

**OPTIMALISASI PENGGUNAAN BAKTERI *Vibrio alginolyticus* UNTUK MENINGKATKAN  
TOTAL HAEMOCITE COUNT, DIFFERENTIAL COUNT DAN TOTAL PROTEIN PLASMA  
PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon*)**

**Agus suryahman**

Sekolah Tinggi Teknologi Kelautan Balik Diwa Makassar  
Email: [agus\\_almakassar@yahoo.co.id](mailto:agus_almakassar@yahoo.co.id)

**ABSTRAK**

Penelitian optimalisasi penggunaan bakteri untuk meningkatkan respon kekebalan sel pada udang paneid melawan bakteri *Vibrio alginolyticus* dilakukan kerana banyak penyakit pada udang paneid terutama udang windu disebabkan oleh bakteri. Tujuan dari penelitian ini ialah mengetahui efek dari bakteri *Vibrio alginolyticus* terhadap kekebalan sel udang paneid dan aplikasi terbaik dari beberapa perlakuan yang diujicobakan. Penelitian terdiri atas 2 tahap : (1) Uji *In-Vitro* dan (2) Uji *In-vivo*. Setiap tahap dianalisis menggunakan rancang acak lengkap. Hasil menunjukkan terjadi peningkatan kekebalan sel sebelum ujiantang dan setelah ujiantang oleh bakteri *Vibrio alginolyticus*. Setelah ujiantang bakteri *V.alginolyticus* ditemukan perlakuan yang terbaik yaitu dengan dosis bakteri  $10^6$  sel/ml/gram pakan. Jumlah total haemocyte count (THC) adalah  $11 \times 10^6$  sel/ml, dan protein plasma 51,09.

**Kata Kunci:** udang windu (*Penaeus monodon*), imunitas, bakterin

**PENDAHULUAN**

Salah satu penyebab timbulnya penyakit adalah akibat rusaknya lingkungan tambak sebagai akibat dari pencemaran internal. Hal itu disebabkan karena sistem budidaya udang, terutama yang menerapkan teknologi intensif berpotensi menghasilkan limbah organik. Bahan organik ini bersumber dari kotoran udang dan ikan, sisa-sisa makanan yang tidak termakan oleh udang dan ikan, fases yang tidak terurai serta adanya organisme yang mati. Tingginya kadar protein dan senyawa nitrogen lainnya serta lemak dalam pakan udang menyebabkan kualitas limbah yang dihasilkan juga akan berbahaya jika dibandingkan dengan tambak-tambak yang hanya dipergunakan untuk pemeliharaan ikan. Optimalisasi pemberian pakan merupakan faktor yang berpengaruh terhadap besarnya limbah yang dihasilkan melalui residu dan bahan yang dicerna (Smith., 2002).

Dalam saluran pencernaan udang terjadi proses pencernaan nutrient dan ada mikroba bakteri. Bakteri ini meningkatkan proses metabolisme karena mampu menghasilkan enzim *ekstraselluler*. Proses metabolisme bakteri yang menghasilkan enzim *ekstraselluler* yaitu enzim *protease, amylase dan lipase*. Enzim - enzim tersebut membantu menghidrolisa zat gizi protein, lemak dan karbohidrat sehingga menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana dan mudah dicerna oleh udang vannamei (Maharanie, 2005).

Salah satu alternatif untuk mencegah timbulnya berbagai penyakit adalah dengan pemberian probiotik. Probiotik sebagai agensia pengendali flora mikroba patogen pada media pemeliharaan (Irianto, 2003). Selain itu, Probiotik juga merupakan salah satu bahan yang dikembangkan dalam upaya peningkatan efisiensi pakan yang terbuang dan tidak sempat dimakan oleh ikan (Feliatra, 2004).

Pada akuakultur, probiotik telah berhasil digunakan sebagai agensia pengendali flora mikroba pada tangki-tangki pemeliharaan udang melalui penebaran mikroba hidup ke tangki-tangki (Garriques dan Arevalo, 1995), dan perbaikan kualitas perairan dan menekan *Vibrio luminesens* melalui penebaran mikroba ke tambak (Moriarty, 1998). Irianto (2002), menggunakan sel bakteri probiotik yang dimatikan atau tidak aktif sebagai suplemen pakan dan ternyata tetap memiliki kemampuan menekan tingkat mortalitas saat diuji tantang dengan bakteri *A. Salmonicida* ORN6, suatu strain *atypical* pada ikan mas (*C. Auratus*) meskipun tidak menggunakan sel hidup, tetapi tetap terjadi perbaikan status ikan yang ditunjukkan dengan meningkatnya respon imun seperti meningkatkan aktivitas lisozim, aktivitas makrofag dan fagositosis.

