



## Potensi sinbiotik lokal terhadap respon imun non spesifik udang vaname *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)

### *Local sinbiotic potential for nonspecific immune response of white shrimp Litopenaeus vannamei (Boone, 1931)*

Indri Saputri Ramadhani\*, Esti Harpeni, Tarsim, Limin Santoso

Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. \*Email Korespondensi: indribdp@gmail.com

**Abstract.** *The aims of the study were to examine the exact percentage of prebiotics in sinbiotics, administered through feed, so as to enhance nonspecific immune responses in white shrimp. The sweet potato extract was used as prebiotic, combined with local isolated Bacillus sp. D2.2 as a probiotic applied simultaneously as a synbiotic. The feed was treated with 0% sinbiotic treatment (treatment A / control), 0% prebiotic and 6% probiotics (B treatment), 2% prebiotic and 6% probiotics (treatment C), 4% prebiotics and 6% probiotics (treatment D). Examination of nonspecific immune responses to shrimp included total hemocyte count (THC), phagocytosis activity (AP), phagocytosis index (IP), phenoloxidase activity (PO), and superoxide dismutase activity (SOD). Observation of the non-specific immune response of vaname shrimp after treatment showed that treatment C was the best prebiotic to increase non-specific immune response in vaname shrimp.*

**Keywords:** *prebiotics, probiotics, sinbiotics, sweet potato, Bacillus sp. D2.2, immunity, white shrimp.*

**Abstrak.** Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari persentase prebiotik yang tepat dalam sinbiotik, yang diberikan melalui pakan, sehingga dapat meningkatkan respon imun nonspesifik pada udang vaname. Dalam penelitian ini digunakan ekstrak tepung ubi jalar sebagai prebiotik, dikombinasikan dengan isolat lokal Bacillus sp. D2.2 sebagai probiotik yang diaplikasikan secara bersamaan sebagai sinbiotik. Pakan yang diberikan adalah pakan dengan perlakuan 0% sinbiotik (perlakuan A/kontrol), 0% prebiotik dan 6% probiotik (perlakuan B), 2% prebiotik dan 6% probiotik (perlakuan C), 4% prebiotik dan 6% probiotik (perlakuan D). Pemeriksaan respon imun nonspesifik pada udang meliputi total hemocyte count (THC), aktivitas fagositosis (AF), indeks fagositosis (IF), aktivitas phenoloxidase (PO), dan aktivitas superoxide dismutase (SOD). Pengamatan pada respon imun non spesifik udang vaname setelah diberi perlakuan menunjukkan bahwa perlakuan C merupakan persentase prebiotik terbaik untuk meningkatkan respon imun non spesifik pada udang vaname.

**Kata kunci :** prebiotik, probiotik, sinbiotik, ubi jalar, Bacillus sp. D2.2, imunitas, udang vaname.

### Pendahuluan

Sistem budidaya udang vaname yang bersifat intensif telah berkembang di kalangan petambak udang untuk memenuhi permintaan pasar lokal maupun internasional. Seiring dengan padat tebar yang tinggi pada budidaya udang intensif telah menyebabkan peluang timbulnya penyakit yang semakin meningkat. Penyakit infeksius yang paling umum menyerang udang adalah penyakit bakterial dan viral (Bachere, 2000). Penyakit bakterial merupakan penyebab kerugian yang cukup serius dalam budidaya udang, selain menyerang udang sebagai patogen primer, bakteri juga ditemukan pada udang dalam kondisi sekarat (Wickins dan Lee, 2002). Ferasyi *et al.* (2015) melaporkan udang vaname yang dibudidayakan di tambak rakyat di Kabupaten Bireun Provinsi Aceh terdeteksi dijangkiti oleh White Spot Syndrom Virus (WSSV).

