

PENGARUH PEMBERIAN *Lactobacillus* sp. DENGAN DOSIS YANG BERBEDA TERHADAP SISTEM IMUN UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Vibrio parahaemolyticus*

EFFECT OF *Lactobacillus* sp. WITH DIFFERENT DOSAGE FOR THE IMMUNE SYSTEM OF VANNAMEI (*Litopenaeusvannamei*) INFECTED BY *Vibrio parahaemolyticus*

Miftahul Jannah^{1*}, Muhammad Junaidi¹, Dewi Nur'aeni Setyowati¹, Fariq Azhar¹

¹Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Mataram.
Jl. Pendidikan No. 37 Mataram, NTB, Telp.0370 633007/Fax. 636041

* Corresponding author e-mail: miftahuljannahkunram13@gmail.com

Submitted: 26 Mei 2018 / Revised: 26 Desember 2018 / Accepted: 26 Desember 2018

<http://doi.org/10.21107/jk.v11i2.3980>

ABSTRACT

Vannamei is an introduced shrimp that has economic value in both local and international market. One of the diseases that often attack *vannamei* shrimp is *Vibrio parahaemolyticus*. This study aims to determine the probiotic bacteria *Lactobacillus* sp. against *vannamei* shrimp immune response infected with *V. parahaemolyticus*, Survival rate, and bacterial *V. parahaemolyticus* density of the shrimp intestine. Shrimp used are shrimp that is 62 days which is kept in aquarium size 30x30x25 cm as many as 10 shrimp. The study was conducted with 5 controls: Control (-) (without *Lactobacillus* sp. and not infected), Control (+) (without *Lactobacillus* sp. and infected), P1 (*Lactobacillus* sp. 10⁶ CFU / ml), P2 (*Lactobacillus* sp. 10⁸ CFU / ml), P3 (*Lactobacillus* sp. 10¹⁰ CFU / ml). The results showed that the administration of *Lactobacillus* sp. with a dose of 10⁸ CFU / ml was able to increase THC *vannamei* shrimp by 5.58 x 10⁶ cells / ml, hyaline cells and granular cells required in the shrimp immune system, increasing shrimp SR value by 86.67% and core growth of *V. parahaemolyticus*. Based on the results of this study is the use of probiotic *Lactobacillus* sp. which is recommended in the cultivation of *vaname* shrimp to improve the immune system, the level of shrimp survival and suppress the growth of bacteria *V. parahaemolyticus* is 10⁸ CFU / ml.

Keywords: *Lactobacillus* sp., *V. parahaemolyticus*, *vannamei*, dose of *Lactobacillus* sp.

ABSTRAK

Udang vaname merupakan udang hasil introduksi yang memiliki nilai ekonomis tinggi baik di pasar lokal maupun di pasar internasional. Salah satu penyakit yang sering menyerang udang vaname adalah *Vibrio parahaemolyticus*. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh pemberian bakteri probiotik *Lactobacillus* sp. terhadap respon imun udang vaname yang diinfeksi dengan *V. parahaemolyticus*, Survival rate, dan kepadatan bakteri *V. parahaemolyticus* pada usus udang. Udang yang digunakan adalah udang yang berumur 62 hari yang dipelihara dalam akuarium berukuran 30x30x25 cm sebanyak 10 ekor. Penelitian dilakukan dengan 5 perlakuan yaitu Kontrol(-) (tanpa *Lactobacillus* sp. dan tidak diinfeksi), Kontrol(+) (tanpa *Lactobacillus* sp. kemudian diinfeksi), P1 (*Lactobacillus* sp. 10⁶ CFU/ml), P2 (*Lactobacillus* sp. 10⁸ CFU/ml), P3 (*Lactobacillus* sp. 10¹⁰ CFU/ml). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian *Lactobacillus* sp. dengan dosis 10⁸ CFU/ml mampu meningkatkan THC udang vaname sebesar 5,58 x 10⁶ sel/ml, sel hialin dan sel granular yang berperan penting dalam sistem imun udang, meningkatkan nilai SR udang sebesar 86,67% dan menekan pertumbuhan bakteri patogen *V. parahaemolyticus*. Berdasarkan hasil penelitian ini, penggunaan dosis probiotik *Lactobacillus* sp. yang dianjurkan pada budidaya udang vaname untuk meningkatkan sistem imun, tingkat kelangsungan hidup udang dan menekan pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* adalah 10⁸ CFU/ml.

Kata kunci: *Lactobacillus* sp., *V. parahaemolyticus*, udang vaname, dosis *Lactobacillus* sp.

PENDAHULUAN

Udang vaname merupakan udang hasil introduksi yang memiliki nilai ekonomis tinggi baik di pasar lokal maupun di pasar internasional. Budidaya udang merupakan salah satu industri perikanan yang cukup besar. Nilai ekspor udang ke berbagai negara pada tahun 2015 bahkan mencapai 145.007,9 ton (BPS, 2017). Selain itu, udang vaname juga memiliki beberapa keunggulan yaitu pertumbuhan cepat, memiliki toleransi terhadap kisaran salinitas yang lebar (0,5-45 ppt), relatif membutuhkan protein yang rendah yaitu sekitar 20-35%, nilai FCR rendah (Briggs *et al.*, 2004), dan dapat dipelihara pada padat penebaran yang tinggi (Araneda *et al.*, 2008).

Salah satu penyakit yang menginfeksi udang vaname adalah bakteri *Vibrio parahaemolyticus* (Widowati, 2008). *V. parahaemolyticus* dapat menyebabkan lisisnya sel-sel darah pada tubuh inang (Hatmanti, 2003), tubuh udang berubah menjadi merah dan dapat menyebabkan kematian. (Alapide-Tendencia dan Dureza, 1997). Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* disebut sebagai vibriosis. Vibriosis dapat menyebabkankematian udang hingga 100% dalam waktu 1-2 hari (Feliatra *et al.*, 2012). Berdasarkan data dari Ditjen P2HP-KKP (2010) dalam Sunorita dan Tjarsono (2014) sebanyak 26-ton udang mengalami penolakan ekspor oleh Uni Eropa karena terkena penyakit *V. parahaemolyticus* pada tahun 2005 dan 2007. Kasus terakhir disampaikan oleh Dinas Kelautan dan Perikanan pada tahun 2009 dan 2010 bahwa ikan Indonesia mengalami penolakan ekspor oleh China karena terinfeksi *V. parahaemolyticus*.