## MATERI DAN METODE

### Uji Antagonis *Vibrio harveyi*

Uji antagonis bakteri *Vibrio alginolyticus* dilakukan dengan cara perendaman dengan kepadatan bakteri  $10^6$  selama 6x24 jam.

### Parameter Hematologi

#### Total Hemocyte Count (THC)

Sebelum dan sesudah pemaparan dilakukan sampling. Pengambilan hemosit untuk keperluan TPP dan DHC diambil dari bagian ventral abdomen ke-2 (Van de Braak, 2002) sebanyak 100  $\mu$ l serta untuk keperluan THC diambil dari *pleopod* 2,3 dan 4 secara bergantian (Martin *et al.*, 1993) sebanyak 30  $\mu$ l dengan menggunakan *syringe* 1 ml (1 ml # 26) yang di isi dengan 100  $\mu$ l Natrium Sitrat 10% (PH 7,2). Hemosit kemudian ditaruh eppendorf hingga dilakukanya pengamatan (maksimal 1 jam).

### Analisa Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur, maka digunakan analisa keragaman satu arah (One Way Anova) atau uji F. Jika hasilnya menunjukkan perbedaan yang nyata ( $F_{hitung} > F_{table}$ ) maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Total Hemocyt Count (THC)

Berdasarkan perhitungan jumlah *Total Hemosit Count* (THC) udang windu (*Penaeus monodon*) sebelum dan setelah diuji tantang dengan *V. alginolyticus* adalah seperti pada table 1 berikut :

Tabel 1. Data Total Rerata Hemosit (sel/ml) udang windu (*Penaeus monodon*) sebelum uji tantang dan pasca uji tantang dengan *Vibrio alginolyticus*.

Perlakuan	Jumlah Rata-rata THC Sebelum Uji Tantang	Jumlah Rata-rata THC Setelah Uji Tantang
A ( $10^4$ )	7.800.000	5.600.000
B ( $10^5$ )	6.400.000	6.800.000
C ( $10^6$ )	10.300.000	11.000.000
D ( $10^7$ )	6.250.000	6.566.667
K(-)	3.700.000	-
K(+)	-	4.140.000

### Total Protein Plasma

Berdasarkan hasil perhitungan Total Protein Plasma (TPP) udang windu (*Penaeus monodon*) setelah diuji tantang dengan *V. alginolyticus* dapat dilihat seperti pada table 2 berikut :

Tabel 2. Pengaruh Pemberian Bakterin Terhadap Total Plasma Protein Pada Hemosit

Perlakuan	Nilai TPP
A( $10^4$ )	26,20
B( $10^5$ )	36,87
C( $10^6$ )	51,09
D( $10^7$ )	40,46
K-	9,78
K+	15,62

### TOTAL HAEMOCYTE COUNT (THC)

Berdasarkan hasil uji Anova (*Analysis of Variance*) menunjukkan bahwa nilai rerata Total Hemosit Count udang windu (*Penaeus monodon*) dengan pemberian probiotik dan sebelum diuji tantang dengan *Vibrio alginolyticus* hasilnya adalah berbeda nyata pada taraf ( $p > 0,05$ ). Begitu pula setelah diuji tantang dengan *V. alginolyticus* hasil uji Anova menunjukkan berbeda sangat nyata pada taraf ( $p > 0,01$ ).

Dari hasil uji BNT sebelum dan sesudah uji tantang dengan *V. alginolyticus* diperoleh hasil bahwa pemberian bakterin dengan kepadatan  $10^6$  sel/ml atau perlakuan C memiliki nilai rerata Total Hemosit Count tertinggi jika dibandingkan dengan perlakuan dengan kepadatan bakteri yang lain dimana nilai THC dengan kepadatan bakteri  $10^6$  sel/gram sebelum infeksi yaitu sebesar 10.300.000 sel/ml sedangkan setelah diinfeksi naik menjadi 11.000.000 sel/ml. Nilai rerata THC dengan kepadatan  $10^4$ ,  $10^5$ , dan  $10^7$  sebelum uji tantang berturut-turut 7.800.000 sel/ml, 6.400.000 sel/ml, dan 6.250.000 sel/ml, dan jumlah rerata THC setelah uji tantang berturut-

