

Kappa-karagenan sebagai imunostimulan untuk pengendalian penyakit *infectious myonecrosis* (IMN) pada udang vaname *Litopenaeus vannamei*

Kappa-carrageenan as immunostimulant to control infectious myonecrosis (IMN) disease in white shrimp *Litopenaeus vannamei*

Dian Febriani¹, Sukenda^{2*}, Sri Nuryati²

¹Program Studi Budidaya Perikanan, Politeknik Negeri Lampung,
Jalan Soekarno-Hatta No.10 Bandar Lampung, Lampung 35144

²Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Dramaga Bogor, Jawa Barat 16680

*Surel: kenfajri@yahoo.com

ABSTRACT

This study evaluated the modulation of non-specific immune response, growth, and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* against *infectious myonecrosis virus* (IMNV). The first stage of this study evaluated the different dose of k-carrageenan administration i.e. 5, 10, and 15 g/kg feed for four weeks of rearing period, while the later studied evaluated about the frequency of administration i.e. daily, seven days interval, and 14-days interval for five weeks of rearing period. Both stages had positive and negative control and performed in complete randomized design. The parameters of observation consisted of immune parameters, clinical symptoms, growth, and survival. Shrimp were fed three times a day at feeding rate of 4–5% of body weight/day. IMNV Challenge test was performed by feeding the shrimp via oral route at a level 10% of body weight for three consecutive days, followed by 14-days observation. The results showed that shrimp administered with k-carrageenan at a concentration of 15 g/kg feed showed the best performance of all concentration tested. The shrimp's haemocyte count, phagocytes activity, phenoloxidase activity, and relative growth were $12 \pm 0.72 \times 10^6$ cell/mL; $34.67 \pm 0.58\%$; 0.511 ± 0.10 ; and 86.15% respectively. After challenged, the survival was $85 \pm 7.07\%$. Moreover, application in 14 days at 7-days interval gave 88.57% relative growth and $93 \pm 5.8\%$ survival, which were higher than other treatments. The administration of k-carrageenan at concentration of 15 g/kg with 14 days interval on white shrimp juveniles showed higher immunostimulatory effect and better protection against IMNV.

Keywords: kappa-carrageenan, immunostimulant, IMNV, *Litopenaeus vannamei*

ABSTRAK

Penelitian ini mempelajari pemberian kappa-karagenan dalam memodulasi respons imun nonspesifik, pertumbuhan, dan resistensi udang vaname *Litopenaeus vannamei* terhadap infeksi *infectious myonecrosis virus* (IMNV). Tahap pertama mengetahui dosis pemberian k-karagenan sebesar 5, 10, dan 15 g/kg pakan selama empat minggu pemeliharaan, sedangkan tahap kedua mengevaluasi frekuensi pemberian k-karagenan, yaitu setiap hari, tujuh hari, dan 14 hari secara berulang dengan interval tujuh hari selama lima minggu pemeliharaan. Kedua tahap penelitian menggunakan kontrol positif dan negatif dalam rancangan acak lengkap. Parameter pengamatan terdiri atas respons imun, gejala klinis, pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang vaname. Udang diberi makan tiga kali sehari dengan FR 4–5% biomassa/hari. Infeksi IMNV dilakukan secara oral sebesar 10% biomassa selama tiga hari berturut-turut, dan diamati selama 14 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa udang yang diberikan k-karagenan 15 g/kg pakan memperoleh hasil terbaik. Total hemosit, aktivitas fagositosis, aktivitas *phenoloxidase*, dan pertumbuhan relatif udang masing-masing adalah $12 \pm 0,72 \times 10^6$ sel/mL; $34,67 \pm 0,58\%$; $0,511 \pm 0,10$ dan $86,15\%$, dengan kelangsungan hidup udang setelah diinfeksi IMNV sebesar $85 \pm 7,07\%$. Frekuensi pemberian 14 hari secara berulang dengan interval tujuh hari memberikan hasil kelangsungan hidup terbaik sebesar $88,57\%$ dan pertumbuhan relatif sebesar $93 \pm 5,8\%$. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa, pemberian k-karagenan 15 g/kg dan interval 14 hari menunjukkan respons imun dan perlindungan yang lebih baik terhadap IMNV.

Kata kunci: kappa-karagenan, imunostimulan, IMNV, *Litopenaeus vannamei*

PENDAHULUAN

Udang merupakan salah satu komoditas unggulan revitalisasi perikanan di Indonesia. Kementerian Kelautan dan Perikanan sendiri telah menargetkan peningkatan produksi sebesar 74,75% yaitu dari 400 ribu ton menjadi 699 ribu ton pada tahun 2009 sampai 2014, yang terdiri atas udang vaname *Litopenaeus vannamei* dan udang windu *Penaeus monodon* (KKP, 2010). Keberhasilan produksi tersebut sangat didukung oleh keberhasilan dalam budidaya. Tetapi banyak kendala yang harus dihadapi dalam berbudidaya udang, salah satunya adalah adanya serangan penyakit.

