as an immune response in koi fish (*Cyprinus carpio*) infected with *Myxobolus* sp. The optimal dose of probiotics is at a dose of 0.55 ml

Keywords: : Probiotic; *Cyprinus carpio*; *Myxobolus* sp.; Erythrocytes; Leukocytes; Immunohistochemistry; NF-KB.

PENDAHULUAN

Timbulnya serangan penyakit pada ikan koi menurut Suwarsito dan Mustafidah (2011) karena adanya serangan penyakit pada ikan koi disebabkan oleh interaksi yang tidak seimbang antara ikan sebagai inang, air sebagai lingkungan dan agen penyebab penyakit (patogen). Interaksi yang tidak seimbang menyebabkan stres pada ikan, sehingga sistem pertahanan tubuh ikan menurun dan mudah terserang penyakit. Salah satu parasit yang sering menyerang pada ikan koi adalah *Myxobolus* sp. *Myxobolus* sp. merupakan parasit yang berbahaya dan dapat mengakibatkan kematian hingga 80%. *Myxobolus* sp. dikenali melalui morfologi spora, jumlah dan lokasi filamen polar. Ikan yang terserang akan menampilkan gejala klinis berupa timbulnya nodul berwarna kemerah-merahan (Mahasri dan Kismiyati, 2011). Di antara agen infeksi yang merugikan adalah myxosporea dari genus *Myxobolus*. *Myxobolus* terdiri dari beberapa spesies dan merupakan parasit umum pada berbagai jenis ikan air tawar dengan penyebaran hampir di seluruh dunia (Alifuddin *et al.*, 2003). Rosita *et al.* (2012) melaporkan di Danau Lais Kalimantan Tengah parasit yang mendominasi paling besar adalah parasit *Myxobolus* dengan dominasi 94,70% dan prevalensi parasit *Myxobolus* di insang paling tinggi dibandingkan dengan parasit yang lainnya dengan kisaran 36,67 - 46,67%. Yuliono (2012) juga melaporkan ditemukan data prevalensi *Myxobolus* pada ikan koi di Sentra Budidaya Ikan Koi Kabupaten Blitar sebesar 44,2%.

Ikan hidup di lingkungan yang mengandung berbagai macam agen infeksi virus, bakteri, jamur, protozoa dan parasit multiseluler yang dapat menyebabkan penyakit, dan jika mereka berkembang mereka akhirnya akan membunuh inang. Kemudian respon imun pada ikan akan merespon adanya agen infeksi yakni pada awalnya akan mengenali patogen atau molekul asing (antigen), memicu jalur yang kemudian menimbulkan mekanisme efektor untuk mencoba menghilangkannya. Respon imun terbagi ke dalam dua kategori utama: respon imun bawaan (atau non-spesifik) dan respon imun adaptif (atau spesifik) (Secombes dan Wang, 2012). *Nuclear Factor- κ B* (NF- κ B) adalah faktor transkripsi yang menjembatani sistem imun bawaan dengan sistem imun adaptif, dan sangat penting untuk mendeteksi aktivasi respon imun bawaan karena aktivasi mereka dikaitkan dengan reseptor TLR2 / TLR4 dalam sistem kekebalan tubuh bawaan (Abbas dan Lichtman, 2007). Pengenalan bakteri dan virus oleh reseptor seperti TLR pada sel-sel dari sistem kekebalan tubuh bawaan juga menghasilkan induksi NF- κ B, yang mengarah pada produksi sitokin proinflamasi dan aktivasi Antigen Presenting Cell untuk costimulasi T-Cell pada imun adaptif (Albensi dan Mattson, 2000). NF- κ B ditemukan di hampir semua jenis sel hewan dan juga terkait dengan respon seluler terhadap rangsangan seperti stres, sitokin, radikal bebas, radiasi ultraviolet, oksidasi LDL dan antigen bakteri atau virus. NF- κ B memainkan peran penting dalam regulasi imun terhadap adanya infeksi (Albensi dan Mattson, 2000).