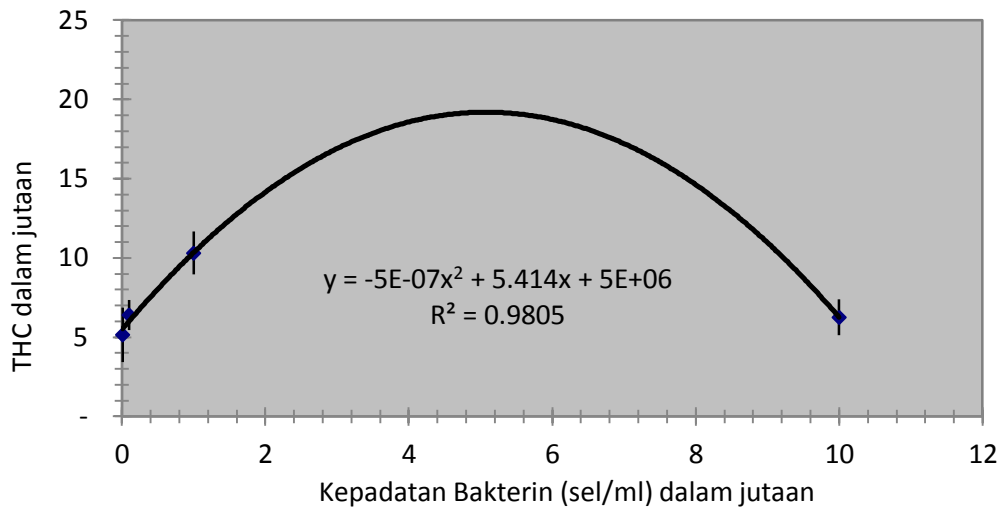
turut adalah 6.800.000 sel/ml, 6.566.667 sel/ml, dan 5.600.000 sel/ml.

Adapun nilai THC untuk perlakuan kontrol negatif (tanpa probiotik) adalah 3.700.000 sel/ml Berdasarkan data THC diatas menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah THC jika dibandingkan antara pemberian probiotik dan tanpa pemberian probiotik dan juga terjadi peningkatan setelah dilakukan uji tantang dengan *V. alginolyticus*.

Terjadinya peningkatan THC adalah karena molekul lectin yang merupakan bagian pertahanan humoral udang berfungsi untuk melakukan pengenalan terhadap benda asing (*non self recognition*) yang masuk kedalam tubuh udang (Rodriguez dan Le Moullac, 2000). Sedangkan menurut Lopez *et al.* (2003), hemocyanin akan meningkat pada juwana (*Penaeus monodon*) yang diberi pakan yang mengandung imunostimulan. Disamping hal tersebut kandungan bakterin *V. alginolyticus* adalah lipopolisakarida yang dapat meningkatkan kerja sistem imun (Alimuddin, Hala, dan Juada, 2005).

Probiotik bakterin berfungsi sebagai imunostimulan seperti dikatakan Ringo dan Gatesoupe (1998), probiotik berfungsi sebagai imunostimulan dengan demikian akan merangsang terjadinya proliferasi dan difrensiasi sel-sel imunokompeten seperti makrofag pada ikan.

Untuk mengetahui hubungan persamaan Total Hemosit Count dengan pemberian probiotik dari bakterin sebelum dan sesudah diuji tantang dengan *V. alginolyticus* dapat dilihat pada grafik berikut (Gambar 1).



