

Potensi *Trichoderma* sp. sebagai bahan antibakterial dan imunostimulan pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)

The potential of *Trichoderma* sp. as antibacterial and immunostimulant on white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

C. A. Pebrianto, Sukenda, Widanarni

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

ABSTRACT

The objective of this research was to study antibacterial and immunostimulatory effects of *Trichoderma* sp. extract on white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. First experiment was conducted to evaluate inhibitory effect of *Trichoderma* sp. against *Vibrio harveyi*, a pathogenic bacteria causing vibriosis disease on shrimp. Second experiment was conducted to evaluate immunostimulatory effect of *Trichoderma* sp. on shrimp immunity as well as protective effect against *V. harveyi*. A group of shrimp was injected with a minimum inhibitory concentration obtained at first experiment, and a week after, shrimps was challenged with *V. harveyi* (prophylactic). Another group was previously challenged with *V. harveyi*, and subsequently injected with *Trichoderma* sp. two fold of *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) a day after (therapeutic). Positive control, that was received only *V. harveyi*, and negative controls, that was received neither *Trichoderma* sp. nor *V. harveyi* were included in this experiment. Results of first experiment showed that a concentration of 600 ppm was a MIC of *Trichoderma* sp. to inhibit *V. harveyi*. While in the second experiment, the groups receiving *Trichoderma* sp., either prophylactic or therapeutic, showed protective effect against *V. harveyi* significantly higher than positive control and lower compared with negative control. Total haemocyte count (THC), differential haemocyte count (DHC), phagocytic index and phenoloxydase activity were different among the groups of prophylactic treatment or therapeutic treatment compared to control positive and negative treatments. In conclusion, *Trichoderma* sp. could be used in prophylactic and therapeutic treatments to combat infection of *V. harveyi* on *L. vannamei*.

Key words: *Trichoderma* sp., *V. harveyi*, immunostimulant

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh antibakterial dan imunostimulasi ekstrak *Trichoderma* sp. terhadap udang putih, *Litopenaeus vannamei*. Percobaan pertama dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh penghambatan *Trichoderma* sp. terhadap *Vibrio harveyi*, bakteri patogen yang menyebabkan penyakit vibriosis pada udang. Percobaan kedua dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh immonustimulasi *Trichoderma* sp. terhadap imunitas udang serta pengaruh protektif terhadap *V. harveyi*. Sekelompok udang disuntik dengan konsentrasi hambatan minimum (*minimum inhibitory concentration*, MIC) yang diperoleh dari hasil percobaan pertama, dan seminggu kemudian udang diuji tantang dengan *V. harveyi* (profilaksis). Kelompok udang lain diuji tantang dengan *V. harveyi* sebelumnya untuk kemudian disuntik dengan *Trichoderma* sp. (*therapeutic*). Kontrol positif, yang hanya diuji tantang dengan *V. harveyi*, dan kontrol negatif, yang tidak mendapat baik *Trichoderma* sp. maupun *V. harveyi*. Hasil percobaan pertama menunjukkan bahwa 600 ppm merupakan konsentrasi MIC *Trichoderma* sp. yang memberikan efek penghambatan maksimal terhadap *V. harveyi*. Sedangkan hasil percobaan kedua, kelompok udang yang mendapatkan *Trichoderma* sp. baik sebagai profilaksis maupun *therapeutic* menunjukkan bahwa *Trichoderma* sp. memberikan efek perlindungan terhadap infeksi *V. harveyi* secara signifikan lebih tinggi daripada kontrol positif dan lebih rendah daripada kontrol negatif. *Total hemocyte count* (THC) dan *differential hemocyte* (DHC), indeks fagositik dan aktivitas fenoloksidase kelompok perlakuan profilaksis atau perlakuan *therapeutic* berbeda baik dengan kontrol positif maupun negatif. Untuk itu dapat disimpulkan bahwa *Trichoderma* sp. dapat digunakan dalam tindakan pencegahan dan pengobatan infeksi *V. harveyi* pada udang putih.

