

PENINGKATAN RESISTENSI LARVA UDANG WINDU (*Penaeus monodon*) MELALUI PENAMBAHAN IMUNOSTIMULAN PADA PAKAN MIKRO

Fris Johnny¹⁾, Zafran¹⁾, Des Roza¹⁾, Haryanti¹⁾, dan Ketut Suwirya¹⁾

ABSTRAK

Dalam upaya meningkatkan daya tahan larva udang terhadap serangan penyakit, telah dilakukan percobaan pengaruh imunostimulan terhadap larva udang windu melalui pakan mikro. Percobaan ini bertujuan untuk melihat pengaruh penambahan imunostimulan peptidoglikan ke dalam pakan mikro terhadap sintasan larva udang windu sampai stadia pasca-larva 1 dan ketahanannya terhadap infeksi *Vibrio harveyi* melalui ujiantang pada stadia PL-1 selama 24 jam pengamatan. Imunostimulan yang diujikan adalah peptidoglycan dengan konsentrasi yang berbeda, dalam 100 g pakan mikro yaitu 0,005% (A), 0,01% (B), 0,02% (C), dan 0,00% kontrol (D). Percobaan dilakukan dalam bentuk Rancangan Acak Lengkap dengan tiga ulangan. Hasil percobaan menunjukkan bahwa larva udang windu memberikan respon positif terhadap imunostimulan, dan imunostimulan pada konsentrasi 0,02 g/100 g pakan mikro merupakan konsentrasi yang efektif untuk meningkatkan daya tahan larva udang windu.

ABSTRACT: *Increase of resistance of giant tiger prawn *Penaeus monodon* larvae, by addition of immunostimulant into microdiet. By: Fris Johnny, Zafran, Des Roza, Haryanti, and Ketut Suwirya*

An experiment on microdiets supplemented with immunostimulant was conducted at Gondol Research Institute for Mari-culture, Bali. On 100 g microdiet, the immunostimulant was given in different concentrations, namely 0,005% (A), 0,01% (B), 0,02% (C), and 0,00% control (D). The aim of the experiment was to determine the effects of immunostimulant on microdiet on the survival and resistance of giant tiger prawns larvae up to PL-1. The experiment was arranged in completely randomized design with three replicates. The results showed that the addition of immunostimulant into microdiet improved the survival rate and 0.02 g/100 g microdiet concentration was effective.

KEYWORDS: *immunostimulant, microdiet, *Penaeus monodon**

PENDAHULUAN

Larva udang windu, *Penaeus monodon* sudah lama diketahui sensitif terhadap infeksi *Vibrio harveyi* (Roza & Zafran, 1992; Zafran *et al.*, 1994). Udang yang terserang terlihat bercahaya dalam kondisi gelap. Cara yang paling umum untuk mengatasi infeksi *V. harveyi* di panti benih udang adalah penggunaan antibiotik, tapi cara tersebut ternyata telah memicu berkembangnya strain vibrio yang resisten terhadap berbagai antibiotik yang umum digunakan (Zafran *et al.*, 1997). Dalam memproduksi benih udang windu, cara lain yang dapat diterapkan dalam pengendalian infeksi *V. harveyi* adalah vaksinasi. Itami *et al.* (1989) telah membuktikan bahwa vaksinasi efektif meningkatkan daya tahan *Penaeus japonicus* terhadap infeksi vibrio. Zafran *et al.* (1998) juga telah membuktikan bahwa perendaman nauplius udang windu dalam bakterin mampu menekan mortalitas larva udang windu akibat infeksi *V. harveyi*.

Peningkatan daya tahan larva udang penaeid terhadap infeksi vibrio juga dapat dilakukan melalui penambahan sel bakteri vibrio yang sudah dimatikan ke dalam pakan mikro (Itami *et al.*, 1991; Zafran *et al.*, 1998).

Di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol, pengendalian *Vibrio harveyi* telah dilakukan dengan beberapa upaya, antara lain pengendalian dengan antibiotik (Zafran & Roza, 1993; Zafran *et al.*, 1997), pengaturan salinitas air pemeliharaan larva (Roza, 1993), secara kontrol biologi (Roza, 1995; Roza *et al.*, 1997; Roza & Zafran, 1998), pemanfaatan fitoplankton (Taufik *et al.*, 1996) dan penggunaan bakterin baik melalui pakan mikro maupun perendaman (Itami *et al.*, 1989; Itami *et al.*, 1992^a; Itami *et al.*, 1992^b; Zafran *et al.*, 1998^a; Zafran *et al.*, 1998^b; Zafran *et al.*, 1998^c).

Belakangan ini mulai populer penggunaan imunostimulan sebagai metode penanggulangan penyakit. Keistimewaan imunostimulan dibandingkan

¹⁾ Peneliti pada Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol

vaksinasi adalah sifatnya yang tidak spesifik, artinya bahan tersebut mampu merangsang peningkatan ketahanan ikan atau udang terhadap berbagai penyakit. Imunostimulan merupakan sekelompok senyawa biologi dan sintesis yang dapat meningkatkan tanggapan kebal non-spesifik, sehingga dapat dijadikan alternatif untuk penggunaan vaksin dan antibiotik dalam perlindungan terhadap serangan penyakit. Peptidoglikan merupakan salah satu imunostimulan yang terbuat dari dinding sel jamur, mekanisme kerja imunostimulan diduga dengan cara meningkatkan aktivitas fagositik (Raa *et al.*, 1992; Anderson, 1996).

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh penambahan imunostimulan peptidoglycan ke dalam pakan mikro terhadap sintasan larva udang windu sampai stadia pasca-larva 1 dan ketahanannya terhadap infeksi *Vibrio harveyi* melalui ujiantang pada stadia PL-1 selama 24 jam pengamatan.

BAHAN DAN METODE

Larva Uji

Larva yang digunakan dalam percobaan ini adalah larva udang windu stadia naupli. Larva dipelihara dalam 12 bak serat kaca volume 500 L air laut dengan kepadatan 50 ekor larva per liter.

