

APLIKASI SINBIOTIK UNTUK PENCEGAHAN INFEKSI *INFECTIOUS MYONECROSIS VIRUS* PADA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*)

Synbiotic Application for Prevention of Infectious Myonecrosis Virus Infection in White Shrimp (Litopenaeus vannamei)

Widanarni^{1*}, Sukenda¹, dan Ghita Ryan Septiani¹

¹Departemen Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, Bogor

*Corresponding author: widanarni@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efektivitas pemberian sinbiotik melalui pakan dengan frekuensi berbeda terhadap pertumbuhan, respons imun, dan resistensi udang vaname yang diinfeksi *infectious myonecrosis virus* (IMNV). Sinbiotik yang digunakan pada penelitian adalah gabungan dari probiotik *Vibrio alginolyticus* SKT-b dan prebiotik berupa oligosakarida yang diekstrak dari ubi jalar (*Ipomoea batatas* L). Dosis probiotik dan prebiotik yang digunakan masing-masing adalah 1 dan 2% (w/w). Udang vaname (0,493±0,035 g) dibagi ke dalam lima perlakuan terdiri atas A dan B (tanpa penambahan sinbiotik: A, kontrol positif; B, kontrol negatif), C (pemberian sinbiotik setiap hari), D (pemberian sinbiotik dua kali seminggu), dan E (pemberian sinbiotik satu kali seminggu). Setelah 30 hari perlakuan, udang diinfeksi dengan IMNV (kecuali kontrol negatif). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa laju pertumbuhan harian udang vaname pada seluruh perlakuan sinbiotik (C, D, dan E) berkisar 6,93±0,025-6,97±0,019% dan memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan kontrol (A dan B) (P<0,05). Sementara itu, nilai konversi pakan pada perlakuan C dan D (1,54±0,142 dan 1,58±0,117) lebih rendah dibandingkan kontrol (P<0,05). Pemberian sinbiotik dengan frekuensi yang berbeda juga berpengaruh terhadap sintasan udang vaname setelah uji tantangan dengan IMNV; pemberian sinbiotik setiap hari (perlakuan C) menghasilkan sintasan 50% lebih tinggi dibanding kontrol positif (P<0,05). Hal tersebut berhubungan dengan nilai parameter respons imun pada perlakuan sinbiotik (sebelum dan sesudah uji tantangan) yang lebih baik dibanding kontrol positif. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian sinbiotik melalui pakan menghasilkan peningkatan performa pertumbuhan, respons imun, dan resistensi udang vaname terhadap infeksi IMNV.

Kata kunci: IMNV, prebiotik, probiotik, sinbiotik, udang vaname

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effectiveness of dietary synbiotic at different giving frequencies on growth, immune responses, and resistance of white shrimp infected by *infectious myonecrosis virus* (IMNV). Synbiotic used in this study was combination of probiotic *Vibrio alginolyticus* SKT-b and prebiotic oligosaccharides extracted from sweet potato (*Ipomoea batatas* L). Doses of probiotic and prebiotic used were 1% and 2% (w/w), respectively. The white shrimps (0.493±0.035 g) were divided into five treatments consisting of A and B (without supplementation of synbiotic: (A) positive control; (B) negative control), C (daily synbiotic supplementation), D (twice a week synbiotic supplementation), and E (weekly synbiotic supplementation). After 30 days of feeding trial, white shrimps were infected by IMNV (except negative control). The results showed that daily growth rate of white shrimp on all synbiotic treatments (C, D, and E) ranged from 6.93±0.025-6.97±0.019% and had higher values than controls (A and B) (P<0.05). Meanwhile, feed conversion value in C and D (1.54±0.142 and 1.58±0.117) were lower than controls (P<0.05). Supplementation of synbiotic with different frequencies also affected survival rate of white shrimp after the challenge test with IMNV; daily synbiotic supplementation (C) resulted in a 50% higher survival rate than positive control (P<0.05). This was associated with immune responses parameters values of synbiotic treatment (before and after the challenge test) which were better than positive control. In conclusion the addition of synbiotic in feed resulted in higher growth performances, immune responses, and resistance of white shrimp to IMNV infection.

Key words: IMNV, prebiotic, probiotic, synbiotic, white shrimp

PENDAHULUAN

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu komoditas ekspor unggulan di bidang perikanan di Indonesia. Penyakit yang sering menjadi kendala dalam kegiatan budidaya udang vaname adalah penyakit bakteri dan virus. Penyakit virus yang saat ini banyak menyerang budidaya udang vaname di Indonesia adalah penyakit *infectious myonecrosis* (IMN) yang disebabkan oleh infeksi *infectious myonecrosis virus* (IMNV) (Costa *et al.*, 2009). Salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk mengendalikan penyakit tersebut adalah dengan aplikasi sinbiotik yang merupakan kombinasi antara probiotik dan prebiotik.