Kata kunci: *Trichoderma* sp., *V. harveyi*, imunostimulan

PENDAHULUAN

Budidaya udang vaname, *Litopenaeus vannamei* telah berkembang sedemikian pesat sehingga merupakan salah satu komoditas unggulan sektor perikanan budidaya. Akan tetapi, infeksi penyakit menjadi satu penyebab utama kegagalan produksi udang vaname. Penggunaan antibiotik dalam penanganan penyakit memunculkan permasalahan baru terkait dengan masalah resistensi, keamanan pangan dan dampak negatif pada lingkungan. Vaksinasi merupakan cara yang patut dipertimbangkan sebagai metoda yang efektif untuk mengendalikan infeksi penyakit pada kegiatan budidaya. Akan tetapi karena sistem pertahanan udang lebih banyak diperantarai oleh sistem imun nonspesifik, maka cara ini menjadi kurang efektif untuk udang (Anderson, 1992).

Perkembangan sistem imun pada udang sangat primitif bila dibandingkan dengan ikan dan vertebrata lainnya, karena udang tidak memproduksi antibodi spesifik. Sistem imun pada udang merupakan sistem imun alami (*innate immunity*) (Kwang, 1996). Udang tidak memproduksi limfosit dan tidak memiliki sistem imun *adaptive* seperti yang dimiliki vertebrata lain (Van de Braak, 2002). Strategi yang digunakan pembudidaya udang dalam mengendalikan penyakit pada budidaya udang adalah dengan meningkatkan sistem imun udang dengan pemberian imunostimulan (Dugger dan Jory, 1999), yang dapat menstimulasi sistem imun nonspesifik (Dugger dan Jorry, 1999).

Trichoderma sp. dapat menghasilkan beberapa enzim seperti β -1,3-glukanase, kitinase, protease, serta lipase yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi dinding dan membran sel patogen (Tomia, 2005). Enzim tersebut dilaporkan dapat berperan sebagai elisitor dalam menginduksi ketahanan tanaman, selain itu potensi strain *Trichoderma* sp. dalam menstimulasi dan menginduksi ketahanan tanaman perlu diteliti seperti halnya dengan mikroorganisme lain.

Pada kegiatan perikanan *Trichoderma* sp. belum diketahui manfaatnya tetapi dalam dunia pertanian sudah banyak dimanfaatkan sebagai agen biokontrol seperti menghambat

pertumbuhan fungi patogen pada tanaman dan pengendali penyakit layu bakteri pada tomat. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian *Trichoderma* sp. terhadap imunitas udang vaname, khususnya untuk menguji potensi *Trichoderma* sp. sebagai anti bakteri (*Vibrio harveyi*) dan menguji potensi *Trichoderma* sp. sebagai imunostimulan pada udang vaname.

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian

Udang uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah udang vaname *Litopenaeus vannamei* dengan bobot rata-rata $9,41 \pm 0,47$ g diambil dari lokasi budidaya udang vaname di Bakauheni, Lampung. Bahan yang digunakan sebagai imunostimulan adalah fungi *Trichoderma* sp. sedangkan bakteri yang digunakan untuk ujiantang adalah *Vibrio harveyi* MR 5339. Wadah perlakuan yang digunakan berupa akuarium dengan ukuran 60x33x50 cm yang dilengkapi dengan peralatan aerasi.

Sampel fungi *Trichoderma* sp. diperoleh dari lingkungan tambak udang di Bakauheni, Lampung dengan mengisolasi secara bertahap dari serasah mangrove pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) (Fassatiova, 1986). Kultur murni yang diperoleh, setelah diidentifikasi, diambil sebanyak 1 ose untuk dikultur pada *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan diinkubasi pada inkubator shaker selama 5 hari. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring Whatman 41 pada labu erlenmeyer lain sehingga hanya diperoleh filtratnya. Hasil filtrat kemudian dibekukan dan dikeringkan dengan *freeze dryer* (Tomia, 2005).

Uji *in vitro*

Sebanyak 0,1 ml suspensi sel *V. harveyi* dengan konsentrasi 10^6 sel/ml disebar di atas permukaan media *Sea Water Complete* agar (SWC-agar) secara merata. Media yang telah disebari *V. harveyi* didiamkan selama 5 menit hingga permukaan media kering. Pengujian dilakukan dengan meletakkan kertas cakram berdiameter 6 mm yang telah dicelupkan pada larutan ekstrak *Trichoderma* sp. dengan

konsentrasi 0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000 ppm di atas agar cawan yang telah disebari *V. harveyi*. Biakan bakteri *V. harveyi* kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Respons antibakteri ditentukan dengan mengukur diameter zona bening di sekeliling kertas cakram (Lay, 1994).

