

Kinerja Pertumbuhan dan Respons Imun Larva Udang Vaname yang diberi Probiotik *Pseudoalteromonas piscicida* dan Prebiotik Mannanligosakarida melalui Bioenkapsulasi *Artemia* sp.

Growth performance and the immune responses of Pacific white shrimp larvae supplemented with *Pseudoalteromonas piscicida* and mannanoligosaccharide through bio-encapsulation of *Artemia* sp.

Hamsah^{1*}, Widanarni², Alimuddin², Munti Yuhana² dan Muhammad Zairin Junior²

¹Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Makassar

²Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Indonesia

Jl. Sultan Alauddin No. 259 Makassar 90222

*e-mail: hamsahadali@unismuh.ac.id

ABSTRAK

Pemberian probiotik, prebiotik, dan sinbiotik merupakan salah satu cara untuk meningkatkan pertumbuhan dan respons imun pada ikan, udang, dan organisme akuatik lainnya. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi kinerja pertumbuhan dan respons imun larva udang vaname yang diberi probiotik *Pseudoalteromonas piscicida* (1Ub), prebiotik mannanligosakarida (MOS), dan sinbiotik (kombinasi probiotik 1Ub dan prebiotik MOS) melalui bioenkapsulasi *Artemia* sp. Bioenkapsulasi dilakukan dengan cara menambahkan probiotik 1Ub konsentrasi 10^6 CFU/mL, prebiotik MOS 12 mg/L, dan sinbiotik (kombinasi 10^6 CFU/mL 1Ub dengan 12 mg/L MOS) pada media pemeliharaan *Artemia* sp. selama 4 jam. Pemberian *Artemia* sp. hasil bioenkapsulasi ke larva udang dilakukan selama 13 hari (Mysis3 sampai PL12). Pertumbuhan panjang dan bobot tubuh larva udang vaname diamati pada awal dan akhir penelitian, sedangkan rasio RNA/DNA, aktivitas enzim pencernaan, kelangsungan hidup, jumlah total bakteri, dan respons imun larva udang meliputi total hemosit (THC), aktivitas phenoloxidase (PO), dan aktivitas respiratory burst (RB) dianalisa pada akhir penelitian. Hasil penelitian menunjukkan laju pertumbuhan harian (DGR), panjang mutlak, rasio RNA/DNA, aktivitas enzim, kelangsungan hidup, jumlah total bakteri, dan respons imun pada larva udang yang diberi probiotik, prebiotik, dan sinbiotik berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol. Pemberian sinbiotik menunjukkan hasil terbaik dengan DGR ($24.39 \pm 0.31\%$ per hari), panjang mutlak (13.00 ± 0.50 mm), rasio RNA/DNA (0.6369 ± 0.0094), aktivitas enzim pencernaan (protease 0.033 ± 0.0007 ; lipase 0.047 ± 0.0010 ; amilase 0.853 ± 0.008 ; mananase 0.148 ± 0.004 U/mL/menit), kelangsungan hidup ($92.67 \pm 1.26\%$), jumlah total bakteri (6.7×10^7 CFU/0.1g larva), THC (7.6×10^6 sel/mL), aktivitas PO (0.19 ± 0.002 OD 490 nm), dan aktivitas RB (0.67 ± 0.028 OD 630 nm) yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya dan kontrol.

Kata Kunci: probiotik, prebiotik, sinbiotik, *Artemia* sp., udang vaname.

Pendahuluan

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu komoditas ekspor unggulan Indonesia di sektor perikanan budidaya. Bahkan Indonesia menjadi negara pengekspor udang terbesar keempat di dunia setelah India, Vietnam, dan Ekuador dengan volume ekspor sebesar 220.000 ton (FAO 2017). Perkembangan produksi udang vaname harus didukung oleh ketersediaan benih udang yang berkualitas baik dalam jumlah dan waktu yang tepat. Benih yang berkualitas baik akan memberikan pertumbuhan yang baik dan tingkat kelangsungan hidup yang tinggi. Aplikasi probiotik, prebiotik, dan sinbiotik merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk meningkatkan pertumbuhan dan tingkat kelangsungan hidup udang.

Probiotik adalah mikroba tambahan yang memberikan pengaruh menguntungkan pada organisme budidaya karena dapat memodifikasi komunitas mikroba, memperbaiki nilai nutrisi, memperbaiki respons inang terhadap penyakit, memperbaiki kualitas lingkungan (Verschuere *et al.* 2000), serta dapat meningkatkan respons imun (Nayak 2010).

Peran bakteri probiotik dapat ditingkatkan melalui aplikasi prebiotik, yaitu bahan pangan yang tidak dapat dicerna yang memberikan efek menguntungkan bagi inangnya dengan cara merangsang pertumbuhan dan aktivitas sejumlah bakteri tertentu di usus sehingga meningkatkan kesehatan inang (Cerezuela *et al.* 2011). Bila probiotik dan prebiotik digabung dalam suatu produk tunggal (sinbiotik), maka manfaatnya menjadi meningkat (Lisal 2005). Beberapa hasil penelitian telah membuktikan keberhasilan probiotik, prebiotik, dan sinbiotik dalam meningkatkan pertumbuhan, kelangsungan hidup, respons imun dan resistansi udang (Zokaeifar *et al.* 2012, Zhang *et al.* 2012, Arisa *et al.* 2015, Nurhayati *et al.* 2015, Febrianti *et al.* 2016).