Penyakit *infectious myonecrosis* (IMN) di Indonesia, yang menyerang udang vaname pada tahun 2009 telah mengakibatkan kerugian sebesar 300 milyar rupiah (KKP, 2010). Tingkat kematian yang ditimbulkan penyakit IMN pada udang vaname budidaya berkisar antara 40–70% (OIE, 2009). Penyakit IMN sendiri pertama kali menyerang udang vaname di Piaui (Timur Laut, Brazil) pada tahun 2002 (Pinheiro *et al.*, 2007). Keberadaan penyakit di Indonesia pertama kali ditemukan pertama kali tahun 2006 (Tauhid & Nur'aini, 2009) pada usaha budidaya udang vaname di Situbondo, Jawa Timur (Senapin *et al.*, 2007). Saat ini penyakit IMN telah terdeteksi keberadaannya di Jawa Timur, Bali, Nusa Tenggara dan Lampung (Tauhid & Nur'aini, 2009).

Penggunaan vaksin dan kemoterapi telah dilaporkan tidak efektif untuk penyakit ini (OIE, 2009). Alternatif pengendalian penyakit IMN pada udang adalah dengan pemberian immunostimulan. Rumput laut merupakan salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai immunostimulan karena merupakan sumber senyawa bioaktif, yang telah terdeteksi dalam alga hijau, alga coklat, dan alga merah yang memproduksi berbagai karakteristik metabolit sekunder dengan spektrum aktivitas yang luas. Dinding sel dari alga laut kaya akan polisakarida sulfat (SPs) seperti karagenan dalam alga merah, dan memiliki banyak senyawa bioaktif menguntungkan sebagai anti koagulan, antiviral, antioksidan, antikanker serta aktivasi modulasi imun (Wijesekara *et al.*, 2011).

Karagenan merupakan polisakarida yang tersusun dari unit-unit galaktosa sulfat yang bersifat polianion, yang dihasilkan dari ekstraksi alga merah (Rhodophyceae), digunakan sebagai bahan tambahan makanan untuk memperbaiki tekstur makanan (Hudha *et al.*, 2012). Salah satu

spesies penghasil karagenan dari alga merah yang merupakan komoditas sektor kelautan dan perikanan budidaya yang menonjol adalah rumput laut jenis *Kappaphycus alvarezii*. Rumput laut *K. alvarezii* merupakan penghasil karagenan jenis kappa yang telah banyak dimanfaatkan dalam industri makanan, kimia dan obat-obatan.

Beberapa penelitian yang telah dilakukan, dalam pemanfaatannya sebagai immunostimulan di antaranya, *Epinephelus fuscoguttatus* yang diberi pakan mengandung sodium alginat atau k-karagenan, imunitasnya meningkat setelah dua minggu, bersamaan dengan meningkatnya resistensi terhadap *Vibrio alginolyticus* (Cheng *et al.*, 2008). Penelitian lainnya yaitu pemberian berbagai jenis karagenan melalui injeksi terhadap udang vaname yang diinfeksi dengan *V. alginolyticus*, dapat meningkatkan total hemosit, aktivitas *prophenoloxidase*, *respiratory burst* dan aktivitas fagositik setelah 24 jam secara signifikan (Yeh & Chen, 2008).

Pemberian immunostimulan yang baik harus memperhatikan dosis dan frekuensi pemberian yang optimal. Menurut Couso *et al.* (2003) dosis pemberian immunostimulan yang tinggi dapat menekan mekanisme pertahanan, sedangkan dosis pemberian yang rendah kurang efektif untuk memberikan respons imun. Frekuensi dan pemberian immunostimulan berkelanjutan diperlukan untuk lebih memberikan kemampuan imun agar mencapai proteksi yang optimal (Cheng *et al.*, 2004). Tujuan dari penelitian ini adalah melihat pengaruh pemberian k-karagenan melalui pakan dengan perlakuan pemberian dosis dan frekuensi yang berbeda terhadap respons imun dan resistensi udang vaname dari serangan IMNV.

BAHAN DAN METODE

Organisme uji

Organisme uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah udang vaname *L. vannamei specific pathogen free* (SPF) TSV dan WSSV yang berasal dari Laboratorium Research Development PT Central Pertiwi Bahari, Lampung. Udang vaname yang digunakan berukuran 6–7 g/ekor, sebanyak 15 ekor/akuarium. Terlebih dahulu udang vaname diadaptasikan selama dua minggu dan dipelihara dalam kondisi yang terkontrol. Udang diberi pakan tiga kali sehari dengan *feeding rate* (FR) sebesar 4–5 % dari biomassa/hari. Air, wadah, dan peralatan pemeliharaan didisinfeksi terlebih dahulu.