Imunostimulan

Imunostimulan yang digunakan adalah peptidoglycan (PG), diekstrak dari bakteri *Bifidobacterium*. PG

ditambahkan dengan prosentase yang berbeda ke dalam pakan mikro yaitu masing-masing 0% (Kontrol); 0,005% (A); 0,01% (B); dan 0,02% (C). Penelitian dilakukan dalam bentuk Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga ulangan.

Pakan Mikro

Untuk pembuatan pakan mikro, bahan utama yang digunakan adalah tepung ikan, tepung udang, dan tepung cumi. Komposisi lengkap dari pakan mikro yang digunakan disajikan dalam Tabel 1. Pakan dibuat dalam dua ukuran yang berbeda yakni yang lewat saringan 88 mm untuk larva stadia zoea-mysis dan yang lewat saringan 175 mm untuk larva stadia mysis-PL. Pakan diberikan dua kali sehari masing-masing pada pukul 08.00 dan 15.00 WITA. Pengamatan dilakukan terhadap sintasan larva sampai PL-1 dan setelah ujiantang selama 24 jam.

Uji Tantang

Pasca-larva 1 dari masing-masing kelompok perlakuan dimasukkan masing-masing 100 individu ke dalam gelas kaca volume 2,5 L yang diisi 2 L air laut yang sudah disterilisasi menggunakan sinar ultra violet. Masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Ke dalam tiap gelas kaca tersebut selanjutnya diinfeksi bakteri *V. harveyi* hidup berumur 24 jam pada kepadatan 10⁶ cfu/mL. Pengamatan dilakukan terhadap sintasan larva selama 24 jam.

Tabel 1. Komposisi pakan uji
Table 1. Composition of tested diet

Bahan Ingredient	Persentase/Percentage (%)			
	A	B	C	D
Peptidoglikan/Peptidoglycan	0.005	0.01	0.02	0
Kasein/Casein	27	27	27	27
Tepung ikan/Fish meal	20	20	20	20
Tepung udang/Shrimp meal	10	10	10	10
Tepung cumi/Squid meal	10	10	10	10
Dekstrin/Dextrine	2	2	2	2
Kolesterol/Cholesterol	0.5	0.5	0.5	0.5
Lesitin/Lecithin	3	3	3	3
Minyak cumi/Squid oil	3	3	3	3
Minyak kedelai/Soybean oil	3	3	3	3
Campuran vitamin/Vitamin mix	5	5	5	5
Campuran mineral/Mineral mix	8	8	8	8
Karaginan/Carrageenan	8	8	8	8
Selulosa/Cellulose	0.49	0.49	0.48	0.5
Total	100	100	100	100

HASIL DAN BAHASAN

Dari percobaan ini, pengaruh penggunaan peptidoglycan sebagai imunostimulan terhadap sintasan dengan dosis yang berbeda disajikan pada Tabel 2.

Dari Tabel 2 terlihat bahwa secara statistik penggunaan imunostimulan dengan dosis yang berbeda dalam pakan mikro tidak mempunyai pengaruh yang berbeda terhadap sintasan dibanding dengan kontrol. Akan tetapi, setelah dilakukan uji tantang dengan menggunakan *V. harveyi* hidup selama 24 jam (Tabel 3) semua perlakuan memberikan tingkat sintasan lebih baik daripada kontrol (D). Hal ini diduga karena pada dosis yang rendah penggunaan imunostimulan kurang efektif dan pada dosis lebih tinggi akan terjadi penekanan mekanisme pertahanan. Dan pemberian imunostimulan dosis tinggi ataupun rendah akan

menjadi supresor (Tizard, 1988) serta peningkatan dosis pemberian imunostimulan tidak selalu memberikan hasil optimal (Raa *et al.*, 1992).

Udang windu pasca-larva yang diberi pakan yang diperkaya dengan peptidoglycan tumbuh lebih cepat, lebih tahan terhadap stres dan sintasanya lebih tinggi dibanding kontrol (Boonyaratpalin *et al.*, 1995). Menurut Sung *et al.* (1994) bahwa pasca-larva udang windu yang direndam selama 3 jam dalam suspensi glukcan meningkat ketahanannya terhadap infeksi vibrio. Pada udang aspek yang dipengaruhi oleh imunostimulan terutama adalah peningkatan aktivitas fagositosis sel-sel darah udang atau krustase terhadap organisme patogen (Itami *et al.*, 1994). Soderhall & Cerenius (1992), dan Soderhall (1998) menyatakan, prinsip sistem pertahanan utama krustase untuk mengatasi

Tabel 2. Sintasan (%) larva udang windu dengan penggunaan imunostimulan pada konsentrasi yang berbeda dalam 100 g pakan mikro sampai pada stadia pasca larva-1

Table 2. Survival rates (%) of *Penaeus monodon* larval with different concentration of immunostimulant in 100 g microdiet until PL-1 stage

Perlakuan Treatment	Setelah uji tantang (After challenge test)			
	0 jam (0 hour)		24 jam (24 hours)	
	Ind./L	%	Ind./L	%
0.005% (A)	100.00	100.00	84.33 ± 10.9697	84.33 ± 10.9697 ^b
0.01% (B)	100.00	100.00	82.67 ± 2.0817	82.67 ± 2.0817 ^b
0.02% (C)	100.00	100.00	87.33 ± 4.5092	87.33 ± 4.5092 ^b
Kontrol (Control) (D)	100.00	100.00	63.33 ± 4.5092	63.33 ± 4.5092 ^a

Angka rata-rata sintasan yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata secara statistik (Values in column followed by the same superscripts are not significantly different) (P>0.05)

Tabel 3. Sintasan (%) larva udang windu stadia PL-1 setelah uji tantang dengan bakteri *Vibrio harveyi* hidup pada kepadatan 10⁶ cfu/mL selama 24 jam

Table 3. Survival rates (%) of *Penaeus monodon* larval at PL-1 stage after challenge test with *Vibrio harveyi* at 10⁶ cfu/mL for 24 hours