Salah satu alternatif pencegahan terhadap penyakit vibriosis adalah pemberian bakteri probiotik. Bakteri probiotik merupakan mikroba hidup yang dapat meningkatkan pemanfaatan nutrisi pakan, meningkatkan sistem imun, memperbaiki kualitas lingkungan hidup inang (Verschuere *et al.*, 2000), meningkatkan kelangsungan hidup udang, dan menekan populasi bakteri *Vibrio* spp. (Widanarni *et al.*, 2008). Berdasarkan hasil penelitian Fernando (2016), bakteri yang dapat dijadikan sebagai bakteri probiotik adalah dari kelompok *Lactobacillus*. Bakteri ini merupakan bakteri penghasil asam laktat yang memproduksi antimikroba berupa bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan patogen dan memiliki fungsi dalam pencernaan nutrisi (Basir, 2014), namun penggunaannya dalam kegiatan budidaya belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian

mengenai pemberian bakteri probiotik pada udang vaname terhadap sistem imun udang vaname yang diinfeksi dengan bakteri *V. parahaemolyticus*.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Lokas Pengamatan

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September-Oktober 2017 yang bertempat di Laboratorium Program Studi Budidaya Perairan Universitas Mataram.

Persiapan Penelitian

Udang digunakan pada penelitian ini adalah benih udang vaname yang berumur sekitar 62 hari yang dipelihara pada akuarium dengan ukuran 30 cm x 30 cm x 25 cm sebanyak 15 buah dengan kepadatan 10 ekor untuk setiap unit percobaan. Pakan yang digunakan pada penelitian ini berupa pelet komersil X dengan kandungan protein 40%. Pakan ditambahkan dengan bakteri *Lactobacillus* sp. sesuai dengan dosis yang diujikan, yaitu Kontrol (-) = pemberian pakan tanpa penambahan probiotik dan tidak diinfeksi, Kontrol (+) = pemberian pakan tanpa penambahan probiotik kemudian diinfeksi, P1 = pemberian pakan dengan penambahan probiotik 10^6 CFU/ml, P2 = pemberian pakan dengan penambahan probiotik 10^8 CFU/ml, P3 = pemberian pakan dengan penambahan probiotik 10^{10} CFU/ml.

Larutan probiotik yang diberikan sebanyak 1% dari total pakan (pelet kering) (Widanarni *et al.*, 2008). Udang dipelihara selama 15 hari dan diberikan pakan tanpa penambahan probiotik kemudian udang dipelihara kembali selama 15 hari dan diberikan pakan uji sesuai dengan dosis perlakuan penelitian. Pakan diberikan sebanyak 5 kali sehari yaitu pada pukul 07.00, 11.00, 15.00, 19.00 dan 23.00 sebanyak 5% dari biomassa udang. Uji tantang dilakukan selama 7 hari menggunakan bakteri *V. parahaemolyticus* yang diinjeksi pada bagian punggung udang sebanyak 10^4 CFU/ml per ekor udang.

Pengamatan Total Hemocyte Count (THC)

Total hemosit diamati dengan mengambil hemolim udang sebanyak 0.1 ml dari pangkal kaki jalan ke lima dengan menggunakan *syringe* yang sudah berisi 0.2 ml antikoagulan. Antikoagulan yang digunakan adalah hasil campuran dari 0,44-gram trisodium citrat, 0,99-gram sodium chlorid, 0,19 gram EDTA, dan 50 ml akuades. Campuran hemolim dan antikoagulan tersebut dihomogenkan selama 5 menit. Tetesan pertama dibuang dan tetesan

kedua diteteskan ke haemocytometer. Total hemosit dihitung menggunakan haemocytometer dengan bantuan mikroskop dengan pembesaran 40x. Adapun rumus perhitungannya berdasarkan Ekawati et al., 2012

$$\text{Total Hemosit (sel/ml)} = \frac{\text{Jumlah sel yang dihitung}}{\text{Jumlah bidang pandang}} \times 10^4 \times \text{FP}$$

Keterangan :
FP = faktor pengenceran

Pengamatan *Differential Hemosit Count* (DHC)

Srynge diisi 0,2 ml antikoagulan dan diambil hemolim udang dari kaki jalan kelima udang uji menggunakan *srynge* yang sama. Campuran hemolim dan antikoagulan dihomogenkan selama 5 menit kemudian diteteskan pada gelas objek. Dibuat ulasan hemolim pada gelas preparat dan dikering anginkan kemudian difiksasi dengan methanol 100% selama 15 menit. Hemolim yang telah difiksasi dikering anginkan kembali dan diwarnai dengan cara direndam pada larutan giemsa 10% selama 15 menit. Ulasan hemolim yang telah diwarnai dicuci pada akuades mengalir selama 30 detik dan dibiarkan mengering kembali. Preparat diamati menggunakan mikroskop perbesaran 40 kali dan dibedakan menurut jenisnya yaitu sel hialindan granular. Presentase tiap sel hemosit dihitung dengan rumus (Amlacher, 1970; Indraswati et al., 2014):

$$\text{Presentase jenis sel hemosit} = \frac{\text{Jumlah tiap sel hemosit}}{\text{Total hemosit}} \times 100\%$$

Perhitungan Jumlah Bakteri

Perhitungan jumlah bakteri yang dilakukan adalah perhitungan jumlah bakteri *V. parahaemolyticus* dan total bakteri yang berada di dalam usus udang. Sampel usus udang yang telah diambil dari masing-masing perlakuan dimasukkan ke dalam tabung sampel yang sebelumnya telah dimasukkan sodium chloride 0.9%. Tabung sampel kemudian ditutup rapat dan dimasukkan ke dalam *cool box*. Perhitungan jumlah bakteri *V. parahaemolyticus* dan total bakteri usus sesuai dengan metode yang dilakukan oleh Yunita et al., (2015).

Survival rate (SR)

SR atau tingkat kelangsungan hidup merupakan presentasi jumlah udang yang

masih hidup setelah dilakukannya ujiantang. Tingkat kelangsungan hidup udang dapat dihitung dengan menggunakan rumus dari penelitian Asma et al., (2016) berikut ini:

$$\text{SR} = \frac{\text{No} - \text{Nt}}{\text{No}} \times 100\%$$

Keterangan :
SR = Tingkat kelangsungan hidup udang (%)
Nt = Jumlah udang yang mati setelah ujiantang (ekor)
No = Jumlah udang di awal penelitian (ekor)

Gejala klinis

Pengamatan mengenai gejala klinis dilakukan pada saat udang diujiantang. Gejala klinis diamati selama 7 hari setelah ujiantang selesai dilakukan.

