

IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	41
1.	Total Haemocyte Count dan Differential Haemocyte Count	41
2.	Aktifitas fagositosis (PA)	48
3.	Sintasan (%)	53
4.	Kualitas Air	56
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	59
A.	Kesimpulan	59
B.	Saran	59
	DAFTAR PUSTAKA	60
	LAMPIRAN	67

DAFTAR TABEL

Nomor		halaman
1.	Komposisi kimia sel kimia <i>S.cerevisiae</i>	14
2.	Kandungan asam amino dalam <i>S. cerevisiae</i>	14
3.	Pemanfaatan <i>S. cerevisiae</i> untuk berbagai jenis ternak	15
4.	Parameter, satuan dan alat ukur kualitas air	41
5.	Persentase sel hialin, semigranular, dan granular setelah perendaman ekstrak ragi roti	43
6.	Parameter kualitas air media pemeliharaan PL vannamei selama penelitian	56

DAFTAR GAMBAR

Nomor	halaman
1. Kerangka pikir penelitian	9
2. Siklus hidup <i>Litopenaeus vannamei</i> (Sumber : diadaptasikan dari Braak, 2002)	12
3. Macam-macam bentuk ragi roti (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>).	13
4. Struktur rantai kimia β 1,3 – 1,6 glukukan dari dinding sel ragi	16
5. Skema sistem proPO	22
6. Proses fagositosis (Sumber: http://www.Cliffsnotes.com/WileyCDA/CliffsReviewTopic/Phagocytosis)	23
7. Aklimatisasi PL vannamei terhadap kualitas air selama 24 jam	31
8. Bak fiber tempat penampungan air laut	31
9. Wadah plastik yang digunakan selama penelitian sebanyak 12 unit	32
10. Penempatan wadah percobaan uji tantang	36
11. Wadah uji tantang PL Vannamei dengan <i>V.harveyi</i>	36
12. Penempatan wadah uji perendaman ekstrak ragi roti	37
13. Grafik total haemocyte, sel hialin, semigranular dan granular PL vannamei setelah perendaman ekstrak ragi roti	43
14. Gambar sel granular (A), hialin (B), semigranular (C) dan granular (D) pembesaran 1000X	46
15. Grafik persentase nilai rata-rata aktifitas fagositosis setelah perendaman ekstrak ragi roti	49
16. Aktifitas fagositosis, ditunjukkan dengan tanda panah	50

17. Grafik sintasan PL vannamei setelah perendaman ekstrak ragi roti dan ujiantang	53
---	----

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Udang vanname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu jenis udang yang pada mulanya dibudidayakan di belahan bumi barat (western hemisphere). Keunggulan udang vanname antara lain mempunyai pertumbuhan yang lebih cepat, dapat memijah secara spontan, mudah berkembangbiak dan relatif resistensi terhadap penyakit serta dapat dibudidayakan dengan kepadatan tinggi.

Pemerintah melalui Surat Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan No. 41/2001 tanggal 12 Juli 2001 secara resmi melepas udang vannamei sebagai varietas unggul untuk dibudidayakan di Indonesia. Seperti pada budidaya udang windu, pada budidaya udang vannamei penyakit sampai saat ini juga masih merupakan masalah yang serius. Penurunan kualitas lingkungan sebagai akibat dari intensifikasi budidaya udang menyebabkan air laut terkontaminasi oleh berbagai mikroba berbahaya bagi udang. Salah satu mikroba berbahaya tersebut adalah bakteri *Vibrio harveyi* penyebab penyakit vibriosis yang dapat menyebabkan kematian massal pada udang budidaya.

Upaya yang sering dilakukan oleh petambak untuk mengendalikan penyakit vibriosis adalah dengan menambahkan

senyawa antimikrobia pada pakan atau langsung pada air. Akan tetapi pemakaian senyawa antimikrobia dalam jumlah besar dapat mengakibatkan resistensi bakteri patogen (Moriarty, 1998). Dengan demikian penggunaan antibiotik untuk mengontrol mikroba patogen tidak dianjurkan, karena dikhawatirkan terdapat residu antibiotik dalam tubuh udang yang nantinya akan membahayakan manusia apabila mengkonsumsinya.

Udang vannamei seperti halnya krustase lainnya hanya memiliki respon kekebalan nonspesifik, sehingga diperlukan cara untuk menginduksi kekebalan udang terhadap kemungkinan serangan patogen. Sistem imun udang tergantung pada proses pertahanan non spesifik sebagai pertahanan terhadap infeksi (Lee *dkk.*, 2004). Pertahanan pertama terhadap penyakit pada udang dilakukan oleh haemosit melalui fagositosis, enkapsulasi dan formasi nodulasi. Aktivitas fagositosis dapat ditingkatkan dengan mengaktifkan sistem prophenol oksidase (Pro-PO) yang berada dalam haemosit semigranular dan granular (Selvin *dkk.*, 2004).

Beberapa substansi diketahui mampu meningkatkan respon kekebalan udang seperti Lipopolisakarida, ekstrak rumput laut, β -glukan, glikan dan alga uniseluler telah terbukti meningkatkan daya tahan tubuh hewan air terhadap penyakit mengaktifasi makrofag dan limfosit (Cook *dkk.*, 2003 ; Sakai 1999 ; Sealey dan Galtin, 2001).

Pemberian imunostimulan dimaksudkan untuk meningkatkan resistensi terhadap infeksi penyakit, tidak melalui peningkatan respon imunitas spesifik namun dengan meningkatkan mekanisme pertahanan non spesifik (Sakai, 1999). Imunostimulan yang umum digunakan merupakan organisme maupun hasil sampingan organisme yang bersifat tidak virulen (Galindo-Villegas dan Hoshokawa, 2004).

β -glukan terbukti secara alamiah sebagai *biological defense modifier* (BDM) dan termasuk kategori *generally recognised as safe* (GRAS) menurut FDA, serta tidak memiliki toksisitas atau efek samping (Ber, 1997). β -glukan memiliki berbagai aktifitas biologis sebagai anti tumor, anti oksidan, anti kolesterol, anti penuaan dini dan meningkatkan sistem imun (Kallickle *dkk.*, 1996 ; Lee *dkk.*, 2001 ; Miura *dkk.*, 2003). Produk glukan yang paling umum digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae* (baker's yeast) dan preparasi fungi *Schizophyllum commune* dan *Sclerotium glukanicum* (Sakai, 1999).