Stadia Stages		Perlakuan/Treatment			
		0.005 % (A)	0.01 % (B)	0.02 % (C)	Kontrol (D) Control
Naupli	Ind./L	50.00 ± 0.0000	50.00 ± 0.0000	50.00 ± 0.0000	50.00 ± 0.0000
Nauplius	%	100.00 ± 0.0000	100.00 ± 0.0000	100.00 ± 0.0000	100.00 ± 0.0000
Zoea	Ind./L	36.00 ± 2.0000	28.40 ± 6.7290	26.00 ± 7.2111	27.47 ± 7.3901
Zoea	%	72.00 ± 4.0000	56.80 ± 13.4581	52.00 ± 14.4222	55.07 ± 14.6647
Misis	Ind./L	26.00 ± 3.0000	20.67 ± 5.0332	17.67 ± 4.1633	22.33 ± 8.7369
Mysis	%	52.00 ± 6.0000	41.33 ± 10.0664	35.33 ± 8.3267	44.67 ± 17.4738
PL-1	Ind./L	14.73 ± 2.4338	14.27 ± 3.5698	16.53 ± 2.4786	14.20 ± 1.4000
PL-1	%	29.47 ± 4.8676 ^a	28.53 ± 7.1396 ^a	33.07 ± 4.9571 ^a	28.40 ± 2.8000 ^a

Angka rata-rata sintasan yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata secara statistik (Values in column followed by the same superscripts are not significantly different) (P>0.05)

patogen adalah fagositosis, nodulasi, dan enkapsulasi. Untuk itu imunostimulan perlu dikembangkan dalam upaya peningkatan tanggap kebal larva udang windu walaupun udang tidak mempunyai antibodi. Pemberian imunostimulan dapat meningkatkan daya tahan ikan dan udang dari infeksi patogen dengan cara mempertinggi tanggap kebal (Raa *et al.*, 1992; Bachere, 1998). Dari percobaan Devaraja *et al.* (1998) terlihat bahwa pemberian kombinasi bakterin *Vibrio* dengan glukan secara oral pada udang windu dapat meningkatkan aktivitas bakteriosidal dan hemosit. Sedangkan Van de Braak & Van der Knaap (1998) melaporkan pula bahwa penyuntikan lipopolisakarida (LPS) dapat meningkatkan aktivitas hemosit.

Kualitas air selama percobaan berlangsung masih berada dalam ambang batas yang layak untuk pemeliharaan larva udang windu dan tidak ada perbedaan untuk semua perlakuan, data kisaran kualitas air disajikan pada Tabel 4.

KESIMPULAN

Pemberian imunostimulan peptidoglukan dalam pakan mikro dengan konsentrasi 0,02 gram/100 g pakan pada larva udang windu merupakan konsentrasi terbaik dan dapat meningkatkan kekebalan larva udang windu terhadap infeksi *V. harveyi*.

Tabel 4. Rata-rata beberapa parameter kualitas air selama percobaan
Table 4. Averages of water quality parameters during experiment

Perlakuan Treatment	Suhu (°C) Temperature	pH	Salinitas (ppt) Salinity	DO (mg/L)
0.005 % (A)	27.7-29.9	8.36-8.42	29.0-31.7	3.15-6.15
0.01 % (B)	27.8-30.1	8.35-8.41	29.3-32.0	3.12-6.30
0.02 % (C)	27.7-30.1	8.38-8.42	29.3-31.7	2.97-6.11
Kontrol (D) Control	27.8-30.1	8.32-8.40	29.7-32.0	3.06-6.22

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan Saudara Putu Suarjana, Slamet Haryanto, dan Sri Suratmi (Teknisi Laboratorium Patologi), serta seluruh Teknisi Hatcheri.

DAFTAR PUSTAKA

Anderson, D.P. 1996. Environmental factors in fish health: immunological aspects. *In: The Fish Immuno System: Organism, Pathology, and Environment*. G. Iwan and T. Nakanishi (Eds.). Academic Press. USA. p. 289-310.
Bachere, E. 1998. Shrimp immunity and disease control: an integrated approach. *In: Flegel TW (Ed.). Advances in Shrimp Biotechnology*. National Center for

Genetic Engineering and Biotechnology. Bangkok. p.129-134.
Boonyaratpalin, S., M. Boonyaratpalin, K. Supamattaya, and Y. Toride. 1995. Effects of peptidoglycan (PG) on growth, survival, immune response, and tolerance to stress in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *In: Sharif, M., J.R. Arthur, and R.P. Subasinghe (Eds.). Diseases in Asian Aquaculture II*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. p.469-477.
Devaraja, T.N., S.K. Otta, G. Shubba, I. Karunasagar, P. Tauro, and I. Karunasagar. 1998. Immunostimulation of shrimp through oral administration of *Vibrio* bacterin and yeast glukan. *In: Flegel TW (Ed.). Advances in Shrimp Biotechnology*. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. Bangkok. p.167-170.
Itami, T., Y. Takahashi and Y. Nakamura. 1989. Efficacy of vaccination against vibriosis in cultured kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *J. Aqua. Anim. Health*. 1(3):238-242.
Itami, T., Y. Yand and Y. Takahashi. 1992^a. Studies on vaccination against vibriosis in cultured kuruma prawn *Penaeus japonicus*. 1. Effect of vaccine concentration and duration of vaccination efficacy. *J. Shimonoseki-Univ. Fish-Suisandai-Kenpo*. 40(2):83-87.
Itami, T., Y. Yand and Y. Takahashi. 1992^b. Studies on vaccination against vibriosis in cultured kuruma prawn *Penaeus japonicus*. 2. Effect of different vaccine preparations and oral vaccination efficacy. *J.*

Shimonoseki-Univ. Fish-Suisandai-Kenpo. 40 (3):139-144.
Itami, T., Y. Takahashi, E. Tsuchihira, H. Igusa, and M. Kondo. 1994. Enhancement of disease resistance of Kuruma Prawn *Penaeus japonicus* and Increase in phagocytic activity of prawn hemocytes after administration of fÅ-1,3 glukan (schizophyllan). *In: Chou et al. (Eds.). Proceeding of the Third Asian Fisheries Forum*. The Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. p.375-378.
Raa, J., G. Roerstad, R. Engstad and B. Robertsen. 1992. The used of immunostimulants to increase resistance of aquatic organism to microbial infection. *In: M. Shariff, R.P. Subangsinghe and J.R. Arthur (Eds.). Diseases in Aquaculture I*. Fish Health Section. Asian Fisheries Society. Manila. Philippines. p.39-50.
Roza, D. and Zafran. 1992. Karakteristik beberapa isolat bakteri bercahaya yang diisolasi dari larva udang