Kappa-karagenan dan penyiapan pakan

Tepung k-karagenan yang digunakan merupakan hasil ekstraksi rumput laut *K. alvarezii* dari laboratorium Bioteknologi Departemen Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Tepung k-karagenan ditimbang terlebih dahulu berdasarkan dosis perlakuan yang telah ditentukan dan dilarutkan dalam 100 mL air. Larutan k-karagenan dicampurkan secara merata ke dalam pakan udang komersial yang telah disiapkan. Setelah itu, pakan dikeringanginkan pada suhu ruang, kemudian disalut (*coating*) dengan putih telur 2% dan dikeringanginkan kembali pada suhu ruang, di ruangan terbuka, terlindung dari cahaya matahari langsung. Pakan yang telah siap dimasukkan dalam wadah plastik dan disimpan dalam lemari pendingin hingga digunakan.

Prosedur infeksi IMNV secara oral

Infeksi *infectious myonecrosis virus* (IMNV) pada udang vaname diberikan secara oral. Udang yang digunakan untuk menginfeksi IMNV adalah udang vaname yang positif terinfeksi IMNV (melalui konfirmasi PCR) dengan tanda gejala klinis pada bagian abdomen dari arah ekor berwarna merah di ruas terakhir. Udang terinfeksi dibersihkan dari kepala, karapas dan ekor, sehingga didapatkan bagian otot atau daging udang secara utuh, lalu dihancurkan dan dihomogenkan. Setelah itu ditimbang sesuai dengan kebutuhan dan diberikan sebesar 10% dari total biomassa selama tiga hari infeksi.

Penelitian I: pemberian dosis k-karagenan yang berbeda dalam pakan terhadap parameter imun dan resistensi udang vaname dari serangan IMNV

Penelitian tahap satu terdiri atas tiga perlakuan dan kontrol (kontrol positif dan kontrol negatif), masing-masing terdiri atas tiga ulangan. Perlakuan yang diberikan berdasarkan modifikasi dari Cheng *et al.* (2008) yaitu udang vaname diberi pakan dengan campuran k-karagenan sebesar A: 5 g, B: 10 g, dan C: 15 g/kg pakan udang, sedangkan kontrol adalah udang vaname yang diberi pakan udang komersial tanpa penambahan k-karagenan. Seluruh perlakuan dan kontrol diberi pakan tiga kali sehari dengan FR sebesar 4–5% biomassa/hari. Pemberian perlakuan berlangsung selama empat minggu. Pengukuran parameter imun dilakukan pada minggu ke-0, pertama, kedua, ketiga, dan keempat. Pada akhir perlakuan, udang

vaname di infeksi dengan IMNV, dan selanjutnya diberi pakan udang komersial serta diamati selama 14 hari. Pengamatan yang dilakukan meliputi kelangsungan hidup, gejala klinis, dan konfirmasi keberadaan IMNV menggunakan PCR.

Penelitian II: evaluasi frekuensi pemberian k-karagenan yang berbeda terhadap resistensi udang vaname dari serangan IMNV

Penelitian tahap dua dilakukan untuk menentukan frekuensi pemberian k-karagenan dengan menggunakan dosis terbaik yang didapatkan pada penelitian tahap satu. Perlakuan penelitian tahap dua ini terdiri atas:

Kontrol (+) dan (-): pemberian pakan tanpa k-karagenan

Perlakuan C1: pemberian k-karagenan setiap hari selama lima minggu

Perlakuan C7: pemberian k-karagenan selama tujuh hari secara berulang dengan interval pemberian tujuh hari (minggu ke-0, ketiga, dan kelima)

Perlakuan C14: pemberian k-karagenan selama 14 hari secara berulang dengan interval pemberian tujuh hari (minggu kesatu dan keempat).

Setelah pemberian perlakuan selama lima minggu, udang vaname diinfeksi dengan IMNV, kemudian diberikan pakan udang komersial dan diamati selama 14 hari. Pengamatan parameter meliputi kelangsungan hidup, gejala klinis, dan konfirmasi keberadaan IMNV menggunakan PCR.

Pengukuran parameter

Parameter yang diamati dalam penelitian ini, meliputi:

1. Total hemosit
2. Aktivitas fagositik
3. Aktivitas *phenoloxidase* (PO) (Liu & Chen, 2004).
4. Konfirmasi keberadaan virus dengan Metode *Polimerase chain reaction* (PCR) menggunakan metode standar (OIE, 2009).
5. Pemeriksaan gejala klinis menggunakan skoring, modifikasi kelompok gejala klinis dari Costa *et al.* (2009) yaitu terinfeksi tanpa symptom termasuk kategori tingkat infeksi ringan dengan skor (+), gejala dengan sedikit warna putih lebam di dalam jaringan pada bagian beberapa segmen abdomen termasuk kategori tingkat infeksi menengah dengan skor (++) , gejala dengan sebagian besar jaringan

abdomen berwarna putih lebam termasuk kategori infeksi berat dengan skor (++++) dan gejala dengan bagian abdomen dari arah ekor berwarna merah (jaringan mati) termasuk kategori infeksi sangat berat dengan skor (++++).

