

**Penambahan Nukleotida dalam Pakan Pembesaran sebagai
Immunostimulan pada Udang Vaname, *Litopenaeus vannamei***

Adding nucleotides in commercial feed as the shrimp immunostimulatory,
Litopenaeus vannamei

Siti Subaidah*, Sofiati, Manijo, dan Titis

¹Balai Perikanan Budidaya Air Payau
Jl. Raya Pecaron, PO Box 5 Panarukan Situbondo
*e-mail: s.subaidah60@gmail.com

ABSTRAK

Udang tidak memiliki respon imun spesifik dan sepenuhnya tergantung pada respon imun nonspesifik. Nukleotida merupakan immunostimulan yang sudah diketahui dapat meningkatkan respon imun nonspesifik ikan. Pada udang, belum banyak penelitian tentang penggunaan nukleotida sebagai immunostimulan. Nukleotida dapat menawarkan alternatif bagi penggunaan antibiotik atau bahan-bahan kimia, sebab bahan ini tidak meninggalkan residu dalam tubuh ikan serta tidak mengakibatkan kerusakan lingkungan. Oleh karena itu, perikanan terhadap penggunaan nukleotida dalam upaya mengontrol penyakit dalam aktivitas budidaya udang sangat diperlukan dengan tujuan mengevaluasi pengaruh pemberian nukleotida terhadap resistensi dan performa pertumbuhan pada pembesaran udang vaname. Pemberian nukleotida dengan dosis 400 mg/kg pakan yang diberikan selama 4 minggu memberikan peningkatan pertumbuhan bobot yang lebih baik dibanding pemberian 2 minggu dan kontrol tanpa pemberian. Nukleotida yang lebih spesifik berfungsi sebagai immunostimulan memberikan sintasan yang lebih baik yaitu sebesar 62,75% atau 12,72% lebih tinggi dari kontrol, dan sebesar 59,50% atau 6,88% lebih tinggi dari kontrol, yang didukung oleh ekspresi gen proPO.

Kata kunci: udang vaname, nukleotida, immunostimulan.

Pendahuluan

Agar program peningkatan produksi udang dapat berkesinambungan, baik secara ekologi maupun ekonomi, maka kontrol penyakit harus menjadi prioritas utama. Beberapa metoda yang telah diterapkan dalam mengontrol penyakit antara lain penggunaan antibiotik atau bahan kimia, vaksin, probiotik, penggunaan benih/induk SPF/SPR, dan biosekuriti. Penggunaan antibiotik merupakan metoda kontrol penyakit yang telah lama dan paling banyak diterapkan dalam aktivitas budidaya. Namun demikian, telah ditemukan bahwa pemberian antibiotik dalam tambak telah mengakibatkan munculnya patogen yang tahan terhadap antibiotik (*antibiotic-resistant pathogen*). Selain itu, pemberian antibiotik dalam tambak membutuhkan sejumlah besar bahan yang mahal dan dapat terakumulasi dalam tubuh ikan/udang atau lingkungan budidaya dan membahayakan kesehatan konsumen. Vaksin telah digunakan pada beberapa spesies ikan dan memperlihatkan hasil positif. Pada udang, penggunaan vaksin (*formalin-inactivated WSSV, recombinant protein WSSV*) telah mulai diteliti dan memperlihatkan hasil yang menjanjikan meskipun udang tidak memiliki sistem imun spesifik (Witteveldt *et al.* 2003). Namun demikian, vaksin sangat mahal dan proteksi yang dihasilkan bersifat spesifik sehingga tidak efektif melawan beberapa patogen secara simultan. Penggunaan udang SPR dan sistem biosekuriti yang diterapkan beberapa tahun terakhir ini secara signifikan mampu meningkatkan kelangsungan hidup dan produksi. Dalam jangka panjang, kedua metoda inipun nampaknya belum mampu mencegah munculnya wabah penyakit yang terjadi

secara berulang (Moss *et al.* 2006). Dengan adanya mutasi virus, maka udang yang awalnya resisten terhadap patogen tertentu menjadi rentan terhadap virus baru. Lebih lanjut, kini terdapat bukti bahwa udang SPR ternyata memiliki pertumbuhan yang lebih kecil dibandingkan dengan udang bukan SPR (Parenrengi 2010). Saat ini, penggunaan imunostimulan semakin mendapat perhatian untuk dikembangkan sebagai metoda kontrol penyakit dalam budidaya udang. Banyak bukti telah memperlihatkan bahwa imunostimulan yang ditambahkan dalam pakan dapat meningkatkan resistensi ikan dan udang terhadap infeksi penyakit melalui peningkatan respon imun nonspesifik (Welker *et al.* 2007).