- windu. *Penaeus monodon*. *J. Penelitian Budidaya Pantai*. 8(3):93-98.
- Roza, D. 1993. Pengendalian populasi bakteri *Vibrio harveyi* di hatchery udang windu. *Prosiding Simposium Perikanan Indonesia I*. Jakarta, 25-27 Agustus 1993.
- Roza, D. 1995. Uji coba penggunaan *Flavobacterium* spp. sebagai kontrol biologi untuk pengendalian *Vibrio harveyi* di hatchery udang windu (*Penaeus monodon*). *Disajikan pada Seminar Ilmiah XIV dan Kongres Biologi XI*. Universitas Indonesia, Depok, 24-27 Juli 1995. 10 pp.
- Roza, D. Zafran, I. Taufik, and M.A. Girsang. 1997. Pengendalian *Vibrio harveyi* secara biologis pada larva udang windu (*Penaeus monodon*): I. Isolasi bakteri penghambat. *J. Penelitian Perikanan Indonesia*. III(4):1-9.
- Roza, D. and Zafran, 1998. Pengendalian *Vibrio harveyi* secara biologis pada larva udang windu (*Penaeus monodon*): Aplikasi bakteri penghambat. *J. Penelitian Perikanan Indonesia*. IV(2):24-30.
- Soderhall, K., and L. Cerenius. 1992. Crustacean Immunity. *Annual Review of Fish Disease*. p. 3-23.
- Soderhall, K. 1998. Review of crustacean immunity. *In: Flegel TW (Ed.). Advances in Shrimp Biotechnology*. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. Bangkok. p. 135-136.
- Sung, H.H., G.H. Kou, and Y.L. Song. 1994. Vibriosis resistance induced by glucan treatment in tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Fish Pathology*. 29(1):11-17.
- Itami, T., Y. Takahashi, K. Yoneoka, and Y. Yan. 1991. Survival of larvae giant tiger prawns *Penaeus monodon* after addition on killed vibrio cells to microencapsulated diet. *J. Aquatic Animal Health*. 3(2):151-152.
- Taufik, I., Zafran, I. Koesharyani, and D.R. Boer. 1996. Pemanfaatan fitoplankton untuk menekan perkembangan bakteri bercahaya (*Vibrio harveyi*). *J. Penel. Perikanan Indonesia*. Vol. II(2):37-41.
- Tizard, I. 1988. An introduction to veterinary immunology. Penerjemah: P. Masduki dan S. Hardjosworo. *Pengantar Immunologi Veteriner*. Universitas Airlangga. Surabaya. 497 pp.
- Van de Braak, C.B.T., and W.P.W. Van der Knaap. 1998. Influence of LPS- injection on morphological, antigenic and functional aspects of hemocytes from *Penaeus monodon*. *In: Flegel TW (Ed.). Advances in Shrimp Biotechnology*. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. Bangkok. p. 193-194.
- Zafran and D. Roza. 1993. Teknik penanggulangan penyakit udang menyala di hatchery melalui pengendalian populasi bakteri. *J. Penel. Budidaya Pantai*. 9(2):127-132.
- Zafran, D. Roza, K. Sugama, S. Wada, and K. Hatai. 1994. Histological study of luminescent *Vibrio harveyi* infection hatchery reared larvae of *Penaeus monodon*. *In: Chou, L.M. et al. (Eds.). Proceedings of the Third Asian Fisheries Forum*. The Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. p.294-297
- Zafran, D. Roza and I. Koesharyani. 1997. Resistensi isolat *Vibrio* dari beberapa panti benih udang windu (*Penaeus monodon*) terhadap obat-obatan antibiotik. *J. Penelitian Perikanan Indonesia*. III(1):11-15
- Zafran, D. Roza, I. Koesharyani, F. Johnny, and K. Yuasa. 1998^a. *Manual for Fish Diseases and Diagnosis Marine Fish and Crustacean Diseases in Indonesia*. Lolitkanta Gondol, Puslitbangkan, Balitbang Pertanian, JICA.
- Zafran, D. Roza, and K. Suwiry. 1998^b. Peningkatan sintasan dan ketahanan larva udang windu (*Penaeus monodon*) melalui penambahan bakteri *Vibrio harveyi* ke dalam pakan mikro. *J. Penelitian Perikanan Indonesia*. IV(3);
- Zafran, D. Roza, F. Johnny, I. Koesharyani, and K. Hatai. 1998^c. Increased survival of *Penaeus monodon* larvae treated with *Vibrio harveyi* bacterin. *Proceeding of the International Symposium on Diseases in Marine Aquaculture*. *Fish Pathology*. 33(4).

RESPON IKAN KERAPU BEBEK, *Cromileptes altivelis* TERHADAP IMUNOSTIMULAN PEPTIDOGLYCAN MELALUI PAKAN PELET

Fris Johnny¹⁾, Isti Koesharyani¹⁾, Des Roza¹⁾, Tridjoko¹⁾, Nyoman Adiasmara Giri¹⁾, dan Ketut Suwirya¹⁾

ABSTRAK

Suatu percobaan untuk meningkatkan kekebalan non-spesifik pada ikan kerapu bebek dengan menggunakan imunostimulan peptidoglycan dalam pakan pelet telah dilakukan di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol. Perlakuan konsentrasi imunostimulan yang dicoba adalah: kontrol (A); 0,1 g (B); 0,2 g (C); dan 0,4 g/kg pakan (D). Ikan uji dipelihara dalam bak serat kaca ukuran dua ton yang diisi air laut sebanyak satu ton dan diaerasi dengan menggunakan sistem air mengalir. Aklimatisasi dilakukan selama dua minggu dan pakan pelet diberikan dua kali sehari. Setiap perlakuan menggunakan 15 ekor ikan uji dengan bobot antara 100-250 g. Setiap tiga minggu dilakukan pengambilan darah ikan untuk pengujian tanggap kebal non-spesifik. Parameter yang diamati adalah kepadatan isi sel darah (PCV), tingkat haemoglobin (Hb), aktivitas fagositik (PA), indeks fagositik (PI), dan aktivitas lisosim (LA). Hasil percobaan menunjukkan bahwa pada perlakuan 0,2 g (C) rata-rata PA sebesar 8,80% dan kontrol 2,80%; PI sebesar 2,20 dan kontrol 1,66; LA sebesar 1,92 cm dan kontrol 1,72 cm. Dapat disimpulkan bahwa pemberian imunostimulan peptidoglycan dalam pakan pelet pada ikan kerapu bebek dapat meningkatkan tanggap kebal non-spesifik.