Analisis Statistik

Data yang diperoleh diuji secara statistik. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak lengkap (RAL) dan diuji dengan menggunakan SPSS kemudian diuji lanjut dengan uji DUNCAN.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Hemocyte Count (THC)

Hasil analisis statistik uji *One-Way Anova* menunjukkan bahwa pemberian probiotik memberikan pengaruh yang signifikan ($P < 0,05$) terhadap nilai THC udang vaname. Udang vaname yang telah diberikan bakteri probiotik *Lactobacillus* memiliki nilai THC berkisar antara $0,60 - 5,58 \times 10^6$ sel/ml (Gambar 1).

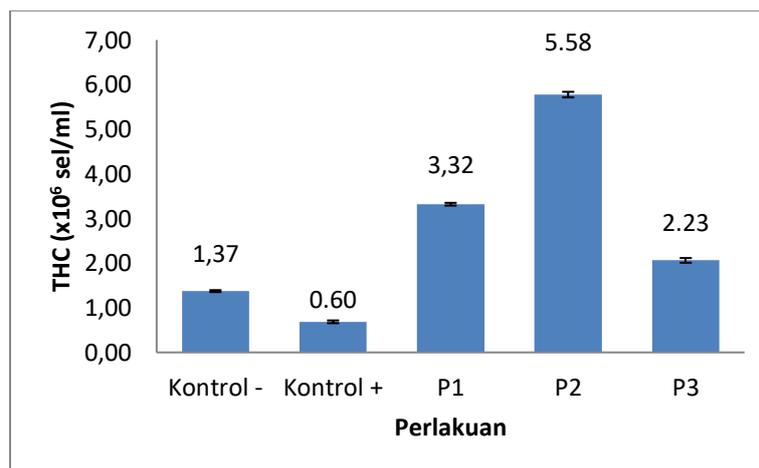
Total hemosit pada tubuh krustasea sangat penting keberadaannya dalam menjaga resistensi terhadap patogen. Apabila total hemosit tinggi, maka dapat meningkatkan kemampuan darah untuk memfagositosis. Total hemosit yang tinggi juga dapat meningkatkan sel granular yang dapat merangsang aktivasi *Prophenoloxidase* (ProPO) untuk menghasilkan aktivitas *phenoloxidase* (PO), sehingga mampu bertahan terhadap serangan patogen. Sedangkan sebaliknya, apabila total hemosit menurun, maka hal tersebut dapat mengakibatkan infeksi akut yang mematikan (Febriani et al., 2012). Pengaktifan sistem proPO akan menghasilkan produksi berbagai protein, termasuk PO yang berpartisipasi dalam melanisasi di sekitar parasit dan pembunuhan mikroba secara langsung (Eknath et al., 2009).

Awalnya, PO mengkatalisis hidroksilasi monofenol menjadi diphenol dan oksidasi lebih lanjut dilakukan dari diphenol ke dalam *quinones* yang dapat secara nonspesifik akan membentuk melanin yang tidak larut. *Quinones* kemudian akan memproduksi suatu zat untuk sklerotisasi (proses mengerasnya) kutikula, dan sklerotisasi kutikula ini berubah menjadi penghalang infeksi. Zat yang dihasilkan oleh *quinones* sangat beracun dan akan dibantu oleh proses melanisasi di sekitar patogen dalam membunuh patogen secara langsung (Song dan Li, 2014).

Reaksi melanisasi merupakan respon umum terhadap masuknya parasit ke dalam invertebrata, terutama arthropoda. Melanisasi merupakan suatu proses menghasilkan pigmen coklat tua yang bertanggung jawab untuk melakukan inaktivasi terhadap partikel asing dan mencegahnya menyebar ke seluruh tubuh inang, dan juga untuk menyembuhkan kerusakan kutikula (Sritunyalucksana dan Söderhäll, 2000). Selain itu, menurut Ratcliffe *et al.*, (1985) dalam Battistella *et al.*, (2009) melanin merupakan pigmen yang berwarna coklat atau kekuningan yang diproduksi di kutikula sebagai hasil dari efek luka atau serangan parasit. Sedangkan opsonisasi merupakan suatu proses pelenyapan bakteri

atau zat-zat asing dengan cara dikelilingi dan dilekatkan pada antibodi untuk memperkuat dan memperlancar proses fagositosis oleh sel hialin (Tjay dan Rahardja, 200).

Pada penelitian ini, terlihat bahwa perlakuan P2 yaitu pemberian probiotik dengan dosis 10^8 CFU/ml mampu memproduksi total hemosit paling tinggi setelah dilakukan infeksi dengan bakteri *Vibrio parahemolyticus* dibandingkan dengan dosis 10^6 , 10^{10} CFU/ml dan Kontrol sehingga dapat meningkatkan sistem imun udang terhadap infeksi bakteri *V. parahemolyticus*. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Vieira *et al.*, (2010) yang menunjukkan bahwa pemberian bakteri probiotik berupa *Lactobacillus plantarum* dengan dosis 0.7×10^8 CFU/ml memberikan ketahanan tubuh udang terhadap serangan penyakit bakteri *Vibrio harveyi*. Penelitian lain juga melaporkan bahwa dengan mengkonsumsi probiotik yang mengandung *Lactobacillus* GG dapat merangsang aktivitas fagositosis dalam meningkatkan sistem imunitas. Dalam hal ini, probiotik bertanggung jawab dalam merangsang sistem imun udang baik seluler maupun humoral. Sistem imunitas sendiri merupakan pertahanan yang utama dalam melawan mikroba patogen (Soeharsono *et al.*, 2010).



Gambar 1. Total hemosit udang vaname

Differential Hemocyte Count (DHC)

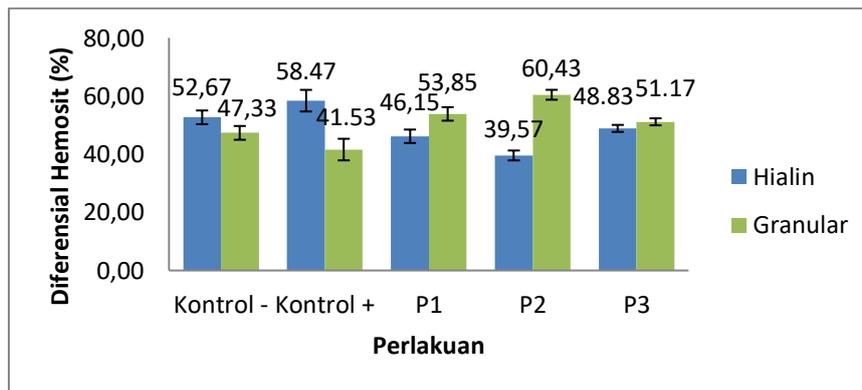
Jenis sel hemosit yang diamati adalah sel hialin dan sel granular (termasuk didalamnya sel semi granular). Berdasarkan dari hasil analisis statistik uji *One-Way Anova* menunjukkan bahwa pemberian probiotik memberikan pengaruh yang signifikan ($P < 0,05$) terhadap nilai DHC udang vaname (Gambar 2).