Hasil penelitian Lopez *dkk.* (2003) menunjukkan bahwa penggunaan 2 g β -glukan per kg pakan dapat meningkatkan respon imun juvenil udang vanamei. Chang *dkk.*, 2003, merekomendasikan penggunaan 2 g β -glukan per kg pakan selama 24 hari untuk udang windu, sedangkan Itami *dkk.* (1998) merekomendasikan 2 g β -glukan per kg pakan untuk *P. japonicus*. *Metapenaeus japonicus*, pertumbuhan udang meningkat setelah pemberian oral β -glukan 0,2 mg/kg

berat tubuh per hari selama 7 hari yang berasal dari *Bifidobacterium thermophilum* (Itami dkk. 1998).

Menurut Effendy. (2004), ada hubungan antara konsentrasi dan lama perendaman terhadap peningkatan THC (*Total Haemocyte Count*) dan HC (*Hyaline Cell*) dimana benur udang windu yang direndam dengan ekstrak ragi roti konsentrasi 1,5 mg/l dengan lama perendaman 36 jam memberikan hasil terbaik dibanding dengan kontrol.

Berdasarkan kajian di atas, penulis melakukan penelitian untuk mengetahui sejauh mana efektifitas perendaman ekstrak ragi roti dalam meningkatkan respon kekebalan nonspesifik haemosit yang diaplikasi pada post larva vannamei sehingga mampu mencegah vibriosis.

B. Rumusan Masalah

Salah satu kendala utama yang dihadapi pengelola pembenihan maupun budidaya udang adalah terjadinya kematian massal akibat vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *V. harveyi*. Penanggulangan dengan menggunakan antibiotik secara terus menerus dapat menimbulkan pencemaran lingkungan, timbulnya organisme yang resisten terhadap produk perikanan dan memacu perkembangbiakan strain bakteri patogen yang resisten terhadap antibiotik.

Strategi pencegahan vibriosis menggunakan antibiotik tertentu tidak dianjurkan lagi, namun kedepan diharapkan pencegahan dapat dilakukan secara alamiah. Salah satu metode pencegahan yang dilakukan untuk

meningkatkan sistem kekebalan tubuh adalah penggunaan imunostimulan.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan pemberian imunostimulan yang optimal melalui pakan memberikan hasil yang berbeda nyata dibanding kontrol, tetapi tidak menunjukkan hasil yang signifikan pada berbagai tingkat konsentrasi (Johnny *dkk.*, 2001; Effendy *dkk.*, 2002). Hal tersebut diduga karena kebiasaan makan udang yang memotong pakan menjadi bagian yang lebih kecil sebelum dimakan sehingga akan mengakibatkan proses pencucian (*leaching*), serta berkurangnya imunostimulan pada pakan yang dikonsumsi.

Pengkajian terhadap pemberian imunostimulan terutama pada usaha pembenihan perlu terus dilakukan untuk mendapatkan hasil optimal untuk menunjang keberhasilan produksi. Pengkajian imunostimulan dapat dilakukan dengan pengujian *in vivo* dan *in vitro*. Pengujian *in vivo* dilakukan dengan melihat reaksi bentuk kekebalan udang hidup terhadap patogen, sedangkan *in vitro* dilakukan dengan mengukur mekanisme sistem pertahanan selular dan humoral (Vadstein, 1997; Smith *dkk.*, 2003).

Dari uraian diatas, maka permasalahan penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Pada konsentrasi berapa perendaman ekstrak ragi roti (*S. cerevisiae*) efektif meningkatkan respon imun yaitu berupa total haemosit, dan aktivitas fagositosis post larva vannamei.

2. Pada konsentrasi berapa perendaman ekstrak ragi roti (*S. cerevisiae*) efektif meningkatkan kelangsungan hidup post larva vannamei.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi perendaman ekstrak ragi roti (*S. cerevisiae*) yang efektif meningkatkan respon imun yaitu berupa total haemosit, aktivitas fagositosis dan kelangsungan hidup post larva vannamei.

D. Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah sebagai informasi penggunaan (aplikasi) perendaman ekstrak ragi roti (*S. cerevisiae*) dalam pemeliharaan larva udang vannamei kepada *stakeholder* pada tingkat pembenihan untuk mencegah penyakit sehingga meningkatkan produksi larva udang vannamei.

E. Hipotesis

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah, tujuan dan kegunaan penelitian, maka hipotesis penelitian ini adalah terdapat suatu konsentrasi pemberian imunostimulan dari ekstrak ragi roti

(*S. cerevisiae*) yang efektif meningkatkan respon imun yaitu berupa total haemosit, aktivitas fagositosis dan kelangsungan hidup post larva vannamei.

F. Kerangka Pikir

Di Indonesia udang vannamei merupakan salah satu komoditi unggulan pada usaha budidaya perikanan. Berbagai macam cara dilakukan agar dapat meningkatkan kapasitas produksi udang, mulai dari pembukaan lahan-lahan tambak baru hingga pemanfaatan teknologi dalam bidang pembudidayaan. Permasalahan yang dihadapi adalah terjadinya degradasi lingkungan dan munculnya berbagai macam penyakit.

Salah satu penyebabnya adalah vibriosis yaitu penyakit yang terutama disebabkan oleh bakteri patogen *Vibrio* terutama *Vibrio harveyi*. *Vibriosis* juga disebut penyakit kunang-kunang karena berpendar pada malam hari. Berpendaran terjadi karena *V. harveyi* mencapai densitas (abundantly) yang tinggi baik di perairan maupun pada udang itu sendiri (Pasharawipas, dkk., 1998).