Pemberian probiotik, prebiotik, dan sinbiotik sejak stadia larva penting dilakukan untuk menghasilkan benih udang yang berkualitas dengan tingkat pertumbuhan yang baik dan memiliki daya tahan terhadap penyakit (*specific pathogen resistance*) sehingga saat benih udang ditebar di tambak pembesaran telah memiliki respons pertumbuhan dan sistem imun yang lebih baik untuk menghadapi serangan berbagai patogen yang terdapat pada kondisi lapang di tambak. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi kinerja pertumbuhan, total bakteri, aktivitas enzim pencernaan, sintasan, dan respons imun larva udang vaname yang diberi probiotik 1Ub, prebiotik MOS, dan sinbiotik (kombinasi probiotik 1Ub dengan prebiotik MOS) melalui pengkayaan *Artemia* sp.

Metode Penelitian

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Nopember sampai Desember 2016. Penyiapan probiotik dan prebiotik, penetasan dan bioenkapsulasi *Artemia* sp., pemeliharaan larva udang vaname, pengukuran kinerja pertumbuhan, pengamatan populasi bakteri dan pengukuran respons imun larva udang dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB. Analisa aktivitas enzim pencernaan larva udang vaname dilakukan di Laboratorium Nutrisi Ternak, Fakultas Peternakan, IPB.

Prosedur Penelitian

Penyiapan probiotik dan prebiotik

Probiotik yang digunakan adalah bakteri *Pseudoalteromonas piscicida* 1Ub, hasil isolasi dari naupli udang vaname (Widanarni *et al.* 2009). Isolat bakteri *P. piscicida* 1Ub dibuat resistan terhadap antibiotik rifampisin (1Ub Rf^R) sebagai penanda. Bakteri 1Ub Rf^R dikultur pada media *sea water complete* (SWC)-agar miring (0,5 g bacto pepton, 0,1 g ekstrak ragi, 0,3 mL gliserol, 1,5 g bacto agar,

75 mL air laut, dan 25 mL akuades) dan diinkubasi pada suhu 29°C selama 24 jam. Selanjutnya bakteri diinokulasikan ke media SWC cair dan diinkubasi di *waterbath shaker* dengan suhu 29°C dengan kecepatan 140 rpm selama 18 jam.

Prebiotik yang digunakan adalah Bio-MOS (Alltech Inc., KY USA) mengandung mannanoligosakarida (MOS) yang berasal dari dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* dengan komposisi minimal 30% protein kasar, minimal 1,4% lemak kasar dan maksimum 13% serat kasar.

Persiapan wadah, media pemeliharaan dan hewan uji

Wadah pemeliharaan larva udang vaname adalah akuarium berukuran 60x30x35 cm³ sebanyak 12 buah dan dilengkapi jaringan aerasi. Media pemeliharaan larva udang berupa air laut bersalinitas 30 g/L yang ditampung dalam tandon dan telah didesinfeksi serta dilengkapi *heater* untuk menjaga suhu air (30±1°C). Setiap akuarium diisi air laut sebanyak 10 L dan dilengkapi aerasi. Hewan uji yang digunakan adalah larva udang vaname stadia mysis 3 dengan padat tebar 200 ekor tiap akuarium (20 ekor/L) mengacu pada penelitian Widanarni *et al.* (2010).

Bioenkapsulasi *Artemia* sp.

Siste *Artemia* ditetaskan sebanyak 2 g/L air laut bersalinitas 30 g/L, diaerasi kuat, dan dipanen setelah 24 jam. Bioenkapsulasi *Artemia* sp. dilakukan pada stadia instar 2 (sekitar 4 jam setelah panen) menggunakan wadah plastik yang diisi air laut bersalinitas 30 g/L sebanyak 1 L. Kepadatan *Artemia* sp. pada masing-masing wadah adalah 100 individu/mL (Widanarni *et al.* 2013). Bioenkapsulasi dilakukan dengan cara menambahkan masing-masing probiotik 1Ub Rf^R konsentrasi 10⁶ CFU/mL, prebiotik MOS sebanyak 12 mg/L, dan kombinasi 10⁶ CFU/mL probiotik 1Ub Rf^R dengan 12 mg/L MOS (sinbiotik) pada setiap wadah bioenkapsulasi *Artemia* sp. Bioenkapsulasi dilakukan selama 4 jam. Selanjutnya *Artemia* sp. dipanen dengan cara disaring menggunakan plankton net dan dibilas dengan air laut steril, lalu diberikan pada larva udang vaname sebanyak 8-10 individu/larva (Nimrat *et al.* 2011) dan lebihnya disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C untuk penggunaan selanjutnya pada hari yang sama.

Pemeliharaan hewan uji

Pemberian *Artemia* sp. hasil bioenkapsulasi pada larva udang vaname dimulai pada stadia mysis 3 hingga PL12 sebanyak 8-10 individu/larva setiap kali pemberian. Pemberian *Artemia* sp. dilakukan lima kali sehari pada pukul 06.00; 10.00; 14.00; 18.00; 22.00. Penelitian pemberian *Artemia* sp. hasil bioenkapsulasi pada larva udang vaname menggunakan rancangan acak lengkap dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan tersebut adalah: (1) larva udang vaname yang diberi *Artemia* sp. tanpa bioenkapsulasi (kontrol); (2) larva udang vaname yang diberi *Artemia* sp. hasil bioenkapsulasi dengan probiotik 1Ub Rf^R konsentrasi 10⁶ CFU/mL; (3) larva udang vaname yang diberi *Artemia* sp. hasil bioenkapsulasi dengan prebiotik MOS sebanyak 12 mg/L; (4) larva udang vaname yang diberi

Artemia sp. hasil bioenkapsulasi dengan kombinasi probiotik 1Ub Rf^R konsentrasi 10⁶ CFU/mL dengan prebiotik MOS sebanyak 12 mg/L (sinbiotik). Selama pemeliharaan larva dilakukan penyifonan dan pergantian air setiap 3 hari sekali sebanyak 5-10%.