Haemosit terdiri dari tiga jenis sel yang dibedakan berdasarkan dari butiran di sitoplasma masing-masing sel; yaitu hialin, granular, dan semi granular. Tiga jenis sel tersebut berfungsi menghancurkan partikel asing yang masuk ke tubuh udang melalui fagositosis, enkapsulasi, pembentukan nodul, dan produksi komponen humoral yang tersimpan dalam butiran haemocytic yaitu protein antikoagulan, aglutinin, enzim PO,

peptida antimikroba, dan protease inhibitor (Jayasree et al., 2006). Fagositosis adalah reaksi pertahanan seluler yang paling umum terjadi dan bersama dengan komponen humoral. Semua jenis sel hemosit dapat melakukan aktifitas fagositosis, namun pada umumnya sel hialin yang memiliki peran lebih aktif dalam aktifitas fagositosis (Gudding et al., 2014). Pada poses fagositosis ini, sel hialin akan menelan dan menghancurkan patogen dan partikel asing yang masuk ke dalam tubuh udang (Lesmanawati, 2013).

Berdasarkan dari hasil penelitian yang dilakukan, presentase sel hialin tertinggi

ditunjukkan oleh perlakuan Kontrol + (58,47%) dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap semua perlakuan. Tingginya presentasi sel hialin pada udang yang dipelihara pada perlakuan Kontrol + disebabkan karena adanya upaya dari udang untuk mempertahankan diri dari tingginya jumlah *V. parahaemolyticus* yang telah diinfeksi sebelumnya ke tubuh udang karena tidak adanya dukungan dari bakteri probiotik untuk melawan patogen. Hal ini juga dikarenakan sel hialin berperan dalam proses fagositosis, dimana fagositosis merupakan garis pertahanan pertama untuk menghalau patogen (Gudding et al., 2014).



Gambar 2. Presentasi differensial hemosit (hialin dan granular) udang vaname.

Akan tetapi jika dilihat dari jumlah sel hialin yang dihasilkan dari masing-masing perlakuan, jumlah sel hialin terbaik ditunjukkan pada perlakuan P2 (dosis probiotik 10^8 CFU/ml) yaitu sebesar $2,29 \times 10^6$ CFU/ml yang berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap semua

perlakuan (Tabel 1). Salah satu penelitian menerangkan bahwa pemberian bakteri probiotik *Lactobacillus* sp. juga terbukti dapat meningkatkan respon imun melalui pengaktifan fagositosis (Amrouche et al., 2006)

Tabel 1. Jumlah sel hialin dan granular berdasarkan perhitungan presentase.

Perlakuan	THC ($\times 10^6$ CFU/ml)	Hialin (%)	Jumlah sel hialin ($\times 10^6$ CFU/ml)	Granulosit (%)	Jumlah sel granular ($\times 10^6$ CFU/ml)
Kontrol +	0,60	58,47	0,40 ^a	41,59	0,29 ^a
Kontrol -	1,37	52,67	0,72 ^b	47,33	0,65 ^b
P3	2,23	48,83	1,01 ^c	51,17	1,05 ^c
P1	3,32	46,15	1,53 ^d	53,85	1,79 ^d
P2	5,58	39,57	2,29 ^e	60,43	3,49 ^e

Selain hialin, jenis sel hemosit lain yang berperan dalam sistem imun udang adalah sel granular. Sel ini akan melakukan degranulasi pada tahap awal, dimana sel hemosit (jenis granular) akan berubah menjadi sel yang memiliki lapisan pipih konsentris dan akan terjadi nekrosis. Proses ini akan membunuh organisme asing yang mendekati atau setidaknya mengurangi pergerakan dan

menghambat pertumbuhan benda asing tersebut (Battistella, 2009).

Fungsi lain dari hemosit adalah enkapsulasi dari benda asing yang terlalu besar dan tidak dapat ditangani pada proses fagositosis. Proses enkapsulasi ini juga dijalankan oleh sel granular yang dimulai dengan sel darah yang mengalami penambahan sel tunggal dan jumlah darah yang lebih banyak tersebut menyebabkan sel-sel mengempung tubuh

benda asing asing (patogen) yang berada di dalam tubuh udang. Kemudian sel granular akan membentuk nodul dalam waktu 3-9 jam, sehingga terbentuk kapsul yang terjadi antara 24-48 jam atau lebih lama dimana ada sejumlah besar sel darah yang mengelilingi benda asing tersebut. Pembentukan nodul terjadi apabila tubuh inang diserang oleh partikel-partikel kecil dalam jumlah yang banyak (Supramattaya *et al.*, 2003).

Presentase sel granular tertinggi pada penelitian ini ditunjukkan oleh perlakuan P2 yaitu sebesar 60,43% dan diikuti oleh perlakuan P1 (53,85%), P3 (51,17%), Kontrol – (47,33%) kemudian Kontrol + (41,59%) dan jumlah sel granular tertinggi juga ditunjukkan oleh perlakuan P2 ($3,49 \times 10^6$ CFU/ml) dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap semua perlakuan. Berdasarkan dari penelitian ini, pemberian probiotik dengan dosis 10^8 CFU/ml pada perlakuan P2 merupakan dosis yang optimal untuk meningkatkan sel hiain dan sel granulosit pada tubuh udang. Selain dalam proses enkapsulasi, sel granular memiliki fungsi mengaktifkan sistem proPO (Andrade, 2011). Pengaktifan sistem proPO ini merupakan respon awal dalam pengenalan partikel asing. Pengaktifan sistem proPO menghasilkan adanya produksi protein, termasuk phenoloxidase (PO) yang berperan dalam membunuh mikroba secara langsung (Das dan Sethi, 2009). PO merupakan suatu

enzim yang terlibat dalam formasi melanin. Formasi melanin erat kaitannya dalam membantu fase akhir penyembuhan luka (Sritunyalucksana dan Soderhall, 2000; Manoppo dan Kolopita, 2014).