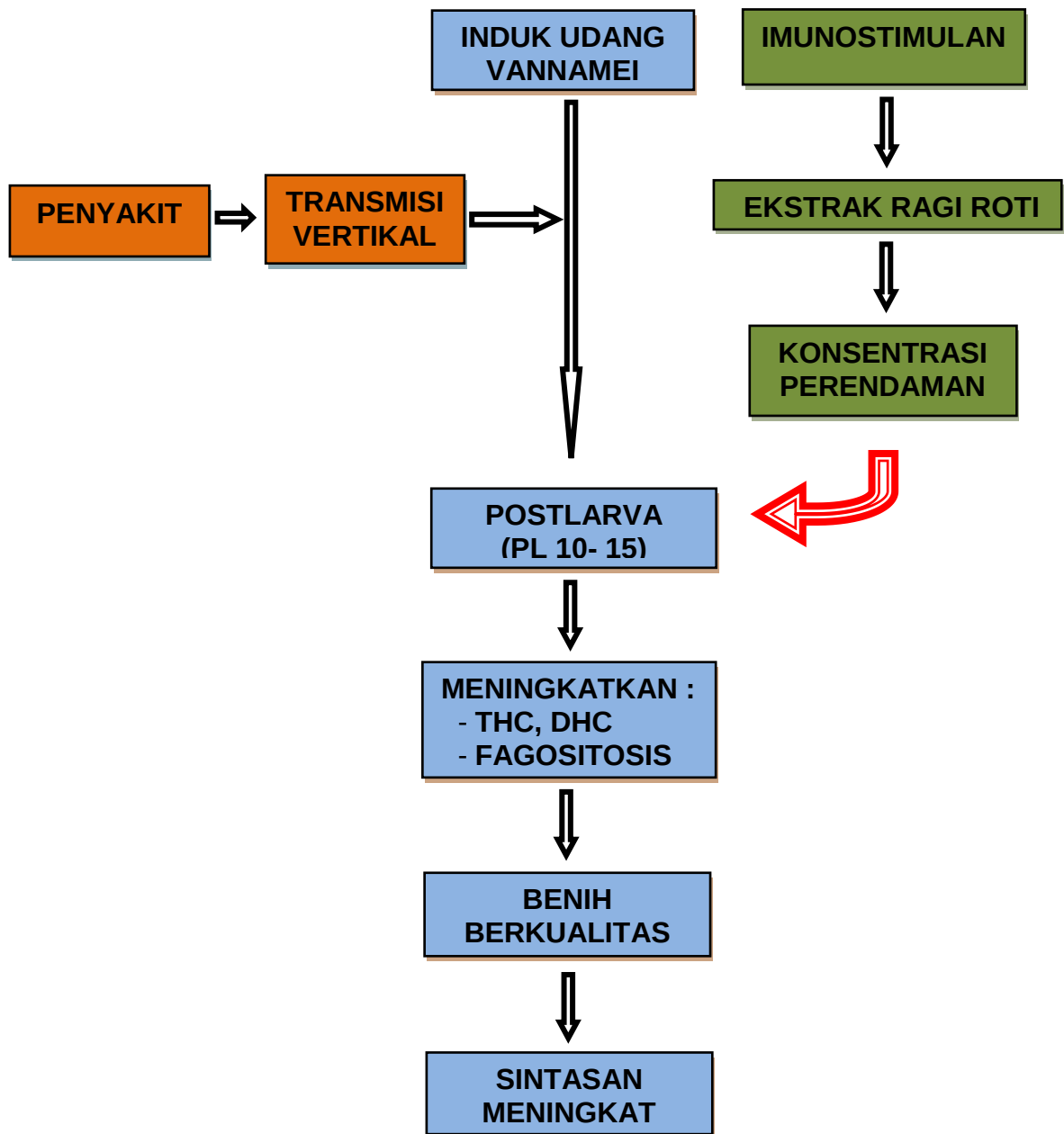
Penanggulangan vibriosis menggunakan berbagai jenis antibiotika seperti chloramphenicol, nitrofurantoin, termasuk furazolidon dan derivatnya, tidak dianjurkan lagi karena efek lainnya bisa menyebabkan resistensi pada bakteri target (Alken, 2004). Juga rancangan ketetapan menteri Kelautan dan Perikanan (tanggal 11 September, 2002), penggunaan

antibiotika secara terus menerus merupakan teknik pencegahan penyakit yang tidak efisien.

Salah satu solusi pengganti antibiotik adalah penggunaan imunostimulan karena dapat meningkatkan pertahanan spesifik dan nonspesifik. Oleh karena itu imunostimulan dapat dijadikan alternatif dalam perlindungan serangan terhadap bakteri penyebab penyakit melalui peningkatan sistem kekebalan tubuh.

β -1,3 glukukan dari ekstrak ragi roti mengandung polysacharida tinggi merupakan salah satu jenis imunostimulan yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh udang. β -Glukan ini diberikan pada post larva udang vannamei melalui cara perendaman dengan dosis yang berbeda, setelah itu dilakukan uji tantang melalui pemaparan bakteri *V. harveyi*. Selanjutnya dilakukan pengujian respon imun berupa total haemocyte count, differential haemocyte count, aktifitas fagositosis dan sintasan, dimana diharapkan β -Glukan dapat meningkatkan respon imun dan tingkat kelangsungan hidup PL vannamei.

Kerangka pikir dari penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini :



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Udang Vannamei

1. Biologi Udang Vannamei

Udang vannamei termasuk krustase dalam ordo dekapoda dimana di dalamnya juga termasuk udang, lobster dan kepiting. Nama umum udang vannamei adalah *Pacific white shrimp*, *West Coast white shrimp*, *Camaron blanco*, *Langostino*. Nama FAO adalah *whiteleg shrimp*, *Crevette pattes blanches*, *Camaron patiblanco* (Elovaara, 2001; Rosenberri, 2006).

Pada udang jantan dewasa, petasma *symmetrical*, *semi-open*, dan tidak tertutup. Spermatofora sangat kompleks yang terdiri atas masa sperma yang dibungkus oleh suatu pembungkus yang mengandung berbagai struktur perlekatan (*anterior wing*, *lateral flap*, *caudal flange*, *dorsal plate*) maupun bahan-bahan adhesif dan glutinous. Udang betina dewasa memiliki *open thelycum* dan *sternit ridges*, yang merupakan pembeda utama udang vannamei betina (Elovaara, 2001).

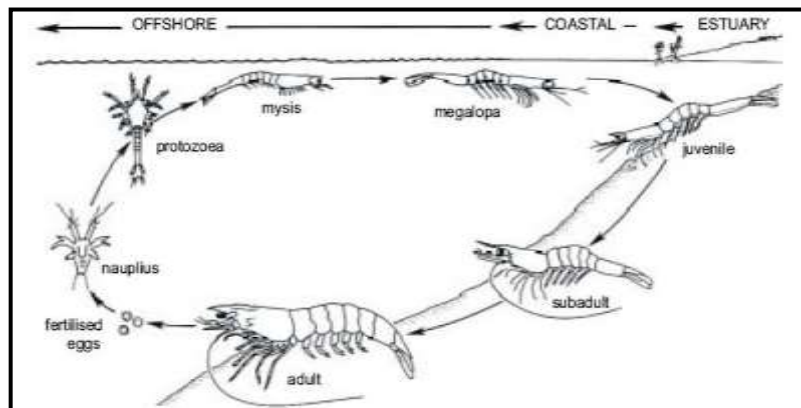
Tubuh berwarna putih transparan sehingga lebih umum dikenal sebagai "*white shrimp*". Tubuh sering berwarna kebiruan karena lebih dominannya kromatofor biru. Panjang tubuh dapat mencapai 23 cm.

