

Respon Imun Larva Udang Vanamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan Bioenkapsulasi Vitamin C pada *Artemia salina*

Immune Response of White-Leg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Larvae Through Bioencapsulation of Vitamin C in *Artemia salina*

Ardiansyah*, Rahmatia, Amrullah

^{*)} Email korespondensi: ardi_kimsan@yahoo.com

Program Studi Teknologi Pembenihan Ikan, Jurusan Teknologi Budidaya Perikanan Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan, Jl. Poros Pangkep-Parepare, Pangkajene Kepulauan

ABSTRAK

Rendahnya mutu benih udang vaname selama pemeliharaan larva menyebabkan benih udang vaname lebih rentan terhadap penyakit sehingga mempengaruhi keberhasilan produksi. Keadaan ini dapat diatasi dengan meningkatkan respon imun larva vanamei melalui pemberian vitamin C. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas bioenkapsulasi *Artemia salina* dengan vitamin C untuk meningkatkan kekebalan terhadap penyakit vibriosis larva udang vaname. Perlakuan yang dicobakan adalah penambahan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* dengan empat dosis yang berbeda, 20, 30, 40, dan 50 ppm serta kontrol (tanpa vitamin C), masing-masing tiga kali ulangan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Benih udang vaname dipelihara dari stadia Mysis-PL11 pada wadah krat kapasitas 50 liter, volume air media 40 liter dengan kepadatan 40 ekor/liter kemudian dilakukan pengecekan *Total haemocyte count* (THC), *Differential haemocyte count* (DHC) sebelum dan sesudah uji tantang dilakukan dengan menggunakan bakteri *Vibrioharveyii*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa efektivitas imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* untuk mencegah penyakit vibriosis berpengaruh signifikan terhadap sistem kekebalan tubuh larva udang vaname stadia Mysis-PL11 dengan nilai THC tertinggi 41×10^4 sel/mm, DHC (66,67% hialin, 27,67% semi-granular, 67,67% granular) pada perlakuan penambahan vitamin C dosis 50 ppm.

Kata kunci: bioenkapsulasi; vibriosis; kekebalan tubuh; udang vaname.

ABSTRACT

The low quality of vannamei shrimp seeds during larval rearing causes vannamei shrimp seeds to be more susceptible to disease, thus affecting production success. This situation can be overcome by increasing the immune response of vanamei larvae through the administration of vitamin C. This study aims to evaluate the effectiveness of Artemia salina bio encapsulation with vitamin C to increase immunity against vibriosis disease of vannamei shrimp larvae. The treatment tried was the addition of vitamin C through A. salina bio encapsulation with four different doses, 20, 30, 40, and 50 ppm as well as control (without vitamin C), each with three replicates using a Completely Randomized Design (CRD). Vaname shrimp seeds were reared from Mysis-PL11 stadia in 50-liter capacity crates, 40-liter volume of media water with a density of 40 fish/liter, then checked Total hemocyte count (THC), Differential hemocyte count (DHC) before and after the challenge test was carried out by using Vibrio harveyii bacteria. The results showed that the effectiveness of the immunostimulant vitamin C through A. salina bio encapsulation to prevent vibriosis had a significant effect on the immune system of Mysis-PL11 stadia vannamei shrimp larvae with the highest THC value of 41×10^4 cells/mm, DHC (66.67% hyaline, 27.67% semi-granular, 67.67% granular) in the treatment with the addition of 50 ppm vitamin C.

Keywords: bioencapsulation; vibriosis; immune system; white-leg shrimp.

I. PENDAHULUAN

Budidaya udang vaname di Indonesia menjadi prioritas pengembangan akuakultur dan sektor perikanan untuk meningkatkan perekonomian nasional. Pada tahun 2019 produksi total udang nasional mencapai 517.397 ton dan ditargetkan mengalami kenaikan sebesar 250% pada tahun 2024 menjadi 1.290.000 ton (KKP, 2020). Penyakit merupakan masalah serius dalam budidaya udang vaname yang dapat disebabkan oleh bakteri, virus, dan jamur. Salah satu penyakit yang banyak menyerang kegiatan budidaya udang vaname adalah vibriosis yang disebabkan oleh beberapa spesies *Vibrio harveyii*. Bakteri ini bersifat oportunistik artinya ada di lingkungan budidaya yang dapat berkembang menjadi patogen apabila kondisi lingkungan dan inangnya memburuk (Alonzo *et al.*, 2017). Penyakit vibriosis dapat menyerang pada semua stadia udang dan mampu menyebabkan kematian pada larva udang sampai 100% (KKP, 2012).