Penambahan bakteri probiotik *Lactobacillus* sp. dalam penelitian ini dapat merangsang modulasi kekebalan tubuh, meningkatkan aktivitas PO dan proPO dari *L. Vannamii* (Chiu *et al.*, 2007; Kongnum dan Hongpattarakere, 2012), meningkatkan peroksinektin (PE) yang merupakan molekul imun relatif terhadap sistem proPO. Peningkatan PE dapat meningkatkan aktivitas biologis adhesi sel, opsonisasi, degranulasi, peroksidase dan enkapsulasi pada sel darah udang (Chiu *et al.*, 2007). PE juga memiliki fungsi untuk memicu munculnya

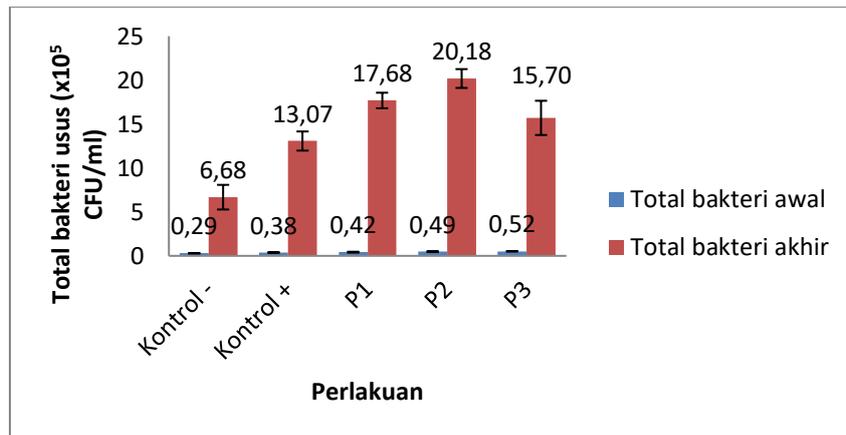
fagositosis oleh sel hialin udang (Effendy *et al.*, 2004). Selain itu, *Lactobacillus* sp. bertindak sebagai sumber peptidoglikan yang didugadapat menstimulasi sistem kekebalan bawaan udang (Chiu *et al.*, 2007).

Menurut Hauton (2012), jika konsentrasi sel granular tinggi pada hemolymph maka aktivitas PO juga akan menjadi tinggi dan meningkatkan ketahanan tubuh udang terhadap penyakit. Pada jalur pertahanan lain, sel granular juga memiliki senyawa *antibacterial peptides* yang berperan dalam menghalangi masuknya bakteri patogen ke dalam tubuh udang (Smith *et al.*, 2003).

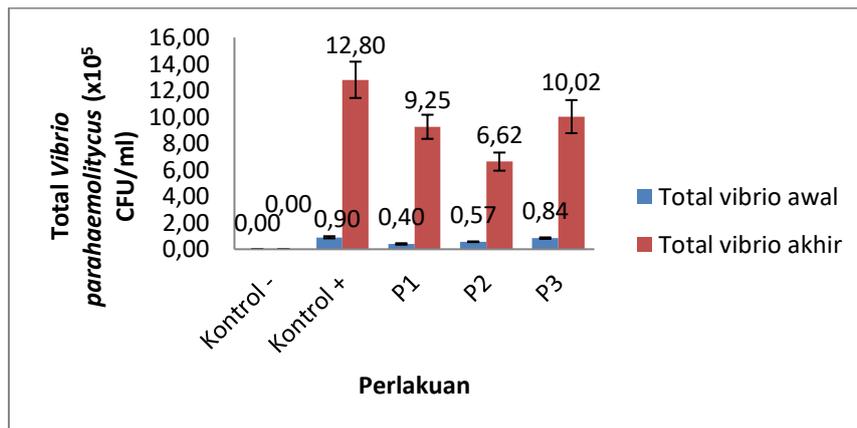
Total Bakteri Usus dan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Berdasarkan dari hasil analisis statistik uji *One-Way Anova* menunjukkan bahwa pemberian probiotik memberikan pengaruh yang signifikan ($P < 0,05$) terhadap total bakteri dan total bakteri *V. parahaemolyticus* pada usus udang vaname. Total bakteri di dalam usus udang vaname setelah 15 hari penambahan probiotik berkisar antara $0,29-0,52 \times 10^5$ CFU/ml (Gambar 3). Berdasarkan dari hasil uji lanjut *Duncan's*, perlakuan P3 menunjukkan hasil tertinggi yaitu $0,52 \times 10^5$ CFU/ml. Setelah 9 hari diinfeksi dengan *V. parahaemolyticus* kisaran total bakteri mengalami peningkatan menjadi $6,68-20,18 \times 10^5$ CFU/ml (Gambar 4). Perlakuan P2 menunjukkan hasil tertinggi yaitu $20,18 \times 10^5$ CFU/ml dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap semua perlakuan.

Total bakteri *V. parahaemolyticus* yang teramati pada hari kedua pasca infeksi berkisar antara $0,00-0,90 \times 10^5$ CFU/ml. Berdasarkan dari hasil uji lanjut *Duncan's*, Kontrol (+) menunjukkan hasil tertinggi yaitu $0,90 \times 10^5$ CFU/ml. Setelah 9 hari diinfeksi, kisaran total bakteri bakteri *V. parahaemolyticus* meningkat menjadi $0,00-12,80 \times 10^5$ CFU/ml. Perlakuan Kontrol (+) juga menunjukkan hasil tertinggi yaitu $12,80 \times 10^5$ CFU/ml dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap semua perlakuan. Sedangkan bakteri *V. parahaemolyticus* paling rendah terletak pada perlakuan P2 dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap semua perlakuan.



Gambar 3. Total bakteri di dalam usus udang vaname



Gambar 4. Total bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dalam usus udang vaname

Usus yang terdapat pada saluran pencernaan sangat erat kaitannya dengan kesehatan tubuh udang. Bakteri *Lactobacillus* merupakan bakteri yang tergolong dalam bakteri asam laktat (BAL) yang menghasilkan sejumlah komponen antimikrobal, dalam hal ini adalah bakteriosin. Bakteriosin adalah toksin yang menyerupai protein yang disekresikan oleh bakteri bersangkutan untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain yang merugikan. Bakteri merugikan pada penelitian ini adalah *V. parahaemolyticus*. Selain itu, bakteri probiotik dari asam laktat dapat memberikan daya tahan dan pemulihan kesehatan saluran pencernaan, mengurangi bau feces yang tidak enak memberi suasana asam pada saluran pencernaan, metabolit yang dihasilkan dapat menghambat patogen, dan meningkatkan sistem imunitas (Soeharsono et al., 2010).