Udang vanamei dapat dibedakan dengan spesies lainnya berdasarkan pada eksternal genitalnya.

2. Perkembangan dan Pemeliharaan Larva.

Udang betina memiliki *open thelycum* dan inilah yang membedakannya dengan udang penaeid lainnya (Elovaara, 2001). Udang jantan melekatkan spermatophora berjeli (berisi sperma) pada *open thelycum* pada saat kawin. Perkawinan terjadi pada saat udang betina berada pada fase intermolt pada saat ovarium telah mencapai kematangan. Pelepasan telur terjadi pada malam hari beberapa jam setelah perkawinan, biasanya kurang dari tiga jam. Proses pelepasan telur berlangsung selama 1-3 menit dimana selama proses pelepasan telur, induk betina melindungi telur yang baru dilepaskan. Hal ini memungkinkan sperma untuk membuahi telur sebanyak mungkin. Segera setelah semua bahan genetik dari jantan maupun betina bersatu maka pembuahanpun selesai.

Telur akan menetas menjadi nauplii dalam waktu sekitar 16-17 jam setelah pembuahan. Jika diamati di bawah mikroskop, nauplii secara fisik nampak seperti laba-laba air. Selama beberapa hari nauplii makan dari makanan cadangan dari telur sampai nauplii bermetamorfosa menjadi zoea sebagai tahap larva yang kedua. Zoea makan mikroalga selama 3-5 hari sebelum berkembang menjadi mysis. Lebih jelasnya siklus hidup *L. vannamei* dapat dilihat pada Gambar 2.

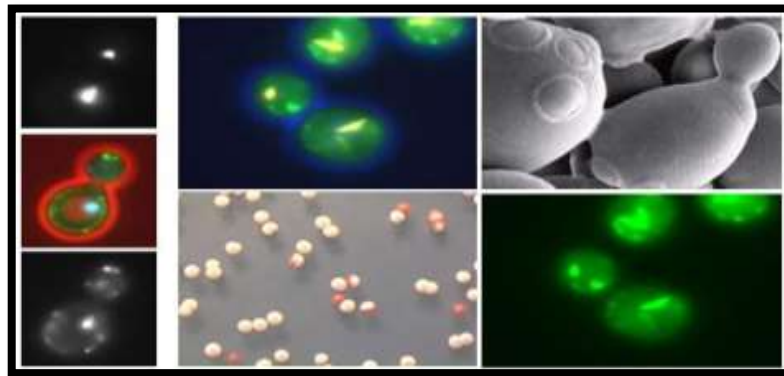


Gambar 2. Siklus hidup *Litopenaeus vannamei* (Sumber : diadaptasikan dari Braak, 2002).

B. Ragi Roti (*Saccharomyces cerevisiae*)

Taksonomi *Saccharomyces cerevisiae* menurut Sanger (2004), sebagai berikut :

- Super Kingdom : Eukaryota
- Phylum : Fungi
- Subphylum : Ascomycota
- Class : Saccharomycetes
- Order : Saccharomycetales
- Family : Saccharomycetaceae
- Genus : *Saccharomyces*
- Species : *Saccharomyces cerevisiae*



Gambar 3. Macam-macam bentuk ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*).

Saccharomyces berasal dari bahasa latin yang berarti gula jamur, *S. cerevisiae* merupakan khamir sejati tergolong eukariot yang secara morfologi hanya membentuk blastospora berbentuk bulat lonjong, silindris, oval atau bulat telur yang dipengaruhi oleh strainnya (Gambar 3), dapat berkembang biak dengan membelah diri melalui "budding cell". Reproduksiya dapat dipengaruhi oleh keadaan lingkungan serta jumlah nutrisi yang tersedia bagi pertumbuhan sel. Penampilan makroskopik mempunyai koloni berbentuk bulat, warna kuning muda, permukaan berkilau, licin, tekstur lunak dan memiliki sel bulat dengan askospora 1-8 buah (Lodder, 1970; Landecker, 1972; Nikon, 2004). Koloni dari *Saccharomyces* tumbuh pesat pada hari 3, penampilan rata, mulus, basah, glistening, atau kuyu dan cream tannish dalam warna. Ketidakmampuan untuk memanfaatkan nitrat karena tidak toleran terhadap ion ammonium dan kemampuan untuk memfermentasi karbohidrat adalah karakteristik khas dari *Saccharomyces* (Aguskrisno., 2011)

Komposisi kimia, kandungan asam amino *S. cerevisiae* ditunjukkan pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Komposisi kimia sel *S. cerevisiae*.

Senyawa	Komposisi (%)
Abu	5,0 – 9,5
Asam nukleat	6,0 – 12,0
Lemak	2,0 – 6,0
Nitrogen	7,5 – 8,5

Sumber : Suriawira (1990)

Tabel 2. Kandungan asam amino dalam *S. cerevisiae*.

Asam amino	Komposisi (%)
Fenilalanin	4,1 – 4,8
Isoleusin	4,6 – 5,3
Lisin	7,7 – 7,8
Leusin	7,0 – 7,8
Metionin	1,6 – 1,7
Sistin	0,94
Treonin	4,8 – 5,4
Triptofan	1,1 – 1,3

Sumber: Suriawira (1990)

Pemanfaatan *S. cerevisiae* untuk berbagai jenis ternak dapat dilihat pada Tabel 3.

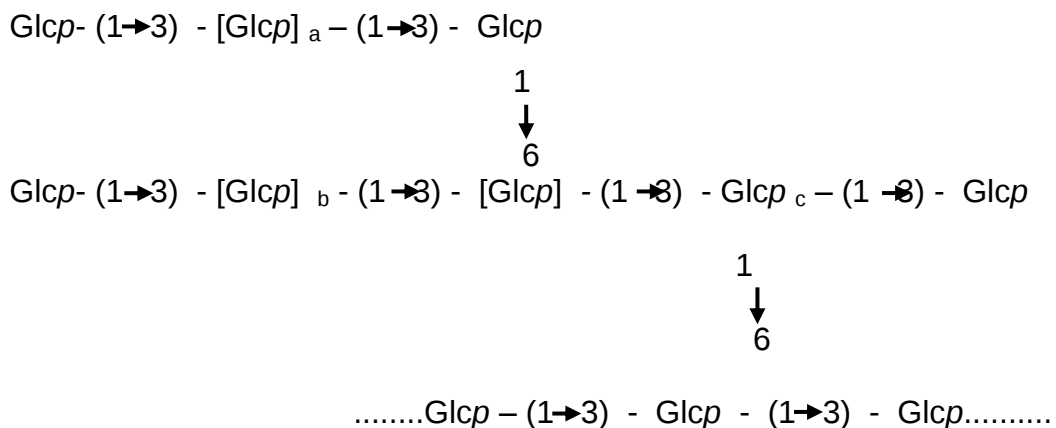
Tabel 3. Pemanfaatan *S. cerevisiae* untuk berbagai jenis ternak.