Upaya pencegahan terhadap serangan penyakit sangat penting dilakukan agar dapat menjamin keberhasilan produksi udang, antara lain melalui peningkatan imunitas udang. Sistem imun pada udang bertumpu pada sistem imun nonspesifik, karena udang diyakini tidak memiliki reseptor penguat terhadap patogen. Namun sistem imun non-spesifik pada udang cukup efektif sebagai pertahanan utama. Pertahanan tersebut terdapat pada hemosit yang



berperan dalam sistem imun seluler dan hormonal. Sistem pertahanan ini akan aktif ketika menerima rangsangan berupa protein dan karbohidrat seperti lipopolisakarida, peptidoglikan, dan  $\beta$ -glukan yang dimiliki oleh bakteri, jamur, dan protozoa (Alifuddin, 2002; Wickins dan Lee, 2002). Dengan demikian upaya pencegahan terhadap penyakit pada udang dapat dilakukan melalui pemberian sinbiotik.

Sinbiotik adalah suplemen gabungan antara mikroorganisme yang bersifat menguntungkan (probiotik) dan senyawa substrat bagi probiotik (prebiotik), yang dapat meningkatkan efek menguntungkan dari keduanya (Cerezuela *et al.*, 2011). Salah satu bakteri potensial probiotik adalah *Bacillus sp. D2.2.* yang merupakan isolat lokal dari tambak udang tradisional di Lampung, dan bakteri ini telah diidentifikasi sebagai *Bacillus sp.* (Setyawan *et al.*, 2014). Bakteri ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* secara *in vitro* dan *in vivo* (Setyawan *et al.*, 2014; Hardiyani *et al.*, 2016). Untuk mempertahankan keberadaan bakteri probiotik di saluran pencernaan dibutuhkan prebiotik sebagai substrat yang dapat merangsang pertumbuhan probiotik (Widanarni *et al.*, 2012). Salah satu bahan yang berpotensi sebagai prebiotik adalah ubi jalar. Sebagai media teknis, ekstrak tepung ubi jalar telah terbukti mampu menjadi media tumbuh bagi *Bacillus sp. D2.2* (Harpeni *et al.*, 2016). Kandungan oligosakarida yang terdapat pada ubi jalar dapat dimanfaatkan oleh bakteri untuk menstimulir pertumbuhannya (Rahmawati *et al.*, 2015).

Meskipun probiotik dan prebiotik dapat diaplikasikan secara tunggal atau terpisah, namun penggunaan sinbiotik melalui pakan dengan komposisi yang tepat diketahui mampu menghasilkan pertumbuhan, konversi pakan, dan kelangsungan hidup yang lebih baik dibandingkan hanya menggunakan probiotik atau prebiotik saja (Widanarni *et al.*, 2012; Arisa *et al.*, 2015). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui persentase prebiotik yang tepat dalam sinbiotik yang diberikan melalui pakan, sehingga dapat meningkatkan respon imun nonspesifik udang vaname.

### **Bahan dan Metode**

Penelitian dilakukan dengan 4 perlakuan, yaitu: (a) tanpa penambahan sinbiotik; (b) penambahan probiotik 6% dalam pakan; (c) penambahan 2% prebiotik dan 6%; (d) penambahan 4% prebiotik dan 6% probiotik. Hewan uji yang digunakan adalah udang vaname dengan bobot 12 – 15 g. Pengambilan sampel hemolim dilakukan sebelum udang diberi perlakuan (H0), hari ke-4 setelah diberi perlakuan (H4), hari ke-8 (H8) dan hari ke-12 (H12). Pengambilan sampel hemolim mengacu pada Subagiyo dan Faticah (2015). Setelah sampel hemolim diambil sampel dibawa ke lab untuk dilakukan uji parameter respon imun meliputi THC, AF, IF, aktifitas PO dan aktifitas SOD.