Verschuere *et al.* (2000) menyatakan bahwa probiotik adalah agen mikrob hidup yang memberikan

pengaruh menguntungkan pada inang melalui keseimbangan mikroflora intestinalnya. Probiotik yang digunakan pada penelitian ini adalah *Vibrio alginolyticus* (*V. alginolyticus*) SKT-b (Widanarni *et al.*, 2003). Hasil penelitian Gullian *et al.* (2004) menunjukkan bahwa *V. alginolyticus* mampu meningkatkan pertumbuhan dan respons imun pada udang vaname. Menurut Lisal (2005), aplikasi probiotik masih memiliki kelemahan, yaitu kemampuan bertahan, kolonisasi, dan kompetisi nutrisi dari bakteri probiotik untuk masuk ke dalam satu lingkungan ekosistem yang sudah mengandung berbagai jenis bakteri lainnya. Dengan demikian, dibutuhkan pendekatan yang dapat mengatasi keterbatasan tersebut, salah satunya adalah melalui pemberian prebiotik. Prebiotik merupakan bahan pangan yang tidak dapat dicerna oleh inang, namun memiliki pengaruh yang

menguntungkan terhadap inang dengan menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas mikroflora normal di dalam saluran pencernaan inang (Schrezenmeir dan Vrese, 2001). Penambahan prebiotik dalam aplikasi sinbiotik pada ikan nila menghasilkan pertumbuhan, efisiensi pakan, aktivitas enzim, serta respons imun yang lebih baik daripada perlakuan probiotik dan prebiotik secara terpisah (Putra *et al.*, 2015; Tanbiyaskur *et al.*, 2015).

Sinbiotik mengacu pada suplemen gizi yang menggabungkan probiotik dan prebiotik dalam bentuk sinergisme (Cerezuela *et al.*, 2011). Berdasarkan beberapa penelitian menunjukkan bahwa sinbiotik yang diberikan melalui pakan secara efektif dapat meningkatkan pertumbuhan (Geraylou *et al.*, 2013), meningkatkan imunitas pada ikan dan udang, serta meningkatkan resistensi inang terhadap infeksi patogen (Li *et al.*, 2009; Ai *et al.*, 2011; Lin *et al.*, 2012). Frekuensi suplementasi, merupakan salah satu faktor penting dalam meningkatkan efektivitas penggunaan suplemen pada organisme budidaya untuk aplikasi tingkat komersial (Marrifield *et al.*, 2010). Dengan demikian, penelitian ini bertujuan mengevaluasi efektivitas pemberian sinbiotik melalui pakan dengan frekuensi berbeda terhadap pertumbuhan, respons imun, dan resistensi udang vaname yang diinfeksi IMNV.

MATERI DAN METODE

Persiapan Prebiotik

Prebiotik yang digunakan adalah oligosakarida yang berasal dari ekstrak ubi jalar varietas sukuk (*I. batatas* L). Tepung kukus ubi jalar disuspensikan ke dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:10, diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 15 jam (Marlis, 2008). Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan evaporator vakum pada suhu 40° C. Hasil evaporasi diencerkan dengan akuades steril menggunakan perhitungan total padatan terlarut (TPT) (Apriyantono *et al.*, 1989), hingga mencapai kadar TPT sebesar 5% (Marlis, 2008).

Persiapan Wadah dan Hewan Uji

Wadah yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuarium kaca berukuran 60 x 30 x 35 cm yang telah didesinfeksi menggunakan kaporit 100 ppm selama 24 jam. Hewan uji yang digunakan adalah udang vaname (0,493±0,035 g/ekor) yang berasal dari PT. Global Gen, Labuan, Banten. Udang uji sebanyak 15 ekor dipelihara dalam akuarium dengan volume air laut 30 l. Pengelolaan kualitas air dilakukan dengan penyiponan dan pergantian air setiap hari sebanyak 10% dari total volume akuarium.

Persiapan Pakan Uji

Persiapan pakan uji meliputi tahap kultur bakteri probiotik, serta pencampuran probiotik dan prebiotik ke dalam pakan. Kultur bakteri probiotik SKT-b dilakukan pada media *sea water complete* (SWC-broth) (5 g *bactopeptone*, 1 g *yeast extract*, 3 ml gliserol, 750 ml air laut, dan 250 ml akuades) yang diinkubasi dalam *waterbath shaker* pada suhu 29-30° C dengan kecepatan 140 rpm selama 24 jam. Pelet sel bakteri yang diperoleh kemudian dicuci sebanyak 2 kali dengan larutan *phosphate buffered saline* (PBS).

Dosis probiotik yang digunakan sebesar 1% (Wang, 2007), dan prebiotik sebesar 2% dari jumlah pakan yang diberikan (Mahious *et al.*, 2006). Pencampuran dilakukan dengan menambahkan kuning telur sebanyak 2% dari total pakan yang berfungsi sebagai perekat (Wang, 2007). Sebelum diberikan ke udang, pakan dikeringudarkan terlebih dahulu selama 10-15 menit untuk mengurangi kelembapan.

Desain Penelitian

Pakan uji yang digunakan dalam penelitian ini berupa pelet komersil dengan kandungan protein sebesar 40%. Pengujian terdiri atas lima perlakuan (Tabel 1) dengan tiga kali ulangan. Pemeliharaan udang dengan perlakuan sinbiotik dilakukan selama 30 hari dengan frekuensi berbeda, sedangkan hari lainnya udang diberi pakan yang sama dengan kontrol. Pemberian pakan dilakukan lima kali dalam sehari pada pukul 07.00, 11.00, 15.00, 19.00, dan 23.00 WIB. Jumlah pakan yang diberikan didasarkan pada *feeding rate* (FR) menurut SNI (2006) dengan persentase FR yang menurun secara bertahap mulai 15 hingga 5% sesuai dengan bobot udang pada masing-masing perlakuan.