Udang tidak memiliki respon imun spesifik dan sepenuhnya tergantung pada respon imun nonspesifik. Nukleotida merupakan imunostimulan yang sudah diketahui dapat meningkatkan respon imun nonspesifik ikan (Burrels *et al.* 2001). Pada udang, belum banyak penelitian tentang penggunaan nukleotida sebagai imunostimulan. Nukleotida dapat menawarkan alternatif bagi penggunaan antibiotik atau bahan-bahan kimia, sebab bahan ini tidak meninggalkan residu dalam tubuh ikan serta tidak mengakibatkan kerusakan lingkungan. Oleh karena itu, penelitian terhadap penggunaan nukleotida dalam upaya mengontrol penyakit dalam aktivitas budidaya udang sangat diperlukan

Krustase tidak memiliki respon imune spesifik (*adaptive*) dan nampak bergantung pada berbagai respon imun nonspesifik (*innate*). Meskipun dianggap tidak begitu memuaskan, respon imun nonspesifik mampu dengan cepat dan efisien mengenal dan menghancurkan material asing, termasuk patogen (Witteveldt *et al.* 2003). Respon imun nonspesifik terdiri atas respon selular dan respon humoral.

Nukleotida merupakan nutrien semi esensial bagi ikan dan krustase. Nukleotida memiliki peranan penting dalam fisiologi dan biokimia seperti penandaan (*encoding*) dan penerusan informasi genetik, memediasi energi metabolisme dan *cell signalling* serta sebagai komponen koensim, *allosteric effectors*, dan *cellular agonist* (Li & Galtin 2006). Nukleotida terdiri atas basa purin atau pirimidin, ribosa atau 2'-deoksiribosa dan satu atau lebih grup fosfat. Basa purin yang utama terdiri atas adenin, guanin, hiposantin dan santin. Nukleosida purin mengandung ribosa atau 2-deoksiribosa yang berikatan dengan cicin purin melalui ikatan glikosidik (*glycosidic bond*) pada N-9. Nukleotida merupakan fosfat ester dari nukleosida. Basa pirimidin yang utama terdiri atas urasil, timin, dan sitosin. Urasil dan sitosin merupakan komponen pirimidin utama dari RNA. Nukleosida pirimidin atau nukleotida mengandung ribosa atau 2'-deoksiribosa yang berikatan dengan pirimidin melalui ikatan glikosidik pada N-1. Fosfat ester dari nukleosida pirimidin adalah UMP, CMP, dan TMP (Li & Galtin 2006). Secara alami nukleotida terdapat dalam semua makanan yang berasal dari hewan dan tumbuhan dalam bentuk nukleotida bebas dan asam nukleat.

Kebutuhan nukleotida untuk fungsi fisiologi hewan dapat dipenuhi dari sintesa *de novo*. Namun demikian, suplai nukleotida dari sintesa tersebut tidak cukup untuk menjalankan fungsi fisiologi secara optimal terutama pada sistem imun pada saat berada dalam kondisi stres (Li *et al.* 2004). Dalam akuakultur, stres akibat penanganan (*handling*), penyortiran (*grading*), pengangkutan, kepadatan tinggi, penyakit, dan kualitas air yang kurang baik merupakan masalah yang umum terjadi dan karenanya penambahan nukleotida dalam pakan mungkin diperlukan (Burrells *et al.* 2001; Li *et al.* 2004).

Hasil-hasil penelitian pada manusia dan hewan ternak memperlihatkan bahwa penambahan nukleotida dalam pakan dapat meningkatkan *cell-mediated immunity* (CMI), proliferasi limfosit, interleukin-2, dan meningkatkan resistensi terhadap infeksi bakteri (Li *et al.* 2004). Sebaliknya, hewan yang diberi pakan yang tidak mengandung nukleotida menderita gangguan pada fungsi imun selular dan humoral seperti penurunan aktivitas *NK-cell* dan makrofag, produksi sitokin rendah, penurunan produksi antibodi, dan suseptibilitas terhadap infeksi meningkat (Field *et al.* 2002). Penambahan nukleotida dalam pakan dapat memperbaiki kondisi tersebut.