### **Pengujian respon imun non spesifik**

#### *Penghitungan THC*

Nilai THC dihitung berdasarkan metode Blaxhall dan Daishley (1973), dengan rumus sebagai berikut :

$$THC = \sum sel \times \frac{1}{Volume\ kotak} \times FP$$

FP = Faktor pengenceran

#### *Penghitungan AF dan IF*

Aktifitas fagositosis dan indeks fagositosis diamati dengan menggunakan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah dilemahkan dengan formalin 1% dan dilakukan pewarnaan dengan safranin 0,25% selama 20 menit, kemudian diamati dengan mikroskop. Perhitungan nilai AF dan IF mengacu Berger dan Jarcova (2012), sebagai berikut :



$$\text{Aktivitas fagositosis} = \frac{\sum \text{sel fagosit}}{\sum \text{seluruh sel hemosit}} \times 100\%$$

$$\text{Indeks fagositosis} = \frac{\sum \text{bakteri yang difagosit}}{\sum \text{sel yang memfagosit}}$$

#### *Aktivitas PO dan SOD*

Nilai aktivitas PO diukur secara spektrofotometri dengan mencatat pembentukan dopachrome yang diproduksi oleh L-DOPA. Prosedur pengamatan aktivitas PO mengacu pada (Liu dan Chen, 2004). Nilai aktivitas SOD diukur dengan metode spektrofotometri berdasarkan pembentukan riboflavin yang diproduksi oleh NBT. Prosedur pengamatan aktivitas SOD mengacu pada (Beauchamp dan Fridovich, 1971).

#### *Kualitas air*

Pengamatan kualitas air dilakukan pada awal, tengah dan akhir pemeliharaan yang meliputi suhu, oksigen terlarut, pH, dan salinitas.

#### **Analisis data**

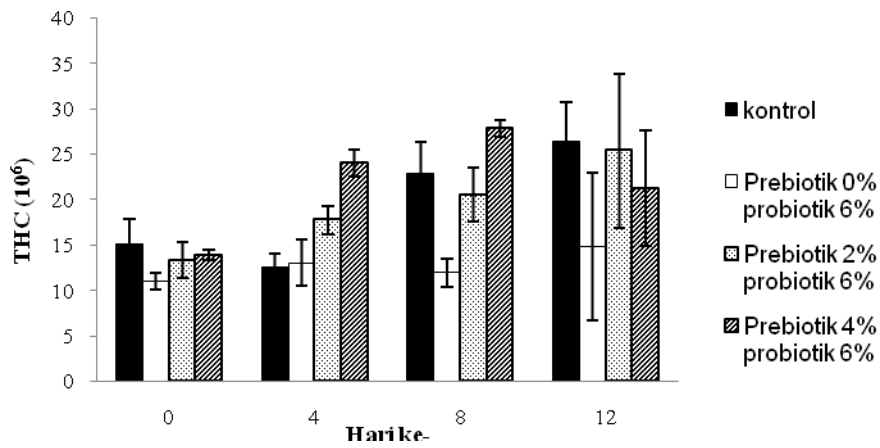
Parameter THC, AF, IF, aktivitas PO, dan aktivitas SOD selanjutnyadialisis dengan uji sidik ragam (Anova) dengan selang kepercayaan 95%. Apabila hasil uji antarperlakuan berbeda nyata maka akan dilakukan uji lanjut BNT. Data pengamatan kualitas air dianalisis secara deskriptif.