Setelah udang uji diberi perlakuan sinbiotik selama 30 hari, kemudian dilakukan uji tantangan secara oral dengan IMNV melalui pemberian pakan menggunakan cacahan udang yang positif terinfeksi IMNV. Uji *polymerase chain reaction* (PCR) dilakukan sebagai konfirmasi untuk mendeteksi keberadaan virus IMNV pada udang untuk uji tantangan. Uji tantangan dilakukan selama 3 hari dan pengamatan dilakukan selama 14 hari.

Total Bakteri dan Total *Vibrio* SKT-b dalam Usus

Perhitungan total bakteri berdasarkan jumlah bakteri dalam usus udang. Usus diambil dan ditimbang bobotnya, lalu dimasukkan ke dalam larutan PBS dengan perbandingan 1:10. Hasil pengenceran dihitung dengan metode hitungan cawan pada media SWC untuk total bakteri dan TCBS yang mengandung rifampisin 50 µg/ml (TCBS + Rf) untuk *Vibrio* SKT-b (Widanarni *et al.*, 2003).

Tabel 1. Perlakuan pemberian sinbiotik dan uji tantangan

Perlakuan	Sinbiotik		Frekuensi pemberian	Ujiantang
	Probiotik (%)	Prebiotik (%)		
Perlakuan A (kontrol +)	0	0	setiap hari	PBS
Perlakuan B (kontrol -)	0	0	setiap hari	IMNV
Perlakuan C	1	2	setiap hari	IMNV
Perlakuan D	1	2	2 kali/minggu	IMNV
Perlakuan E	1	2	1 kali/minggu	IMNV

Performa Pertumbuhan

Performa pertumbuhan yang diamati berupa laju pertumbuhan harian (LPH) (Huisman, 1987) dan rasio konversi pakan (RKP) (Zonneveld *et al.*, 1991). Parameter pertumbuhan diamati pada akhir perlakuan sinbiotik dengan rumus berikut ini:

$$LPH = \left[\sqrt{\frac{Wt}{Wo}} - 1 \right] \times 100\%$$

(LPH= Laju pertumbuhan harian, %; Wt= Bobot rata-rata udang pada akhir perlakuan, g; Wo= Bobot rata-rata udang pada awal pemeliharaan, g; t= Periode pemeliharaan, hari)

$$RKP = \frac{F}{Bt + Bm - Bo}$$

(RKP= Rasio konversi pakan; F= Jumlah pakan, g; Bt= Biomassa udang pada saat akhir perlakuan, g; Bm= Biomassa udang yang mati saat perlakuan, g; Bo= Biomassa udang pada saat awal perlakuan, g)

Sintasan

Sintasan atau tingkat kelangsungan hidup udang dalam penelitian ini dihitung pada akhir perlakuan sinbiotik dan akhir penelitian (pasca-infeksi IMNV). Sintasan dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Sintasan (\%)} = \frac{\text{Jumlah udang pada akhir penelitian}}{\text{Jumlah udang pada awal penelitian}} \times 100$$

Parameter Imun

Pengamatan terhadap respons imun udang dilakukan pada akhir perlakuan sinbiotik dan pasca-infeksi IMNV. Parameter respons imun yang diukur meliputi *total haemocyte count* (THC), *phenoloxidase activity* (PO), dan indeks fagositik (IF).

Prosedur penghitungan total hemosit mengacu pada metode Blaxhall dan Daishley (1973). Hemolim diambil sebanyak 0,1 ml dari pangkal kaki renang pertama dengan *syringe* 1 ml yang sudah berisi 0,3 ml antikoagulan Na-sitrat 3,8%. Campuran hemolim-antikoagulan divorteks hingga merata, kemudian diteteskan pada *haemocytometer* dan THC dihitung di

bawah mikroskop dengan perbesaran 40x.

Pengukuran PO dilakukan berdasarkan prosedur yang dikemukakan oleh Liu dan Chen (2004). Aktivitas PO *haemocyte* diukur berdasarkan formasi *dopachrome* yang dihasilkan oleh L-DOPA. Densitas optikal (OD) diukur dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 490 nm. Larutan standar mengandung 100 µl suspensi *haemocyte*, 50 µl *cacodylate buffer* (pengganti tripsin), dan 50 µl L-DOPA digunakan untuk mengukur *background* aktivitas PO pada semua larutan uji.