Pengukuran Parameter

Populasi bakteri pada larva udang vaname

Jumlah total bakteri dan populasi bakteri probiotik 1Ub Rf^R pada larva udang dihitung dengan menggunakan metode cawan sebar (Hadioetomo 1993). Larva udang pada setiap perlakuan dengan bobot 0,1 g digerus dan dihomogenkan dalam 0,9 mL *phosphate buffer saline* (0,8% NaCl; 0,15% K₂HPO₄; 0,02 Na₂HPO₄ dan 0,02% KCl), diencerkan secara serial (10 kali lipat pengenceran) lalu disebar pada media SWC-agar untuk menghitung total bakteri, dan pada media SWC-agar yang ditambahkan rifampisin (50 µg/mL) untuk menghitung populasi bakteri probiotik 1Ub Rf^R.

Aktivitas enzim pencernaan

Analisis aktivitas enzim pencernaan larva udang vaname meliputi enzim protease, lipase, amilase, dan mananase. Analisis ini dilakukan pada setiap perlakuan di akhir masa pemeliharaan. Prosedur analisis aktivitas enzim protease dan amilase mengacu pada metode Bergmeyer *et al.* (1983), prosedur analisis aktivitas enzim lipase mengacu pada metode Borlongan (1990), sementara prosedur analisis aktivitas enzim mananase mengacu pada metode Hossain *et al.* (1996)

Pertumbuhan larva udang vaname

Pertumbuhan larva udang vaname ditentukan berdasarkan laju pertumbuhan harian (*daily growth rate/DGR*) dan pertumbuhan panjang mutlak (L). DGR dihitung berdasarkan Nurhayati *et al.* (2015), dan pertumbuhan panjang mutlak (L) dihitung berdasarkan Dehaghani *et al.* (2015).

$$DGR (\% / \text{hari}) = \left[\sqrt[t]{\frac{W_t}{W_o}} - 1 \right] \times 100$$

$$\text{Panjang mutlak (L)} = L_t - L_o$$

dimana : W_t = bobot rata-rata pada akhir perlakuan (mg); W_o = bobot rata-rata pada awal perlakuan (mg); t = periode pemeliharaan (hari); L_t = panjang rata-rata pada akhir perlakuan (mm); L_o = panjang rata-rata pada awal perlakuan (mm)

Sebagai pendukung parameter pertumbuhan, dilakukan perhitungan rasio RNA/DNA larva udang menggunakan *gene quant calculator*. Ekstraksi RNA dan DNA larva udang dilakukan dengan cara memasukkan larva (n=3 ekor) dari masing-masing perlakuan ke tube 1,5 ml yang sudah berisi 200 µl isogen *on ice*, digerus sampai hancur sempurna. Setelah semua jaringan hancur, 400 µl isogen ditambahkan kemudian disimpan pada suhu ruang selama 5 menit untuk lisis, lalu

ditambahkan 200 µl khloroform (CHCl₃), dihomogenkan dengan vorteks selama 15 detik kemudian disimpan pada suhu ruang selama 2-3 menit. Hasil lisis disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 15 menit, akan terbentuk 3 lapisan : supernatan (bening) pada lapisan atas adalah khloroform+RNA, lapisan kedua adalah protein, dan pelet adalah fenol+DNA (warna biru). Supernatan (khloroform+RNA) dan pelet (fenol+DNA) diambil dan masing-masing dipindahkan ke tube baru yang telah berisi 400 µl isopropanol, dihomogenkan lalu disimpan pada suhu ruang selama 5-10 menit, selanjutnya masing-masing disentrifugasi pada suhu 4°C dan 10.000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang dan pelet yang tertinggal di dasar tube ditambahkan 1 ml etanol 70% dingin. Selanjutnya disentrifugasi kembali pada suhu 4°C dan 10.000 rpm selama 15 menit, supernatan dibuang dan pelet dikering-udarkan. Setelah kering, pelet ditambahkan *diethylpyrocarbonate* (DEPC) 50 µl, dihomogenkan dengan vorteks dan disimpan di atas es. Selanjutnya konsentrasi RNA dan DNA genom diukur menggunakan *gene quant*. Konsentrasi RNA dan DNA adalah hasil pembacaan *gene quant* x faktor pengenceran, sedangkan rasio RNA/DNA dihitung dengan cara konsentrasi RNA total dibagi dengan konsentrasi DNA genom (Linacero *et al.* 1998).