#### **Hasil dan Pembahasan**

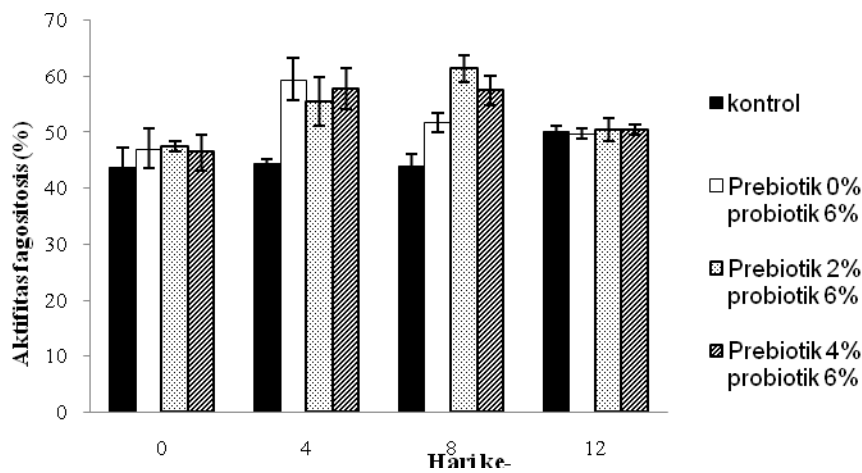
Peningkatan jumlah hemosit terjadi pada perlakuan C dan D, namun THC pada perlakuan D mengalami penurunan pada hari ke-12, sedangkan pada perlakuan B jumlah THC cenderung konstan (Gambar 1). Hal ini sesuai dengan pendapat Ridlo dan Pramesti (2009) bahwa dosis imunostimulan pada konsentrasi yang terlalu rendah tidak akan memberi pengaruh terhadap respon imun udang, sedangkan pemberian dengan konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menjadi inhibitor. Jumlah THC selama pengamatan berkisar antara  $1,1 \times 10^7 - 2,8 \times 10^7$  sel/ ml yang tergolong dalam kisaran THC normal udang vaname (Chang *et al.*, 1999; Subagiyo dan Fatichah, 2015). Jumlah THC yang berada pada kisaran normal menunjukkan bahwa imunostimulan yang diberikan yaitu prebiotik ekstrak tepung ubi jalar dalam sinbiotik mampu mempertahankan udang dalam kondisi sehat dan tidak stres.

Aktivitas fagositosis pada udang vaname yang diberi sinbiotik mengalami peningkatan mulai hari ke-4 sampai dengan hari ke-12. Peningkatan tertinggi terjadi pada hari ke-8 pada perlakuan C yang mampu meningkatkan aktivitas fagositosis sebesar 30% dibandingkan hari ke-0 dan 39% lebih tinggi dibandingkan kontrol, dengan nilai AF 61,3% (Gambar 2). Peningkatan nilai aktivitas fagositosis diikuti dengan meningkatnya indeks fagositosis, namun tidak berbeda nyata dengan kontrol yaitu dengan kapasitas antara 1 – 2 partikel per sel hemosit (Gambar 3). Peningkatan aktivitas fagosit ini diduga berkaitan dengan kandungan peptidoglikan pada bakteri *Bacillus* sp. D2.2 yang merupakan salah satu komponen yang mampu merangsang sistem imun pada udang dan mengaktifkan sel-sel fagosit.