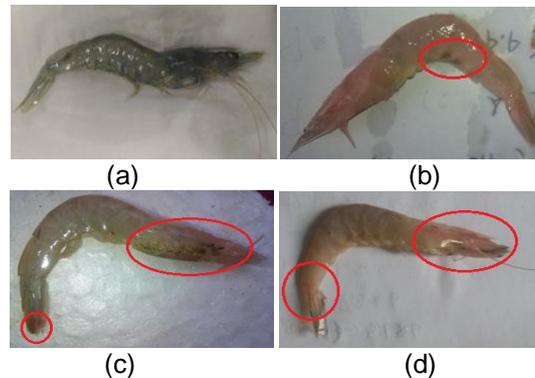
Sedangkan pada perlakuan P1 (10⁶ CFU/ml), diduga dosis bakteri probiotik yang diberikan masih belum cukup untuk memproduksi bakteriosin yang menghambat pertumbuhan bakteri vibrio yang diinfeksi dan pada perlakuan P3 (10¹⁰ CFU/ml) dosis yang diberikan terlalu banyak sehingga

menimbulkan persaingan nutrisi yang menyebabkan fungsi bakteri probiotik melemah sehingga keberadaan bakteri probiotik menurun oleh serangan bakteri *V. parahaemolyticus*. Menurut Kurniawan et al., (2016), semakin banyak jumlah bakteri *Lactobacillus* yang ada di dalam saluran pencernaan, maka akan semakin meningkatkan ketersediaan nutrisi yang akan diserap dalam saluran pencernaan inang. Akan tetapi jika dosis probiotik yang diberikan terlalu banyak dapat berdampak kurang baik bagi inang. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mulyadi (2011) bahwa jumlah bakteri yang terlalu banyak dapat menyebabkan bakteri cepat membentuk spora sehingga *Lactobacillus* sp. tidak dapat menjalankan fungsi dan aktivitasnya dengan optimal. Oleh karena itu pada penelitian ini, udang yang dipelihara pada perlakuan P2 dengan dosis probiotik *Lactobacillus* 10⁸ CFU/ml memiliki bakteri *V. parahaemolyticus* di dalam usus paling rendah dibandingkan dengan perlakuan Kontrol +, P1 dan P3.

Gejala Klinis

Gejala klinis dapat dilihat pada Gambar 5. Udang vaname pada Gambar 5a merupakan udang yang sehat. Udang memiliki ciri warna tubuh transparan, usus terisi penuh dan terlihat lebih segar. Setelah uji tantang dilakukan, satu hari kemudian timbul gejala klinis infeksi *V. parahaemolyticus* pertama (Gambar 5b) berupa jaringan otot mati (nekrosis) hampir di seluruh tubuh udang (ditandai dengan berubahnya warna tubuh

menjadi kemerahan) serta terdapat bercak hitam di bagian kaki renang. Selanjutnya pada hari berikutnya nekrosis masih terlihat di hampir seluruh tubuh udang (tubuh masih berwarna putih dan kemerahan di bagian kepala dan ekor) serta bercak hitam meluas ke bagian kepala, kaki jalan, dan ekor udang (Gambar 5c). Infeksi nekrosis terus meluas ke seluruh tubuh udang, usus kosong, hingga akhirnya udang mati (Gambar 5d).



Gambar 5. Udang normal (a); nekrosis pada bagian kepala dan bercak hitam pada kaki renang (b); Bercak hitam pada kaki jalan dan ekor serta nekrosis pada bagian kepala(c); Kulit rusak, nekrosis pada hampir seluruh tubuh udang, terdapat bercak hitam di bagian kepala serta usus kosong (d).

Gejala-gejala yang timbul pasca udang diinfeksi oleh *V. parahaemolyticus* sesuai dengan hasil penelitian Rahmanto *et al.* (2012) yaitu tubuh berwarna pucat, kaki memerah, ekor memerah, ekor merah kecoklatan lalu geripis, karapas lunak, usus kosong, serta timbulnya bercak hitam pada tubuh udang dan nekrosis (Rukyani 1993; Hasan, 2011).

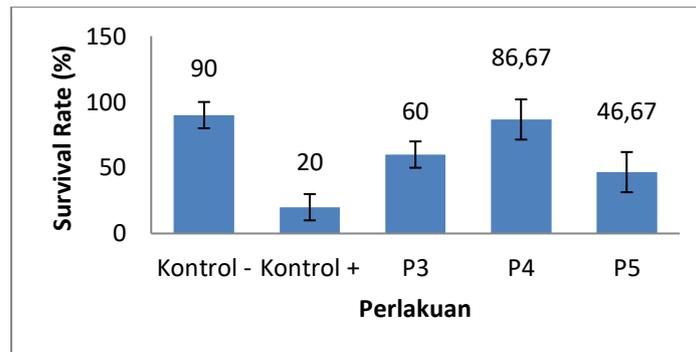
Usus udang yang sebagian besar kosong pada perlakuan kontrol + disebabkan karena kurangnya nafsu makan udang setelah diinjeksi dengan *V. parahaemolyticus*. Hal tersebut terlihat dari banyaknya sisa pakan di dalam akuarium. Selain itu, di dalam usus udang, umumnya terdapat dua jenis mikroorganisme yakni mikroorganisme indogeneus atau mikroorganisme yang habitat aslinya berasal dari dalam usus dan eksogeneus atau datang dari luar tubuh inang. Keseimbangan mikroba di dalam usus sangat dinamis keberadaannya dan dapat berubah setiap saat. Apabila mikroorganisme yang mendominasi di dalam tubuh udang adalah bakteri patogen (Kontrol +) maka akan berakibat buruk bagi inang. Begitu pula sebaliknya, apabila mikroorganisme yang mendominasi di dalam tubuh udang adalah bakteri baik/probiotik (P2) maka akan berakibat positif bagi inang. Oleh karena itu, perlu dilakukannya penambahan bakteri baik

dari luar tubuh udang (Soeharsonoet *al.*, 2010). Selain itu, pemberian probiotik *Lactobacillus* dapat memberikan beberapa keuntungan, diantaranya adalah meningkatkan nafsu makan, meningkatkan mikroba dalam usus, mensintesis vitamin dan menstimulasi sistem kekebalan tubuh (Nahasson, 1996; Amirullah, 2017).

Survival rate (SR)

Berdasarkan dari hasil analisis statistik uji *One-Way Anova* menunjukkan bahwa pemberian probiotik memberikan pengaruh yang signifikan ($P < 0,05$) terhadap tingkat kelangsungan hidup udang vaname. Kelangsungan hidup udang vaname setelah 9 hari diinfeksi dengan *V. parahaemolyticus* melalui injeksi berkisar antara 20,00-90% (Gambar 6).