Sintasan larva udang vaname

Sintasan larva udang vaname pada setiap perlakuan dihitung pada akhir penelitian (Dehaghani *et al.* 2015):

$$SR (\%) = \frac{N_t}{N_o} \times 100$$

dimana : SR = sintasan (%); N_t = jumlah udang hidup pada akhir percobaan (ekor); N_o = jumlah udang pada awal percobaan (ekor)

Respons Imun Larva Udang Vaname

Pengukuran respons imun pada larva udang vaname dilakukan pada akhir pemberian pakan perlakuan (PL13), meliputi parameter *total hemocyte count* (THC), aktivitas *phenoloxidase* (PO), dan aktivitas *respiratory burst* (RB). Pengukuran THC dilakukan berdasarkan metode Chen (2000) yang dimodifikasi. Aktivitas PO diukur berdasarkan metode Liu & Chen (2004), sementara aktivitas RB diukur berdasarkan metode Song & Hsieh (1994)

Analisis data

Data total bakteri, aktivitas enzim pencernaan, SGR, panjang mutlak, rasio RNA/DNA, sintasan, dan respons imun larva udang vaname pada masing-masing perlakuan dianalisis menggunakan sidik ragam. Jika ada perbedaan antar perlakuan, dilanjutkan uji Duncan pada selang kepercayaan 95% menggunakan program SPSS 16.

Hasil dan Pembahasan

Total Bakteri pada Larva Udang Vaname

Pemberian probiotik 1Ub, prebiotik MOS, dan sinbiotik (kombinasi 1Ub dengan MOS) melalui bioenkapsulasi *Artemia* sp. mampu memodulasi pertumbuhan mikroflora di dalam tubuh larva udang vaname, sehingga jumlah populasi bakteri dalam tubuh larva vaname pada perlakuan pemberian probiotik, dan sinbiotik lebih tinggi ($P < 0.05$) dibandingkan pemberian prebiotik dan kontrol (Tabel 1). Selain itu, bakteri probiotik 1Ub yang diberikan juga mampu hidup dan berkolonisasi pada saluran intestinal larva udang vaname. Hal ini dapat diketahui karena adanya penanda resisten antibiotik rifampisin pada bakteri tersebut sehingga keberadaannya dalam tubuh larva udang vaname dapat dimonitor. Populasi bakteri probiotik 1Ub dalam tubuh larva udang vaname yang diberi perlakuan probiotik sebanyak 5.84×10^5 CFU/0.1g larva, dan yang diberi perlakuan sinbiotik sebanyak 4.75×10^6 CFU/0.1g larva.

Tabel 1. Total bakteri dan total probiotik 1Ub dalam tubuh larva udang vaname yang diberi probiotik, prebiotik, dan sinbiotik melalui bioenkapsulasi *Artemia* sp.

Perlakuan	Total Bakteri (CFU/0.1g larva)	Total Probiotik 1Ub (CFU/0.1g larva)
Kontrol	2.42×10^5 ^a	0
Probiotik	3.87×10^7 ^b	5.84×10^5 ^b
Prebiotik	3.74×10^5 ^a	0
Sinbiotik	6.70×10^7 ^c	4.75×10^6 ^c

Nilai rata-rata pada kolom yang sama diikuti huruf superskrip berbeda menunjukkan nilai berbeda nyata ($P < 0.05$).

Berdasarkan rata-rata total bakteri dan total probiotik 1Ub dalam tubuh larva udang vaname (Tabel 1), terlihat bahwa pemberian sinbiotik memberikan jumlah total bakteri dan total probiotik 1Ub lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya dan kontrol. Tingginya total bakteri dan total probiotik 1Ub dalam tubuh larva udang vaname yang diberi perlakuan sinbiotik sangat dimungkinkan oleh kemampuan bakteri probiotik 1Ub untuk hidup dan berkolonisasi pada saluran intestinal larva udang vaname karena probiotik 1Ub yang digunakan pada penelitian ini merupakan bakteri hasil isolasi dari naupli udang vaname (Widanarni *et al.* 2009), serta kemampuan memanfaatkan mannanoligosakarida dengan adanya enzim mananase yang dihasilkan oleh bakteri probiotik 1Ub (Hamsah *et al.* 2017). Hasil serupa juga dilaporkan oleh Widanarni *et al.* (2013) bahwa pemberian berbagai dosis bakteri probiotik SKT-b (*Vibrio alginolyticus*) melalui *Artemia* sp. mampu meningkatkan jumlah total *Vibrio* pada tubuh pascalarva udang windu, dan pemberian enkapsulasi sinbiotik (*Bacillus* NP5 Rf^R dan oligosakarida) mampu meningkatkan populasi bakteri pada usus udang vaname hingga 9 log CFU/g (Zubaidah *et al.* 2015).

Aktivitas Enzim Pencernaan

Aktivitas enzim pencernaan larva udang vaname yang diberi probiotik, prebiotik, dan sinbiotik melalui bioenkapsulasi *Artemia* sp. menunjukkan nilai yang bervariasi antar perlakuan (Tabel 2). Aktivitas enzim protease pada

perlakuan sinbiotik dan probiotik lebih tinggi ($P < 0.05$) dibandingkan perlakuan prebiotik dan kontrol. Aktivitas enzim lipase dan amilase pada perlakuan sinbiotik lebih tinggi ($P < 0.05$) dibandingkan perlakuan lainnya dan kontrol. Demikian pula aktivitas enzim mananase pada perlakuan sinbiotik lebih tinggi ($P < 0.05$) dibandingkan kontrol, namun perlakuan sinbiotik tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) dengan perlakuan probiotik dan prebiotik.

Tabel 2. Aktivitas enzim pencernaan larva udang vaname yang diberi probiotik, prebiotik, dan sinbiotik melalui bioenkapsulasi *Artemia* sp.