Penyakit vibriosis dapat diatasi menggunakan antibiotik, namun pemakaian dalam jangka panjang dapat menimbulkan dampak negatif diantaranya muncul strain-strain bakteri resisten terhadap obat-obatan (Nurjanah dkk., 2014), sehingga penggunaan antibiotik menjadi tidak efektif. Salah satu upaya pengendalian penyakit vibriosis dapat dilakukan dengan memanfaatkan bahan-bahan yang mampu meningkatkan imunitas udang (imunostimulan) dan bersifat antibakterial. Pemberian imunostimulan pada larva udang menjadi tindakan yang efektif karena tidak mempunyai efek samping dan sangat baik untuk diterapkan pada organisme yang tidak mempunyai sel memori dalam sistem imunnya. Hal ini dapat merangsang atau memaksimalkan respon imun non spesifik (Hidayat, 2017).

Imunostimulan adalah suatu zat tertentu yang mempunyai kemampuan untuk meningkatkan ketahanan tubuh (imun) terhadap serangan penyakit. Salah satu jenis imunostimulan yang biasa digunakan dalam pembenihan ikan adalah vitamin C (Weiqing *et al.*, 2002). Vitamin C merupakan bahan yang dapat meningkatkan keragaan benih yang dapat berfungsi sebagai stimulant untuk sistem pertahanan tubuh non spesifik sehingga merupakan suatu komponen penting untuk meningkatkan kekebalan tubuh non spesifik (Hidayat, 2017). Meskipun diketahui bahwa vitamin C memiliki manfaat penting pada udang/ikan, namun pada tahapan larva pemberian vitamin C tidak efektif dilakukan dengan cara perendaman atau secara oral. Oleh karena itu pada penelitian ini diaplikasikan pada *A. salina* yang memiliki sifat *selective filter feeder* yaitu mengambil semua makanan yang ada disekelilingnya tanpa seleksi, dengan demikian maka vitamin C akan terserap ke dalam tubuh *A. salina*. Selanjutnya *A. salina* sebagai pakan alami yang memiliki bentuk dan ukuran sesuai dengan lebarbukaan mulut larva akan menarik larva udang untuk memakan *A. salina* tersebut.

Pakan alami *A. salina* ini telah banyak digunakan sebagai bioenkapsulasi untuk meningkatkan nilai nutrisi, seperti bakteri, asam lemak dan asam amino (Nguyen *et al.*, 2011). Berdasarkan hal tersebut, maka pada penelitian imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* untuk mengendalikan penyakit vibriosis pada larva udang vaname (*L. vannamei*) stadia Mysis-PL11 ini dilakukan.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengevaluasi efektifitas imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* terhadap peningkatan respon imun non spesifik untuk

mencegah penyakit vibriosis dan meminimalisir tingkat kematian pada larva udang vaname (*L. vannamei*). Hipotesis yang diharapkan pada penelitian ini adalah pemberian imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* efektif meningkatkan respon imun non spesifik dan dapat mencegah penyakit vibriosis serta dapat meminimalisir tingkat kematian pada larva udang vaname (*L. vannamei*).

II. METODE PENELITIAN

1. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dan disusun menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Perlakuannya adalah penambahan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* dengan empat taraf dosis 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm ditambah satu kontrol (tanpa vitamin C), dengan masing-masing tiga kali ulangan.

2. Prosedur Penelitian

Wadah pemeliharaan berupa krat volume 40 liter yang disterilkan menggunakan deterjen dan iodine. Media yang digunakan difiltrasi di bak *sand filter* dan di-ozonisasi lalu diendapkan di bak reservoir. Air sebanyak 30 liter di-treatment menggunakan ultra-violet dan dimasukkan kedalam wadah pemeliharaan yang dilengkapi dengan instalasi aerasi.