Sintasan tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan Kontrol - (90%). Akan tetapi, berdasarkan dari hasil uji lanjut *Duncan's*, perlakuan terbaik udang vaname yang diinfeksi dengan *V. parahaemolyticus* ditunjukkan pada perlakuan P2 (86,67%) dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap semua perlakuan kecuali kontrol -. Sedangkan kelangsungan hidup terendah terdapat pada perlakuan kontrol + (20,00%) dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap semua perlakuan



Gambar 6. Presentase kelangsungan hidup udang vaname

Tingginya tingkat kelangsungan hidup pada perlakuan P2 sejalan dengan tingginya THC udang pada perlakuan P2 yang meningkatkan sistem imun udang, sehingga saat diinjeksi oleh penyakit bakteri *V. parahaemolyticus* udang dapat bertahan hidup. Menurut Martin (2004) dalam Rahmanto et al., (2012), udang yang diinfeksi oleh *V. parahaemolyticus* sebanyak 10^4 CFU dapat membunuh 50% udang selama 7 hari. Dengan pemberian bakteri probiotik berupa *Lactobacillus* sp. terbukti dapat meningkatkan ketahanan terhadap penyakit dan menyehatkan pencernaan usus (Sivakumar et al., 2014). Dalam kasus lain, Shivakumar et al., (2012) juga menunjukkan bahwa udang windu yang diberikan probiotik berupa *Lactobacillus acidophilus* dengan dosis 10^7 CFU.g⁻¹ memberikan tingkat kelangsungan hidup tertinggi yaitu 86,67%.

Jika dilihat dari gejala klinis udang, perlakuan kontrol + menunjukkan kematian udang vaname terlihat pada hari ke-2 pasca infeksi dengan *V. parahaemolyticus* hingga di hari ke-3 kematian massal udang vaname terjadi karena nekrosis yang terjadi di tubuh udang dan kosongnya usus udang (Gambar 6d). Sedangkan pada perlakuan yang lain terjadi kematian bertahap pada hari ke-4 hingga akhir pengamatan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Pemberian bakteri probiotik *Lactobacillus* sp. dengan dosis 10^8 CFU/ml dapat meningkatkan *Total Hemocyte Count* (THC) udang vaname sebesar $5,58 \times 10^6$ sel/ml, sel hialin dan sel granular yang berperan penting dalam sistem imun udang, meningkatkan nilai SR udang sebesar 86,67% dan menekan pertumbuhan bakteri patogen *Vibrio parahaemolyticus*. Berdasarkan hasil penelitian ini, penggunaan dosis probiotik *Lactobacillus* sp. yang dianjurkan pada budidaya udang vaname untuk meningkatkan sistem imun, tingkat

kelangsungan hidup udang dan menekan pertumbuhan bakteri *V. parahaemolyticus* adalah 10^8 CFU/ml. Berdasarkan hasil penelitian ini, penggunaan dosis probiotik *Lactobacillus* sp. yang dianjurkan pada budidaya udang vaname untuk meningkatkan sistem imun, tingkat kelangsungan hidup udang dan menekan pertumbuhan bakteri *.parahaemolyticus* adalah 10^8 CFU/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Alapide-Tendancia E.V dan L.A. Dureza. (1997). Isolation of *Vibrio* spp. From *Penaeus monodon* (Fabricius) with Red Disease Syndrome. *Aquaculture*, 154(2) 107-114.
- Amirullah. (2017). Pengaruh Pemberian Probiotik Organ Dalam pada Boiler. *Skripsi*. Makassar: Jurusan Ilmu Peternakan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Amrouche T., Y. Boutin, G. Prioult, I. Fliss. (2006). Effects of Bifidobacterial Cytoplasm, Cell Wall and Exopolysaccharide on Mouse Lymphocyte Proliferation and Cytokine Production. *International Dairy Journal*, 16(1),70–80.
- Andrade A.J. (2011). Shrimp Immunological Reactions Against WSSV: Role of Haemocytes on WSSV Fate. *Tesis*. Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University.
- Asma N, Z.A. Muchlisin , I. Hasri. (2016). Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Benih Ikan Peres (*Osteochilus vittatus*) pada Ransum Harian yang Berbeda. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 1(1), 1-11.
- Araneda M, E.P. Perez, E.G. Leyva. (2008). White Shrimp *Penaeus vannamei* Culture in Freshwater at Three Densities: Condition State Based on