Perlakuan	Aktivitas Enzim (U/mL/menit)			
	Protease	Lipase	Amilase	Mananase
Kontrol	0.011±0.0004 ^a	0.037±0.0015 ^a	0.576±0.004 ^a	0.070±0.001 ^a
Probiotik	0.022±0.0044 ^b	0.041±0.0005 ^c	0.788±0.006 ^c	0.119±0.052 ^{ab}
Prebiotik	0.013±0.0016 ^a	0.044±0.0005 ^b	0.613±0.008 ^b	0.109±0.004 ^{ab}
Sinbiotik	0.033±0.0007 ^c	0.047±0.0010 ^d	0.853±0.008 ^d	0.148±0.004 ^b

Nilai rata-rata pada kolom yang sama dengan huruf superskrip berbeda menunjukkan nilai yang berbeda nyata ($P < 0.05$).

Keberadaan bakteri probiotik yang terakumulasi dalam pakan alami *Artemia* sp. dapat meningkatkan produksi enzim eksogenus dalam tubuh larva udang vaname. Probiotik 1Ub mampu menghasilkan beberapa enzim eksogenus, seperti protease, lipase, amilase, dan mananase (Hamsah *et al.* 2017). Kemampuan probiotik 1Ub menghasilkan beberapa enzim eksogenus tersebut memungkinkan aktivitas enzim pencernaan larva udang vaname yang diberi perlakuan lebih tinggi dibandingkan kontrol (Tabel 2). Tzuc *et al.* (2014) melaporkan bahwa bakteri *Pseudoalteromonas* sp. yang diisolasi dari lambung, usus, dan hepatopankreas udang vaname mampu menghasilkan enzim amilase, lipase, dan chitinase. Liu *et al.* (2009) menyatakan bahwa kenaikan pertumbuhan pada hewan akuatik yang diberi pakan probiotik dapat dikaitkan dengan adanya peningkatan aktivitas pencernaan oleh aktivitas enzimatik dan sintesis vitamin sehingga dapat meningkatkan nilai pencernaan dan penambahan bobot.

Suplementasi prebiotik mannanoligosakarida pada pakan alami *Artemia* sp. tidak secara langsung menambahkan jumlah *exogenous* enzim pada tubuh larva udang vaname, tetapi memberikan tambahan energi dan nutrisi bagi bakteri alami dalam tubuh larva untuk mampu hidup lebih baik dan menghasilkan lebih banyak *exogenous* enzim, sehingga membuat pencernaan larva vaname menjadi lebih efektif. Prebiotik mannanoligosakarida yang diberikan bisa langsung dimanfaatkan oleh bakteri probiotik 1Ub atau digunakan oleh bakteri alami yang ada dalam tubuh larva udang vaname. Kemampuan probiotik 1Ub dalam memanfaatkan mannanoligosakarida sangat terkait dengan kemampuan probiotik 1Ub menghasilkan enzim mananase. Hal tersebut memungkinkan pemberian sinbiotik melalui bioenkapsulasi *Artemia* sp. mampu menghasilkan aktivitas enzim pencernaan larva udang vaname yang lebih tinggi pada penelitian ini. Hasil serupa juga dilaporkan oleh Zokaeifar *et al.* (2012) bahwa pemberian probiotik *Bacillus subtilis* mampu meningkatkan enzim pencernaan udang vaname, pemberian sinbiotik (kombinasi probiotik *Enterococcus faecium* dan prebiotik

fruktooligosakarida) mampu meningkatkan aktivitas enzim pencernaan juvenil ikan mas (Dehaghani *et al.* 2015).

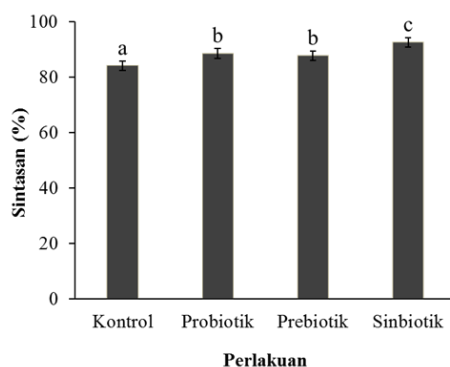
Kinerja Pertumbuhan dan Sintasan larva udang vaname

Pemberian *Artemia* sp. hasil bioenkapsulasi dengan probiotik, prebiotik, dan sinbiotik pada larva udang vaname (mysis3 sampai PL12) mampu memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kinerja pertumbuhan dan sintasan larva udang vaname (Tabel 3 dan Gambar 1).

Tabel 3. Kinerja pertumbuhan larva udang vaname yang diberi probiotik, prebiotik, dan sinbiotik melalui pengkayaan *Artemia* sp.

Perlakuan	DGR (% / hari)	Panjang mutlak (mm)	Rasio RNA/DNA
Kontrol	18.54±0.29 ^a	8.83±0.76 ^a	0.2834±0.0269 ^a
Probiotik	21.96±0.24 ^c	11.33±0.29 ^b	0.4207±0.0459 ^b
Prebiotik	21.30±0.39 ^b	10.83±0.58 ^b	0.3201±0.0349 ^a
Sinbiotik	24.39±0.31 ^d	13.00±0.50 ^c	0.6369±0.0094 ^c

DGR : laju pertumbuhan harian, Probiotik yang digunakan adalah 1Ub Rf^R, Prebiotik yang digunakan adalah MOS. Nilai rata-rata pada kolom yang sama diikuti dengan huruf superskrip berbeda menunjukkan nilai yang berbeda nyata ($P < 0.05$).