Darah merupakan salah satu bagian yang terdapat pada ikan yang dapat digunakan sebagai indikator untuk mengetahui tingkat kesehatan ikan. Sesuai dengan pernyataan Salasia *et al.* (2001) bahwa gambaran normal darah ikan diperlukan untuk

menentukan status kesehatan dan membantu diagnosis penyakit pada ikan.

Mekanisme yang mungkin terlibat termasuk produksi zat antimikroba seperti asam organik atau bakteriosin (Balcazar *et al.*, 2007), kompetisi untuk reseptor nutrisi atau adhesi (Nikoskelainen *et al.*, 2003; Balcazar *et al.*, 2007), penghambatan ekspresi gen virulensi dan peningkatan respon imun (Nikoskelainen *et al.*, 2003; Kim & Austin, 2006; Balcazar *et al.*, 2007). Verschuere *et al.* (2000) menyatakan bahwa probiotik akuakultur lebih dikenal sebagai bakteri yang mampu memperbaiki kualitas air, mampu meningkatkan daya tahan tubuh ikan dan dikenal sebagai bakteri yang mampu meningkatkan pertumbuhan pada ikan. Probiotik yang digunakan pada penelitian ini merupakan probiotik yang diberikan langsung pada media pemeliharaan ikan koi. Dengan demikian, tujuan dalam penelitian ini mengetahui pengaruh pemberian probiotik terhadap respon imun spesifik pada ikan koi yang terserang *Myxobolus* sp. sebagai upaya penanggulangan penyakit yang diakibatkan oleh parasit *Myxobolus* sp. ini.

METODE PENELITIAN

Sampel Ikan dan Uji In Vivo

Sampel ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. didapatkan dari Kecamatan Nglegok Kabupaten Blitar, Jawa Timur. Ikan koi yang digunakan dalam penelitian ini memiliki ukuran bekisar antara 7-12 cm. Koleksi sampel ikan yang terserang *Myxobolus* sp. dilakukan dengan mengamati adanya infeksi parasit *Myxobolus* sp. pada insang. Infeksi ditandai dengan adanya nodul pada insang, Lom and Dykova (2006), menyatakan bahwa pemeriksaan dapat dilakukan dengan melihat gejala klinis pada ikan koi yaitu adanya nodul di insang.

Pada penelitian ini dibagi ke dalam 4 perlakuan yaitu, perlakuan (A) Kontrol (sehat tanpa pemberian probiotik), perlakuan (B) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp., perlakuan (C) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian probiotik dosis 0,55 ml dan perlakuan (D) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian probiotik dosis 1,1 ml. Pada perlakuan C dan D pemberian probiotik dilakukan dengan cara perendaman pada media pemeliharaan ikan koi.

Pengukuran Leukosit dan Eritrosit Ikan Koi

Pengambilan sampel darah dilakukan satu kali pada akhir penelitian. Metode pengambilan sampel darah pada ikan dilakukan menurut Svobodova *et al.* (2006). Pengambilan darah ini dilakukan dengan menggunakan spuit 0,5mL yang sebelumnya sudah ditambahkan Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA) dengan dosis $1,50 \pm 0,25$ mg/mL darah. Ikan ditempatkan dengan kepala di sebelah kiri, Sampel darah diambil dengan menggunakan jarum suntik yang menembus otot di garis tengah tubuh di belakang sirip dubur. Prosedur perhitungan jumlah eritrosit diukur menurut Blaxhall dan Daisley (1973), pertama darah dihisap dengan pipet yang berisi bulir pengaduk warna merah sampai skala 1 (pipet untuk mengukur jumlah sel darah merah), lalu ditambahkan larutan hayem's sampai skala 11, pengadukan darah di dalam pipet dilakukan dengan mengayunkan tangan yang memegang pipet seperti membentuk angka 8 selama 3-5 menit sehingga darah

tercampur rata. Dua tetes pertama larutan darah dalam pipet dibuang, selanjutnya teteskan pada haemocytometer tipe Neubauer dan tutup dengan gelas penutup. Kemudian hitung jumlah sel darah merah dengan bantuan mikroskop dengan pembesaran 400x. Jumlah sel darah merah (eritrosit) dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut. Menurut Blaxhall dan Daisley (1973):

$$\Sigma \text{ eritrosit ditemukan} \times 10^4 \text{ sel/mm}^3 \dots\dots\dots(1)$$