Penghitungan indeks fagositik mengacu pada metode Anderson dan Siwicki (1995). Aktivitas fagositik diukur berdasarkan persentase sel-sel fagosit yang menunjukkan proses fagositosis dari 100 sel fagosit yang diamati. Indeks fagositik dihitung dengan rumus:

$$\text{Indeks fagositik} = \frac{\text{Jumlah sel fagosit yang melakukan fagositosis}}{\text{Jumlah sel fagosit}} \times 100\%$$

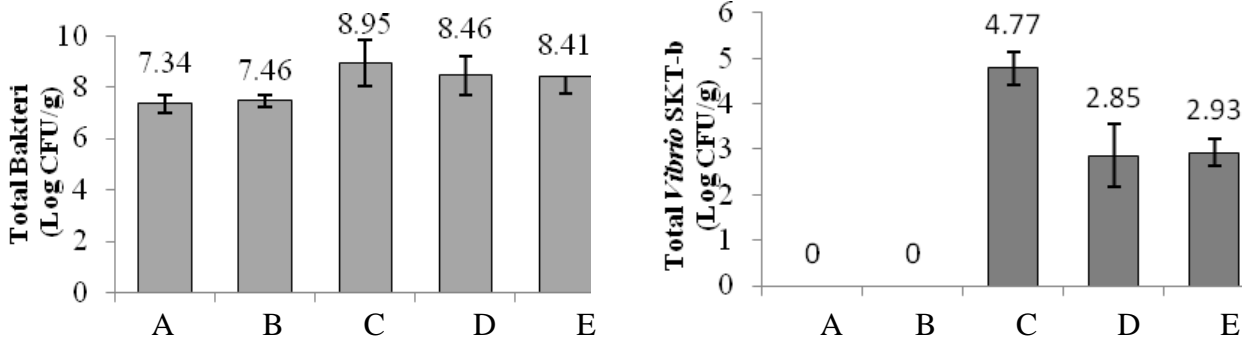
Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam dengan tingkat kepercayaan 95%. Kemudian dilakukan uji lanjut dengan uji *Duncan's Multiple Range*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat dilihat bahwa perlakuan C memiliki total bakteri yang relatif lebih tinggi yaitu 8,95 log cfug⁻¹, sedangkan total bakteri terendah terdapat pada perlakuan A dan B dengan total bakteri masing-masing 7,34 dan 7,46 log cfug⁻¹ (Gambar 1a). Berdasarkan Gambar 1b, dapat dilihat bahwa total bakteri *Vibrio* SKT-b pada perlakuan C lebih tinggi (4,77 log cfug⁻¹) dibanding perlakuan D dan E, sedangkan pada perlakuan kontrol tidak ditemukan bakteri *Vibrio* SKT-b pada usus udang vaname.

Hasil pengamatan total bakteri pada akhir perlakuan sinbiotik dengan frekuensi berbeda menunjukkan bahwa pada perlakuan C, D, dan E memiliki total bakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Peningkatan yang signifikan ditunjukkan pada perlakuan



Gambar 1. Total bakteri (a), Total *Vibrio* SKT-b^R (b) dari usus udang vaname pada akhir perlakuan sinbiotik dengan frekuensi berbeda (A= Kontrol positif, B= Kontrol negatif, C= Pemberian pakan sinbiotik setiap hari, D= Pemberian pakan sinbiotik dua kali seminggu, E= Pemberian pakan sinbiotik satu kali seminggu)

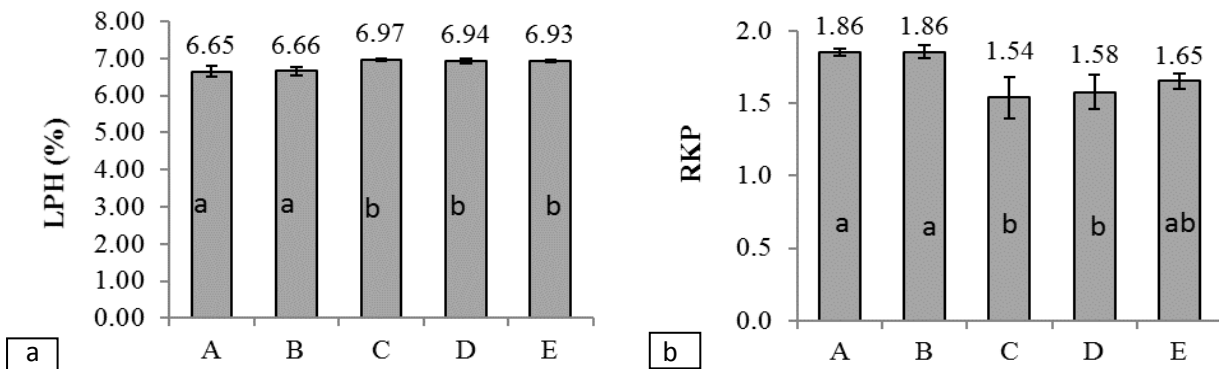
sinbiotik setiap hari (perlakuan C). Menurut Manning dan Gibson (2004), prebiotik mampu menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas metabolik bakteri baik di dalam usus. Dengan demikian, pemberian sinbiotik setiap hari diduga dapat memengaruhi jumlah bakteri probiotik *Vibrio* SKT-b serta bakteri menguntungkan lainnya yang berkembang biak pada usus inang. Ekologi mikrob di dalam usus memberikan pengaruh baik dalam meningkatkan kemampuan memanfaatkan nutrisi, perlindungan terhadap patogen, modulasi interaksi dengan lingkungan serta pengembangan respons imun pada inang (Balcazar *et al.*, 2007).