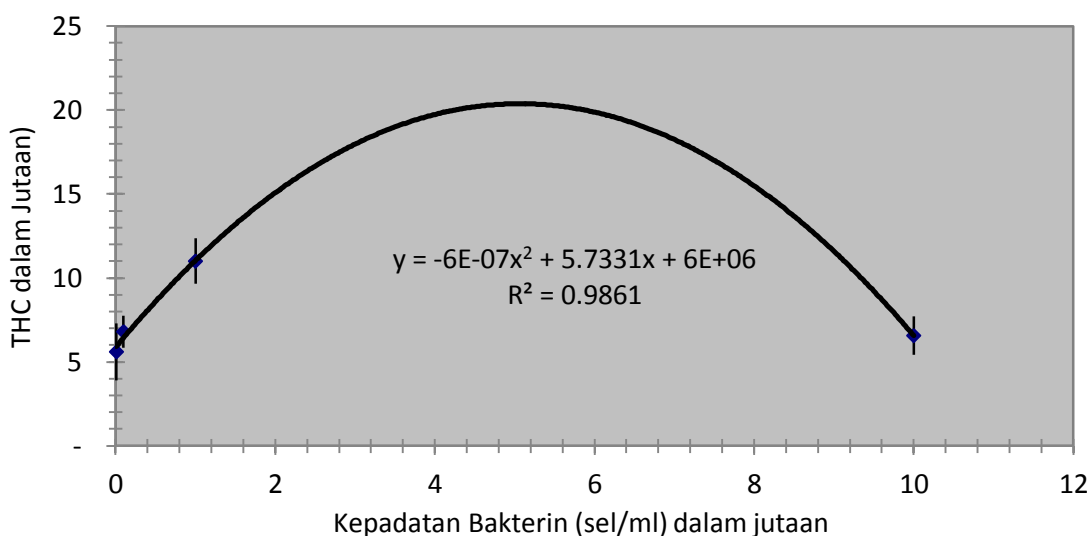
Gambar 1. Grafik Hubungan Persamaan Antara Kepadatan Bakterin yang Berbeda Dengan Total Hemosit Count Sebelum Uji Tantang.

Grafik diatas dapat dilihat bahwa nilai tertinggi rerata THC udang windu (*Penaeus monodon*) sebelum uji tantang adalah perlakuan C dengan kepadatan bakterin  $10^6$  yaitu sebesar 10.300.000 sel/ml dan terendah pada perlakuan A dengan kepadatan bakteri probiotik  $10^4$  yaitu sebesar sebesar 5.150.000 sel/ml.

Berdasarkan grafik tersebut, juga didapatkan persamaan regresi (lampiran 1)  $Y = -5E-07x^2 + 5,414x + 5E+06$  dengan nilai  $R^2 = 0,980$  dan  $r = 0,990$ . Koefisien Determinasi ( $R^2$ ) merupakan

besaran yang dipakai untuk menunjukkan seberapa besar variabel dependent mampu menjelaskan variabel independent. Nilai  $R^2$  yang didapatkan yaitu 0.980 hasil ini menunjukkan bahwa 98,0 % peningkatan THC ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 2,0 % dipengaruhi oleh variabel lain.

Sedangkan grafik hubungan persamaan Total Hemosit Count diantara perlakuan setelah dilakukan uji tantang dengan *V. alginolyticus* dapat dilihat pada grafik berikut.



Gambar 2. Grafik Hubungan Antara Kepadatan Bakterin Yang Berbeda Dengan Total Hemosit Count Setelah Uji Tantang.

Grafik diatas dapat dilihat bahwa nilai optimum rerata THC udang windu (*Penaeus monodon*) setelah dilakukan uji tantang adalah perlakuan C dengan kepadatan probiotik  $10^6$  yaitu sebesar 11.000.000 sel/ml dan terendah pada perlakuan A dengan kepadatan bakteri  $10^4$  yaitu sebesar sebesar 5.600.000 sel/ml. Grafik tersebut juga didapatkan persamaan regresi  $Y = -6E-07x^2 + 5,733x + 6E+06$  dengan nilai  $R^2 = 0,986$  dan  $r = 0,991$ . Koefisien Determinasi ( $R^2$ ) merupakan besaran yang dipakai untuk menunjukkan seberapa besar variabel dependent mampu menjelaskan variabel independent. Nilai  $R^2$  yang didapatkan yaitu 0.986 hasil ini menunjukkan bahwa 98,6 % peningkatan THC ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 1,4 % dipengaruhi oleh variabel lain.

Peningkatan Total Hemosit Count baik sebelum uji tantang yang dibandingkan dengan perlakuan kontrol dan juga setelah dilakukan uji tantang dengan *V. alginolyticus* disebabkan karena secara internal pada tubuh udang mendapatkan antigen berupa imunostimulan dari bakterin. Hal ini juga karena hemosit udang merupakan sel darah yang mempunyai peranan sangat penting dalam sistem tanggap kebal udang, dan akan meningkat secara pesat apabila terjadi suatu infeksi (Tizard, 1988).