Prosedur perhitungan jumlah eritrosit diukur menurut Blaxhall dan Daisley (1973), darah sampel dihisap dengan pipet yang berisi bulir pengaduk berwarna putih sampai skala 0,5. Lalu, ditambahkan larutan truck's sampai skala 11, pipet diayunkan membentuk angka 8 (sama dengan pengadukan untuk perhitungan jumlah sel darah merah) selama 3-5 menit sehingga darah bercampur rata. Setelah itu, dua tetes pertama larutan darah dari dalam pipet dibuang, kemudian teteskan larutan pada haemocytometer, setelah itu ditutup dengan gelas penutup. Jumlah sel darah putih (leukosit) dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut. Menurut Blaxhall dan Daisley (1973):

$$\Sigma \text{ leukosit ditemukan} \times 50 \text{ sel/mm}^3 \dots\dots\dots(2)$$

Uji Imunohistokimia

Proses penarikan air dari jaringan (dehidrasi) dilakukan menggunakan alkohol dengan konsentrasi bertingkat mulai 80% sampai dengan 100% dan dijernihkan dengan xilol (*clearing*) sebelum akhirnya ditanam dalam parafin (*embedding*). Jaringan dalam blok parafin disayat secara serial menggunakan mikrotom rotary dengan ketebalan 5 µm, dilekatkan pada gelas obyek yang telah dilapisi dengan alkohol 70% atau 0,2% Neofren® dalam toluene, kemudian disimpan dalam inkubator 40°C selama 24 jam. Sediaan kemudian diwarnai dengan berbagai macam prosedur pewarnaan sesuai dengan tujuan.

Pewarnaan imunohistokimia memiliki 3 tahapan yang harus dilakukan, yaitu preparasi kaca obyek yang digunakan untuk penempelan preparat atau sediaan histologis, pembuatan neufren (agen penempel) untuk membantu proses affixing preparat ke kaca obyek dan prosedur pewarnaan imunohistokimia itu sendiri. Pewarnaan imunohistokimia meliputi beberapa tahap preparasi, antara lain preparasi gelas obyek, pelapisan (*coating*) gelas obyek dengan neufren (agen penempel), penempelan preparat irisan pada gelas obyek dan prosedur pewarnaan imunohistokimia itu sendiri.

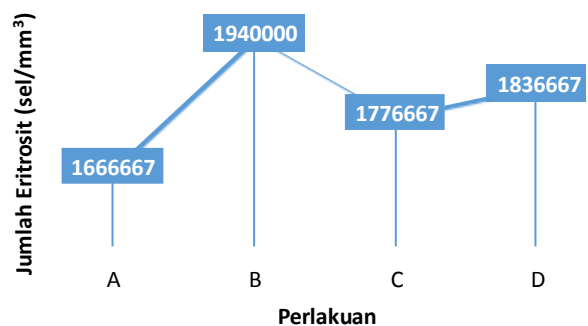
Dalam pewarnaan imunohistokimia, reaksi positif ditunjukkan dengan munculnya warna coklat pada bagian sel yang mempunyai spesifisitas dengan antibodi primer yang digunakan. Antibodi primer yang digunakan dalam pewarnaan imunohistokimia adalah antibodi primer anti NF-kB fish. Selanjutnya dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop, kemudian dilakukan analisa kuantitatif dengan analisa ImmunoRatio (IR). Analisa ImmunoRatio dapat menggunakan software ImageJ. ImmunoRatio mensegmentasikan area inti *diaminobenzidine* (DAB) dan hematoxylin dari gambar mikroskop, menghitung indeks pelabelan (persen area yang diwarnai DAB dari total area nuklir), dan menghasilkan pencocokan gambar hasil pewarnaan segmentasi (Tuominen et al., 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Perhitungan Eritrosit