6. Kelangsungan hidup dan pertambahan bobot relatif.

Rancangan percobaan dan analisis data

Rancangan yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL) dengan tiga ulangan pada masing-masing perlakuan. Perbedaan setiap perlakuan pada parameter imun, kelangsungan hidup dan pertambahan bobot relatif udang vaname dianalisis keragamannya menggunakan ANOVA. Bila terdapat perbedaan antarperlakuan, maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji *Duncan*. Data pengamatan gejala klinis dan konfirmasi PCR dianalisa secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemberian dosis k-karagenan yang berbeda terhadap parameter imun udang vaname

Pemberian k-karagenan pada pakan udang vaname dalam penelitian ini, dapat meningkatkan parameter imun nonspesifik yang tercermin dari meningkatnya jumlah total hemosit, aktivitas fagositosis dan *phenoloxidase* selama waktu pengamatan (Gambar 1). Hasil analisis ragam dan uji lanjut menunjukkan total hemosit berbeda nyata ($P < 0,05$) antarperlakuan dan juga dengan kontrol. Pemberian k-karagenan 15 g/kg pakan (C) memperlihatkan nilai total hemosit lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya, yaitu dengan kisaran nilai $(10,23 \pm 0,23 - 12,00 \pm 0,72) \times 10^6$ sel/mL sedangkan kisaran nilai perlakuan lainnya hanya sebesar $(5,47 \pm 0,15 - 9,57 \pm 0,15) \times 10^6$ sel/mL, seperti ditunjukkan pada Gambar 1.

Meningkatnya sistem imun pada udang dapat dilihat dari meningkatnya jumlah hemosit. Hemosit berperan dalam proses fagositosis, enkapsulasi, degranulasi, dan agregasi nodular terhadap patogen maupun partikel asing serta produksi dan pelepasan *prophenoloxidase* (proPO) dalam sistem imun krustasea (Sahoo *et al.*, 2008). Jumlah total hemosit pada krustasea sangat penting dalam menjaga resistensi terhadap patogen. Apabila kondisi penurunan total hemosit terjadi, maka hal tersebut dapat mengakibatkan infeksi akut yang mematikan. Meningkatnya total hemosit akan meningkatkan kemampuan untuk memfagositosis. Meningkatnya total hemosit juga

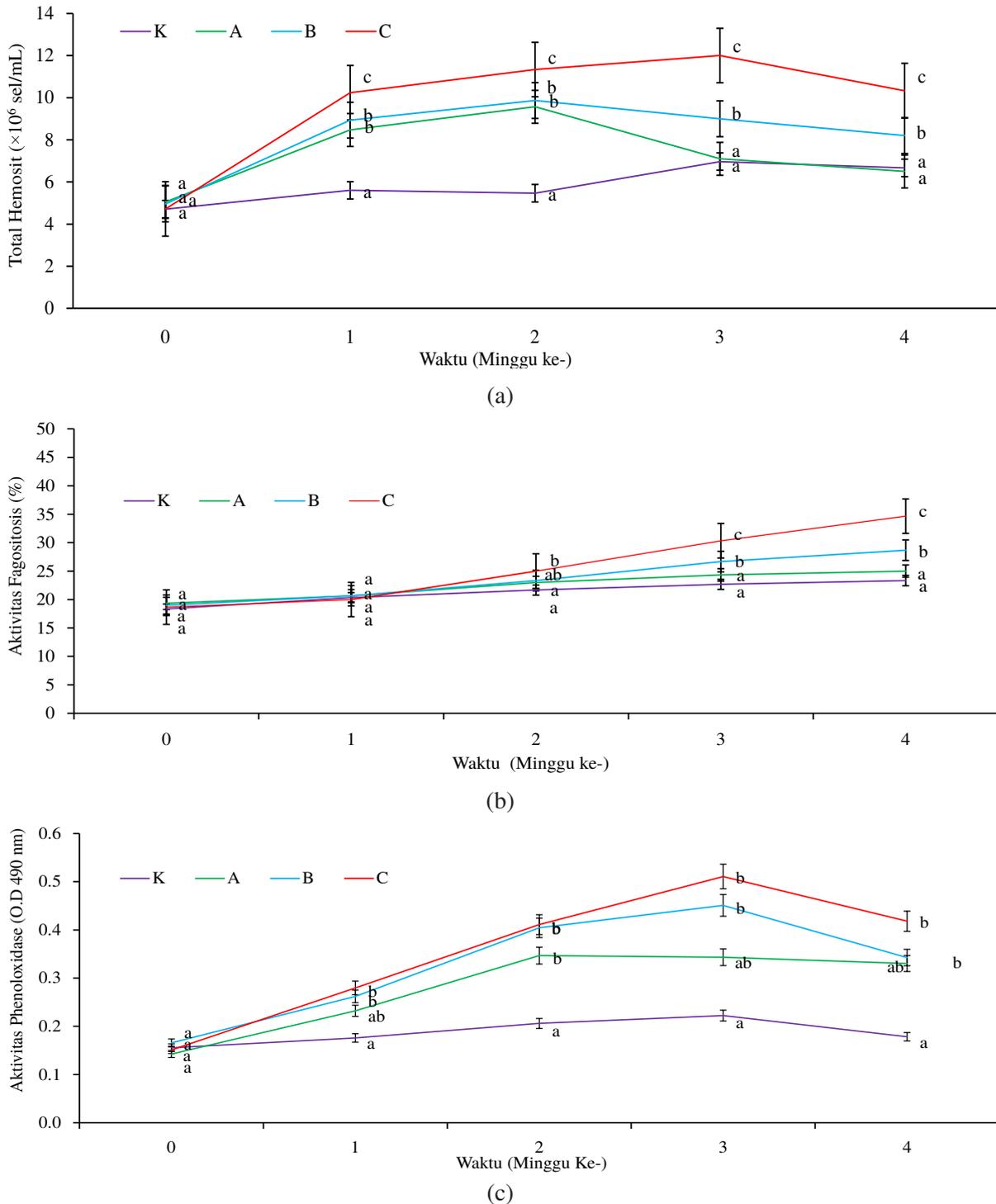
meningkatkan sel granular yang dapat merangsang aktivasi ProPO untuk menghasilkan aktivitas *phenoloxidase*, sehingga mampu bertahan terhadap serangan patogen. Pada penelitian ini, aktivitas fagositosis dan *phenoloxidase* berbeda nyata ($P < 0,05$) antara perlakuan dan kontrol. Nilai tertinggi aktivitas fagositosis dan *phenoloxidase* terjadi pada pemberian 15 g/kg pakan (C), masing-masing sebesar $34,67 \pm 0,58\%$ (minggu 4) dan $0,511 \pm 0,10$ (minggu 3), diperlihatkan pada Gambar 1.