ABSTRACT: *Response of humpback grouper, Cromileptes altivelis on the adaptation of immunostimulant peptidoglycan into pellets. By: Fris Johnny, Isti Koesharyani, Des Roza, Tridjoko, Nyoman Adiasmara Giri, and Ketut Suwirya*

An experiment to increase humpback grouper, non-specific immune response through its pelleted feed supplemented with immunostimulant was conducted at Gondol Research Institute for Mari-culture, Bali. The immunostimulant added was in different concentrations: control (A), 0.1 g (B), 0.2 g (C), and 0.4 g/kg pellet (D). Average indicators of non-specific immune response in 0.2 g (C) concentration, were PA: 8.80% and control 2.80%; PI: 2.20 and control 1.66; and LA: 1.92 cm and control 1.72 cm. The results showed that the addition of immunostimulant peptidoglycan into pellet could increase the non-specific immune response of humpback grouper.

KEYWORDS: *immunostimulant, peptidoglycan, Cromileptes altivelis, pellet*

PENDAHULUAN

Kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* merupakan komoditas yang berpotensi untuk dikembangkan karena mempunyai nilai ekonomis tinggi. Di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Bali budi daya ikan ini sudah berhasil dikembangkan sejak tahun 1996 (Aslianti, 1996). Selain sebagai ikan konsumsi juga digunakan sebagai ikan hias pada saat ukuran yuwana, di samping itu harga ikan ini relatif mahal dibandingkan ikan kerapu jenis lainnya.

Di dalam budi daya ikan sering dijumpai masalah terutama penyakit yang menyebabkan kematian baik pada pemeliharaan induk maupun larva yang berasal dari alam dan dikondisikan dalam wadah budi daya dengan penyebab yang belum dapat dipastikan. Kematian pada umumnya terjadi setelah ikan dikondisikan dalam bak penampungan induk selama 6 bulan. Kematian tersebut mungkin disebabkan oleh

atau faktor seperti defisiensi nutrisi sehingga lama-kelamaan ikan menjadi lemah dan rentan terhadap penyakit. Salah satu upaya untuk pencegahannya adalah penggunaan imunostimulan yang dicampurkan dalam pakan. Aplikasi imunostimulan ini sudah banyak diterapkan pada beberapa jenis ikan maupun udang baik melalui pakan maupun melalui suntikan (Yano *et al.*, 1989; Chen & Ainsworth, 1992; Raa *et al.*, 1992; Santarem *et al.*, 1997; Sung *et al.*, 1994; Rukyani *et al.*, 1997; Zafran *et al.*, 1998).

Penggunaan imunostimulan pada ikan telah banyak dilaporkan, di antaranya Yano *et al.*, (1989) melaporkan bahwa penyuntikan schizophyllan, scleroglucan dan lentinan dengan dosis 2-10 mg/kg pada ikan mas, *Cyprinus carpio* meningkatkan PI lebih tinggi dari kontrol. Penyuntikan imunostimulan Schizophyllan b-1,3 glucan dan scleroglucan dengan dosis 2-10 mg/kg dapat meningkatkan kekebalan terhadap infeksi bakteri *Streptococcus* dengan

¹⁾ Peneliti pada Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol

meningkatnya aktivitas lisosim pada ikan *yellowtail*, *Seriola quinqueradiata* (Matsuyama *et al.*, 1992). Pada ikan lele, penyuntikan b-1,3 glucan secara intraperitoneal dengan dosis 50 mg dapat mengurangi angka kematian dari infeksi bakteri *Edwardsiella ictaluri* dan meningkatkan fagositik serta kemampuan bakterisidal (Chen & Ainsworth, 1992). Pemberian peptidoglukan 10 mg/kg bobot pada yuwana ikan trout, *Oncorhynchus mykiss* dapat meningkatkan kekebalan dari infeksi bakteri *V. anguillarum* (Matsuo & Miyazono, 1993). Penyuntikan glucan pada ikan salmon dengan dosis 5% dapat meningkatkan daya tahan ikan terhadap infeksi bakteri patogen dan mempertinggi daya proteksi vaksin furunculosis (Jorgensen *et al.*, 1993). Pada ikan salmon, makrofag setelah distimulasi dengan LPS atau laminaran pada dosis 10 mg dapat meningkatkan fagositik dan aktivitas pinositik (Dalmo & Seljelid, 1995). Glucan dapat pula meningkatkan aktivitas lisosim dan memberikan proteksi yang tinggi terhadap infeksi bakteri *V. anguillarum* (Thompson *et al.*, 1995). Penyuntikan dengan kombinasi imunomodulator 10 mg glucan dapat meningkatkan aktivitas lisosim ikan turbot (Santarem *et al.*, 1997). Sedangkan penyuntikan glucan dengan dosis 10 mg setelah vaksinasi pada ikan turbot dapat mempertinggi aktivitas fagositosis (Figueras *et al.*, 1998). Pada ikan lele dumbo, *Clarias spp.*, pemberian b-glucan dengan dosis 750 mg/kg pakan memberikan sintasan sebesar 83,33% dibanding kontrol sebesar 25% (Rukyani *et al.*, 1997).