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa laju pertumbuhan harian udang pada seluruh perlakuan sinbiotik (C, D, dan E) dengan kisaran 6,93±0,025-6,97±0,019% dan memiliki nilai yang signifikan lebih tinggi dibanding kontrol (A dan B) (P<0,05; Gambar 2a). Nilai konversi pakan pada perlakuan C dan D (1,54±0,142 dan 1,58±0,117) lebih rendah dibanding kontrol (P<0,05; Gambar 2b). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan sinbiotik memberikan performa pertumbuhan yang lebih tinggi dibanding kontrol. Hasil yang sama juga diperoleh pada penelitian *juvenile large yellow croaker, Larimichthys crocea* (Ai *et al.*, 2011), *cobia, Rachycentron canadum* (Geng *et al.*, 2011), juvenil *Siberian sturgeon, Acipenser baerii* (Geraylou *et al.*, 2013).

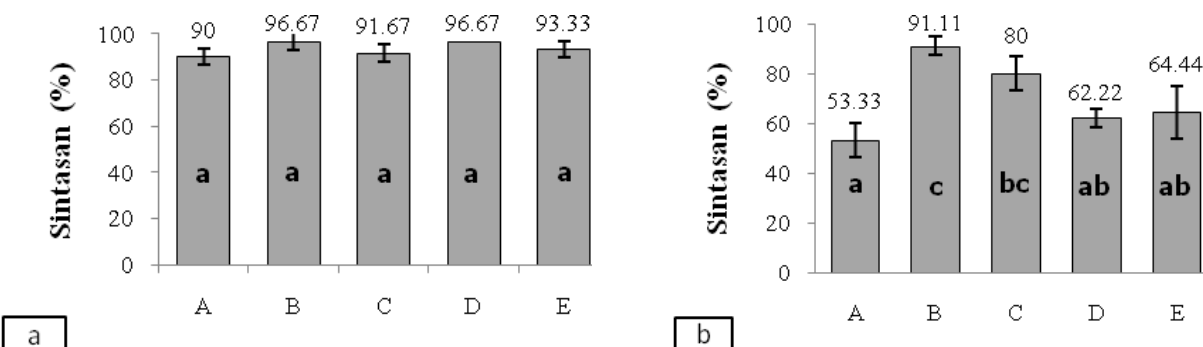
Tingginya performa pertumbuhan pada perlakuan sinbiotik diduga disebabkan kemampuan probiotik SKT-b dalam meningkatkan aktivitas enzim

pencernaan sehingga pemanfaatan pakan dan proses pencernaan dapat lebih efektif. Berdasarkan pengujian sebelumnya, bakteri probiotik SKT-b diketahui mampu menghasilkan enzim amilase dan protease (Widanarni *et al.*, 2003). Diindikasikan bahwa kemampuan bakteri gastrointestinal atau probiotik yang diberikan dapat berperan dalam dekomposisi nutrisi melalui penambahan bahan aktif secara fisiologis seperti aktivitas enzimatis (Wang, 2007). Menurut Balcazar *et al.* (2007), bakteri probiotik mampu bertahan dalam waktu beberapa minggu. Selain itu, diduga prebiotik yang diberikan juga berkontribusi dalam mempertahankan populasi bakteri yang mendukung performa pertumbuhan pada udang. Li *et al.* (2009) menemukan bahwa prebiotik secara selektif dapat mendukung pertumbuhan spesies bakteri tertentu di dalam usus udang vaname.

Setelah 30 hari perlakuan, tingkat kelangsungan hidup udang tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan. Nilai sintasan udang vaname setelah 30 hari perlakuan sinbiotik dengan frekuensi berbeda (sebelum uji tantang dengan IMNV) berkisar antara 90±3,54-96,67±0,00% (P>0,05; Gambar 3a), sedangkan hasil pengamatan pasca-uji tantang dengan IMNV, pemberian sinbiotik setiap hari (perlakuan C) menghasilkan sintasan 50% lebih tinggi dibanding kontrol positif (P<0,05; Gambar 3b). Perlakuan pemberian sinbiotik lainnya tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kontrol positif. Berdasarkan hasil tersebut diduga bahwa pemberian



Gambar 2. Laju pertumbuhan spesifik (a), rasio konversi pakan (b), udang vaname selama 30 hari perlakuan sinbiotik dengan frekuensi berbeda (A= Kontrol positif, B= Kontrol negatif, C= Pemberian pakan sinbiotik setiap hari, D= Pemberian pakan sinbiotik dua kali seminggu, E= Pemberian pakan sinbiotik satu kali seminggu)



Gambar 3. Sintasan udang vaname setelah 30 hari perlakuan sinbiotik (a= Sebelum uji tantang dengan IMNV, b= Setelah uji tantang dengan IMNV, A= Kontrol positif, B= Kontrol negatif, C= Pemberian pakan sinbiotik setiap hari, D= Pemberian pakan sinbiotik dua kali seminggu, E= Pemberian pakan sinbiotik satu kali seminggu)

sinbiotik setiap hari mampu meningkatkan ketahanan udang terhadap infeksi IMNV. Hasil penelitian Li *et al.* (2009) menunjukkan bahwa pemberian gabungan probiotik *Bacillus* dan prebiotik *isomaltooligosaccharides* setiap hari pada udang vaname yang diinfeksi *white spot syndrome virus* (WSSV) memberikan nilai sintasan 41,38% lebih tinggi dibanding perlakuan kontrol.