Mekanisme k-karagenan dalam meningkatkan sistem imun dalam tubuh udang masih terus dipelajari. Penelitian Yeh dan Chen (2008) menyatakan bahwa aktivitas fagositosis dan *respiratory burst* meningkat pada *L. vannamei* yang diberi perlakuan karagenan, hal tersebut mengindikasikan adanya peranan reseptor karagenan pada makrofag dan hemosit. Pada udang karang *P. leniusculus*, β -glucan dan *β -glucan binding protein* (β GBP) kompleks dapat berikatan dengan permukaan hemosit-granular melalui *motif arginyl-glycyl-aspartic acid* (RGD) yang menunjukkan ikatan *integrin-like protein* dan memastikan degranulasi hemosit sehingga dapat mengaktifasi sistem imun. Yeh dan Chen (2008) menduga ada kesamaan mekanisme karagenan dengan β -glucan dan β GBP kompleks dalam berikatan dengan permukaan hemosit-granular melalui motif RGD.

Dosis dan frekuensi pemberian k-karagenan yang berbeda terhadap resistensi udang vaname dari serangan IMNV

Pengamatan resistensi udang vaname meliputi pengamatan gejala klinis dan mortalitas, serta konfirmasi keberadaan IMNV pada udang vaname, setelah diinfeksi dengan IMNV (Tabel 1). Gejala klinis udang vaname yang diberi perlakuan, mulai muncul pertama kali pada perlakuan K+ yang sudah terlihat pada 3 *days post infection* (dpi), sedangkan pada udang yang diberi k-karagenan muncul pertama kali pada 5 dpi dengan bobot skoring menengah (++) seperti terlihat pada Gambar 2, dan semakin bertambah parah tingkatan dan jumlah yang terserang IMNV pada 10 dpi.

Penelitian yang dilakukan oleh Poulos *et al.* (2006), gejala klinis nekrosis pertama kali muncul pada hari ketiga setelah infeksi IMNV. Sementara itu pada udang vaname yang diberi pakan k-karagenan 15 g/kg pakan, belum atau bahkan tidak memperlihatkan gejala klinis terserang IMNV. Demikian pula halnya dengan penampakan



Gambar 1. Total hemosit (a), aktivitas fagositosis (b), dan *phenoloxidase* (c) udang vaname *Litopenaeus vannamei* yang diberi k-karagenan 0 (K), 5 (A), 10 (B), dan 15 (C) g/kg pakan selama empat minggu pemeliharaan. Huruf yang berbeda di atas balok pada diagram batang dengan waktu pengamatan yang sama, menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda nyata akibat adanya perlakuan ($P < 0,05$).