Uji *in vivo*

Penelitian ini terdiri dari 4 perlakuan dengan masing-masing 3 kali ulangan, sebagai berikut:

1. Perlakuan kontrol positif: udang uji diinjeksi *V. harveyi* 10^6 sel/ekor.
2. Perlakuan kontrol negatif: udang uji diinjeksi larutan fisiologis.
3. Perlakuan pengobatan: udang uji diinjeksi dengan *V. harveyi* 10^6 sel/ekor, kemudian diinjeksi *Trichoderma* sp. sebanyak 0,1 ml/ekor dengan dosis 1.200 ppm sehari kemudian.
4. Perlakuan pencegahan: udang uji diinjeksi dengan *Trichoderma* sp. sebanyak 600 ppm kemudian diinjeksi dengan *V. harveyi* 10^6 sel/ekor sehari kemudian.

Pengamatan parameter sistem imun dilakukan 6, 12, 24, 48, 72, dan 96 jam pasca infeksi.

Pengamatan parameter penelitian

Pengukuran total hemosit dilakukan dengan metode yang diadaptasi dari Blaxhall dan Daishley (1973). Hemolim diambil sebanyak 0,1 ml di bagian pangkal kaki jalan ke-5 dengan *syringe* 1 ml yang sudah berisi antikoagulan sebanyak 0,3 ml, kemudian dihomogenkan selama 5 menit. Tetesan pertama hemolim pada *syringe* dibuang, selanjutnya hemolim diteteskan ke haemositometer dan dihitung jumlah selnya per ml di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40 kali.

Analisa diferensial hemosit dilakukan berdasarkan Martin dan Graves (1995). Hemolim yang telah diambil dari udang uji diteteskan pada gelas objek dan dibuat ulasan, kemudian dikeringudarkan dan difiksasi dengan metanol 100% selama 5 menit. Setelah itu dikeringudarkan kembali dan diwarnai dengan larutan Giemsa 10% selama 10 menit, dicuci dalam air mengalir

selama 30 detik dan dibiarkan kering. Preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100 kali dan dibedakan menurut jenisnya.

Pengukuran aktivitas fagositosis dilakukan dengan mengambil hemolim sebanyak 0,1 ml untuk kemudian dimasukkan ke dalam cawan mikro dan dicampur secara merata dengan 25 μ l bakteri *Staphylococcus aureus* dan diinkubasi selama 20 menit (Anderson dan Siwicki 1993). Campuran hemolim dan bakteri tersebut diambil sebanyak 5 μ l, diteteskan pada obyek gelas dan dibuat preparat ulas lalu dikeringkan. Fiksasi dengan metanol 100% selama 5 menit dan diwarnai dengan Giemsa selama 15 menit. Aktivitas fagositik diukur berdasarkan persentase sel-sel fagosit yang melakukan fagositosis.

Pengukuran aktivitas fenoloksidase dilakukan berdasarkan Liu dan Chen (2004) dengan menggunakan spektrofotometer. Pengamatan dilakukan dengan melihat perekaman pembentukan dopachrome yang dihasilkan dari L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA). Hemolim disentrifugasi pada 1000 rpm pada suhu 4°C selama 20 menit. Cairan supernatan dibuang dan pellet dibilas dengan 1 ml cacodylate-citrate buffer (sodium cacodylate 0,01 M, sodium klorida 0,45 M, trisodium sitrat 0,10 M, pH 7,0) kemudian disentrifugasi ulang. Pellet selanjutnya dicampur dengan 200 μ l cacodylate buffer (sodium cacodylate 0,01 M, sodium klorida 0,45 M, kalsium klorida 0,01 M dan magnesium klorida 0,26 M, pH 7,0). Larutan kemudian dibagi dua: larutan pertama sebanyak 100 μ l diinkubasi selama 10 menit pada suhu 25°C dengan 50 μ l tripsin (1 mg/ml) sebagai elisitor, kemudian ditambahkan 50 μ l L-DOPA, dan 5 menit kemudian dicampur 800 μ l cacodylate buffer. Larutan kedua sebanyak 100 μ l suspensi sel dicampur dengan 50 μ l cacodylate buffer (untuk menggantikan tripsin) dan 50 μ l L-DOPA yang digunakan sebagai kontrol untuk *background phenoloksidase activity* pada semua kondisi uji. *Optical density* (OD) diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm. Aktivitas fenoloksidase udang diekspresikan sebagai

pembentukan dopachrome per 50 μ l hemolim.