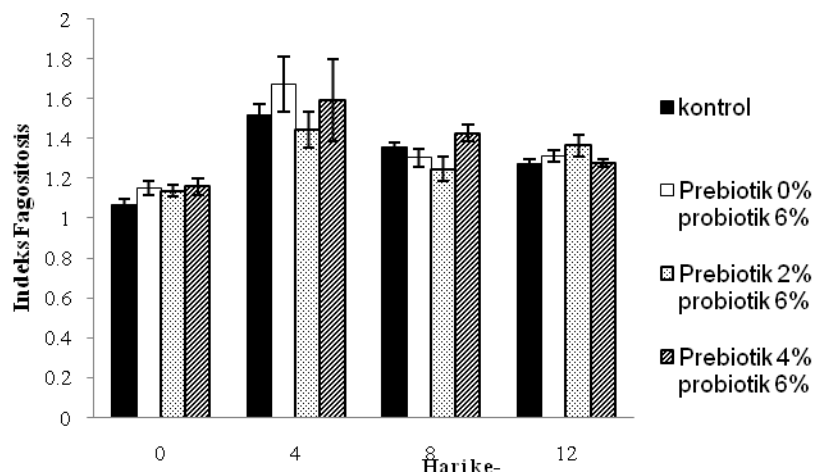
Aktivitas phenoloxidase (PO) pada udang yang diberi pakan sinbiotik mengalami penurunan pada hari ke-4 dan meningkat kembali pada hari ke-8 dan ke-12 (Gambar 4). Peningkatan aktivitas PO tertinggi terjadi pada hari ke-12 pada perlakuan C dengan nilai 0,482 (OD 490 nm), nilai tersebut meningkat 7,6% lebih tinggi dibandingkan hari ke-0 dan 4,2% lebih tinggi dibandingkan kontrol. Penurunan nilai PO yang terjadi rata-rata pada hari ke-4 dapat disebabkan oleh proses adaptasi yang dialami udang terhadap penambahan sinbiotik yang diberikan, selanjutnya peningkatan aktivitas PO diduga terjadi karena proses aktivasi proenzim inaktif yang disebut proPO pada hemolim yang terjadi ketika dirangsang dengan pemberian  $\beta$ -glukan, peptidoglikan dan LPS yang merupakan komponen dari dinding sel bakteri (Chayati, 2012).



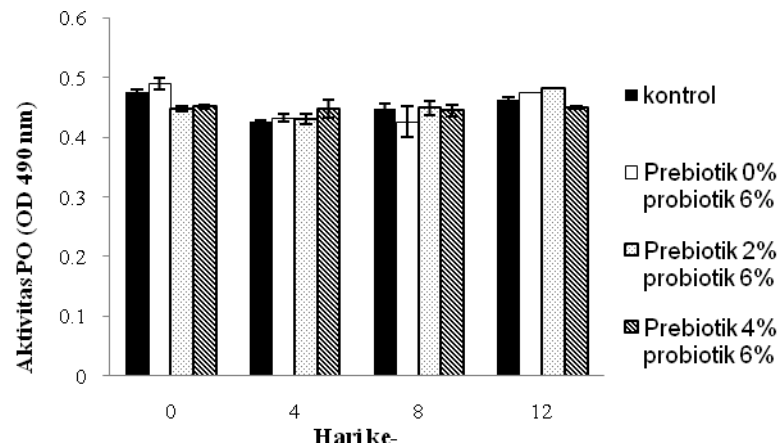
Gambar 1. Rerata total hemocyte count (THC) pada berbagai perlakuan



Gambar 2. Persentase aktivitas fagositosis dari berbagai perlakuan



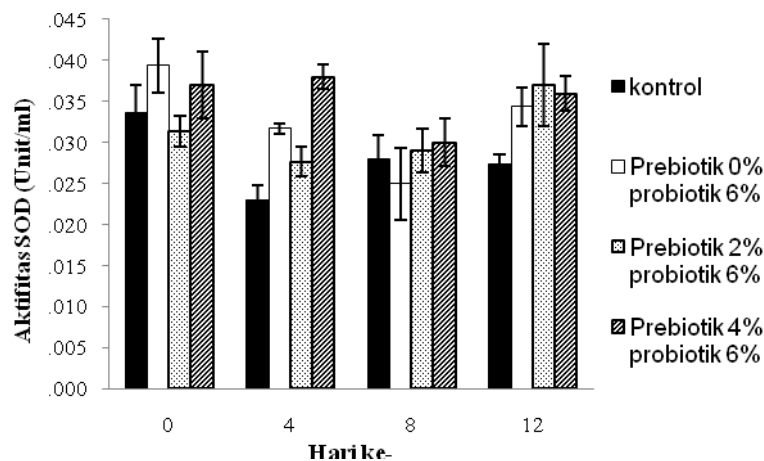
Gambar 3. Indeks fagositosis dari berbagai perlakuan



Gambar 4. Aktivitas Phenoloxidase dari berbagai perlakuan.