Sebelum dilakukan penebaran, larva udang vaname stadia mysis diaklimatisasi terlebih dahulu. Proses aklimatisasi dilakukan terhadap salinitas dan suhu selama selang waktu 30 menit dengan mengapungkan kantong larva selama 25-30 menit, lalu pengikat kantong larva dibuka dan larva dibiarkan keluar dengan sendirinya secara perlahan. Selanjutnya sebanyak 1.200 ekor larva ditebar pada setiap wadah pemeliharaan.

Bioenkapsulasi dilakukan menggunakan wadah ember volume 5 liter sebanyak 5 buah yang diisi air laut steril salinitas 29 – 32 ppt sebanyak dua liter yang dilengkapi dengan instalasi aerasi. Bibit *A. salina* yang telah didekapsulasi, ditebar sebanyak 12 g/wadah dan dikultur selama 24 jam. *A. salina* dipanen lalu diperkaya dengan vitamin C sesuai dosis yang telah ditentukan dan didiamkan selama empat jam, selanjutnya *A. salina* siap diberikan pada larva.

Uji tantang dilakukan pada hari ke-11 atau stadia PL-8 dengan cara penginfeksi bakteri *V. harveyii* melalui media pemeliharaan. Sebanyak 1 ml inokulum bakteri yang telah diencerkan, dimasukkan kedalam media pemeliharaan. Uji tantang dilakukan selama tiga hari dengan tetap melakukan monitoring kualitas air dan pemberian pakan. Pengamatan gejala klinis larva udang dilakukan selama tiga hari paska penginfeksi, dan pada akhir penelitian (hari ke-15) dilakukan perhitungan *survival rate* larva udang vaname.

3. Parameter Penelitian

a. Total Haemocyte Count

Perhitungan hemosit larva udang dilakukan tiga kali selama penelitian yaitu dihari ke-2, ke-10, dan ke-14 penelitian dengan cara menggerus larva udang terlebih dahulu kemudian mengambil haemolymph menggunakan jarum syringe yang telah berisi larutan anti-coagulan, selanjutnya diteteskan kedalam haemocytometer (0,1 mm) (Hartina dkk., 2014), dan dihitung jumlah selnya per ml di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40 kali

(Syahailatua, 2009). THC dihitung menggunakan haemocytometer berdasarkan Blaxhall & Daisley (1973), dengan menggunakan Persamaan 1. THC adalah jumlah hemosit, \sum THC adalah jumlah sel dihitung, D4 pengenceran, dan V merupakan volume hitung.

$$THC = \frac{\sum THC}{V} \times D4 \times 10^4 \text{ ----- (1)}$$

b. *Differential Haemocyte Count*

Perhitungan differential hemosit larva udang dilakukan tiga kali selama penelitian yaitu di hari ke-2, ke-10, dan ke-14 dengan cara menggerus larva udang terlebih dahulu kemudian mengambil haemolymph menggunakan jarum syringe yang telah berisi larutan anti-coagulan (Hartina dkk., 2014). Selanjutnya haemolymph diteteskan pada objek gelas dan dibuat ulasan, kemudian dikeringkan di udara. Setelah itu, preparat difraksi dengan methanol selama 5 – 10 menit, kemudian dikeringanginkan. Preparat direndam dalam larutan pewarna Giemsa selama 15 – 20 menit, lalu dicuci dengan air mengalir dan dibiarkan mengering. Differensiasi hemosit dihitung dengan mengelompokkan sel hemosit ke dalam tiga tipe (granular, semigranular, dan hialin) di bawah mikroskop dengan pembesaran 40 kali (Syahailatua, 2009), dan differensiasi hemosit dihitung berdasarkan Amlacher (1970), dengan Persamaan 2. % DHC adalah persentase jenis sel hemosit, \sum DHC merupakan jumlah tiap jenis sel hemosit, dan T.DHC adalah total hemosit.

$$\%DHC = \frac{\sum DHC}{T.DHC} \times 100 \text{ ----- (2)}$$

4. Analisa Data

Data jumlah total hemosit (THC), jumlah hemosit differensial (DHC), dan tingkat kelangsungan hidup (SR), dianalisa secara statistik menggunakan SPSS versi 16. Analisis dilanjutkan dengan uji Duncan. Data gejala klinis udang yang terinfeksi paska uji tantang dianalisa secara deskriptif.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. *Total Haemocyte Count*