Perhatian terhadap suplementasi nukleotida sebagai imunostimulan pada pakan ikan mulai meningkat sejak adanya laporan Burrells *et al.* (2001) yang memperlihatkan bahwa pakan yang ditambahkan nukleotida dapat meningkatkan resistensi ikan terhadap infeksi virus, bakteri dan parasit. Nukleotida dapat juga meningkatkan pertumbuhan serta meningkatkan toleransi ikan terhadap stres. Pada udang, nukleotida merupakan nutrient kunci (*key nutrient*) bagi sistem imun udang dan pemberian nukleotida seperti yeast atau ekstrak yeast dapat meningkatkan resistensi dan pertumbuhan udang.

Meskipun penelitian tentang penggunaan nukleotida masih berada pada tahap awal, laporan-laporan penelitian pada ikan menunjukkan bahwa selain terlibat dalam palatabilitas pakan dan biosintesa asam amino non esensial, eksogenous nukleotida dapat meningkatkan imunitas dan resistensi ikan terhadap infeksi virus, bakteri dan parasit. Selain itu, pemberian nukleotida juga dapat meningkatkan efikasi vaksinasi yang ditunjukkan oleh peningkatan titer antibodi setelah ikan divaksinasi (Burrells *et al.* 2001); meningkatkan *oxidative radical* neutrofil darah dan sintasan ikan; meningkatkan aktivitas fagositosis, *respiratory burst*, serum komplemen dan aktivitas lisosim serta menurunkan infeksi *A. hydrophilus* pada ikan mas. Pemberian nukleotida juga dapat memperbaiki pertumbuhan pada fase perkembangan awal, meningkatkan kualitas larva, serta meningkatkan toleransi terhadap stres. Pada krustase, pemberian nukleotida dapat meningkatkan pertumbuhan udang vaname (Li *et al.* 2007). Sebaliknya, defisiensi nukleotida dapat merusak fungsi hati, usus, dan fungsi imun (Li & Galtin 2006). Penelitian yang dilakukan Manoppo (2009) pada juvenil udang vaname ukuran 4,5 g dengan dosis nukleotida 400 mg/kg pakan selama 4 minggu berturut-turut memberikan peningkatan resistensi dan pertumbuhan.

Metode Penelitian

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di petakan tambak Balai Perikanan Budidaya Air Payau Situbondo, pada bulan Agustus – September 2016

Metode Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini sebagai wadah adalah hapa ukuran (2x1x1,5) M yang dipasang pada petakan tambak, dan peralatan lapangan seperti pemberian pakan, pemeliharaan, sampling, dan pemanenan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya adalah udang vannamei ukuran ± 3 gram (umur 1 bulan) dengan kepadatan 200 ekor/hapa, pakan pembesaran ukuran stater 2 (ukuran 0,4 – 0,8 mm) dan grower 1 (ukuran 0,8 – 1,0 mm) dan grower 2 (ukuran 0,9 – 1,4 mm), dan nukleotida murni (Sigma-Aldrich) yang terdiri dari adenosine monophosphate (AMP), guanosine monophosphate (GMP), cytidine monophosphate (CMP), uridinemonophosphate (UMP), dan inosinemonophosphate (IMP).

Tahapan pelaksanaan sebagai berikut :

Persiapan pakan

Sebelum dicampurkan ke dalam pakan, kelima jenis nukleotida dalam jumlah yang sama (1:1:1:1:1) dicampur terlebih dahulu secara merata. Selanjutnya campuran nukleotida ditimbang sesuai dosis yang dibutuhkan (perlakuan), dilarutkan dalam sedikit air, dan dicampurkan ke dalam pakan komersial secara merata. Pakan kemudian dikering-anginkan dalam temperatur ruang. Setelah kering, putih telur (sebagai *coater*) dicampurkan secara merata ke dalam campuran pakan-nukleotida, dan dikering-anginkan kembali. Pelet selanjutnya dimasukkan dalam kantong plastik kemudian disimpan dalam lemari pendingin sampai saat akan digunakan. Pakan pelet komersil yang digunakan memiliki komposisi: protein 36%, lemak 5%, serat kasar 4%, abu 15% dan kadar air 12%.