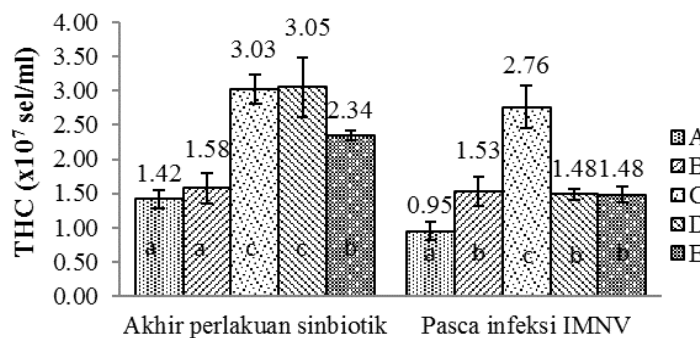
Tingginya sintasan pada perlakuan sinbiotik berkaitan dengan peningkatan respons imun udang pada perlakuan tersebut. Peningkatan respons imun terlihat pada jumlah sel hemosit, aktivitas PO, dan indeks fagositik yang dihasilkan oleh udang uji.

Berdasarkan hasil pengukuran THC pada akhir perlakuan sinbiotik diketahui bahwa THC pada perlakuan C dan D ($3,03 \pm 0,212$ dan $3,05 \pm 0,432$) $\times 10^7$ sel/ml, secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya ($P < 0,05$; Gambar 4). Jumlah hemosit pada perlakuan C dan D memiliki nilai yang tinggi sehingga udang lebih siap dalam menghadapi patogen. Hemosit berperan dalam proses fagositosis, enkapsulasi, degranulasi, dan agregasi nodular terhadap patogen atau partikel asing, serta berperan dalam produksi dan pelepasan proPO (Sahoo *et al.*, 2008). Selain itu, penambahan prebiotik juga mampu meningkatkan kinerja dari bakteri probiotik. Prebiotik mampu menstimulir pertumbuhan atau aktivitas metabolik bakteri di dalam usus (Schrezenmeir dan Vrese, 2001; Marrifield *et al.*, 2010).

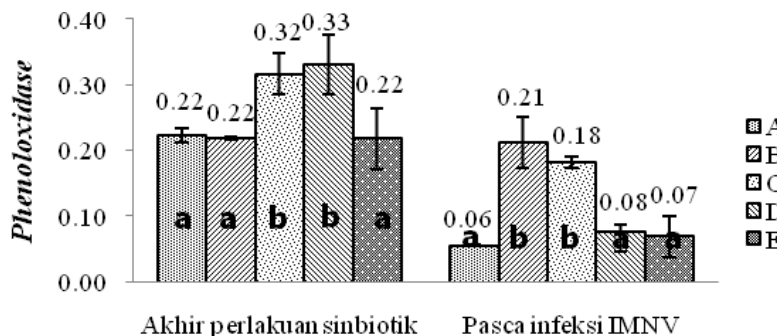
Nilai THC pasca-uji tantang mengalami penurunan pada semua perlakuan. Jumlah sel hemosit tertinggi pasca-uji tantang terdapat pada perlakuan C yaitu

sebesar $2,76 \pm 0,311 \times 10^7$ sel/ml ($P < 0,05$; Gambar 4). Jumlah sel hemosit pada perlakuan D dan E, masing-masing $1,48 \pm 0,081$ dan $1,48 \pm 0,113$ lebih rendah dibanding perlakuan C ($P < 0,05$), namun secara signifikan lebih tinggi dibanding perlakuan A (kontrol+); $0,95 \pm 0,134$) ($P < 0,05$). Hal tersebut diduga karena adanya pengaruh sinbiotik yang diberikan dalam pakan udang. Bachere (2000) menyatakan bahwa proses imun pertama pada krustasea adalah rekognisi mikroorganisme penyerang yang dimediasi oleh hemosit. Penurunan jumlah hemosit ini merupakan efek dari berjalannya mekanisme pertahanan tubuh seperti infiltrasi hemosit pada jaringan yang terinfeksi, kematian sel hemosit akibat apoptosis (Costa *et al.*, 2009), aktivitas fagositosis, enkapsulasi, pembentukan nodul, serta terjadinya proses degranulasi untuk aktivasi sistem *prophenoloxidase* (proPO) dan mekanisme pertahanan tubuh lainnya (Smith *et al.*, 2003).

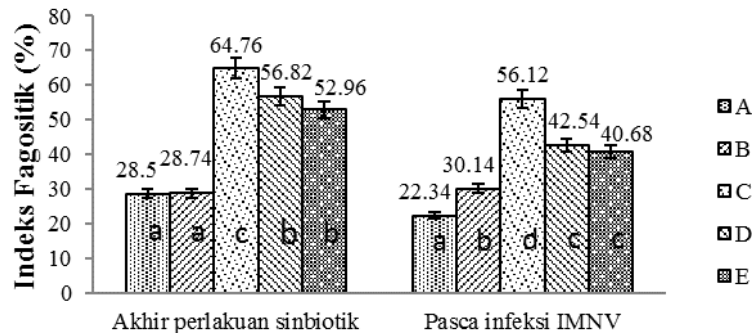
Phenoloxidase (PO) merupakan suatu enzim yang bertanggung jawab terhadap proses melanisasi pada krustasea sebagai respons terhadap penyerang asing (Sritunyalucksana dan Söderhäll, 2000). Aktivitas PO di akhir perlakuan sinbiotik sebelum uji tantang pada perlakuan C dan D memiliki nilai yang tinggi ($0,32 \pm 0,032$ dan $0,33 \pm 0,043$) dibanding perlakuan A, B, dan E ($P < 0,05$; Gambar 5). Namun demikian, aktivitas PO udang uji mengalami penurunan pasca-uji tantang. Nilai PO tertinggi pasca-uji tantang terdapat pada perlakuan C dan B, masing-masing $0,18 \pm 0,008$ dan $0,21 \pm 0,039$ ($P < 0,05$; Gambar 5).