Jumlah hemosit meningkat pada setiap perlakuan selama pemeliharaan, dan setelah penginfeksi dengan bakteri *V. harveyii* terjadi penurunan jumlah hemosit. Total hemosit larva udang setelah pemberian vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* (Tabel 1). Berdasarkan pengamatan pada hari ke-10, THC mengalami peningkatan dibanding hari ke-2 pada setiap perlakuan. Peningkatan THC tertinggi pada perlakuan 20 ppm, selanjutnya diikuti perlakuan 50 ppm. Pengamatan THC hari ke-14 (paska infeksi bakteri *V. harveyii*) menunjukkan semua perlakuan yang diujikan mengalami penurunan THC.

Hasil statistik menunjukkan bahwa penambahan imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* dengan metode perendaman secara signifikan ($P < 0.05$) meningkatkan THC larva udang vaname pada hari ke-10. THC hari ke-10 pemeliharaan pada perlakuan penambahan vitamin C dosis 30, 40, 50 ppm dan kontrol lebih rendah dibandingkan dengan penambahan vitamin C dosis 20 ppm. Sedangkan pada hari ke-14 (paska penginfeksi dengan bakteri *V. harveyii*), penambahan vitamin C dosis 40 ppm

memiliki THC tertinggi ($P < 0.05$), kemudian dosis 30 ppm, dan terendah pada dosis 50 ppm, 20 ppm dan kontrol.

Tabel 1. Total haemocyte count (THC) pada larva udang vaname.

Hari ke-	Penambahan Vitamin C (ppm)				
	0	20	30	40	50
2	34,95 ^b	33,7 ^a	33,75 ^a	34,64 ^b	33,90 ^a
10	35,35 ^a	41,70 ^b	34,60 ^a	35,70 ^a	36,15 ^a
14	11,25 ^a	14,25 ^a	18,75 ^b	25,95 ^c	12,15 ^a

Keterangan: hari ke-2 sebelum pemberian vitamin C; hari ke-10 sebelum uji tantang dengan bakteri *V. harveyii*; hari ke-14 setelah uji tantang dengan bakteri *V. harveyii*.

Penambahan imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* dapat menginduksi total haemocyte count (THC) larva udang vaname paska uji tantang dengan bakteri *V. harveyi*. Peningkatan THC Penambahan imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* dengan metode perendaman mampu meningkatkan THC secara optimal. Hal ini dibuktikan dengan meningkatnya THC ($P < 0,05$) pada semua perlakuan pada hari ke-10.

Pengkayaan vitamin C dalam *A. salina* dapat meningkatkan respon imun larva udang vaname, hal ini ditunjukkan oleh meningkatnya beberapa parameter imun. Laohamongkolruk *et al.* (2016), melaporkan vitamin C dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh udang windu dengan meningkatkan THC. Peningkatan THC larva udang vaname menunjukkan bahwa penambahan imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* dengan metode perendaman mempunyai kemampuan untuk meningkatkan sistem pertahanan tubuh non spesifik larva udang vaname. Ini ditandai dengan meningkatnya THC. Smith *et al.*, (2013), menyatakan bahwa parameter suatu senyawa dalam meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang yaitu meningkatnya jumlah hemosit.

Penurunan THC pada hari ke-14 diduga dipengaruhi oleh bakteri *V. harveyi* yang menginfeksi hemosit udang sehingga menyebabkan hilangnya hemosit dalam haemolymph. Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Van de Braak *et al.* (2012), yaitu terjadi penurunan THC setelah infeksi WSSV hingga lebih 40% dibandingkan udang yang tidak terinfeksi virus. Salah satu dampak dari respon hemosit atau dari infeksi yang terjadi, karena hemosit merupakan target WSSV. Lebih lanjut Zhang *et al.* (2014), menyatakan penurunan THC sering dikaitkan dengan respon yang terjadi setelah adanya infeksi. Pernyataan tersebut diperkuat dengan pendapat Lo *et al.* (2014), bahwa infeksi selalu menyebabkan perubahan parameter haemolymph, termasuk penurunan THC.