Untuk perhitungan kelangsungan hidup (*survival rate*/SR) udang selama percobaan dilakukan berdasarkan Effendie (1997) dengan menggunakan rumus:

$$SR(\%) = \frac{Nt}{No} \times 100$$

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap dengan dua perlakuan (pencegahan dan pengobatan) dan dua kontrol (kontrol positif dan kontrol negatif) dengan masing-masing tiga ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bahan fungi *Trichoderma* sp.

Hasil isolasi fungi dari serasah pohon bakau diperoleh isolat dengan ciri-ciri sebagai berikut: pada media PDA awalnya koloni berwarna putih, tiga hari kemudian sebagian berwarna hijau yang dikelilingi miselium berwarna putih. Untuk selanjutnya seluruh koloni berwarna hijau. Sedangkan secara mikroskopis isolat memiliki konidiofor percabangan berupa segitiga/ piramid dan konidia berbentuk bulat. Menurut Fassatiouva (1986) *Trichoderma* sp. memiliki ciri koloni pada media PDA berwarna putih, beberapa hari kemudian bagian tengah berwarna hijau yang dikelilingi oleh miselium berwarna putih bersih untuk selanjutnya koloni tersebut berubah menjadi warna hijau. Secara mikroskopis *Trichoderma* sp. memiliki konidiofor dengan percabangan menyerupai piramid yaitu cabang yang lebih panjang dibawahnya, fialid tersusun pada kelompok-kelompok yang berbeda, terdapat 2-3 fialid per kelompok. Konidia berbentuk bulat dengan diameter 3,5-4,5 μ m. Dengan demikian isolat fungi yang diperoleh adalah jenis *Trichoderma* sp. Dari 100 ml kultur fungi *Trichoderma* sp. pada media PDB menghasilkan berat kering 0,522 g.

Uji *in vitro*

Daya hambat fungi *Trichoderma* sp. terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi*

setelah 24 jam masa inkubasi ditunjukkan pada Tabel 1. Semakin tinggi dosis *Trichoderma* sp., semakin kuat daya hambatnya terhadap *V. harveyi*. Pengujian dengan dosis 100-200 ppm berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan dosis 300-500 ppm, serta 600-1000 ppm. Dari data tersebut diketahui bahwa pada konsentrasi ekstrak 600 ppm memiliki daya hambat yang berbeda nyata dengan konsentrasi 0-500 ppm, tetapi tidak berbeda nyata terhadap konsentrasi 700-1000 ppm.

Nilai daya hambat ekstrak *Trichoderma* sp. bila dibandingkan dengan beberapa antibiotik yang digunakan dalam akuakultur menunjukkan bahwa *Trichoderma* sp. pada konsentrasi lebih dari 600 ppm mendekati nilai resisten bahkan sebagian masuk pada kategori resisten dan intermediet (Mayer 2007). Rendahnya nilai zona hambat tersebut dapat disebabkan perbedaan kemurnian ekstrak serta jenis antibiotik. Selain itu dapat diduga pula bahwa *V. harveyi* telah resisten terhadap bahan tersebut.

Uji *in vivo*

Kelangsungan hidup udang

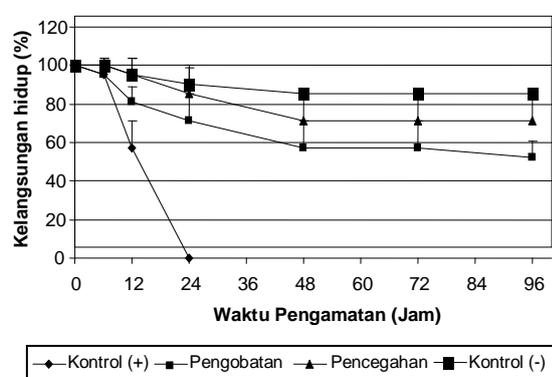
Kelangsungan hidup udang uji untuk semua perlakuan hingga akhir penelitian disajikan pada Gambar 1. Kelangsungan hidup tertinggi diperoleh pada kontrol negatif sebesar 85,71%, kemudian diikuti perlakuan pencegahan sebesar 71,43% dan perlakuan pengobatan sebesar 57,14%. Sedangkan kelangsungan hidup udang pada kontrol positif adalah 0% atau udang mengalami kematian total. Nilai kelangsungan hidup udang vaname dengan perlakuan pencegahan dan pengobatan memberikan hasil yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol positif.