Berdasarkan hasil perhitungan rata – rata eritrosit (**Gambar 1.**) pada penelitian ini didapatkan hasil pada perlakuan (A) sebesar 1.666.667 sel/mm³, pada perlakuan (B) sebesar 1.940.000 sel/mm³, pada perlakuan (C) sebesar 1.776.667 sel/mm³ dan perlakuan (D) sebesar 1.836.667 sel/mm³. Rata – rata eritrosit tertinggi pada perlakuan (B) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* tanpa pemberian probiotik. Jumlah kandungan eritrosit dalam darah akan meningkat seiring dengan peningkatan infeksi *Myxobolus* sp. pada ikan, hal ini disebabkan karena ikan yang mengalami stres akan mempunyai kandungan eritrosit lebih tinggi. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Syawal *et al.* (2008), bahwa eritrosit yang terlalu tinggi mengindikasikan ikan dalam keadaan stres. Menurut Affandi & Tang (2002), stres bisa disebabkan oleh kondisi lingkungan yang buruk dan tidak nyaman lagi bagi kehidupan ikan, misalnya kondisi oksigen perairan yang kurang, kelebihan CO2 di dalam air, pH ekstrim dan lain-lain. Apabila kondisi ini ditunjang dengan keberadaan mikroorganisme patogen misalnya parasit, bakteri, virus maupun cendawan maka akan memudahkan terjadinya infeksi pada ikan. Ikan akan memberikan reaksi dalam tubuhnya untuk melawan benda asing.

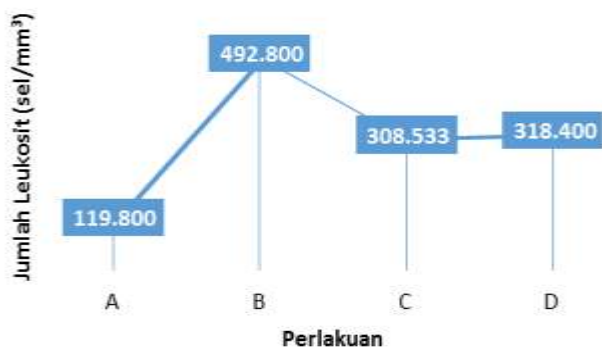
Menurut Moyle & Cech (2004), jumlah eritrosit pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) adalah 1,43 x 10⁶ sel/mm³. Sedangkan pada perlakuan dengan pemberian probiotik, rata – rata eritrosit ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. mengalami penurunan dibandingkan tanpa pemberian probiotik. Hal ini menunjukkan terjadi penurunan tingkat stres yang dialami oleh ikan. Dosis pemberian probiotik yang paling optimal untuk menurunkan rata – rata eritrosit adalah pada dosis 0,55 ml. Efektivitas pemberian probiotik terhadap respon imun ikan dapat dilihat juga melalui gambaran darah salah satunya eritrosit. Eritrosit merupakan salah satu indikator dari perubahan kondisi kesehatan ikan.



Gambar 1. Grafik hasil perhitungan Eritrosit. (A) Kontrol, (B) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp., (C) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian probiotik dosis 0,55 ml dan (D) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian probiotik dosis 1,1 ml.