- Length and Weight. *Aquaculture*, 283, 13-18.
- Badan Pusat Statistik. (2017). Ekspor Udang Menurut Negara Tujuan Utama 2000-2015. <https://www.bps.go.id/LinkTabelStatis/view/id/1015> [21 April 2017].
- Basir B. (2014). Kerja Probiotik *Lactobacillus lactis* dalam Saluran Pencernaan Udang Vanamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan Pemberian Pakan yang disuplemen Probiotik Kacang Hijau. *Jurnal Balik Diwa*, 5(2).
- Battistella S., P. Bonivento, G.A. Amirante. (2009). Hemocytes and Immunological Reactions in Crustaceans. *Italian Journal of Zoology*. ISSN: 1125-0003 (Print) 1748-5851 (Online). Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/oi/tizo20>.
- Briggs M, S.F. Smith, R. Subasinghe, M. Philips. (2004). Introductions and Movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the Pacific. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Regional Office for Asia and the Pacific. Bangkok. *RAP Publication* 2004/10. 12 pp.
- Chiu C.H. Y.K. Guu, C.H. Liu. T.M. Pan. W. Cheng. (2007). Immune Responses and Gene Expression in White Shrimp, *Litopenaeus Vannamei*, Induced by *Lactobacillus plantarum*. *Fish & Shellfish Immunology*, 23, 364-377.
- Das B.K dan S.N Sethi. (2009). *Immune Functions in Crustaceans. Application of Molecular and Serological Tools in Fish Disease Diagnosis (CIFA)*. Orissa. India.
- Effendy S., R. Alexander, T. Akbar. (2004). Peningkatan hemosit benur udang windu *Penaeus monodon* (Fab.). Pasca perendaman ekstrak ragi roti *Saccharomyces cerevisiae* pada konsentrasi yang berbeda. *J. Sains dan Teknologi*, 14(2), 46-53.
- Ekawati, A. W., Nursyam, H., Widjayanto, E., & Marsoedi, M. (2012). Diatomae *Chaetoceros ceratosporum* dalam Formula Pakan Meningkatkan Respon Imun Seluler Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.). *The Journal of Experimental Life Science*, 2(1), 20-28.
- Eknath A.E., B.K. Mishra, B.K. Das, P. Swain. (2009). Application of Molecular and Serological Tools in Fish Disease Diagnosis. *ICAR*.
- Febriani D. (2012). Kappa-Karagenan sebagai Immunostimulan untuk Pengendalian Penyakit Infectious Myonecrosis (IMNV) pada Udang Vaname, *Litopenaeus vannamei*. *Skripsi*. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Feliatra, Zainuri, D. Yoswaty. (2012). Pathogenitas Bakteri *Vibrio* sp. Terhadap Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal Sungkai*, 2(1), 23-36.
- Fernando E. (2016). Pengaruh Variasi Dosis dan Frekuensi Pemberian Probiotik pada Pakan Terhadap Pertumbuhan Serta Mortalitas Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Skripsi*. Surabaya: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.
- Gudding R., A. Lillehaug, O. Evensen. (2014). *Fish Vaccination*. Willey Blackwell. Amerika.
- Haliman R.B dan D. Adijaya. (2008). *Udang Vananamei*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hauton, C. (2012). The scope of the crustacean immune system for disease control. *Journal of invertebrate pathology*, 110(2), 251-260.
- Hatmanti, A. (2003). Penyakit Bakterial pada Budidaya Krustasea serta Cara Penanganannya. *J. Oseana*, 28(3), 1-10.
- Indraswati V.O., S. Supono, A. Saefullah. (2015). Suplementasi Minyak Ikan untuk Peningkatan Imunitas Non Spesifik Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan*, 3(2).
- Jayasree L, P. Janakiram, R. Madhavi. (2006). Characterization of *Vibrio* spp. Associated with Diseased Shrimp from Culture Ponds of Andhra Pradesh (India). *Journal of The World Aquaculture Society*, 37(4), 523-532.
- Kongnum, K., & Hongpattarakere, T. (2012). Effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and survival of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with *Vibrio harveyi*. *Fish & shellfish immunology*, 32(1), 170-177.
- Kurniawan L.A., M. Arief, A. Manan, D.D. Nindarwi. (2016). Pengaruh Pemberian Probiotik Berbeda pada Pakan Terhadap Retensi Protein dan Retensi Lemak Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 6(1).
- Lesmanawati W. (2013). Aplikasi Sinbiotik pada Udang Vaname *Litopenaeus vannamei*: Resistensi terhadap Infectious Myonecrosis Virus dan Performa Pertumbuhan. *Tesis*. Bogor: Program

- Studi Ilmu Akuakultur. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Manoppo H. dan M. E.F. Kolopita. (2014). Respon Imun Krustase. *Review Artikel*, 2(22), 22-26.
- Mulyadi A.E. (2011). Pengaruh Pemberian Probiotik pada Pakan Komersil terhadap Laju Pertumbuhan Benih Ikan Patin Siam (*Pangasius hypopythalmus*). *Skripsi*. Jatinagor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unpad.
- Rahmanto S.P., Sarjito, D. Chimawati. (2014). Karakterisasi dan Uji Postulat Koch Bakteri Genus *Vibrio* yang berasal dari Media Kultur Massal Mikroalga. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 3(4), 230-237.
- Sivakumar N., M. Sundararaman, G. Selvakumar. (2012). Probiotic Effect of *Lactobacillus acidophilus* Against Vibriosis in Juvenile Shrimp (*Penaeus monodon*). *African Journal of Biotechnology*, 11(91), 15811-15818.
- Sivakumar N., G. Selvakumar, P. Varalakshmi, B. Ashokkumar. 2014. *Lactobacillus* sp. a Potent Probiotic for Disease Free Shrimp Aquaculture. *International Journal of Recent Scientific Research*, 5(4), 1031-1045.
- Smith, V. J., Brown, J. H., & Hauton, C. (2003). Immunostimulation in crustaceans: does it really protect against infection? *Fish & Shellfish Immunology*, 15(1), 71-90.
- Soeharsono, L. A., Safitri, R., Sjojfan, O., Abdullah, S., Rostika, R., Lengkey, H. A., & Mushawwir, A. (2010). Probiotik Basis Ilmiah, Aplikasi, dan Aspek Praktis. *Penerbit Widya Padjadjaran. Bandung*.
- Song Y.L dan C.Y. Li. (2014). Shrimp Immune System – Special Focus on Penaeidin. *Journal of Marine Science and Technology*, 22(1), 1-8.
- Sunorita M. dan I. Tjarsono. (2014). Kebijakan Hambatan Non Tarif di Pasar Uni Eropa Terhadap Ekspor Komoditas Udang Indonesia. *Jurnal Transnasional*, 6(1).
- Supramattaya K., J. Ruangsri, T. Itami, V. Chitiwan, W. Phromkunthong, K. Muroga. (2003). Morphology and Immunological Roles of Hemocytes and Fixed Phagocytes in Black Tige Shrimp *Penaeus monodon*. *Fish Pathology*, 38 (2), 33-39.
- Sritunyalucksana, K., & Söderhäll, K. (2000). The proPO and clotting system in crustaceans. *Aquaculture*, 191(1-3), 53-69.
- Tjay T.H. dan K. Rahardja. (2007). *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Verschuere L., G. Rombaut, P. Sorgeloos, W. Verstraete. (2000). Probiotics Bacteria as Biocontrol Agents in Aquaculture. *App. Environ. Microbiol*, 64, 655-671. S.
- Vieira F.N., C.C. Buglione, J.P.L. Mourino, A. Jatoba, M.L. Martins, D.D. Schleder, E.R. Andreatta, M.A. Barraco, L.A. Vinatea. (2010). Effect of Probiotic Supplemented Diet on Marine Shrimp Survival After Challenge with *Vibrio harveyi*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*. On-line version.63 (3). ISSN: 1678-4162. Widanarni, Sukenda, M. Setiawati. 2008. Bakteri Probiotik dalam Budidaya Udang: Seleksi, Mekanisme Aksi, Karakterisasi, dan Aplikasinya Sebagai Agen Biokontrol. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 13(2), 80-89. ISSN: 0853-4217.
- Widowati R. (2008). Keberadaan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada Udang yang dijual di Rumah Makan Kawasan Pantai Pangandaran. *VIT VITALIS*, 1(1).
- Yennie Y. (2011). Isolasi dan Identifikasi *Vibrio parahaemolyticus* Patogenik pada Udang Tambak. *Skripsi*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Yunita M., Y. Hendrawan, R. Yulianingsih. 2015. Analisis Kuantitatif Mikrobiologi pada Makanan Penerbangan (*Aerofood ACS*) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) dengan Metode *Pour Plate*. *Jurnal Keteknikaan Pertanian Tropis dan Biosistem*, 3(3), 237-248.