Faktor lain yang diduga mempengaruhi turunnya THC setelah infeksi bakteri *V. harveyii* adalah tingkat patogenitas dan virulensi *V. harveyii* yang tinggi terhadap larva udang vaname. Diduga hal tersebut menyebabkan THC larva udang vaname menjadi kurang mampu melawan infeksi *V. harveyii* sehingga menyebabkan THC menurun.

2. Differential Haemocyte Count

Berdasarkan hasil pengamatan, persentase sel hialin mengalami peningkatan pada semua perlakuan pada hari ke-10. Sedangkan pada hari ke-14 (pasca infeksi bakteri *V.*

harveyii) menunjukkan penurunan persentase jumlah sel hialin pada semua perlakuan. Hasil statistik hialin larva setelah penambahan imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A.salina* berpengaruh secara signifikan ($P<0.05$) pada hari ke-10 dan hari ke-14. Hialin tertinggi pada hari ke-10 pemeliharaan ditunjukkan pada perlakuan penambahan vitamin C dosis 30,40, dan 50 ppm lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan penambahan vitamin C dosis 20 ppm dan kontrol. Sedangkan pada hari ke-14, penambahan vitamin C dosis 50, 30, 20 ppm dan kontrol memiliki hialin lebih tinggi ($P<0.05$), dibandingkan dosis 40 ppm.

Berdasarkan hasil pengamatan pada hari ke-10, persentase sel semi granular seluruh perlakuan mengalami peningkatan dibanding hari ke-2 (Tabel 2). Hal yang berbeda terjadi pada pengamatan hari ke-14 (paska infeksi bakteri *V. harveyii*), yaitu persentase sel semi granular mengalami penurunan pada semua perlakuan. Hasil statistik pada sel semi granular larva setelah penambahan imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A.salina* berpengaruh secara signifikan ($P<0.05$) pada hari ke-10 dan hari ke-14. Sel semi granular larva tertinggi pada hari ke-10 pemeliharaan ditunjukkan pada kontrol dibandingkan dengan perlakuan lain. Sedangkan pada hari ke-14, penambahan vitamin C dosis 30, 40, dan 50 ppm meningkatkan semi granular larva lebih tinggi ($P<0.05$), dibandingkan perlakuan lainnya.

Persentase sel granular hari ke-10 menunjukkan terjadi peningkatan pada semua perlakuan. Pengamatan pada hari ke-14 (paska infeksi bakteri *V. harveyii*) menunjukkan bahwa persentase sel granular mengalami penurunan pada semua perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan penambahan imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* berpengaruh secara signifikan ($P<0.05$) terhadap parameter persentase granular larva pada hari ke-10 dan hari ke-14. Persentase granular larva tertinggi pada hari ke-10 pemeliharaan ditunjukkan pada perlakuan penambahan vitamin C dosis 40 ppm, lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan dosis 30, 20 ppm, kontrol dan terendah pada perlakuan 50 ppm. Sedangkan pada hari ke-14, penambahan vitamin C dosis 20, 30,40, dan 50 ppm persentase granular tertinggi dibanding kontrol ($P<0.05$).

Tabel 2. *Differential haeomcyte count* (DHC) larva udang vaname.

Jenis sel DHC	Hari ke-	Penambahan Vitamin C (ppm)				
		0	20	30	40	50
Hialin	02	46,00 ^a	56,00 ^b	58,33 ^b	60,33 ^c	60,12 ^c
	10	56,00 ^a	57,67 ^a	66,33 ^b	66,67 ^b	66,52 ^b
	14	29,00 ^b	27,00 ^b	23,33 ^b	19,00 ^a	20,12 ^b
Semi granular	02	26,67 ^b	16,00 ^a	14,00 ^a	12,00 ^a	13,21 ^a
	10	27,67 ^c	17,67 ^b	17,00 ^b	15,67 ^a	16,28 ^a
	14	12,33 ^a	12,67 ^a	13,00 ^b	13,33 ^b	13,53 ^b
Granular	02	26,33 ^b	27,33 ^b	19,67 ^a	21,33 ^b	20,27 ^b
	10	58,67 ^a	60,33 ^b	61,67 ^b	67,67 ^c	23,60 ^c
	14	17,33 ^a	26,33 ^b	24,67 ^b	24,00 ^b	66,53 ^b

Keterangan: hari ke-2 sebelum pemberian vitamin C; hari ke-10 sebelum uji tantang dengan bakteri *V. harveyii*; hari ke-14 setelah uji tantang dengan bakteri *V. harveyii*.