Jenis ternak	Pemanfaatan	Sumber (Pustaka)
Sapi	Meningkatkan produksi susu sapi	Wina (2000)
Domba	Meningkatkan bobot badan	Ratnaningsih (2002)
Unggas	Menurunkan kuman <i>E. coli</i>	Kompiang (2002)
Ayam	Meningkatkan bobot badan	Kumprechtova (2001)
Udang	Meningkatkan sistem kekebalan	Fox (2002)
Ikan	Meningkatkan sistem kekebalan	Fox (2002)

Ragi termasuk fungi ekasel (*uniseluler*) yang beberapa jenis spesiesnya umum dipakai untuk menciptakan revolusi terbaru manusia dibidang rekayasa genetika sehingga dijuluki sebagai super jamur. Selain itu, spesies ini digunakan dalam memproduksi berbagai makanan, biofuel, kimia, industri enzim, *pharmaceutical*, agrikultur dan lingkungan karena kemampuannya ini *S. cerevisiae* disebut mikroorganisme aman (*Generally Regarded as Safe*).

Pada ragi roti (*bakers yeast*) *S.serevisiae*, kandungan β glukukan merupakan molekul yang terdiri dari rantai panjang *polysaccharides* terutama *poly-D-glucopyranosa*. Rantai tersebut terdiri atas residu *glucopyranosil* dengan ikatan β 1,3 dan β 1,6. Dinding sel terdiri dari *mannan*, bersama dengan protein dan lipid, membentuk ikatan *mannan-protein*, selain itu dinding sel juga mengandung sejumlah kecil chitin (Strand *dkk*; Engstand, 1994).

Stuktur rantai β 1,3 – 1,6 glukukan yang diperoleh dari dinding sel ragi dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 4. Struktur rantai kimia β 1,3 – 1,6 glukosa dari dinding sel ragi (Manners, 1987 dalam Engstand, 1994).

Struktur kimia β terdiri atas pengulangan (*repetitive*), rantai polisakarida yang terdiri atas *glycopyranosyl*. Rantai *glycopyranosil* tersebut dihubungkan satu sama lain dengan ikatan β 1,3. Gugusan rantai *glycopyranosyl* akan dihubungkan dengan gugusan lain melalui ikatan β 1,6 yang terletak pada rantai karbon yang ke- 6 (Engstand, 1994; Effendy, 2004).

β -glukan yang akan digunakan sebagai imunostimulan diperoleh dari proses pemurnian sel ragi dengan menggunakan alkali panas. Perlakuan ini bertujuan untuk menghilangkan mannoprotein dan memutuskan ikatan β 1,6 yang larut dalam alkali dari dinding sel. Selanjutnya dimasukkan ke dalam asam panas untuk menghilangkan glikogen dan memutuskan ikatan β 1,6 yang larut dalam asam. Perlakuan terakhir adalah menggunakan *ethanol*, *acetone* atau *ether* panas untuk menghilangkan kandungan lipid (Manners *dkk.*, 1975 ; Engstand, 1994 ; Effendy, 2004).

Penggunaan β -glukan sebagai imunostimulan pada krustase bertujuan mengaktifkan proPO sistem pada pertahanan nonspesifik. Glukan yang dapat membangkitkan mekanisme proPO sistem adalah rantai linier pentasakarida. Rantai tersebut minimal terdiri dari lima ikatan residu β 1,3-*Dglucopyranosyl*. β -glukan akan diterima oleh plasma protein dalam haemolimf yang dinamakan *Beta Glucan Binding Protein* (BGBP) . BGBP yang berikatan dengan glukan akan membentuk ikatan kompleks BGBP-glukan. Ikatan kompleks ini akan diterima oleh membran penerima (*receptor membrane*). Melalui protein 76-kDa pada membran penerima, pesan selanjutnya dikirim kepada sel semigranular untuk aktifasi mekanisme proPO sistem (Cerenius *dkk.*, 1994).

C. Sistem Kekebalan Tubuh Udang

Imunitas atau kekebalan adalah sistem mekanisme pada [organisme](#) yang melindungi tubuh terhadap pengaruh [biologis](#) luar dengan mengidentifikasi dan membunuh [patogen](#) serta sel [tumor](#), sistem imunitas ini terdiri dari substansi, sel-sel dan organ-organ yang diperlukan untuk membentuk sistem pertahanan yang kompeten.

Pada ikan dikenal dua sistem kekebalan tubuh, yaitu sistem kekebalan spesifik (*adaptive immune system*), dan sistem kekebalan nonspesifik (*innate immune system*). Sedangkan pada udang hanya dikenal system kekebalan nonspesifik. Perbedaannya, kekebalan spesifik mempunyai memori karakter kimia spesifik dari patogen yang berkaitan

dengan biokimia sehingga diingat dalam sistem memori sel. Sedangkan pada kekebalan nonspesifik, tak ada sistem memori (sel yang diingat). Namun sistem pertahanan merespon tipe spesifik molekul yang ditemukan pada permukaan sel dari berbagai patogen seperti bakteri, fungi dan beberapa virus.

Sistem non-spesifik dianggap sebagai garis pertahanan pertama. Immunostimulan yang luas pada udang disempurnakan oleh aktivasi sistem kekebalan non-spesifik sel-sel yang disebut hemosit. Sel ini harus mendapatkan aktivasi kerja melawan patogen. Immunostimulan digunakan untuk mengaktifkan hemosit yang kemudian akan meningkatkan respon kekebalan nonspesifik.

Mekanisme pertahanan pada krustase sebagian besar bergantung pada sel-sel darah dan proses hemolim. Darah udang tidak mengandung haemoglobin sehingga darahnya tidak berwarna merah. Peran haemoglobin digantikan oleh haemosianin yaitu protein mengandung Cu yang berfungsi untuk transport oksigen dan sebagai buffer dalam darah krustase.

Haemosit memegang peranan penting pada pertahanan tubuh krustasea yaitu dapat menghilangkan partikel asing yang masuk ke tubuh udang, meliputi tahap-tahap pengenalan, fagositosis, melanisasi, sitotoksik dan komunikasi sel (Johansson *dkk.*, 2000).