Ketika udang mengalami infeksi atau mendapat stressor, hemosit akan memproduksi reactive oxygen species (ROS) dan konsentrasinya akan diimbangi dengan enzim antioksidan, salah satunya adalah SOD (Anduro *et al.*, 2012). Peningkatan SOD ini bertujuan untuk mengurangi ledakan superoksida seluler selama pertahanan melawan infeksi virus dan untuk melindungi sel-sel udang dari kerusakan. Penurunan jumlah SOD setelah udang diberi sinbiotik menunjukkan bahwa udang tidak mengalami infeksi maupun stres akibat pemberian sinbiotik (Gambar 5).

Kualitas air merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kehidupan udang, sehingga dalam penelitian ini parameter kualitas air menjadi salah satu pertimbangan dari hasil yang didapatkan. Kualitas air media pemeliharaan selama penelitian berada pada kisaran yang ideal untuk pemeliharaan udang vaname (Tabel 1), sehingga diasumsikan perubahan respon imun yang meliputi parameter uji total haemocyte count (THC), aktivitas fagositosis (AF), indeks fagositosis (IF), aktivitas superoxidase dismutase (SOD) dan aktivitas phenoloxidase (PO) pada perlakuan bukan diakibatkan oleh kualitas air media pemeliharaan.



Gambar 5. Aktivitas Superoxide dismutase dari berbagai perlakuan.



Tabel 1. Kisaran nilai kualitas air media pemeliharaan

Parameter	Kualitas Air Selama Pemeliharaan	Kisaran Optimum*
Suhu (oC)	26,9 – 28,6	20,5 – 31,5
DO (ppm)	3,83 – 4,57	>3.5
pH	7	7.5 – 8,5
Salinitas (ppt)	32 – 35	15 – 25

\*SNI (2006).

### Kesimpulan

Pemberian prebiotik ekstrak tepung ubi jalar dalam sinbiotik dengan persentase yang berbeda mampu meningkatkan respon imun nonspesifik pada udang vaname dengan perlakuan terbaik pada perlakuan C (prebiotik 2% dan probiotik 6%), ditunjukkan dengan peningkatan nilai THC yang stabil, peningkatan tertinggi pada parameter AF mencapai 30% dibandingkan hari ke-0 dan 39% dibandingkan kontrol, dengan nilai 61,3%, serta peningkatan aktivitas PO mencapai 7,6% dibandingkan hari ke-0 dan 4,2% dibandingkan kontrol, dengan nilai 0,482 (OD 490 nm).

### DaftarPustaka

- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulasi pada hewan akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 1: 87-92.
- Anduro, G. G., F. A. Valle, A. B. Uriarte, A. C. Cordova, G. Y. Plascencia. 2012. Cytosolic manganese superoxide dismutase genes from the white shrimp *Litopenaeus vannamei* are differentially expressed in response to lipopolysaccharides, white spot virus and during ontogeny. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 162: 120 -125.
- Arisa, I.I., W. Widanarni, M. Yuhana, Z.A. Muchlisin, A.A. Muhammadar A. A. 2015. The application of probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance the immune responses of vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to *Vibrio harveyi* infection. *AACL Bioflux*, 8(5):772-778.
- Bachere, E. 2000. Shrimp immunity and disease control. *Aquaculture*, 191: 3 - 11.
- Beauchamp, C., I. Fridovich. 1971. Superoxide dismutase: improved assay and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem*, 44: 276-287.
- Berger, J., M. Jarcova. 2012. Phagocytosis of insect haemocytes as a new alternative model. *Journal of Applied Biomedicine*, 10: 35-40.
- Blaxhall, P.C., K.W. Daisley. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal Fish Biology*, 5: 577-581.
- Cerezuela, R., J. Meseguer, M.A. Esteban. 2011. Current knowledge in synbiotic use for fish aquaculture: A Review. *Journal of Aquaculture Research and Development*, S1(008): 1-7.
- Chang, C. F., M. S. Su, H. Y. Chen. 1999. A rapid method to quantity total haemocyte count of *Penaeus monodon* using ATP analysing. *Fish Pathology*, 34: 211-212.
- Chayati, T. N. 2012. Kinerja imunitas udang vaname *Litopenaeus vannamei* dalam teknologi bioflok dan probiotik terhadap koinfeksi infeksi Myonecrosis virus dan *Vibrio harveyi*. Skripsi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ferasyi, T.R., Z. Zulpikar, S. Sugito, Z.A. Muchlisin, R. Razali, N. Nurliana, A. Azhar. 2015. A preliminary study of White Spot Syndrome Virus (WSSV) infection on vannamei



- shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured in semi-intensive ponds in Bireuen District of Aceh Province, Indonesia. *AAACL Bioflux*, 8(5):810-816.
- Hardiyani, S., E. Harpeni, A. Setyawan, Supono. 2016. Patogenicity and in vivo study of local isolate *Bacillus* sp. D2.2 at the *vannamei* culture (*Litopenaeus vannamei*). *Aquasains*, 5: 421-426.
- Harpeni, E., A. Setyawan, L. Santoso, M. Z. Arifin. 2016. Efektivitas ekstrak tepung ubi jalar sebagai media teknis bakteri probiotik, dalam peran penelitian ilmu dasar dalam menunjang pembangunan berkelanjutan. *Prosiding Seminar Nasional MIPA. Universitas Padjajaran. Bandung*, hal 127-130.
- Liu, C.H., J.C. Chen. 2004. Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 16: 321-334.
- McGraw, W.J., J. Scarpa. 2002. Determining ion concentration for *Litopenaeus vannamei* culture in freshwater. *Global Aquaculture Advocate*, 5: 36-37.
- Rahmawati, I. S., E. Zubaidah, E. Saparianti. 2015. Evaluasi pertumbuhan isolat probiotik (*L. casei* dan *L. plantarum*) dalam medium fermentasi berbasis ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) selama proses fermentasi (kajian jenis isolat dan jenis tepung ubi jalar). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 4(4): 133-141.
- Ridlo, A., R. Pramesti. 2009. Aplikasi ekstrak rumput laut sebagai agen imunostimulan sistem pertahanan non spesifik pada udang (*Litopenaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan*, 14: 133-137.
- Setyawan, A., E. Harpeni, M. Ali, D.C. Mariska, M.B. Aji. 2014. Potensi agen bakteri biokontrol indigenous tambak tradisional udang windu (*Penaeus monodon*) di Lampung Timur strain D2.2, terhadap bakteri patogen pada udang dan ikan. Dalam : Peranan Ilmu Mikrobiologi dalam Kesehatan Ikan dan Lingkungan. *Prosiding Pertemuan Ahli Kesehatan Ikan 2014. Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan dan Lingkungan. Serang*, hal 24-31.
- Subagiyo, D.I., Fatichah. 2015. Potensi hot water extracts rumput laut *Caulerpa* sp. dan *Sargassum* sp. sebagai komponen immunonutrisi pada budidaya udang *vannamei* (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Kelautan Tropis*, 18, 154-159.
- Wickins, J.F., D.O. Lee. 2002. *Crustacean farming ranching and culture*. Osney Mead, Oxford: Blackwell Science.
- Widanarni, P. Widagdo, D. Wahjuningrum. 2012. Aplikasi probiotik, prebiotik, dan sinbiotik melalui pakan pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi bakteri *Vibrio harveyi*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 11: 54-63.

Received: 30 May 2017

Accepted: 16 August 2017

*How to cite this paper:*

Ramadhani, I.S., E. Harpeni, Tarsim, L. Santoso. 2017. Potensi sinbiotik lokal terhadap respon imun nonspesifik udang vaname *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Depik*, 6(3): 221-227