Penambahan imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* dapat menginduksi *total haeomcyte count* (THC) dan *differential haeomcyte count* (DHC) larva paska uji tantang dengan bakteri *V. harveyii*. Peningkatan THC dan DHC terutama semi

granular pada akhirnya berperan dalam meningkatkan respon imun non spesifik, terutama pada larva diberi vitamin C dosis 40 ppm dan 50 ppm. Penelitian ini juga menunjukkan efektifnya suplementasi vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina*.

Hasil pengamatan DHC menunjukkan bahwa persentase sel hialin, sel semi granular, dan sel granular mengalami perubahan setelah pemberian imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* setelah 10 hari pemeliharaan ($P < 0,05$). Tipe sel hemosit yang berbeda mempunyai fungsi yang berbeda pula dalam sistem pertahanan tubuh. Sel hialin dan sel semi granular mempunyai peranan penting dalam sistem pertahanan tubuh udang terutama dalam proses fagositosis (Chang *et al.*, 2017). Walaupun mempunyai fungsi yang sama, namun sel semi granular lebih jarang berperan dalam proses fagositosis, sehingga sel hialin menjadi sel utama dalam proses fagositosis dan sel semi granular lebih berperan dalam proses enkapsulasi yang mengindikasikan adanya penggabungan beberapa sel hemosit untuk menghalangi partikel asing dalam peredaran darah. Fungsi lain sel hemosit dalam pertahanan tubuh yaitu berperan dalam pengaktifan sistem proPO yang dilakukan oleh sel semi granular dan sel granular (Andrade, 2011). Pengaktifan proPO ini merupakan salah satu aspek penting dalam sistem pertahanan tubuh udang. Sritunyalucksana & Soderhall (2015), menyatakan bahwa proPO mempunyai peran penting dalam respon imun krustacea yang disertai adanya proses melanisasi. Begitu pula dengan Das & Sethi (2019), yang mengungkapkan bahwa PO yang diaktifkan oleh proPO bertindak sebagai sistem pengenalan utama dan jalur pertahanan pada krustacea.

Naiknya persentase sel semi granular dapat digunakan sebagai parameter naiknya sistem pertahanan tubuh udang. Hal ini dapat disebabkan fungsi sel semi granular dalam proses fagositosis, enkapsulasi (Chang *et al.*, 2017), dan pengaktifan sistem proPO (Andrade, 2011) meningkat, sistem pertahanan tubuh udang juga ikut meningkat. Das & Sethi (2019) menjelaskan bahwa pengaktifan sistem proPO merupakan respon awal dalam pengenalan partikel asing dan pengenalan fagosit. Pengaktifan sistem proPO menghasilkan adanya protein, termasuk PO yang berperan dalam melanisasi, koagulasi, opsonisasi dan partikel asing, serta membunuh mikroba secara langsung.

Rendahnya persentase sel semi granular paska infeksi bakteri *V. harveyii* merupakan salah satu implikasi dari peningkatan sel hialin dan sel granular didaerah infeksi bakteri *V. harveyii*. Hasil penelitian Van de Braak *et al.* (2012), menunjukkan sel semi granular lebih mudah terinfeksi virus WSSV. Di sisi lain, replikasi virus lebih cepat dibandingkan replikasi sel semi granular sehingga jumlah sel semi granular secara bertahap menurun dalam sirkulasi darah (Jiavanichpaisal *et al.* 2015). Hal ini dapat disebabkan sistem imun krustacea mempunyai mekanisme yang dapat menghilangkan hemosit yang terinfeksi virus dari peredaran darah dengan mengambilnya ke jaringan terinfeksi (Bouallegui, 2021).