Pada krustase dekapoda ada tiga tipe sirkulasi hemosit, tipe ini didasarkan pada keberadaan sitoplasma granula yaitu hialin, semi

granular (setengah berisi butir kecil) dan sel granular (berisi butir kecil) masing-masing memiliki morfologi dan fisiologi tertentu. Semi granular memperlihatkan kapasitas mengenali dan merespon partikel unsur atau molekul asing atau dikenal sebagai sel aktif dan enkapsulasi (Johansson *dkk.*, 2000). Sel semi granular dan granular melakukan fungsi sistem proPO sedangkan sel hialin melakukan fagositosis dalam imunitas krustase (Wang dan Chen, 2006).

Perbedaan ukuran sel hialin, semigranular dan granular, ciri-ciri sel hialin : ukuran paling kecil, bentuk bulat – oval, ukuran $8,1 \pm 1,0$ mm, nukleus besar mencapai hampir seluruh sel, sitoplasma agranular. Semigranular memiliki ciri-ciri : lebih besar dari hialin, bentuk oval memanjang, ukuran $14,2 \pm 1,3$ mm, berisi granular dengan jumlah yang jarang dan menyebar (*eosino philic cytoplasmic*), nukleus oval *central eccentric*. Sel granular memiliki ciri-ciri : bentuk bulat – oval, ukuran $13 \pm 2,5$ mm, nukleus bulat tengah, sitoplasma berisi granular yang padat dan sangat reaktif dengan jumlah granular *eosinophilic* yang tinggi (Le Moullac *dkk.*, 1997).

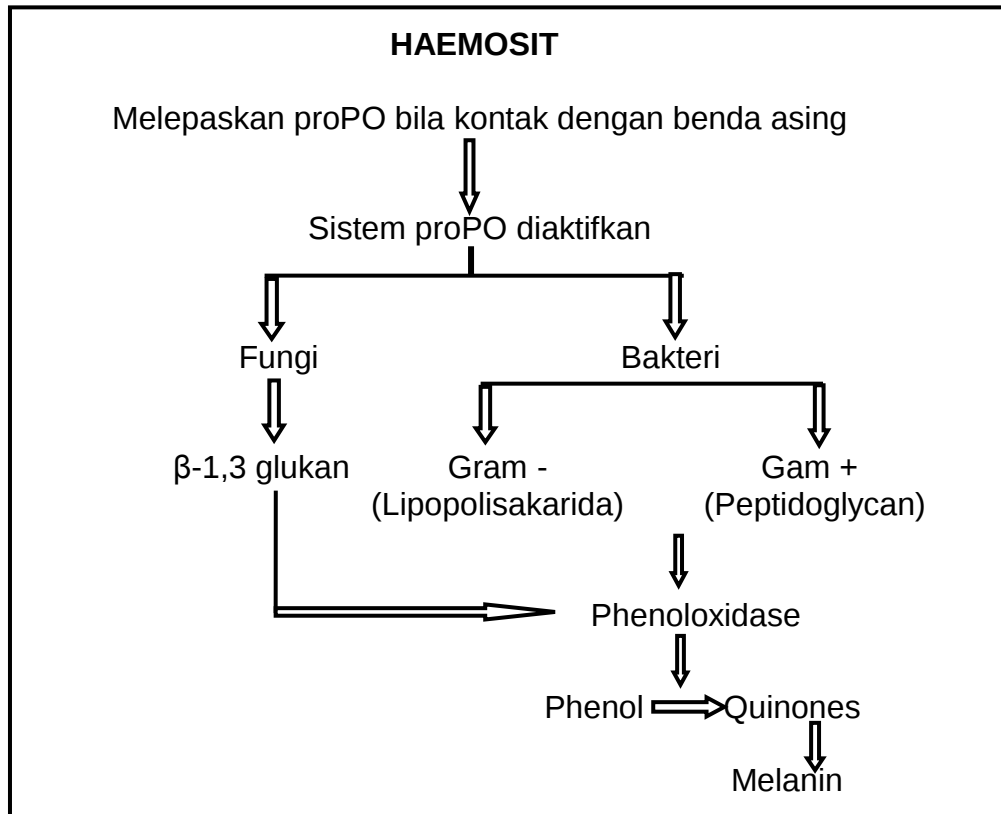
Sistem pertahanan krustase merupakan sistem pertahanan non spesifik yang terdiri dari selular dan humoral. Sistem pertahanan humoral lebih banyak dilakukan oleh plasma protein seperti agglutinin, sedangkan sistem pertahanan selular terfokus pada kinerja sel-sel haemosit (Jica, 1994). Aktivitas dari reaksi selular ini berhubungan dengan sistem oksidasi profenol (sistem proPO). proPO disimpan dalam granular dari

haemosit granular dan semigranular dan dilepaskan ke dalam haemolimf jika bertemu dengan benda asing. Selanjutnya proPO diaktifkan oleh komponen pada dinding sel bakteri dan jamur.

Udang memiliki respon imunitas yang meliputi respon selular dan humoral yang bersifat non spesifik. Sistem pertahanan selular meliputi fagosit sel-sel hemosit, nodulasi dan enkapsulasi. Sistem pertahanan humoral mencakup phenoloksidase (PO), prophenoloksidase (proPO), letin dan aglutinin. Kedua sistem ini bekerja sama memberikan perlindungan tubuh terhadap infeksi organisme patogen dari lingkungan (Itami, 1994).

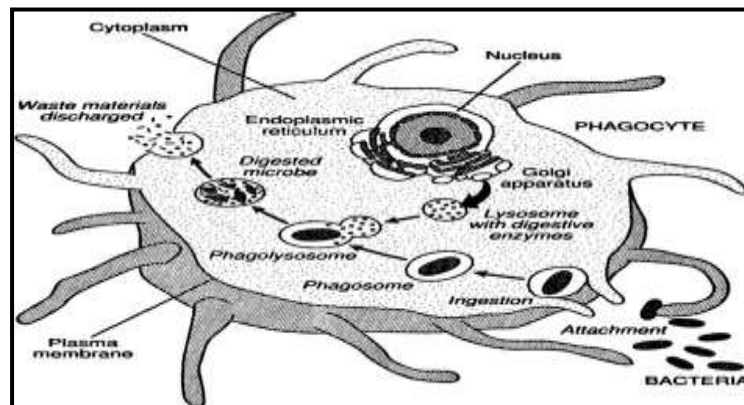
Menurut Liu *dkk.*, (2004), PO terdapat dalam hemolimf sebagai inaktif pro-enzim yang disebut proPO. proPO adalah non-self recognition sistem yang terdapat pada arthropoda dan invertebrata lain. Transformasi proPO menjadi PO melibatkan beberapa reaksi yang dikenal sebagai proPO activating sistem. Prophenoloksidase (proPO) dan phenoloksidase dilibatkan dalam enkapsulasi, melanisasi dan berfungsi sebagai sistem non self recognition. proPO diaktifkan oleh prophenoloksidase activating enzim (PPA), sedangkan PPA ini bisa diaktifkan oleh lipopolisakarida seperti β -1,3 glukana, lipopolisakarida atau peptidoglikan dari mikroorganisme melalui pola pengenalan protein. PPA merupakan protein yang berlokasi di granula. Akibat pengaktifan proPO menjadi PO maka dihasilkan protein faktor opsonin yang merangsang fagositosis hialosit (Johansson and Söderhäll, 1989).