Rancangan uji

Penelitian menggunakan 9 buah hapa ukuran (2x1x1,5) M, dengan 2 perlakuan, 1 kontrol dan 3 ulangan yaitu :

Perlakuan A : pemberian pakan+nukleotida 400 mg /kg pakan selama 2 minggu

Perlakuan B : pemberian pakan+nukleotida 400 mg /kg pakan selama 4 minggu

Perlakuan C : tanpa pemberian nukleotida (kontrol)

Pakan perlakuan diberikan 4%/Berat tubuh/hari, diberikan 3 kali sehari. Pemeliharaan dilanjutkan sampai 4 minggu kemudian setelah pemberian pakan uji terakhir untuk melihat pengaruh pada pertumbuhan selanjutnya. Parameter yang diamati meliputi : pertumbuhan (bobot dan panjang tubuh setiap 10 hari sekali, sintasan, parameter imun (proPO) diukur setiap 2 minggu sekali

Uji Tantang

Uji tantang dilakukan setelah pemeliharaan di hapa selesai, masing-masing perlakuan diambil 20 ekor dan ditempatkan pada container plastik 100 L di Lab. Basah Penyakit. Setelah adaptasi 3 hari dilakukan inokulasi virus WSSV sesuai prosedur OIE. Pengamatan kematian dilakukan sampai 6 hari setelah inokulasi.

Hasil dan Pembahasan

Pertumbuhan

Pemberian nukleotida pada udang vaname yang diberikan secara oral dengan mencampurkan pada pakan dengan dosis 400 mg/kg pakan memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan udang baik bobot maupun panjang. Nukleotida yang diberikan selama 4 minggu memberikan pertambahan bobot tubuh sebesar 5,725 gram atau 8,28% lebih tinggi dibanding kontrol (Tabel 1). Sedangkan pertambahan panjang sebesar 4,888 cm atau 2,5% lebih tinggi dibanding kontrol (Tabel 2).

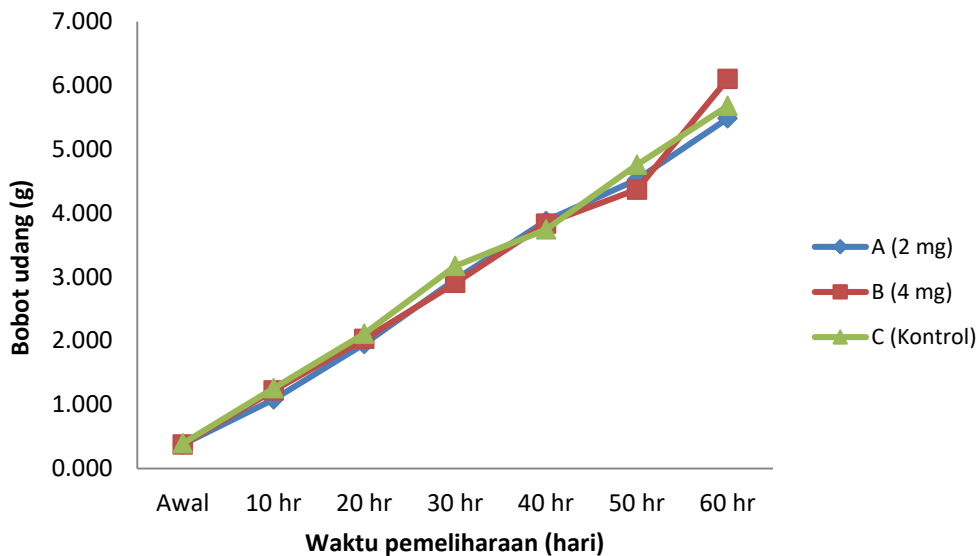
Tabel 1. Pertumbuhan bobot udang vaname setelah pemberian nukleotida dan dipelihara sampai 60 hari

Perlakuan	Bobot awal (g)	Bobot akhir (g)	Δ Bobot (g)
A (2 minggu pemberian nukleotida)	0,375 \pm 0,089	5,485 \pm 0,643	5,110
B (4 minggu pemberian nukleotida)	0,377 \pm 0,103	6,102 \pm 0,557	5,725
C (Kontrol/tanpa pemberian)	0,394 \pm 0,116	5,681 \pm 1,296	5,287