Gambar 1. Sintasan larva udang vaname yang diberi probiotik 1Ub, prebiotik, MOS dan sinbiotik (kombinasi 1Ub dengan MOS) melalui bioenkapsulasi *Artemia* sp. mulai mysis3 sampai PL12. Huruf berbeda di atas bar menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0.05$) antarperlakuan.

Laju pertumbuhan dan sintasan larva udang vaname yang diberi probiotik, prebiotik, dan sinbiotik melalui bioenkapsulasi *Artemia* sp. lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. DGR larva udang vaname yang diberi probiotik, prebiotik, dan sinbiotik berkisar 21.30 – 24.39%/hari, sementara DGR larva udang pada perlakuan kontrol sebesar 18.54%/hari atau terjadi peningkatan DGR sebesar 14.9 – 31.5%/hari. SR larva udang vaname yang diberi probiotik, prebiotik, dan sinbiotik berkisar 87.83 – 92.67%, sementara SR pada perlakuan kontrol sebesar 84.17% atau terjadi peningkatan SR sebesar 4.3 – 10%. Tingginya laju pertumbuhan dan sintasan tersebut sangat terkait dengan kemampuan probiotik *P. piscicida* 1Ub dan prebiotik MOS dalam memodulasi pertumbuhan dan aktivitas mikroflora menguntungkan dalam saluran pencernaan larva udang vaname yang dapat membantu meningkatkan pencernaan pakan sehingga memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan sintasan larva.

Pemberian sinbiotik (kombinasi 1Ub dengan MOS) melalui bioenkapsulasi *Artemia* sp. pada larva udang vaname (Mysis3-PL12) menghasilkan DGR, panjang mutlak, dan rasio RNA/DNA terbaik dibandingkan perlakuan lainnya dan kontrol (Tabel 3). Hasil ini sejalan dengan yang ditunjukkan oleh mikrokapsul kombinasi *Bacillus* NP5 Rf^R dan mannanoligosakarida pada *Litopenaeus vannamei* (Febrianti *et al.* 2016), kombinasi probiotik SKT-b Rf^R dan oligosakarida dari ekstrak ubi sukuk pada larva *Litopenaeus vannamei* (Widanarni *et al.* 2015), kombinasi probiotik SKT-b Rf^R dan oligosakarida dari ekstrak ubi sukuk pada *Litopenaeus vannamei* (Nurhayati *et al.* 2015), serta kombinasi *Bacillus* spp. dan mannanoligosakarida pada larva lobster *European* (Daniels *et al.* 2013). Laju pertumbuhan harian (DGR) yang diperoleh pada penelitian ini ($24.39 \pm 0.31\%$ /hari) lebih baik dibandingkan DGR hasil penelitian Widanarni *et al.* (2015) yaitu sebesar $17.55 \pm 0.65\%$ /hari dan DGR hasil penelitian Nurhayati *et al.* (2015) yaitu sebesar $7.45 \pm 0.16\%$ /hari. Perbedaan nilai DGR yang diperoleh sangat dimungkinkan oleh perbedaan jenis probiotik dan prebiotik yang digunakan dalam penelitian.

Pemberian sinbiotik (kombinasi 1Ub dengan MOS) melalui bioenkapsulasi *Artemia* sp. pada larva udang vaname juga menghasilkan sintasan (SR) terbaik dibandingkan perlakuan lainnya dan kontrol (Gambar 1). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sinbiotik mampu meningkatkan sintasan organisme akuatik seperti pemberian sinbiotik (kombinasi probiotik *Vibrio* SKT-b dengan oligosakarida dari ekstrak ubi sukuk) melalui bioenkapsulasi *Artemia* sp. mampu meningkatkan kelangsungan hidup larva udang vaname (Widanarni *et al.* 2015), dan penambahan sinbiotik (kombinasi probiotik *Enterococcus faecium* dan prebiotik fruktooligosakarida) pada pakan mampu meningkatkan sintasan juvenil *Carassius auratus gibelio* (Mahghani *et al.* 2014). SR yang diperoleh pada penelitian ini ($92.67 \pm 1.26\%$) lebih tinggi dibandingkan SR hasil penelitian Widanarni *et al.* (2015) yaitu sebesar $41.50 \pm 3.61\%$, namun lebih rendah dibandingkan SR hasil penelitian Mahghani *et al.* (2014) yaitu sebesar $97.6 \pm 2.5\%$. Perbedaan nilai SR yang diperoleh tersebut selain karena perbedaan jenis probiotik dan prebiotik yang digunakan, juga dimungkinkan oleh perbedaan jenis organisme yang digunakan dalam penelitian.

Respons Imun Larva Udang Vaname

Pemberian probiotik, prebiotik, dan sinbiotik melalui bioenkapsulasi *Artemia* sp. pada larva udang vaname selama 13 hari (mysis 3 – PL12) mampu meningkatkan THC, aktivitas PO, dan aktivitas RB (Tabel 4). THC dan aktivitas PO larva udang yang diberi sinbiotik menunjukkan nilai paling tinggi ($P < 0.05$) dibandingkan perlakuan lainnya. Sementara aktivitas RB larva udang vaname yang diberi sinbiotik berbeda nyata ($P < 0.05$) dengan kontrol, namun tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) dengan yang diberi probiotik dan prebiotik.