Hasil Perhitungan Leukosit

Hasil penelitian didapatkan data perhitungan rata – rata leukosit yang dapat dilihat pada **Gambar 2**. Hasil perhitungan rata – rata leukosit diketahui bahwa leukosit ikan koi tertinggi didapatkan dari perlakuan (B) yaitu sebesar 492.800 sel/mm³. Hasil perhitungan rata – rata leukosit pada perlakuan (A) menunjukkan hasil sebesar 119.800 sel/mm³. Pada perlakuan (C) dan (D) menunjukkan peningkatan nilai leukosit dibandingkan dengan perlakuan (A) namun masih berada di bawah perlakuan (B) yaitu masing – masing 308.533 sel/mm³ dan 318.400 sel/mm³. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian probiotik pada ikan yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dapat menurunkan rata – rata leukosit namun, masih berada di atas nilai normal rata – rata leukosit ikan. Nilai kadar leukosit dalam darah dapat digunakan untuk mengetahui sistem pertahanan tubuh ikan dari gangguan luar, termasuk pathogen (Insivitawati, *et al.*, 2015). Menurut Lagler *et al.* (1977), bahwa ikan teleost yang normal memiliki jumlah leukosit normal sebanyak 20.000 – 150.000 sel/mm³. Perubahan jumlah total dan jenis leukosit dapat digunakan sebagai indikator adanya penyakit menular tertentu yang terjadi pada ikan. Leukosit dalam komponen darah adalah salah satu yang berfungsi sebagai pertahanan tubuh spesifik yang akan menetralkan dan menghancurkan patogen melalui fagositosis (Mahasri, 2017). Pemberian probiotik berpengaruh terhadap kadar leukosit dan peningkatan sistem imun pada ikan. Menurut Wulandari (2017), pemberian probiotik melalui pakan pada ikan menunjukkan hasil yang efektif meningkatkan laju aktivitas imunogenik letupan respirasi leukosit terhadap kontrol.

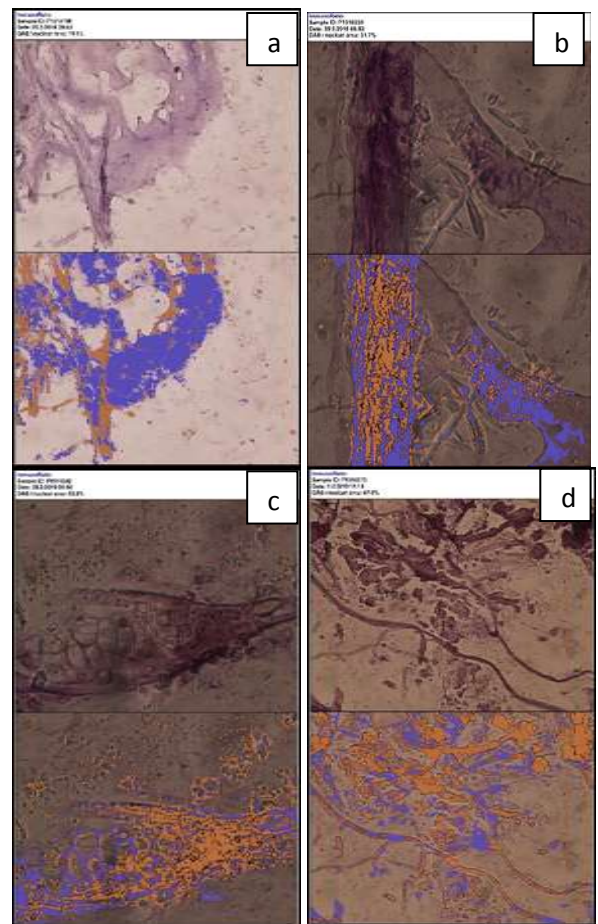


Gambar 2. Grafik hasil perhitungan Leukosit. (A) Kontrol, (B) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp., (C) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian probiotik dosis 0,55 ml dan (D) ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian probiotik dosis 1,1 ml.

Analisis Imunohistokimia

Analisis hasil Imunohistokimia menggunakan ImmunoRatio (IR) pada software ImageJ. Berdasarkan hasil analisa ekspresi NF-kB pada organ insang **Gambar 3**. didapatkan hasil pada perlakuan kontrol (A) nilai DAB sebesar 15,1%, pada perlakuan ikan terinfeksi *Myxobolus* sp. (B) terlihat warna kecoklatan yang lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan A, ini menandakan bahwa adanya ikatan antara antigen NF-kB dan antibody NF-kB. Hasil analisa ImmuoRatio juga menunjukkan nilai DAB 31,7%. Berdasarkan hasil analisa ImmunoRatio pada perlakuan ikan

terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian probiotik dosis 0,55 ml diperoleh nilai DAB sebesar 53,5%. Hal tersebut menunjukkan bahwa, tubuh ikan merespon kehadiran *Myxobolus* sp. dengan meningkatkan ekspresi NF-kB. Peningkatan tersebut ditujukan untuk mengorganisir dan meningkatkan sistem imun pada tubuh ikan. Sedangkan pada perlakuan ikan terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian probiotik dosis 1,1 ml menjukkan hasil analisis ImmunoRatio (IR) yang lebih rendah dibandingkan perlakuan C yaitu DAB sebesar 47,5%. Metode imunohistokimia secara konseptual sangat sederhana, selain itu metode imunohistokimia banyak yang menggunakan karena sensitifitas dan spesifitasnya (Ramos-Vara, 2005). Sedangkan untuk teknik analisa yang biasa digunakan dalam IHK yaitu dengan menggunakan analisa ImmunoRatio (IR) (Tuominen *et al.*, 2010).



Gambar 3. Analisis Imunohistokimia menggunakan ImmunoRatio (IR). (A) Perlakuan kontrol nilai DAB 15,1%; (B) ikan terinfeksi *Myxobolus* sp. nilai DAB 31,7%; (C) Ikan terinfeksi *Myxobolus* sp. + Probiotik dosis 0,55 ml nilai DAB 53,5%; (D) Ikan terinfeksi *Myxobolus* sp. + Probiotik dosis 1,1 ml nilai DAB 47,5 %.

Berdasarkan hasil ImmunoRatio disajikan pada **Gambar 3.**, dimana pada perlakuan (C) ikan terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian probiotik dosis 0,55 ml menunjukkan peningkatan nilai DAB tertinggi yang berarti meningkatnya ikatan antara antibodi dan antigen sebagai bentuk dari pertahanan ikan yang cukup kuat dalam menghadapi serangan *Myxobolus* sp. Disini juga dapat