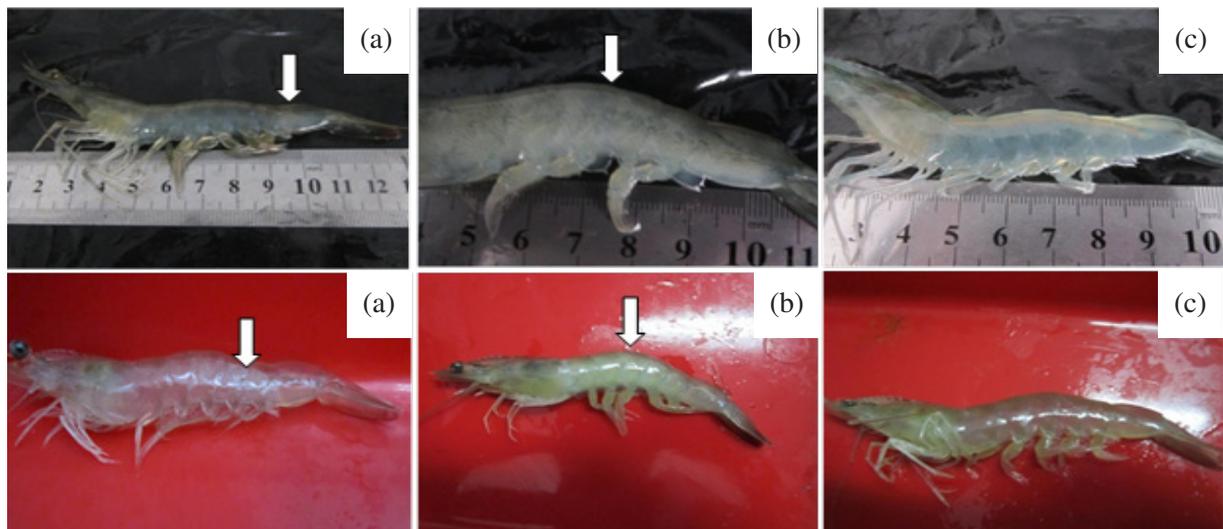
gejala klinis pada perlakuan frekuensi. Gejala klinis muncul pertama kali pada kelompok udang vaname yang tidak diberi k-karagenan, terjadi pada 3 dpi. Udang yang diberi k-karagenan, gejala klinis baru nampak pada 10 dpi dengan bobot skoring menengah/++ (Gambar 2). Rendahnya jumlah udang vaname yang menunjukkan gejala

klinis, kemungkinan disebabkan infeksi IMNV yang tidak menunjukkan *symptom* (bobot skoring ringan/+) walaupun sebenarnya udang positif terinfeksi (Costa, 2009). Namun demikian, hal tersebut menunjukkan tingginya resistensi udang vaname yang diberi k-karagenan terhadap infeksi IMNV, karena k-karagenan diketahui mengandung

Tabel 1. Pengamatan gejala klinis dan mortalitas (10 dpi), serta kelangsungan hidup udang vaname *Litopenaeus vannamei* dan konfirmasi *infectious myonecrosis virus* IMNV dengan PCR (14 dpi) setelah diinfeksi dengan IMNV

Perlakuan	Gejala klinis dan mortalitas (%)				Kelangsungan hidup (%)	Konfirmasi PCR
	+	++	+++	Mortalitas		
Dosis karagenan						
K-	0	0	0	0	100c	–*
A	45	5	5	45	25±7,1a	nd
B	50	5	0	45	45±7,1b	nd
C	85	0	0	15	85±7,1c	nd
K+	5	15	5	75	15±0,2a	nd
Frekuensi						
K-	0	0	0	0	100d	–*
C1	90	0	0	10	83±5,8b	nd
C7	83	3	0	13	80±0,0b	+*
C14	97	0	0	3	90±0,0c	+*
K+	47	7	3	43	57±5,8a	+*

Keterangan: K: kontrol, 0 g/kg pakan; A: 5 g/kg pakan; B: 10 g/kg pakan; C: 15 g/kg pakan; C1: setiap hari selama lima minggu; C7: pemberian tujuh hari pada minggu pertama, ketiga, dan kelima; C14: pemberian tujuh hari pada minggu pertama, kedua, keempat, dan kelima. +: tanpa *symptom*/ringan; ++: sedikit warna putih lebam dalam jaringan dibebberapa segmen abdomen/menengah; +++: sebagian besar jaringan abdomen berwarna putih lebam/berat; +*: positif IMNV; –*: negatif IMNV; nd: tidak terdeteksi. Kontrol- merupakan udang yang tidak diinfeksi IMNV, sedangkan kontrol+ merupakan udang yang diinfeksi IMNV. Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda nyata akibat adanya perlakuan ($P < 0,05$). nd: *not detected*.

Gambar 2. Gejala klinis udang vaname *Litopenaeus vannamei* yang terinfeksi *infectious myonecrosis virus* IMNV dengan bobot skoring menengah/++ (a), berat/+++ (b), dan tidak terinfeksi (c). Tanda panah menunjukkan nekrosis pada bagian otot.

polisakarida sulfat yang dapat memodulasi sistem imun dan juga bersifat antiviral (Wijesekara, 2011).

Kelangsungan hidup udang vaname pada akhir pengamatan perlakuan dosis menunjukkan hasil yang lebih baik pada udang yang telah diberi k-karagenan dibandingkan dengan udang yang diberi pakan tanpa k-karagenan.