Bakterisidal adalah daya atau aktivasi untuk mematikan bakteri sehingga aktifitas fagositasi dari haemosit udang akan meningkat yang dapat dilihat melalui hialin yang merupakan salah satu sumber lisozim yang bersifat toksik terhadap bakteri. Lisozim mempunyai aktifitas antibakteri dan meningkatkan fagositasi. Peningkatan bakterisidal selanjutnya akan menurunkan bakteri dalam tubuh udang dan meningkatkan sistem kekebalan non spesifik udang (Rantetondok, 2002). Pada udang lisozim bisa berasal dari hialin (Alday-Zanz, 1995). Menurut Sindermann (1990), pada krustasea proses melanisasi disertai dengan reaksi pertahanan karena quinones merupakan produk antara dari sintesis melanin yang dapat berfungsi sebagai agen bakterisidal atau fungistatik (Gambar 5). Karena sistem proPO diyakini berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh udang (Sung *dkk.*, 1998).



Gambar 5. Skema sistem proPO (Alday-Zanz, 1995)

Meningkatnya pertahanan tubuh dapat diketahui dengan meningkatnya aktifitas sel-sel fagosit dan hemosit. Sel-sel fagosit ini berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh udang. Fagositosis merupakan mekanisme pertahanan non spesifik yang secara umum mampu melindungi adanya serangan penyakit. Hemosit dikenal sebagai faktor yang sangat penting dalam sistem pertahanan selular yang bersifat non spesifik. Untuk mengetahui bahwa hemosit merupakan pertahanan tubuh yang bersifat selular dapat dilihat dari kemampuannya dalam aktifitas fagositosis yang dapat meningkat pada kejadian infeksi.



Gambar 6. Proses fagositosis (Sumber: <http://www.Cliffsnotes.com/WileyCDA/CliffsReviewTopic/Phagocytosis.topicArticleId-8524>)

Fagositosis merupakan reaksi yang paling umum dalam pertahanan seluler. Jumlah sel fagositik bervariasi dari 2 – 28 % dari jumlah total sel darah. Fagosit dapat terjadi pada luka, di dalam organ penyaringan, jaringan sistem peredaran dalam cairan tubuh. Kemampuan fagosit dalam membinasakan serangan mikroba bervariasi tergantung pada jenis mikroorganisme. Selama proses fagositosis, partikel atau mikroorganisme dimasukkan ke dalam sel yang kemudian sel membentuk digestive vacuola yang disebut fagosome. Eliminasi partikel yang difagosit melibatkan enzim pengurai yang dilepaskan ke dalam fagosome dan pembentukan ROI (Reactive Oxygen Intermediate) yang dikenal sebagai *respiratory burst* (Rodriquez dan Le Moullac, 2000).

D. Immunostimulan

Menurut Lavilla-Pitogo. (1990), definisi penyakit adalah suatu hal yang berada di luar batas normal struktur atau fungsi organisme hidup, yang ditunjukkan melalui gejala-gejala maupun tanda-tanda. Pencegahan penyakit merupakan upaya alternatif untuk menanggulangi penyakit. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan yaitu dengan menggunakan imunostimulan.

Imunostimulan adalah zat atau senyawa tertentu yang dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non spesifik, dan terjadi induksi non spesifik baik mekanisme pertahanan seluler maupun humoral. Pertahanan non spesifik terhadap antigen ini disebut paramunitas, dan zat berhubungan dengan penginduksi disebut paraimunitas. Induktor semacam ini biasanya tidak atau sedikit sekali kerja antigennya, akan tetapi sebagian besar bekerja sebagai mitogen yaitu meningkatkan proliferasi sel yang berperan pada imunitas (Rizka Hanifah, 2011). Imunostimulan ini bisa berupa senyawa biologi, sintesis atau bahan lainnya seperti : Ekstrak agar, agar uniseluler, vaksin, β -glukan, LPS, dan vitamin A, B dan C dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Imunostimulan dan probiotik terbukti meningkatkan resistensi udang, ikan dan hewan akuakultur lainnya terhadap infeksi.

Beberapa hasil penelitian menjelaskan β -glukan meningkatkan ketahanan terhadap infeksi bakteri seperti *Vibrio anguillarum*,

V. salmonicida dan *Yersinia ruckeri* (Robersten *dkk.*, 1990). Menurut Smith *dkk.* (2003), kriteria pemilihan imunostimulan untuk udang yaitu:

- a. Biaya murah
- b. Pemberian mudah
- c. Manjur
- d. Toksisitas bagi inang rendah

Imunostimulan mendapat perhatian dan tuntutan lebih untuk keberhasilan dalam mendukung kelangsungan hidup krustasea terhadap eksprimen paparan mikroorganisme meliputi tipe utama yaitu,

1. Bakteri hidup
2. Bakteri yang dimatikan
3. Glukan
4. Peptidoglikan
5. Lipopolisakarida (LPS)

Glukan, peptidoglikan dan lipopolisakarida berasal dari dinding sel bakteri non patogenik dan jamur. Bahan-bahan tersebut digunakan karena pengaruhnya dalam meningkatkan sistem imun pada udang, senyawa imunostimulator biasanya diberikan melalui : perendaman, pakan tambahan dan penyuntikan.