Percobaan ini bertujuan untuk memperoleh konsentrasi yang efektif untuk meningkatkan ketahanan dan kekebalan ikan terhadap penyakit dengan penambahan imunostimulan pada pakan buatan.

BAHAN DAN METODE

Ikan uji yang digunakan adalah ikan kerapu bebek hasil budi daya dengan bobot 100-250 g. Imunostimulan yang digunakan adalah peptidoglikan yang diekstrak dari bakteri *Bifidobacterium*. Imunostimulan ditambahkan ke dalam pakan pelet sesuai konsentrasi perlakuan (Tabel 1).

Ikan uji dipelihara dalam wadah ukuran 2 ton berisikan air laut sebanyak 1 ton, diaerasi menggunakan sistem air mengalir. Aklimatisasi dilakukan selama dua minggu, pakan pelet diberikan dua kali sehari. Setiap perlakuan menggunakan 15 ekor ikan uji. Konsentrasi perlakuan imunostimulan adalah :

- ♦ Pakan pelet dasar sebagai kontrol (A)
- ♦ Pakan pelet+imunostimulan peptidoglycan 0,1 g/ kg pakan (B)
- ♦ Pakan pelet+imunostimulan peptidoglycan 0,2 g/ kg pakan (C)
- ♦ Pakan pelet+imunostimulan peptidoglycan 0,4 g/ kg pakan (D).

Setiap tiga minggu dilakukan pengambilan darah ikan untuk pengujian tanggap kebal non-spesifik. Percobaan dirancang dalam bentuk Rancangan Acak Lengkap dengan individu sebagai ulangan. Parameter yang diamati adalah kepadatan isi sel darah (PCV), tingkat haemoglobin (Hb), aktivitas fagositik (PA), indeks fagositik (PI), dan aktivitas lisosim (LA).

HASIL DAN BAHASAN

Hasil percobaan penggunaan imunostimulan pada ikan kerapu bebek dengan konsentrasi yang berbeda melalui pakan buatan terhadap karakteristik darah ikan

Tabel 1. Komposisi pakan uji
Table 1. Composition of tested diet

Bahan Ingredient	Persentase/Percentage (%)			
	A	B	C	D
Peptidoglikan (<i>Peptidoglycan</i>)	0.0	0.2	0.4	0.8
Kasein (<i>Casein</i>)	5.4	5.4	5.4	5.4
Tepung ikan (<i>Fish meal</i>)	57.5	57.5	57.5	57.5
Tepung cumi (<i>Squid meal</i>)	14.0	14.0	14.0	14.0
Tepung kedelai (<i>Soybean powder</i>)	10.0	10.0	10.0	10.0
Mineral campuran (<i>Mineral mix</i>)	2.5	2.5	2.5	2.5
Vitamin campuran (<i>Vitamin mix</i>)	2.0	2.0	2.0	2.0
Minyak cumi (<i>Squid oil</i>)	6.0	6.0	6.0	6.0
Astarsantin (<i>Astaxantine</i>)	0.1	0.1	0.1	0.1
CMC	2.5	2.5	2.5	2.5

disajikan pada Tabel 2 dan terhadap tanggap kebal non-spesifik disajikan pada Tabel 3.

Dari Tabel 2 terlihat bahwa kepadatan isi sel darah (PCV) hasil sampling setelah 3 minggu, imunostimulan pada konsentrasi 0,2 g (C) menunjukkan tingkat PCV tertinggi (38,00%) dibanding perlakuan lainnya. Setelah 6 minggu perlakuan, hasil sampling memperlihatkan imunostimulan pada konsentrasi 0,2 g (C) masih pada tingkat tertinggi (35,70%) tetapi mengalami penurunan dari 3 minggu setelah perlakuan, dan secara statistik tidak berbeda nyata antar perlakuan. Untuk tingkat haemoglobin darah (Hb) pada sampling 3 minggu imunostimulan dengan konsentrasi 0,4 g (D) memperlihatkan Hb tertinggi (7,05 g/100 mL) dibanding perlakuan lain, tetapi pada sampling 6 minggu mengalami penurunan dan konsentrasi 0,2 g (C) memperlihatkan Hb yang tertinggi (6,95%) dibanding perlakuan lainnya. Antara kontrol dengan perlakuan berbeda, tetapi secara statistik antar perlakuan tidak berbeda nyata. Dari percobaan ini terlihat bahwa imunostimulan dapat meningkatkan PCV dan Hb. Nabib & Pasaribu (1989) menyatakan

bahwa apabila persentase PCV di bawah 30% dan tingkat kandungan Hb di bawah 8 g/100 mL. maka ikan tersebut tengah mengalami defisiensi eritrosit. Hubungan Hb dengan eritrosit sangat berkaitan erat terutama dalam transportasi gas. Kebanyakan jenis ikan mengandung Hb dalam eritrositnya seperti pada vertebrata lainnya. Oleh karena suhu darah umumnya rendah, banyak oksigen dapat diangkut sebagai larutan sederhana dalam plasma. Alat pengangkutan dari karbon dioksida, cara utamanya melalui komponen bikarbonat dari darah, hingga kemungkinan kombinasi langsung dengan Hb dalam pembentukan gugus karbamino sangat kecil. Dalam hal ini eritrosit ikan mengandung enzim anhidrase karbonil yang memungkinkan perubahan karbon dioksida menjadi bikarbonat. Jelas, apabila ikan mengalami defisiensi eritrosit maka proses transportasi oksigennya akan terganggu (Anderson & Siwicki, 1992).