Kelangsungan hidup udang vaname yang telah diberi k-karagenan pada pakannya selama empat minggu perlakuan dan kemudian diinfeksi dengan IMNV, secara umum bernilai lebih tinggi (25±7,07%–85±7,07%) dibandingkan dengan udang yang diberi pakan tanpa k-karagenan (15±7,07%). Kelangsungan hidup tertinggi terjadi pada udang yang diberi k-karagenan

15 g/kg pakan yaitu sebesar $85 \pm 7,07\%$. Menurut OIE (2009), tingkat kematian yang ditimbulkan penyakit IMN pada udang vaname budidaya berkisar antara 40–70%. Hal tersebut mengindikasikan bahwa pemberian k-karagenan dosis 15 g/kg pakan selama empat minggu, telah mampu meningkatkan resistensi udang vaname terhadap infeksi IMNV.

Frekuensi pemberian 14 hari secara berulang (C14) memberikan kelangsungan hidup terbaik ($90 \pm 0,0\%$) dibandingkan dua perlakuan lainnya (C1 dan C7). Pemberian k-karagenan setiap hari (C1) selama lima minggu, tidak memberikan nilai kelangsungan hidup yang lebih baik dibandingkan pemberian tujuh hari secara berulang (C7) dan 14 hari secara berulang (C14). Hal ini memperlihatkan bahwa pemberian k-karagenan dengan frekuensi yang lebih sering menunjukkan hasil yang tidak lebih baik. Sajeevan *et al.* (2009) menyatakan, pemberian secara terus-menerus setiap hari menyebabkan dosis yang diberikan melebihi dari takaran yang dibutuhkan sehingga sistem imun justru menjadi menurun. Pemberian k-karagenan tujuh hari secara berulang (C7) menunjukkan frekuensi pemberian yang belum optimal.

Dosis dan frekuensi pemberian k-karagenan yang berbeda terhadap pertambahan bobot relatif udang vaname

Pemberian k-karagenan memberikan dampak yang positif terhadap pertambahan bobot relatif udang vaname. Pengukuran pertambahan bobot relatif dilakukan pada saat pemberian perlakuan

dosis dan frekuensi, sebelum udang vaname diinfeksi dengan IMNV. Pertambahan bobot relatif tertinggi terjadi pada dosis 15 g/kg yaitu $86,15\%$ dan pada frekuensi pemberian 14 hari secara berulang (C14) sebesar $88,57\%$. Pertambahan bobot relatif udang vaname diperlihatkan pada Tabel 2.

Pemberian k-karagenan yang merupakan polisakarida selain mampu meningkatkan ketahanan tubuh udang dari serangan infeksi, juga memberikan pengaruh yang baik bagi pertumbuhan udang. Vilela-Silva *et al.* (2008) menyatakan polisakarida sulfat diketahui memiliki fungsi sebagai faktor pertumbuhan, faktor koagulasi dan *selecting binding partners*, serta berfungsi dalam fertilisasi. Dilaporkan pula, bahwa penggunaan karagenan sebagai perekat pada pakan larva *Channa striatus* memberikan pertumbuhan dan efisiensi pakan yang baik (Nakagawa & Montgomery, 2007). Akan tetapi, mekanisme kerja k-karagenan dalam meningkatkan pertumbuhan udang belum dapat diketahui secara pasti. Menurut Lopez *et al.* (2003), pemberian glukam mampu meningkatkan pertumbuhan udang, hal tersebut diduga karena glukam mampu dicerna dalam proses pencernaan dengan adanya glukonase untuk menghasilkan energi sehingga memungkinkan lebih banyak protein yang digunakan untuk pertumbuhan. Sementara itu, Montgomery (1994) menyatakan udang *Penaeus vannamei* merupakan hewan omnivora yang mampu mencerna polisakarida pada dasar perairan dari bakteri, cendawan dan alga laut sebagai sumber pakannya dengan baik.

Tabel 2. Pertambahan bobot relatif udang vaname *Litopenaeus vannamei* selama perlakuan sebelum diinfeksi dengan *infectious myonecrosis virus* (IMNV)

Perlakuan k-karagenan	Bobot awal (g)	Bobot akhir (g)	Pertambahan bobot relatif (%)
Dosis			
K	$6,4 \pm 0,28a$	$9,3 \pm 0,15a$	45,31
A	$6,3 \pm 0,05a$	$9,8 \pm 0,05b$	55,56
B	$6,7 \pm 0,14a$	$11,9 \pm 0,07c$	77,61
C	$6,5 \pm 0,39a$	$12,1 \pm 0,11d$	86,15
Frekuensi			
K	$6,6 \pm 0,37a$	$10,7 \pm 0,20a$	62,12
C1	$6,7 \pm 0,41a$	$12,3 \pm 0,33b$	83,58
C7	$6,9 \pm 0,12a$	$12,7 \pm 0,32b$	84,06
C14	$7,0 \pm 0,17a$	$13,2 \pm 0,27c$	88,57

Keterangan: K: kontrol, 0 g/kg pakan; A: 5 g/kg pakan; B: 10 g/kg pakan; C: 15 g/kg pakan; C1: setiap hari selama lima minggu; C7: pemberian tujuh hari pada minggu pertama, ketiga, dan kelima; C14: pemberian tujuh hari pada minggu pertama, kedua, keempat, dan kelima.