Gambar 4. Total Haemocyte Count udang vaname pada akhir perlakuan sinbiotik dan pasca-infeksi IMNV (A= Kontrol positif, B= Kontrol negatif, C= Pemberian pakan sinbiotik setiap hari, D= Pemberian pakan sinbiotik dua kali seminggu, E= Pemberian pakan sinbiotik satu kali seminggu)



Gambar 5. Aktivitas enzim *phenoloxidase* udang vaname pada akhir perlakuan sinbiotik dan pasca-infeksi IMNV (A= Kontrol positif, B= Kontrol negatif, C= Pemberian pakan sinbiotik setiap hari, D= Pemberian pakan sinbiotik dua kali seminggu, E= Pemberian pakan sinbiotik satu kali seminggu)



Gambar 6. Indeks fagositik udang vaname pada akhir perlakuan sinbiotik dan pasca-infeksi IMNV (A= Kontrol positif, B= Kontrol negatif, C= Pemberian pakan sinbiotik setiap hari, D= Pemberian pakan sinbiotik dua kali seminggu, E= Pemberian pakan sinbiotik satu kali seminggu)

Enzim PO terdapat dalam hemolim sebagai *inactive pro-enzyme* yang disebut proPO. Transformasi proPO menjadi PO melibatkan beberapa reaksi yang dikenal sebagai proPO *activating system* (sistem aktivasi proPO). Sistem ini terutama diaktifkan oleh beta glukon, peptidoglikan, dan lipopolisakarida (LPS). Tingginya aktivitas PO pada perlakuan C dan D menunjukkan bahwa penambahan sinbiotik mampu meningkatkan aktivitas PO pada udang. Hasil penelitian Li *et al.* (2009) menunjukkan bahwa penambahan gabungan probiotik *Bacillus* dan prebiotik *isomaltooligosaccharides* pada udang vaname yang diinfeksi WSSV, mampu menghasilkan nilai PO sebesar 31,93% lebih tinggi dibanding perlakuan kontrol.

Setelah 30 hari perlakuan sinbiotik, nilai indeks fagositik perlakuan C, D, dan E lebih tinggi dan berbeda nyata dibanding perlakuan A dan B ($P < 0,05$; Gambar 6). Nilai indeks fagositik pasca-infeksi IMNV mengalami penurunan kecuali pada perlakuan B (kontrol (-) dan nilai tertinggi diperoleh pada perlakuan C dengan nilai $56,12 \pm 2,57\%$ ($P < 0,05$). Udang uji pada perlakuan C dan D menunjukkan jumlah hemosit yang tinggi, namun pada perlakuan D nilai sintasan yang dihasilkan rendah. Hal tersebut diduga karena jumlah sel hemosit yang melakukan proses fagositosis pada udang perlakuan D secara signifikan lebih rendah dibanding perlakuan Rodriguez dan Moullac (2000) menyatakan bahwa nilai indeks fagositik yang tinggi menggambarkan bahwa organisme tersebut memiliki kemampuan untuk memproduksi sel-sel fagosit dalam darah lebih banyak, sehingga ketika terjadi paparan mikroorganisme patogen, sel darah siap melakukan proses fagositosis.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian sinbiotik melalui pakan menghasilkan peningkatan performa pertumbuhan, respons imun, dan resistensi udang vaname terhadap infeksi IMNV.

DAFTAR PUSTAKA

Ai, Q., H. Xu, K.S. Mai, W. Xu, J. Wang, and W.B. Zhang. 2011. Effect of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-

specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*. **Aquaculture**. 317:155-161.
 Anderson, D.P. and A.K. Siwicki. 1995. Basic haematology and serology for fish health programs. **Proceedings of the 2nd Symposium on Diseases in Asian Aquaculture**. Phuket, Thailand:17.
 Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Sedarnawati, dan Budiyaniti. 1989. **Petunjuk Laboratorium Pengujian Pangan**. IPB Press, Bogor.
 Bachere, E. 2000. Shrimp immunity and disease control. **Aquaculture**. 191:3-11.
 Balcazar, J.L., I. de Blas, I. Ruiz-Zazuela, A.C. Calvo, I. Márquez, O. Gironés, and J.L. Muzquiz. 2007. Changes in intestinal microbiota and humoral immune response following probiotic administration in brown trout (*Salmo trutta*). **Brit. J. Nutr.** 97:522-552.
 Blaxhall, P.C. and K.W. Daisley. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. **J. Fish Biol.** 5:577-581.
 Cerezuela, R., J. Meseguer, and M.A. Esteban. 2011. Current knowledge in synbiotic use for fish aquaculture: A review. **J. Aquac. Res. Development**: DOI: 10.4172/2155-9546.S1-008.
 Costa, A.M., C.C. Buglione, F.L. Bezerra, P.C.C. Martins, and M.A. Barracco. 2009. Immune assessment of farm-reared *Penaeus vannamei* shrimp naturally infected by IMNV in NE Brazil. **Aquaculture**. 291:141-146.
 Geng, X., X.H. Dong, B.P. Tan, Q.H. Yang, S.Y. Chi, H.Y. Liu, and X.Q. Liu. 2011. Effects of dietary chitosan and *Bacillus subtilis* on the growth performance, non-specific immunity and disease resistance of cobia, *Rachycentron canadum*. **Fish Shellfish Immunol.** 31:400-406.
 Geraylou, Z., C. Souffreau, E. Rurangwa, L.D. Meester, C.M. Courtin, J.A. Delcour, J. Buyse, and F. Ollevier. 2013. Effects of arabinoxylan-oligosaccharides (AXOS) and endogenous probiotic on the growth performance, non-specific immunity, and gut microbiota on juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). **Fish Shellfish Immunol.** 35:766-775.
 Gullian, M., F. Thompson, and J. Rodriguez. 2004. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**. 233:1-14.
 Huisman, E.A. 1987. **Principles of Fish Production**. Department of Fish Culture and Fisheries, Wageningen Agriculture University, Netherland.
 Li, J.Q., B.P. Tan, and K.S. Mai. 2009. Dietary probiotic *Bacillus OJ* and isomaltooligosaccharides influence the intestine microbial populations, immune responses and resistance to white spot syndrome virus in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Aquaculture**. 291:35-40.
 Lin, S., S. Mao, Y. Guan, L. Luo, and Y. Pan. 2012. Effect of dietary chitosan oligosaccharides and *Bacillus coagulans* on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*). **Aquaculture**. 342-343:36-41.
 Lisal, J.S. 2005. Konsep porbiotik dan prebiotik untuk modulasi mikrobiota usus besar. **Medical Nusantara**. 26:256-262.
 Liu, C.H. and J.C. Chen. 2004. Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. **Fish Shellfish Immunol.** 16:321-334.

- Mahious, A.S., F.J. Getesoupe, M. Hervi, R. Metailler, and F. Ollevier. 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). **Aquacult. Int.** 14:219-229.
- Manning, T.S. and G.R. Gibson. 2004. Prebiotics. **J. Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.** 18:287-298.
- Marlis, A. 2008. Isolasi Oligosakarida Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) dan Pengaruh Pengolahan terhadap Potensi Prebiotiknya. **Tesis**. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Marrifield, D.L., A. Dimitroglou, A. Foey, S.J. Davies, R.T.M. Baker, J. Bogwald, M. Castex, and E. Ringo. 2010. Review: The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. **Aquaculture.** 302:1-18.
- Putra, A.N., N.B.P. Utomo, and Widanarni. 2015. Growth performance of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with probiotic, prebiotic and synbiotic in diet. **Pak. J. Nutr.** 14:263-268.
- Rodriguez, L. and G. Lee Moullac. 2000. State of the art immunological tools and health control of penaeid shrimp. **Aquaculture.** 191:109-119.
- Sahoo, P.K., A. Das, S. Mohanty, B.K. Mohanty, B.R. Pilai, and J. Mohanty. 2008. Dietary β -1,3 glucan improve the immunity and disease resistance of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* challenged with *Aeromonas hydrophyla*. **Aquac. Res.** 39:1574-1578.
- Schrezenmeir, J. and M. Vrese. 2001. Probiotics, prebiotics and synbiotic-approaching a definition. **Am. J. Clin. Nutr.** 73:361-364.
- Smith, V.J., J.H. Brown, and C. Hauton. 2003. Immunostimulation in crustaceans really protect against infection?. **Fish Shellfish Immunol.** 15:71-90.
- SNI. Standar Nasional Indonesia. 2006. **Produksi Udang Vaname *L. vannamei* di Tambak dengan Teknologi Intensif**. Badan Standardisasi Nasional: SNI-01-7246-2006. Jakarta.
- Sritunyalucksana, K. and K. Söderhäll. 2000. The proPO and clotting system in crustaceans. **Aquaculture.** 191:53-69.
- Tanbiyaskur, Widanarni and A.M. Lusiastuti. 2015. Administration of *Bacillus* NP5 and oligosaccharide to enhance the immune response in tilapia *Oreochromis niloticus* towards streptococcosis. **Int. J. Sci. Basic Appl. Res.** 20:304-315.
- Verschuere, L., G. Rombaut, P. Sorgeloos, and W. Verstraete. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in Aquaculture. **Microbiol. Mol. Biol. R.** 64:655-671.
- Wang, B.Y. 2007. Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *penaeus vannamei*. **Aquaculture.** 269:259-264.
- Widanarni, A. Suwanto, Sukenda, dan B.W. Lay. 2003. Potency of *Vibrio* isolates for biocontrol of vibriosis in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) larvae. **Biotropia.** 20:11-23.
- Zonneveld, N., E.A. Huisman, and J.H. Boon. 1991. **Prinsip-Prinsip Budidaya Ikan**. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.