Pada Tabel 3 terlihat bahwa perlakuan imunostimulan pada konsentrasi 0,2 g (C) aktivitas fagositik (PA), indeks fagositik (PI) dan aktivitas lisosim (LA) setelah 6 minggu perlakuan memberikan hasil yang

Tabel 2. Rata-rata karakteristik darah ikan kerapu bebek menggunakan imunostimulan pada konsentrasi yang berbeda melalui pakan pelet

Table 2. Averages characteristic of haematological *Cromileptes altivelis* with different concentration of immunostimulant in pellet

Perlakuan Treatment	PCV (%)		Hb (g/100 mL)	
	3 minggu 3 weeks	6 minggu 6 weeks	3 minggu 3 weeks	6 minggu 6 weeks
Kontrol/Control (A)	33.00 ± 6.70	25.90 ± 8.29 ^a	5.70 ± 0.27	5.30 ± 0.21 ^a
0.1 g (B)	32.00 ± 2.20	26.10 ± 8.78 ^a	6.70 ± 0.21	6.85 ± 0.55 ^b
0.2 g (C)	38.00 ± 4.00	35.70 ± 1.75 ^b	6.75 ± 0.18	6.95 ± 0.37 ^b
0.4 g (D)	36.00 ± 4.30	28.20 ± 2.89 ^{ab}	7.05 ± 0.27	6.70 ± 0.21 ^b

Angka rata-rata sintasan yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata secara statistik (Values in column followed by the same superscripts are not significantly different) (P>0.05)

Tabel 3. Rata-rata parameter tanggap kebal non-spesifik ikan kerapu bebek menggunakan imunostimulan pada konsentrasi yang berbeda melalui pakan pelet

Table 3. Averages of immune response non specific parameters *Cromileptes altivelis* with different concentration of immunostimulant in pellet

Perlakuan Treatment	Aktivitas Fagositik (%) Phagocytic Activity		Indeks Fagositik (PI) Phagocytic Index		Aktivitas Lisosim (cm) Lysozime Activity	
	3 minggu 3 weeks	6 minggu 6 weeks	3 minggu 3 weeks	6 minggu 6 weeks	3 minggu 3 weeks	6 minggu 6 weeks
Kontrol Control (A)	6.40 ± 2.07	2.80 ± 0.84 ^a	1.32 ± 0.13	1.66 ± 0.23 ^a	0.80 ± 0.05	1.72 ± 0.31 ^{ab}
0.1 g (B)	8.00 ± 2.23	7.80 ± 1.30 ^b	1.62 ± 0.15	2.14 ± 0.17 ^b	0.85 ± 0.10	1.80 ± 0.24 ^{ab}
0.2 g (C)	8.00 ± 1.58	8.80 ± 1.79 ^b	1.52 ± 0.28	2.20 ± 0.10 ^b	0.86 ± 0.08	1.92 ± 0.21 ^b
0.4 g (D)	8.20 ± 1.92	8.40 ± 1.34 ^b	1.64 ± 0.23	2.12 ± 0.15 ^b	0.89 ± 0.05	1.56 ± 0.15 ^a

Angka rata-rata sintasan yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata secara statistik (Values in column followed by the same superscripts are not significantly different) (P>0.05)

lebih tinggi, yaitu PA sebesar 8,80%; PI sebesar 2,20; dan LA sebesar 1,92 cm. Secara statistik berbeda dengan kontrol, tetapi antar perlakuan tidak berbeda secara nyata, hal ini dapat dinyatakan bahwa imunostimulan mempunyai pengaruh terhadap parameter tanggap kebal ikan non-spesifik. Peningkatan ini merupakan suatu indikasi adanya peningkatan kekebalan pada ikan. Perlakuan dosis 0,2 g terhadap PA, PI dan LA memberikan hasil yang lebih tinggi

1998) dan penyuntikan imunostimulan dengan dosis 5 mg/kg meningkatkan LA sebesar 2,2 cm dibanding kontrol sebesar 1,8 cm (Koesharyani *et al.*, 1999).

Kualitas air selama percobaan berlangsung masih berada dalam ambang batas yang layak untuk pemeliharaan ikan kerapu bebek dan tidak berbeda untuk semua perlakuan, data kisaran kualitas air disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata parameter kualitas air selama masa percobaan
Table 4. Averages of water quality parameters during experiment

Perlakuan Treatment	Suhu Temperature	DO	Salinitas Salinity	pH	NO ₂	NH ₃
Kontrol Control (A)	24.6-25.1	5.6-7.6	35-36	7.96-8.25	0.010-0.217	0.050-0.495
0.1 g (B)	24.3-25.3	5.6-7.6	35-36	7.97-8.84	0.015-0.067	0.050-0.481
0.2 g (C)	24.0-25.0	5.4-7.0	35-36	7.98-8.25	0.022-0.217	0.056-0.679
0.4 g (D)	24.2-25.2	5.6-6.1	35-36	7.96-8.20	0.041-0.070	0.084-0.485

dibandingkan dengan kontrol dan dosis 0,4 g; diduga karena pada dosis yang rendah (0,1 g) imunostimulan belum menstimulir makrofag untuk fagositosis dan aktivitas lisosim, sedangkan pada dosis yang lebih tinggi (0,4 g) menyebabkan terjadi penekanan mekanisme pertahanan (Anderson, 1996; Secombes, 1996; Yano, 1996) dan pemberian imunostimulan dosis tinggi ataupun rendah akan menjadi supresor (Tizard, 1988) serta peningkatan dosis pemberian imunostimulan tidak selalu memberikan hasil optimal (Raa *et al.*, 1992). Itami *et al.*, (1996) melaporkan bahwa pemberian peptidoglikan dalam pakan dengan dosis 0,2 mg/kg pakan selama 21 hari pada ikan *yellowtail*, *Seriola quinueradiata* meningkatkan tanggap kebal non-spesifik dan setelah ujiantang memberikan sintasan (86%) yang lebih tinggi daripada kontrol sebesar 43%.

Imunostimulan merupakan sekelompok senyawa biologi dan sintesis yang dapat meningkatkan tanggap kebal non-spesifik, sehingga dapat dijadikan alternatif untuk penggunaan vaksin dan antibiotik dalam perlindungan terhadap serangan penyakit. Peptidoglikan merupakan salah satu imunostimulan yang terbuat dari dinding sel jamur, mekanisme kerja imunostimulan diduga dengan cara meningkatkan aktivitas oksidatif netrofil (Raa *et al.*, 1992; Anderson, 1996).