KESIMPULAN

Pemberian k-karagenan sebagai imunostimulan melalui pakan mampu meningkatkan respons imun, pertumbuhan dan resistensi udang vaname, terhadap infeksi IMNV. Pemberian k-karagenan dosis 15 g/kg pakan dengan frekuensi pemberian selama 14 hari secara berulang, dengan interval tujuh hari memberikan hasil terbaik dengan pertumbuhan bobot relatif 88,57% dan kelangsungan hidup setelah diinfeksi dengan IMNV sebesar 90%.

DAFTAR PUSTAKA

- Cheng AC, Chen YY, Chen JC. 2008. Dietary administration of sodium alginate and k-carrageenan enhances the innate immune response of brown-marbled grouper *Epinephelus fuscoguttatus* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 121: 206–215.
- Cheng W, Liu CH, Yeh ST, Chen, JC. 2004. The immune stimulatory effect sodium alginate on the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology* 17: 41–51.
- Costa AM, Buglione CC, Bezerra FL, Martins PCC, Barraco MA. 2009. Immune assessment of farm-reared *Penaeus vannamei* shrimp naturally infected by IMNV in NE Brazil. *Aquaculture* 291: 141–146.
- Couso N, Magarinos B, Obach A, Lamas J. 2003. Effect of oral administration of glucans to pasteurellosis. *Aquaculture* 219: 99–109.
- Hudha MI, Sepdwiyantri R, Sari SD. 2012. Ekstrak karagenan dari rumput laut *Eucheuma spinosum* dengan variasi suhu pelarut dan waktu operasi. *Berkala Ilmiah Teknik Kimia* 1: 17–20.
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2010. Target produksi perikanan budidaya. <http://www.perikanan-budidaya.kkp.go.id>. [23 Juni 2011].
- Liu CH, Chen JC. 2004. Effect of ammonia on the immune respon of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology* 16: 321–334.
- Lopez N, Cuzon G, Gaxiola G, Taboada G, Valenzuela M, Pascual C, Sanches A, Rosas C. 2003. Physiological, nutritional and immunological role of dietary–glucan and ascorbic acid 2-monophosphate in *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 224: 223–243.
- Montgomery BJ. 1994. The digestion of microbial and detrital resources by an omnivorous shrimp, *Penaeus vannamei* Boone [Disertasi]. USA: University of Hawaii.
- Nakagawa H, Montgomery WL. 2007. Algae. In: Nakagawa H, Sato M, Gatlin III DM (eds). *Dietary Supplements for the Health and Quality of Cultured Fish*. London: CAB International. pp 160–161.
- [OIE] Office International of Epizootic. 2009. Manual of diagnostics test for aquatic animals: infectious myonecrosis. http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/2.2.03_IMN.pdf. [28 November 2010].
- Pinheiro ACAS, Lima APS, Souza ME, Neto ECL, Adriaio M, Goncalves VSP, Coimbra MRM. 2007. Epidemiological status of taura syndrome and infectious myonecrosis virus in *Penaeus vannamei* reared in Pernambuco (Brazil). *Aquaculture* 262: 17–22.
- Poulos BT, Tang KF, Pantoja CR, Bonami JR, Lightner DV. 2006. Purification and characterization of infectious myonecrosis virus of penaeid shrimp. *Journal of General Virology* 87: 987–996.
- Sahoo PK, Das A, Mohanty S, Mohanty BR, Pillai BR, Mohanty J. 2008. Short Communication: Dietary β -1-3-glucan improves the immunity and disease resistance of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Research* 39: 1.574–1.578.
- Sajeewan TP, Philip R, Singh ISB. 2009. Dose/frequency: A critical factor in the administration of glucan as immunostimulant to Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture* 287: 248–252.
- Senapin S, Phewsaiya K, Briggs M, Flegel TW. 2007. Outbreaks of infectious myonecrosis virus (IMNV) in Indonesia confirmed by genome sequencing and use of an alternative RT-PCR detection method. *Aquaculture* 266: 32–38.
- Taukhid, Nur'aini YL. 2009. Infectious myonecrosis virus (IMNV) in Pasific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Indonesia. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 61: 255–262.
- Vilela-Silva AES, Horohashi N, Maurao PAS. 2008. The structure of sulfated polysaccharides ensures a carbohydrate-based

- mechanism for species recognition during sea urchin fertilization. *International Journal of Developmental Biology* 52: 551–559.
- Wijesekara I, Pangestuti R, Kim S-K. 2011. Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydrate polymers* 84: 14–21.
- Yeh ST, Chen JC. 2008. Immunomodulation by carrageenans in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Aquaculture* 276: 22–28.