Tabel 4. *Total hemocyte count* (THC), aktivitas *phenoloxidase* (PO), aktivitas *respiratory burst* (RB) larva udang vaname yang diberi probiotik, prebiotik, dan sinbiotik

Respons imun	Perlakuan			
	Kontrol	Probiotik	Prebiotik	Sinbiotik
THC ($\times 10^6$ sel mL ⁻¹)	4.65 \pm 0.150 ^a	5.80 \pm 0.458 ^b	5.65 \pm 0.312 ^b	7.60 \pm 0.377 ^c
Aktivitas PO (OD 490 nm)	0.06 \pm 0.004 ^a	0.08 \pm 0.008 ^b	0.08 \pm 0.009 ^{ab}	0.19 \pm 0.002 ^c
Aktivitas RB (OD 630 nm)	0.55 \pm 0.033 ^a	0.63 \pm 0.023 ^{ab}	0.64 \pm 0.059 ^{ab}	0.67 \pm 0.028 ^b

Huruf superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan nilai berbeda nyata ($P < 0.05$).

Peningkatan THC pada larva udang yang diberi sinbiotik terjadi sebagai bentuk reaksi sistem imun tubuh larva dalam merespons benda asing yang masuk, yakni sinbiotik (kombinasi probiotik dan prebiotik) yang diberikan selama masa pemeliharaan (mysis 3 – PL12). Partikel asing yang masuk ke dalam tubuh udang akan dikenali oleh sel hemosit dan direspons melalui beberapa mekanisme seperti *intracellular signaling cascade*, fagositosis, enkapsulasi, dan agregasi nodular (Rodriguez & Moullac 2000). Oktaviana *et al.* (2014) dan Nurhayati *et al.* (2015) melaporkan bahwa pemberian sinbiotik melalui pakan buatan selama 30 hari mampu meningkatkan THC udang vaname.

Peningkatan aktivitas PO setelah pemberian sinbiotik dapat disebabkan oleh proses inisiasi pengenalan benda asing pada sel probiotik dan MOS oleh *pattern recognition protein* (PRPs) pada hemosit. Enzim PO terdapat dalam hemolim sebagai inaktif *pro-enzyme* yang disebut proPO. Pada krustasea, proPO berfungsi dalam pengenalan benda asing dan melanisasi. Transformasi proPO menjadi PO melibatkan beberapa reaksi yang dikenal sebagai *proPO activating system* yang diaktifkan oleh dinding sel bakteri, β -glukan, dan lipopolisarida (Amparyup *et al.* 2013). Hasil penelitian Arisa *et al.* (2015) menunjukkan hal yang sama, aktivitas PO udang vaname mengalami peningkatan setelah diberi sinbiotik (kombinasi probiotik SKT-b dan oligosakarida dari ekstrak ubi jalar) selama dua minggu.

Aktivitas RB merupakan rangkaian proses pemusnahan partikel mikroba yang difagosit yang melibatkan pelepasan enzim degradatif ke dalam fagosom dan produksi *reactive oxygen intermediate* (ROI) yang kini disebut *respiratory burst* (Rodriguez & Moullac 2000).

Kesimpulan

Pemberian probiotik *P. piscicida* 1Ub, prebiotik MOS, dan kombinasi probiotik 1Ub dengan prebiotik MOS (sinbiotik) melalui bioenkapsulasi *Artemia* sp. mampu meningkatkan kinerja pertumbuhan, total bakteri, aktivitas enzim pencernaan, sintasan, dan respons imun larva udang vaname. Pemberian sinbiotik (kombinasi 10^6 CFU/mL probiotik 1Ub dengan 12 mg/L prebiotik MOS) memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan kontrol dan perlakuan lainnya.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Kemenristek Dikti, PT. Suri Tani Pamuka (STP) Carita, Sekolah Pascasarjana IPB, Universitas Muhammadiyah Makassar beserta seluruh Tim Peneliti yang telah banyak membantu baik dari segi pendanaan

maupun dalam bentuk bantuan lainnya sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