dikatakan bahwa pembentukan sistem imun pada ikan koi telah terjadi dengan pemberian probiotik dosis 0,55 ml (**Gambar 3c**). Terapi probiotik menawarkan alternatif yang cocok untuk mengendalikan patogen sehingga mengatasi konsekuensi merugikan dari antibiotik dan agen kemoterapi. Dalam budidaya ikan, probiotik baik dalam pakan atau media pemeliharaan membantu dalam mencapai ketahanan alami dan kelangsungan hidup larva dan pasca larva ikan yang tinggi (Robertson *et al.* 2000; Abraham *et al.*, 2007). Selanjutnya, pengobatan probiotik mengarah pada perlindungan ikan yang lebih baik dari berbagai penyakit (Robertson *et al.*, 2000; Brunt *et al.*, 2007; Aly *et al.*, 2008). Pemeriksaan literatur yang tersedia menunjukkan bahwa sejumlah probiotik dapat secara efektif memodulasi produksi sitokin pro-inflamasi dan sitokin anti-inflamasi pada banyak hewan (von der Weid, *et al.*, 2001; Christensen *et al.*, 2002; Niers *et al.*, 2005) salah satunya NF- κ B. NF- κ B adalah kompleks protein yang mengontrol transkripsi DNA. NF- κ B ditemukan di hampir semua jenis sel hewan dan juga terkait dengan respons seluler terhadap rangsangan seperti stres, sitokin, radikal bebas, radiasi ultraviolet, oksidasi LDL dan antigen bakteri atau virus. NF- κ B memainkan peran penting dalam pengaturan respon imun untuk infeksi. Sebaliknya, kesalahan pada regulasi NF- κ B terkait erat dengan proliferasi sel, peradangan dan penyakit autoimun, syok septik, infeksi penyakit, dan pengembangan sistem kekebalan tubuh yang tidak tepat (Albensi dan Mattson, 2000).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian probiotik berpengaruh terhadap eritrosit dan leukosit serta dapat meningkatkan ekspresi NF- κ B sebagai respon imun pada ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus* sp.. Dosis optimal pemberian probiotik yaitu pada dosis 0,55 ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK and Lichtman AH (2007). Celluler and molecular immunology. 6th ed Philadelphia. WB Saunders. p. 34–37, 57–68.
- Abraham, T.J., Babu, S., Mondal, S. and Banerjee, T., 2007. Effects of dietary supplementation of commercial human probiotic and antibiotic on the growth rate and content of intestinal microflora in ornamental fishes. Bangladesh Journal of Fisheries Research, 11(1), pp.57-63.
- Affandi R dan Tang UM. 2002. Fisiologi Hewan Air. Riau: Uni press.
- Albensi, B.C., M.P. Mattson, 2000. "Evidence for the involvement of TNF and NF- κ B in hippocampal synaptic plasticity". Synapse, 35(2): 151-9. DOI 10.1002/(SICI)1098-2396(200002)35:2<151::AID-SYN8>3.0.CO;2-P
- Alifuddin, M., Y. Hadiroseyani dan I. Ohoiulun. 2003. Parasit pada Ikan Hias Air Tawar (Ikan Cupang, Gapi dan Rainbow). Akuakultur, 2 (2) : 93-100.
- Aly, S.M., Ahmed, Y.A.G., Ghareeb, A.A.A. and Mohamed, M.F., 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. Fish & shellfish immunology, 25(1-2), pp.128-136. DOI 10.1016/j.fsi.2008.03.013
- Balcazar JL, Vendrell D, de Blas I, Ruiz-Zarzuola I, Gironés O & Muzquiz JL (2007) In vitro competitive adhesion and production of antagonistic compounds by lactic acid bacteria against fish pathogens. Vet Microbiol 122: 373–380. DOI 10.1016/j.vetmic.2007.01.023
- Blaxhall, P.C. and Daisley, K.W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of fish biology, 5(6), pp.771-781. DOI 10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x
- Brunt, J., Newaj-Fyzul, A. and Austin, B., 2007. The development of probiotics for the control of multiple bacterial diseases of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases, 30(10), pp.573-579. DOI 10.1111/j.1365-2761.2007.00836.x
- Christensen, H.R., Frøkiær, H. and Pestka, J.J., 2002. Lactobacilli differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells. The Journal of Immunology, 168(1), pp.171-178. DOI 10.4049/jimmunol.168.1.171
- Insivitaewati, E., Mahasri, G. and Kusnoto, K., 2019. Gambaran Darah dan Histopatologi Insang, Usus Dan Otak Ikan Koi (*Cyprinus carpio* Koi) yang Diinfeksi Spora *Myxobolus* koi secara Oral [Haematology and Histopathology of Gills, Intestine And Brain Koi Fish (*Cyprinus carpio* Koi) *Myxobolus* koi Orally Infected]. Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan, 7(2), pp.225-234.
- Kim, D.H. and Austin, B., 2006. Cytokine expression in leucocytes and gut cells of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, induced by probiotics. Veterinary immunology and immunopathology, 114(3-4), pp.297-304. DOI 10.1016/j.vetimm.2006.08.015
- Lagler KF, Bardach JE, RR Miller, Passino DRM. 1977. Ichthyology. New York/London: John Willey and Sons. Inc.
- Lom, J. and I. Dykova. 2006. Myxozoan Genera : Definition and Notes Taxonomy, Life Cycle Terminology and Pathogenic Species. Folia Parasitologica, 53 : 1-36. DOI 10.14411/fp.2006.001
- Mahasri, G. dan Kismiyati. 2011. Buku Ajar Parasit dan Penyakit Ikan I (Ilmu Penyakit Protozoa pada Ikan dan Udang). Universitas Airlangga. Surabaya. hal. 3-4.
- Mahasri, G., 2017, February. Development of Spore Protein of *Myxobolus* koi as an Immunostimulant for Prevent of *Myxobolus* on Gold Fish (*Cyprinus carpio* Linn) by Oral Immunisation. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 55, No. 1, p. 012009). IOP Publishing. DOI :10.1088/1755-1315/55/1/012009
- Moyle PB dan Cech Jr JJ. 2004. Fishes. An Introduction to Ichthyology. 5th ed. USA: Prentice Hall, Inc.
- Niers, L.E., Timmerman, H.M., Rijkers, G.T., van Bleek, G.M., van Uden, N.O., Knol, E.F., Kapsenberg, M.L., Kimpen, J.L. and Hoekstra, M.O., 2005. Identification of strong interleukin-10 inducing lactic acid bacteria which down-regulate T helper type 2 cytokines. Clinical & Experimental Allergy, 35(11), pp.1481-1489. DOI 10.1111/j.1365-2222.2005.02375.x
- Nikoskelainen S, Ouwehand AC, Bylund G, Salminen S, Lilius E-M 2003. Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria

- (*Lactobacillus rhamnosus*). *Fish Shellfish Immunol* 15:443–452. DOI 10.1016/S1050-4648(03)00023-8
- Ramos-Vara, J. A. 2005. Technical Aspects of Immunohistochemistry. *Vet Pathol* 42:405–426. DOI 10.1354/vp.42-4-405
- Robertson PAW, O’Dowd C, Burrells C, Williams P, Austin B (2000). Use of *Carnobacterium* sp. as a probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Aquaculture* 185:235–243. DOI 10.1016/S0044-8486(99)00349-X
- Rosita., A. Mangalik., M. Adriani., dan M. Mahbub. 2012. Identifikasi dan Potensi Parasit pada Sumber Daya Ikan Hias di Danau Lais Kalimantan Tengah. *EnviroScienteeae*, 8 : 164-174. DOI 10.20527/es.v8i3.2082
- Salasia, S.I.O., D. Sulanjari, A. Ratnawati. 2001. Studi hematologi ikan air tawar. *Biologi* 2(12): 710-723.
- Secombes, C. J., Wang, T. 2012. The innate and adaptive immune system of fish. *Infectious disease in aquaculture*. Woodhead Publishing Limited. DOI 10.1533/9780857095732.1.3
- Svobodová, Z., Vykusová, B., Modrá, H., Jarkovský, J. and Smutná, M., 2006. Haematological and biochemical profile of harvest-size carp during harvest and post-harvest storage. *Aquaculture Research*, 37(10), pp.959-965. DOI : 10.1111/j.1365-2109.2006.01511.x
- Syawal H, Syaifriadiman, Syaqui Hidayah. 2008. Pemberian Ekstrak Kayu Siwak (*Salvadora Persica* L.) untuk Meningkatkan Kekebalan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) yang Dipelihara dalam Keramba. ISSN : 1412-033X Januari 2008.
- Tuominen V. J., Ruotoistenmäki S., Viitanen A., Jumppanen M., and Isola J. 2010. ImmunoRatio: a publicly available web application for quantitative image analysis of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and Ki-67. *Breast Cancer Research* 2010, 12:R56. DOI 10.1186/bcr2615
- Verschuere L, Rombaut G, Sorgeloos P, Verstraete W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol Mol Biol Rev* 64:655-671. DOI 10.1128/mmbr.64.4.655-671.2000
- von der Weid, T., Bulliard, C. and Schiffrin, E.J., 2001. Induction by a lactic acid bacterium of a population of CD4+ T cells with low proliferative capacity that produce transforming growth factor β and interleukin-10. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 8(4), pp.695-701. DOI 10.1128/CDLI.8.4.695-701.2001
- Wulandari, R., 2017. Pengaruh Pemberian Probiotik Terhadap Aktivitas Letupan Respirasi Leukosit dalam Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Intek Akuakultur*. 1(1) 71-76. DOI 10.31629/intek.v1i1.77
- Yuasa, K., Panigoro, N., Bahnan, M., dan Khiidin., B. E. 2003. Panduan Diagnostik Penyakit Ikan. Teknik Diagnosa Penyakit Ikan Budidaya Air Tawar. Balai Budidaya Tawar Jambi.
- Yuliono, D. T. 2012. Prevalensi *Myxobolus* dan Hubungan Korelasinya dengan Jumlah Populasi Oligochaeta yang Berpotensi Sebagai Inang Antara *Myxobolus* pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) di Sentra Budidaya Ikan Koi Kabupaten Blitar, Jawa Timur. *Budidaya Perairan*. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya. 60 ha