3. *Survival Rate* (SR)

Hasil pengamatan *survival rate* empat hari paska infeksi dengan bakteri *V. harveyii* menunjukkan bahwa persentase survival rate larva udang vaname berbeda berdasarkan perlakuan. Perlakuan penambahan vitamin C dosis 40 dan 50 ppm mampu mempertahankan SR larva udang vaname lebih tinggi paska uji penginfeksi ($P < 0,05$) yaitu masing-masing 81,6% dan 82,5% dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sedangkan SR larva terendah

ditunjukkan pada kontrol yaitu 67,7% (Tabel 3). Hasil pengamatan *survival rate* paska infeksi bakteri *V. harveyii* hingga hari ke-15 pengamatan, persentase mortalitas 17,5 – 32,3 % terjadi pada seluruh larva udang vaname pada seluruh perlakuan. Mortalitas yang terjadi sebagai akibat dari infeksi bakteri *V. harveyii* setelah ujiantang (hari ke-11).

Tabel 3. *Survival Rate* (SR) pada larva udang vaname.

Hari ke-	Penambahan Vitamin C (ppm)				
	0	20	30	40	50
15	67,7 ^a	73,1 ^b	75,4 ^b	81,6 ^c	82,5 ^c

Keterangan: Superscript dengan huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan secara signifikan.

Berdasarkan uji statistik, aplikasi imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina* berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) terhadap tingkat kelulushidupan (*survival rate*) larva udang vaname yang terinfeksi bakteri *V. harveyii*. Tingginya SR pada semua perlakuan dibandingkan kontrol, terutama pada dosis vitamin C 40 ppm dan 50 ppm berkaitan dengan tinggi jumlah total hemosit dan persentase semi granular setelah pemberian imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *A. salina*. Peningkatan respon imun non spesifik ini secara langsung akan meningkatkan sistem kekebalan tubuh larva udang vaname dalam menekan kematian akibat infeksi bakteri *V. harveyii*. Tingginya SR pada penelitian ini juga disebabkan faktor kualitas air selama penelitian yang berada dalam kisaran layak dalam menunjang kelangsungan hidup larva udang. Kualitas air yang diamati selama penelitian dengan nilai rata-rata suhu 29,5 - 30,5, salinitas 28-29, pH 7,9 - 8,3, dan oksigen terlarut 5,8 - 6,9.

IV. KESIMPULAN

Penambahan imunostimulan vitamin C melalui bioenkapsulasi *Artemia salina* dengan dosis terbaik 40 ppm dan 50 ppm dapat meningkatkan *total haemocyte count* (THC) dan *differential haemocyte count* (DHC) pada larva udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) sehingga efektif dalam mencegah penyakit vibriosis.

V. REFERENSI

- Alonzo K. H. F., Cadiz R. E., Traifalgar R. F. M., Corre Jr. V. L., (2017). Immune responses and susceptibility to *Vibrio parahaemolyticus* colonization of juvenile *Penaeus vannamei* at increased water temperature. *AACL Bioflux* 10 (5):1238-1247.
- Amlacher, E. (1970). *Text Book of Fish Diseases*. TFH Publication, New York.
- Andrade, A. J. (2011). *Shrimp Immunological Reactions Against WSSV: Role of Haemocytes on WSSV Fate*. Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University.
- Blaxhall, P. and K. Daisley (1973). Some blood parameters of the rainbow trout I. The Kamloops Variety. *J. Fish Biol.* 5: 1-8.
- Bouallegui, Y. (2021). *A Comprehensive Review on Crustaceans' Immune System With a Focus on Freshwater Crayfish in Relation to Crayfish Plague Disease*. *Front Immunol.*