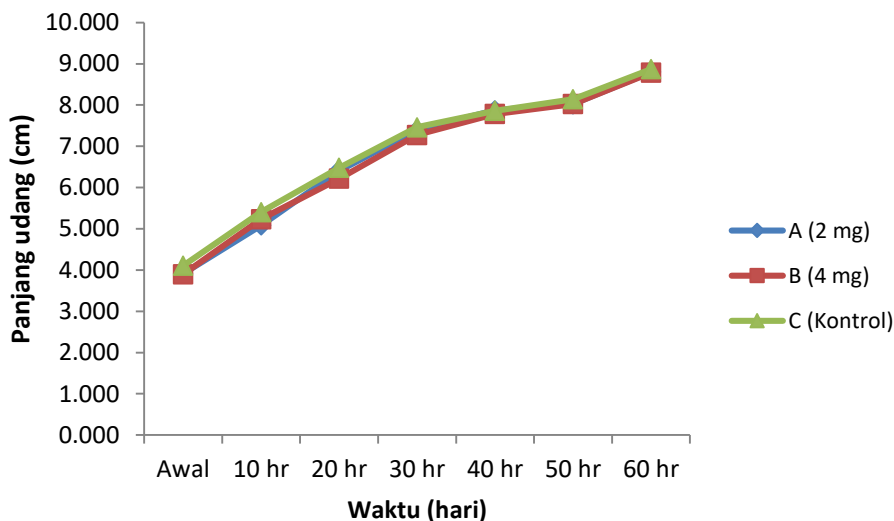
Tabel 2. Pertumbuhan panjang udang vaname setelah pemberian nukleotida dan dipelihara sampai 60 hari

Perlakuan	Panjang awal (cm)	Panjang akhir (cm)	Δ Panjang (cm)
A (2 minggu pemberian nukleotida)	3,910 \pm 0,365	8,800 \pm 0,156	4,890
B (4 minggu pemberian nukleotida)	3,895 \pm 0,359	8,783 \pm 0,205	4,888
C (Kontrol/tanpa pemberian)	4,105 \pm 0,462	8,870 \pm 0,104	4,765

Pertumbuhan bobot udang pada 2 minggu pertama pada ketiga perlakuan tidak menunjukkan perbedaan, demikian juga sampai 4 minggu kemudian. Perbedaan pertumbuhan bobot baru terlihat setelah 6 minggu sampai 8 minggu kemudian. Hal ini menunjukkan bahwa nukleotida bekerja tidak spontan (Gambar 1). Untuk pertumbuhan panjang udang dari minggu kedua sampai minggu kedelapan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, terlihat juga pada grafik Gambar 2.



Gambar 1. Grafik pertumbuhan bobot udang



Gambar 2. Grafik pertumbuhan panjang udang

Immunitas

Sintasan dan proPO

Nukleotida secara spesifik berfungsi sebagai immunostimulan, oleh sebab itu pengaruhnya terhadap pertumbuhan tidak nyata. Hal ini terlihat dari tingkat kehidupan atau sintasan (Tabel 3). Udang yang diberi nukleotida memberikan sintasan yang lebih tinggi yaitu untuk pemberian nukleotida 2 minggu (A) memberikan sintasan sebesar 62,75% atau 12,72% lebih tinggi dari kontrol, sedangkan yang pemberian 4 minggu (B) memberikan sintasan sebesar 59,50% atau 6,88% lebih tinggi dari kontrol.

Tabel 3. Sintasan udang vaname setelah pemberian nukleotida dan dipelihara sampai 60 hari

Perlakuan	Sintasan (%)
A (2 minggu pemberian nukleotida)	62,750 ± 13,789
B (4 minggu pemberian nukleotida)	59,500 ± 7,263
C (Kontrol/tanpa pemberian)	55,667 ± 13,204

Sebagai salah satu parameter immunitas pada udang adalah *profenoloksidase* (proPO), oleh sebab itu dilakukan analisa proPO untuk melihat seberapa besar ekspresi gen pro PO setelah udang diberikan nukleotida. Ekspresi gen proPO pada udang yang diberi nukleotida selama 4 minggu, menunjukkan peningkatan yang besar pada minggu kedua yaitu sebesar 2,609 dan minggu keempat sebesar 9,027. Sedangkan pada udang yang diberi nukleotida selama 2 minggu, peningkatan proPO terjadi pada minggu kedua (Tabel 4). Pada kontrol terlihat bahwa proPO meningkat perlahan dan terjadi peningkatan pada minggu ketiga yaitu sebesar 2,583, angka yang jauh lebih kecil dibanding udang yang diberikan nukleotida.