Hemosit merupakan salah satu komponen darah pada udang yang berfungsi sebagai pertahanan non-spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminir patogen melalui fagositosis (Anderson, 1992). Effendi *et al.*, 2004 menambahkan bahwa hemosit meningkat karena adanya serangan patogen maka sel hemosit akan melakukan proses degranulasi, cytotoxicity dan lisis

terhadap material tersebut sehingga adanya patogen yang menyerang akan merangsang pula untuk memproduksi sel-sel darah sebagai bentuk perlawanan pada patogen.

Selain itu peningkatan THC disebabkan karena terjadinya lonjakan pernafasan pada udang windu. Menurut Castro *et al.* (2004) bahwa akan terjadi peningkatan yang maksimal pada *respiratory burst* (lonjakan pernafasan) pada ikan setelah dilakukan pemberian bakterin. Peningkatan jumlah THC pada udang karena hemosit disintesa mitosis oleh jaringan hematopoietic yang merupakan sepasang *epigastric nodule*. Produksi hemosit yang meningkat tersebut dilakukan untuk mencapai keadaan homeostatis setelah pemberian probiotik sebagai imunostimulan. Jaringan tersebut terletak tepat berada pada bagian depan (*anterior stomach*), merupakan tempat sintesa.

#### **TOTAL PROTEIN PLASMA**

Berdasarkan tabel 2 dapat dilihat bahwa nilai total protein pada plasma terbesar berada pada perlakuan C dengan kepadatan bakteri  $10^6$  sel/ml didapatkan nilai TPP sebesar 51,09 dan kontrol negative dengan nilai TPP sebesar 9,78. Hal ini terjadi karena pemberian bakterin dengan dosis  $10^6$  sel/ml akan merangsang proses produksi dan maturasi sel yang mengandung granula terutama sel granular dan semi granular. Menurut Van De Braak (2002) jika tidak terjadi invasi patogen akan memberi kesempatan sel hyalin mengalami proses maturasi menjadi semigranular dan selanjutnya menjadi sel granular.  $10^6$  sel/ml.

## KESIMPULAN

Adapun kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah dengan pemberian bakterin dari bakteri *Vibrio alginolyticus* memiliki kemampuan untuk meningkatkan system kekebalan tubuh udang windu (*Penaeus monodon*) dimana Total Haemocyte Count, Differential Haemocyte Count dan Total Protein Plasma mengalami peningkatan dengan pemberian bakterin. Dosis terbaik yang didapatkan dari penggunaan bakterin adalah terdapat pada perlakuan C dengan dosis  $10^6$  sel/ml.

## DAFTAR PUSTAKA

- Effendi, S; Alexander, R dan Akbar, T. 2004. Peningkatan Hemosit Benur Udang Windu (*Penaeus monodon Fabricus*) Pasca Perendaman Ekstrak Ragi Roti (*Saccharomyces cereviseae*) Pada Konsentrasi Yang Berbeda. Jurnal Sains dan Teknologi, Agustus 2004, Vol 14 No.2: 46-53.
- Feliatra., I. Effendi., E. Suryadi. 2004. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. Jurnal Natur Indonesia 6(2): 75-80 (2004) ISSN 1410-9379.
- Garrigues,D., Arevalo,G. 1995. An Evaluation of The Production and Use of A Live Bacterial Isolate to Manipulate *Penaeus vanemai* Post Larvae in Ecuador. In : Browdy,C.L., Hopkins,J.S. (Eds). Swimming Trough Trouble Water.Proceeding of The Special Session on Shrimp Farming aquaculture'95. Pp.55-59.
- Irianto, A. 2003. Probiotik Akuakultur. Gadjah Mada University Press. Hal 53- 56.
- Maharani, 2005. Pengaruh Peanambahan Bakteri Gram Positif Hasil Isolasi Dari Saluran Pencernaan Udang Dalam Pakan untuk Meningkatkan Daya Cerna dan

Pertumbuhan Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*).Thesis. Program Studi Budidaya Perairan. Minat Sumberdaya Hayati Perairan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.

- Rodriguez, J., and G. Le Moullac, 2000. State of The Art of Immunological Tools and Health Contol of Penaeid (*Penaeus monodon*). PhD Thesis, Wageningen University. Netherland
- Smith. D.M. D.M.A. Bufford, S.J. Tabrett, S.J. Irvin and L. Ward., 2002. The Effect Of Feeding Frequency On Water Quality and Growt of Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). Aquacultur. 207 (125-136).
- Van de Brak, K. 2002. Haemocyte Defence in The Blak Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). Disertasi. Wageningen University. Netherland. 159 page