- 2021 May 13;12:667787. doi: 10.3389/fimmu.2021.667787. PMID: 34054837; PMCID: PMC8155518.
- Chang, F., Y. Shi, J. Sheng and Q. Hu. (2017). In Vivo Immunomodulatory Activity Of Polysaccharides Derived from *Chlorella pyrenoidosa*. *European Food and Research Technology*, 224(2), 225-228.
- Das, B.K. and S.N. Sethi. (2019). *Immune Functions in Crustaceans. Application of Molecular and Serological Tools in Fish Disease Diagnosis (CIFA)*. Orisaa, India.
- Hartina, La, P. L. S, and H. Rimal. (2014). Performa Jumlah dan Differensiasi Sel Hemosit Juvenil Udang Windu (*Panaeus monodon* Fabr.) Pada Pemeliharaan dengan Tingkat Teknologi Budidaya yang Berbeda. *Jurnal Bionature*, Volume 15, Nomor 2. hlm 104-110.
- Hidayat, Suwarno, dan G. Mahasri. (2017). Evaluasi pemberian crude protein Zoomthamnium panaei terhadap laju pertumbuhan, respon imun dan kelulushidupan udang vaname di tambak. *Jurnal Biosains Paskasarjana*, 19 (2).
- Jiravanichpaisal, P., S. Srichareon, I. Soderhall, and K.Soderhall. (2015). White Spot Syndrome Virus (WSSV) Interaction with Crayfish Haemocytes. *Fish and Shellfish Immunology*, 20 (5), 718-727.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (2020). *Pusat Data Statistik dan Informasi Kementerian Kelautan dan Perikanan*. Jakarta.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2012. *Standar Nasional Indonesia (SNI) Budidaya Air Payau dan Laut*. Jakarta: Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, 179.
- Laohamongkolruk, P., N. Areechon, S. Limsakoon, and S. Thunyanukit. (2016). *Application of Vitamin C as Immunostimulant in Black Tiger Shrimp (Penaeus monodon Fabricius)*. In: Proceedings of the 44th Kasetsart University Annual Conference 30 January – 2 February. Kasetsart University, Bangkok, 291-302.
- Lo, C.F, J.L Wu, Y.S Chang, H.C Wang, J.M Tsai and G.H Kou. (2014). *Molecular Characterization and Pathogenicity of White Spot Syndrome Virus*, In: Leung, K.Y (ed.). *Current Trends in the Study of Bacterial and Viral Fish and Shrimp Disease*. World Scientific Publishing, Singapura.
- Nguyen, N. A. T. Mathieu, W., N. V. Hoa., and P. Sorgeloos (2011). Formulated Feeds Containing Fresh or Dried *Artemia* as Food Supplement for Larval Rearing of Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*. *Journal of Applied Aquaculture*. 23 (3), 256-270.
- Nurjanah, S. Prayitno, dan Sarjito. (2014). Sensitivitas bakteri *Aeromonas sp.* dan *Pseudomonas sp.* Yang diisolasi dari ikan mas (*Cyprinus carpio*) sakit terhadap berbagai macam obat beredar. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3 (4), 308-216.
- Smith, V. J., J.H. Brown and C. Hauton. (2013). Immunostimulation in Crustaceans: Does it Really Protect Against Infection. *Fish and Shellfish Immunology*, 15(1), 71-90.
- Syahalatua, D. I. Fatichah. 2009. Potensi hot water extracts rumput laut *Caulerpa sp* dan *Sargassum sp* sebagai komponen imunonutrisi pada budidaya udang vaname (*L. vannamei*). *Jurnal Kelautan Tropis*, 18: 154-159.
- Sritunyalucksana M. A., Soderhall E, Jusadi D. (2015). Pengaruh Pengkayaan *Artemia sp.* Dengan EPA (Asam Ekosapentamat, C20; 5n-3) dan DHA (Asam Dokosaheksamat,

-
- C22:6n-3) Terhadap Kelangsungan Hidup Rajungan *Portunus pelagicus*. *Jurnal Akuakultur*. 5(2), 119-126.
- Weiqing, W., Aijie, L. and S. Cheung. (2002). Effects of dietary vitamin C on the immune function of shrimps, *Penaeus chinensis*. *Journal of Ocean University of Qingdao*. 1. 50-54. 10.1007/s11802-002-0030-8.
- Van de Braak, C.B.T., M.H.A. Botterblom, E.A. Huisman, J.H.W.M. Rombout, W.P.W. Van der Knaap. (2012). Preliminary Study on Haemocyte Response to White Spot Syndrome Virus Infection in Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon*. *Disease of Aquatic Organism* 51(2), 149-155.
- Zhang, X. B., C. Huang, and C. L. Hew. (2014). *Use of Genomics and Proteomics to Study White Spot Syndrome Virus*. In: Leung, K.Y(ed.). *Current Trends in the Study of Bacterial and Viral Fish and Shrimp Disease*. World Scientific Publishing, Singapura, 204-234.