Tabel 4. Nilai proPO pada udang yang diberi nukleotida dan kontrol

Perlakuan	Waktu pengukuran proPO			
	2 minggu	4 minggu	6 minggu	8 minggu
A (2 minggu pemberian nukleotida)	7,3896	0,4393	0,0139	tt
B (4 minggu pemberian nukleotida)	2,609	9,0274	0,0942	0,0099
C (Kontrol/tanpa pemberian)	0,5087	0,5802	2,583	0,0017

Hasil Uji Tantang

Penularan/ infeksi WSSV dilakukan setelah pemeliharaan 60 hari, penciri patologis berupa bintik putih belum nampak jelas karena ukuran udang masih kecil. Perubahan patologis udang yang dapat diamati antara lain keaktifan berenang, nafsu makan dan warna kemerahan, serta kematian udang sampai hari ke-6 (Tabel 5).

Tabel 5. Pengamatan jumlah kematian setelah infeksi WSSV

Pengamatan	Jumlah kematian (ekor)					
	A1	A2	B1	B2	C1	C2
1	2	3	4	5	6	7
Hari ke-1	0	0	0	0	0	0
Hari ke-2	1	0	0	1	1	0
Hari ke-3	2	1	0	0	0	1
Hari ke-4	4	1	2	3	2	0
Hari ke-5	5	0	5	1	4	4
Hari ke-6	5	4	6	6	2	10
Jumlah	17	6	13	11	9	15

Keterangan : A = pemberian nukleotida 2 minggu; B = pemberian nukleotida 4 minggu; C = kontrol (tanpa pemberian)

Udang sudah mulai kemerahan pada hari kedua dan selanjutnya udang mulai kehilangan keseimbangan motorik kemudian tenggelam di dasar dan akhirnya mati. Untuk memastikan kematian udang disebabkan oleh infeksi WSSV, dilakukan verifikasi dengan PCR terhadap udang yang mati. Pada hari kedua hingga keenam udang banyak yang mati dan positif terinfeksi WSSV. Data kematian udang untuk ketiga perlakuan sama banyak, hal ini dimungkinkan karena keganasan dari WSSV sehingga walaupun sudah mendapat immunostimulan udang tidak mampu untuk menangkal serangan WSSV. Data uji tantang ini tidak dapat digunakan sebagai data pendukung.

Kesimpulan

1. Pemberian nukleotida dengan dosis 400 mg/kg pakan yang diberikan selama 4 minggu memberikan peningkatan pertumbuhan bobot yang lebih baik dibanding pemberian 2 minggu dan kontrol tanpa pemberian.
2. Nukleotida yang lebih spesifik berfungsi sebagai immunostimulan memberikan sintasan yang lebih baik yaitu sebesar 62,75% atau 12,72% lebih tinggi dari kontrol, dan sebesar 59,50% atau 6,88% lebih tinggi dari kontrol, yang didukung oleh ekspresi gen proPO.

Daftar Pustaka

- Burrells, C., Williams, P.D., Fomo, P.F. 2001. Dietary nucleotide: a novel upplement in fish feeds. 1 Effects on resistance to disease in salmonids. *Aquac* 199: 159-169
- Field, C.J., Johnson, I.R., Schley, P.D. 2002. Nutrients and their role in host resistance and infection. *J Leu Biol* 71: 16-32
- Li, P., Galtin III, D.M. 2006. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future application. *Aquac* 251: 141-152
- Li, P., Lawrence, A.I., Castille, F.L., Galtin III, D.M. 2007. Preliminary evaluation of a purified nucleotide mixture as a dietary supplement for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquac Res* 38: 887-890
- Li, P., Lewis, D.H., Galtin III, D.M. 2004. Dietary oligonucleotide from yeast RNA influence immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Fish Shellfish Immunol.* 16:561-569
- Manoppo, H., Sukenda, Djokosetiyanto, D., Sukadi, F., Harris, E. 2009. Nukleotida meningkatkan respon imun dan performa pertumbuhan udang vaname, *Litopenaeus vannamei*. *Aquac Indones* 10: 85-92
- Moss, S.M., arce, S.M., Moss, D.R., Otoshi, C.A. 2006. Disease prevention strategies for penaeid shrimp culture. The Oceanic Institute, Hawaii USA
- Parenrengi, A. 2010. Peningkatan resistensi udang windu *Penaeus monodon* terhadap penyakit white spot syndrome virus melalui transfer gen *Penaeus monodon* antiviral [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana IPB, Bogor.
- Welker, T.L., Lim, C., Aksoy, M.Y., Shelby, R., Klesius, P.H. 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diet containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. *J World Aquac Soc* Vol. 38 No. 1:24-31
- Witteveldt, J., Vlak, J.M., van Hulten, M.C.W. 2003. Protection of *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus using a WSSV subunit vaccine. *Fish Shellfish Immunol.*