Di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, percobaan penggunaan imunostimulan pada ikan kerapu bebek telah dilakukan, di antaranya penggunaan imunostimulan dengan dosis 1% dalam pakan segar ikan lemuru yang dicacah halus dan ditambahkan vitamin campuran memberikan sintasan sebesar 72% dibanding kontrol sebesar 60% (Zafran *et al.*,

KESIMPULAN

Pemberian imunostimulan peptidoglikan dalam pakan pelet dengan konsentrasi 0,2 g/kg pakan pada ikan kerapu bebek merupakan konsentrasi terbaik dan dapat meningkatkan tanggap kebal non-spesifik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan Saudara Slamet Haryanto, Putu Suarjana, dan Sri Suratmi, Teknisi Laboratorium Patologi yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, D.P. and A.K. Siwicki. 1995. Basic haematology and serology for fish health programs. In: M. Syariff, J.R. Arthur, and R.P. Subasinghe (Eds.). *Diseases in Asian Aquaculture II*. Fish Health Section. Asian Fisheries Society. Manila. Philippines. p.185-202.
- Anderson, D.P. 1996. Environmental factors in fish health: immunological aspects. In: G. Iwama and T. Nakanishi (Eds.). *The Fish Immune System: Organism, Pathogen and Environment*. Academic Press. USA. p. 289-310..
- Aslianti, T. 1996. Pemeliharaan larva kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* dengan padat tebar berbeda. *J. Penelitian Perikanan Indonesia* 11(2):6-12.
- Chen, D. and A.J. Ainsworth. 1992. Glucan administration potentiates immune defense mechanism of channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. *J. Fish Diseases*. 15: 295-304.
- Dalmo, R.A. and R. Seljelid. 1995. The immunomodulatory effect of LPS, laminaran and sulphated laminaran {b(1,3)-D-glucan} on Atlantic

- salmon, *Salmo salar* L., macrophages in vitro. *J. Fish Diseases*. 18: 175-185.
- Figueras, A., M.M. Santarem, and B. Novoa. 1998. Influence of the sequence of administration of b-glucans and *Vibrio damsela* vaccine on the immune response of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 64: 59-68.
- Itami, T., M. Kando, M. Vazu, A. Sukanuma, T. Abe, A. Nakagawa, N. Suzuki, and Y. Takahashi. 1996. Enhancement of resistance against *Enterococcus serilicida* infection in yellowtail, *Seriola quinqueradiata* (Temminck & Schlegel), by oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum*. *J. of Fish Diseases*. 19:185-187.
- Jorgensen, J.B., H. Lunde, and B. Robertsen. 1993. Peritoneal and head kidney cell response to intraperitoneally injected yeast glucan in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Diseases* 16: 313-325.
- Koesharyani, I., Zafran, F. Johnny, dan Tridjoko. 1999. Respon ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* terhadap imunostimulan peptidoglycan melalui suntikan. *Laporan Teknis Hasil Penelitian Lolitkanta Gondol*. 5 pp.
- Matsuo, K. and I. Miyazono. 1993. The influence of long-term administration of peptidoglycan on diseases resistance and growth of juvenile Rainbow Trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 59(8):1377-1379.
- Matsuyama, H., R.E.P. Mangindaan, and T. Yano. 1992. Protective effect of schizophyllan and scleroglucan against *Streptococcus* sp. infection in yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*. 101:197-203.
- Nabib, R., dan F.H. Pasaribu. 1989. *Bahan Pengajaran Patologi dan Penyakit Ikan*. Dept. P&K. Ditjen. Pendidikan Tinggi. PAU Bioteknologi-IPB. Bogor. 158 pp.
- Raa, J., G. Roerstad, R. Engstad, and B. Robertsen. 1992. The use of immunostimulants to increase resistance of aquatic organisms to microbial infections. In: I.M. Shariff, R.P. Subasinghe & J.R. Arthur (Eds.). *Diseases in Asian Aquaculture*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. p.39-50.
- Rukyani, A., E. Silvia, A. Sunarto, dan Tauhid. 1997. Peningkatan respon kebal non-spesifik pada ikan lele dumbo (*Clarias* spp.) dengan pemberian imunostimulan (b-glucan). *J. Penelitian Perikanan Indonesia* 11(1):1-10.
- Santarem, M., B. Novoa, and A. Figueras. 1997. Effect of b-glucan on the non-specific immune responses of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish and Shellfish Immunology*. 7:429-437.
- Secombes, C.J. 1996. The Nonspecific Immune System; Cellulae Defences. In: G. Iwama and T. Nakanishi (Eds.). *The Fish Immune System: Organism, Pathogen and Environment*. Academic Press. USA. p. 63-95.
- Sung, H.H., G.H. Kou, and Y. L. Song. 1994. Vibriosis resistance induced by glucan treatment in tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Fish Pathology*. 29(1):11-17.
- Thompson, K.D., A. Cachos, and V. Inglis. 1995. Immunomodulating effects of glucans and oxytetracycline in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, on serum lysozyme and protection. In: M. Syarif, J.R. Arthur, and R.P. Subasinghe (Eds.). *Diseases in Asian Aquaculture II*. Fish Health Section. Asian Fisheries Society. Manila. Philippines. p.433-439.
- Tizard, I. 1988. An introduction to veterinary immunology. Penerjemah: P. Masduki dan S. Hardjosworo. *Pengantar Immunologi Veteriner*. Universitas Airlangga. Surabaya. 497 pp.
- Yano, T., R.E.P. Mangindaan, and H. Matsuyama. 1989. Enhancement of the resistance of carp *Cyprinus carpio* to experimental *Edwardsiella tarda* infection, by some b-1,3-glucans. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 55(10):1815-1819.
- Yano, T. 1996. The Nonspecific immune system; humoral defense. In: G. Iwama and T. Nakanishi (Eds.). *The Fish Immune System: Organism, Pathogen and Environment*. Academic Press. USA. p.106-140.
- Zafran, I. Koesharyani, D. Roza, F. Johnny, dan K. Yuasa. 1998. Peningkatan sintasan ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) dengan penambahan vitamin dan imunostimulan ke dalam pakan segar. Dalam: Sudrajat et al. (1998). *Seminar Teknologi Perikanan Pantai*. Denpasar 6-7 Agustus 1998. p. 164-168.