Daftar Pustaka

- Amparyup P, Charoensapsri W, Tassanakojan A. 2013. Prophenoloxidase system and its role in shrimp immune responses against major pathogens. *Fish & Shellfish Immunology*, 34:990-1001.
- Arisa II, Widanarni, Yuhana M, Muchlisin ZA, Muhammadar AA. 2015. The application of probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance the immune responses of vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to *Vibrio harveyi* infection. *AACL Bioflux*, 8(5):772-778.
- Bergmeyer HU, Grossi M, Walter HE. 1983. Reagents for enzymatic analysis. In: H.U. Bergmeyer (ed.) *Methods in enzymatic analysis vol. II*. 3rd eds. Weinheim. 274-275 pp.
- Borlongan IG. 1990. Studies on the digestive lipases of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture*, 89: 315-325.
- Cerezuela R, Meseguer J, Esteban MA. 2011. Current knowledge in synbiotic use for fish aquaculture: A review. *Journal of Aquaculture Research & Development*, S1:008.
- Chen TT. 2000. Aquaculture biotechnology and fish disease. In: Hardjito, L. (Ed.). *International Symposium on Marine Biotechnology*. Center for Coastal and Marine Resources Studies, IPB, Jakarta, Indonesia, p:3-8.
- Daniels CL, Merrifield DL, Ringø E, Davies SJ. 2013. Probiotic, prebiotic and synbiotic applications for the improvement of larval European lobster (*Homarus gammarus*) culture. *Aquaculture*, 416: 396-406.
- Dehaghani PG, Baboli MJ, Moghadam AT, Ziaei-Nejad S, Pourfarhadi M. 2015. Effect of synbiotic dietary supplementation on survival, growth performance, and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Czech Journal of Animal Science*, 60 (5): 224-232.
- [FAO] Food and Agriculture Organization. 2017. Increased production of farmed shrimp leads to improved international trade. <http://www.fao.org/inaction/globefish/market-reports/resource-detail/en/c/989543>. [diunduh pada 11 Juli 2017].
- Febrianti D, Yuhana M, Widanarni. 2016. Dietary synbiotic microcapsule influence the immune responses, growth performance and microbial populations to white spot syndrome virus in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 11(1): 28-42.
- Hadioetomo R. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT Gramedia: Jakarta.
- Hamsah, Widanarni, Alimuddin, Yuhana M, Junior MZ. 2017. The nutritional value of *Artemia* sp. enriched with the probiotic *Pseudoalteromonas piscicida* and the prebiotic mannan-oligosaccharides. *AACL Bioflux*, 10 (1): 8-17.
- Hossain MZ, Abe J-i, Hizukuri S. 1996. Multiple forms of β -mannanase from *Bacillus* sp. KK01. *Enzyme Microb Tech*, 18(2): 95-98.
- Linacero RJ, Rueda, & Vasques AM. 1998. Quantification of DNA. In Karp AP, Isaac G, Ingram DS (Editors) *Molecular Tools For Screening Biodiversity: Plants and Animals*. Chapman and Hall. London, Weinheim, New York, Tokyo < Melbourne, Madras, p. 18-21.
- Lisal JS. 2005. Konsep probiotik dan prebiotik untuk modulasi mikrobiota usus besar. *Medical Nusantara*, 26: 256-262.
- Liu CH, Chiu CS, Ho PL, Wang SW. 2009. Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease-producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto. *Journal Appl Microbiol*, 107(3): 1031-1041.

- Liu CH, Chen JC. 2004. Effect of ammonia on the immune responses of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 16:321-334.
- Mahghani F, Gharaei A, Ghaffari M, Akrami R. 2014. Dietary synbiotic improves the growth performance, survival and innate immune response of Gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) juveniles. *International Journal of Aquatic Biology*, 2(2): 99-104.
- Nayak S. 2010. Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish Shellfish Immunology*, 29(1): 2-14.
- Nimrat S, Boonthai T, Vuthiphandchai V. 2011. Effects of probiotic forms, compositions of and mode of probiotic administration on rearing of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae and postlarvae. *Anim Feed Sci Tech*, 169(3): 244-258.
- Nurhayati D, Widanarni, Yuhana M. 2015. Dietary synbiotic influence on the growth performances and immune responses to co-Infection with infectious myonecrosis Virus and *Vibrio harveyi* in *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 10(1):13-23.
- Oktaviana A, Widanarni, Yuhana M. 2014. The use of synbiotic to prevent IMNV and *Vibrio harveyi* co-infection in *Litopenaeus vannamei*. *HAYATI Journal of Biosciences*. 21(3):127-134.
- Rodriguez L, Le Moullac G. 2000. State of the art immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture*, 191:109-119.
- Tzuc JT, Escalante DR, Herrera RR, Cortés GG, Ortiz MLA. 2014. Microbiota from *Litopenaeus vannamei*: digestive tract microbial community of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). SpringerPlus, 3: 280.
- Verschuere L, Rombaut G, Sorgeloos P, Verstraete W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and molecular biology reviews*, 64(4):655-671.
- Wang YB, Li JR, Lin J. 2008. Probiotics in aquaculture: challenges and outlook. *Aquaculture*, 281(1): 1-4.
- Widanarni, Nababan YI, Yuhana M. 2015. Growth performance of Pasific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae fed prebiotic and probiotic through *Artemia*. *Pakistan Journal Biotechnology*, 12(2): 99 -104.
- Widanarni, Hadiroseyani Y, Sutanti A. 2013. Pengaruh pemberian bakteri probiotik *Vibrio* SKT-b dengan dosis berbeda melalui *Artemia* terhadap pertumbuhan pascalarva udang windu *Penaeus monodon*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 12(1): 86-93.
- Widanarni, Lidaenni MA, Wahjuningrum D. 2010. Pengaruh pemberian bakteri probiotik *Vibrio* SKT-b dengan dosis yang berbeda terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan larva udang windu *Penaeus monodon* Fab. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 9(1): 21-29.
- Widanarni, Tepu I, Sukenda, Setiawati M. 2009. Seleksi bakteri probiotik untuk biokontrol vibriosis pada larva udang windu *Penaeus monodon* menggunakan cara kultur bersama. *Jurnal Riset Akuakultur*, 4(1): 95-105.
- Zhang J, Liu Y, Tian L, Yang H, Liang G, Xu D. 2012. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunology*, 33(4): 1027-1032.
- Zokaeifar H, Balcázar JL, Saad CR, Kamarudin MS, Sijam K, Arshad A, Nejat N. 2012. Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Fish & Shellfish Immunology*, 33(4):683-689.
- Zubaidah A, Yuhana M, Widanarni. 2015. Encapsulated synbiotic dietary supplementation at different dosages to prevent Vibriosis in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *HAYATI Journal of Biosciences*, 22:163-168.