Keuntungan imunostimulan pada budidaya (Smith *dkk.*, 2003) adalah sebagai berikut :

- Efektif dan ramah lingkungan
- Tidak ada efek samping

- Mengembangkan ketahanan terhadap resiko berbagai penyakit
- Tersedia secara lokal

Imunostimulan bertindak melalui mekanisme sebagai berikut :

- Stimulator Limfosit,-T, adjuvan, glucan, muramiyl dipeptida
- Stimulator sel-B, *lipopolysaccharides*
- Agen inflamasi menginduksi chemotaxis-silia dan partikel carbon
- Membran sel pengubah-deterjen, sodium *dodecylsulphate*, senyawa amonium, saponin
- Faktor nutrisi-Vitamin C dan E
- *Cytokine-leukotriene, interferon*

E. Bakteri *V. harveyi*

Pengembangan pesat budidaya komersil udang penaeid terancam oleh penyakit *Vibrio* yang mempengaruhi kelangsungan hidup dan pertumbuhan. Spesies *Vibrio* adalah flora asli organisme laut dan merupakan kelompok terpenting dalam lingkungan laut, mendekati 80 % dari populasi bakteri di permukaan air di Laut Pasifik bagian barat (Tsukamoto *dkk.*, dalam Aguirre *dkk.*, 2002).

Vibrio merupakan genus yang dominan pada lingkungan air payau dan estuaria. *Vibrio* adalah bakteri Gram-negatif dengan sel berbentuk batang atau batang melengkung dan bersifat motil. Hampir semua spesiesnya memerlukan NaCl untuk pertumbuhannya. *Vibrio* umum dijumpai di lingkungan laut dan merupakan spesies yang umum dijumpai

dalam flora normal intestinum ikan dan beragam invertebrata perairan sehingga kebanyakan *Vibrio* sebetulnya patogen oportunistik. *Vibrio* penyebab vibriosis merupakan salah satu penyusun flora normal dalam lingkungan akuatik dan kemungkinan menyebabkan penyakit dapat muncul setiap saat yaitu manakala terjadi ketidakseimbangan hubungannya antara inang, lingkungan dan *vibrio* patogen. Spesies *vibrio* yang dikenal sebagai patogen seperti *V. anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. damsela*, *V. vulnificus*, *V. carchariae*, *V. cholerae* dan *V. ordalii*. Vibriosis ditandai oleh perubahan warna kulit (melanosis), munculnya luka nekrotik hemoragik pada jaringan otot abdominal dan eritema (erythema, bercak darah) pada pangkal sirip, celah insang dan mulut, sedangkan intestinum dan rektum mungkin membesar dan berisi cairan bening (Sorensen and Larsen, 1986; Mims, 1988; Sinderman, 1990, Austin, 1999 dalam Irianto, 2003)

Infeksi bakteri *Vibrio* memperlihatkan tanda klinis pada organ luar atau insang yang terlihat hitam atau coklat karena produksi melanin hemosit udang. Sindrom ini disebut penyakit bintik coklat. Septicemia vibriosis dan infeksi *Vibrio sp* pada bagian internal memperlihatkan tanda-tanda umum stress seperti otot perut bertambah buram, bertambahnya chromatophore khususnya chromatophore hitam dan coklat pada permukaan punggung, menyebabkan pigmentasi sedikit lebih gelap dibanding udang normal dan bertambahnya chromatophore merah pada kaki jalan dan kaki renang sehingga berwarna kemerahan dan terkadang

ruas perut belakang agak lentur dan puncaknya pada ruas perut ketiga (Sindermann *dkk.*, 1988)

Vibrio adalah mikroorganisme menguntungkan dalam ekosistem normal udang penaeid dan hanya menjadi penyebab penyakit pada kondisi yang lebih mendukungnya dibanding inang. Ketidakseimbangan spesies *Vibrio* dalam air pemeliharaan atau dalam saluran pencernaan (Gut intestine tracts) udang dan ikan, dapat menyebabkan penyakit (Rengpipat, 1998). Goarant *dkk.* (1998) dalam Aguirre *dkk.* (2002) menyarankan bahwa kepekaan yang berbeda dan spesifik terhadap *Vibrio* tergantung pada spesies udang dan geografi asal isolat-isolat bakteri yang mungkin berhubungan dengan beberapa sel reseptor udang atau patogenisitas dari isolat-isolat *Vibrio*. *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. campbelli*, *V. splendidus*, *V. damsela*, *V. parahaemolyticus* dan *V. harveyi* adalah spesies *Vibrio* patogen utama yang menyerang udang penaeid, Lightner (1996) dalam Aguirre *dkk.* (2002). Empat spesies *Vibrio* yang potensial menjadi patogen terhadap udang putih Amerika (*L. Vannamei*) adalah *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* dan *V. penaeicida* (Aguirre *dkk.*, 2002).

V. harveyi lebih mematikan pada stadia-stadia udang yang lebih muda (Rengpipat *dkk.*, 1998). Hasil penelitian Aguirre *dkk.* (2002) menemukan bahwa stadia naupli *vannamei* yang terinfeksi *V. harveyi* secara signifikan sintasannya lebih rendah dibanding kontrol dan mortalitas yang lebih rendah pada dosis 10^3 cfu mL⁻¹ dibanding dosis

10^5 & 10^7 cfu mL⁻¹ dengan tingkat mortalitas signifikan pada stadia larva vannamei protozoa 1 sampai post larva 1. *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus* menunjukkan pada 10^5 & 10^7 cfu mL⁻¹ dengan tingkat mortalitas tertinggi pada 10^7 cfu mL⁻¹. Stadia naupli sampai protozoa III udang vannamei menunjukkan kerentanan yang lebih besar terhadap patogen tersebut dibanding stadia mysis 1 sampai post larva 1.

Hasil uji tantang dari *Vibrio* spp terhadap udang windu (PL 20) yang diberi ekstrak kasar imunostimulan LPS dari *E. coli* selama 96 jam menunjukkan adanya kecenderungan menurunnya kematian udang seiring dengan meningkatnya dosis serta bertambahnya waktu pemberian imunostimulan (Tahir, 1997). Penggunaan imunostimulan β -glukan dan Lipopolisakarida pada udang yang dipapar dengan bakteri patogen *V. harveyi* dengan konsentrasi 5×10^4 cfu/ml dengan perendaman selama 96 jam mampu meningkatkan sintasan udang. Udang windu (*P. monodon*) yang direndam dalam larutan β -glukan yang selanjutnya dipapar dengan *V. vulnificus* dengan konsentrasi 5×10^4 cfu/ml selama 12 jam memperlihatkan peningkatan daya pertahanan terhadap bakteri dalam bentuk peningkatan aktivitas phenoloxidase dalam hemosit udang (Sung dkk., 1994). Pemberian imunostimulan β -glukan dan Lipopolisakarida pada post larva *P. monodon* (PL 15) dan selanjutnya ditantang dengan *V. harveyi* selama 96 jam berpengaruh terhadap respon imun dan sintasan (Rantetondok, 2002).