Pemberian ekstrak *Trichoderma* sp. setelah uji tantang (pengobatan) diduga karena ekstrak *Trichoderma* sp. dapat mengendalikan populasi *V. harveyi* melalui efek antibakterialnya dan juga efek immunostimulasinya sehingga kelangsungan hidup udang pada perlakuan ini lebih tinggi (57,14) dibanding kontrol positif (0%).

Tabel 1. Rata-rata diameter (mm) zona hambat bebas bakteri *Vibrio harveyi* yang diberi perlakuan ekstrak fungi *Trichoderma* sp.

Konsentrasi Ekstrak Fungi <i>Trichoderma</i> sp. (ppm)	Diameter Zona Hambat (mm)
0	0,0 ± 0,0 ^a
100	6,2 ± 0,29 ^b
200	6,7 ± 0,29 ^b
300	9,8 ± 1,04 ^c
400	10,0 ± 0,50 ^c
500	10,3 ± 1,04 ^c
600	12,8 ± 0,29 ^d
700	12,8 ± 0,76 ^d
800	13,0 ± 0,50 ^d
900	12,7 ± 1,04 ^d
1000	12,7 ± 0,29 ^d

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata 5% ($p < 0,05$).

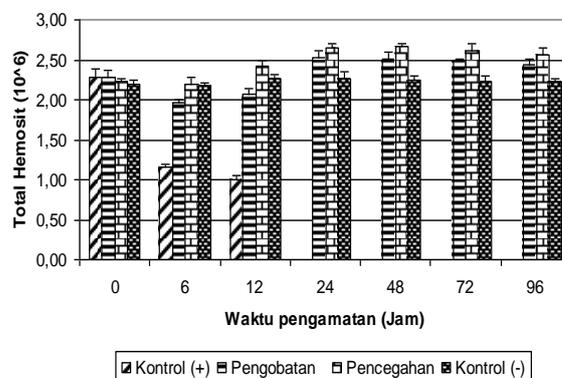


Gambar 1. Kelangsungan hidup udang vaname *L. vannamei* pada perlakuan kontrol positif (+), kontrol negatif (-) serta pengobatan, dan pencegahan dengan ekstrak *Trichoderma* sp.

Total hemosit

Total hemosit udang vaname yang diberi *Trichoderma* sp. secara statistik menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) dibandingkan kontrol (Gambar 2). Sedangkan antar perlakuan menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) antara kontrol (-) ($2,23 \pm 0,03 \times 10^6$) dengan perlakuan pengobatan ($2,43 \pm 0,08 \times 10^6$) dan pencegahan ($2,57 \pm 0,08 \times 10^6$). Untuk perlakuan pengobatan juga memberikan perbedaan nyata ($p < 0,05$) terhadap perlakuan pencegahan. Hal tersebut mengindikasikan perlakuan ekstrak *Trichoderma* sp. memberi pengaruh yang lebih baik dibandingkan kontrol (-) dan juga berpengaruh terhadap pemberian perlakuan sebelum maupun sesudah infeksi terjadi.

Gambar 2 menunjukkan bahwa perlakuan pencegahan akan meningkatkan total hemosit udang uji hingga jam ke-48.

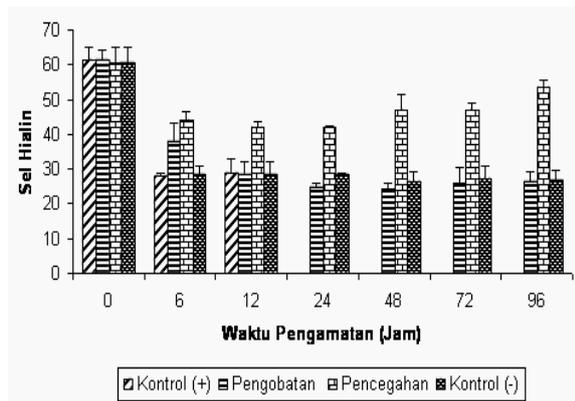


Gambar 2. Total hemosit udang vaname *L. vannamei* pada perlakuan kontrol positif (+), kontrol negatif (-) serta pencegahan dan pengobatan dengan ekstrak *Trichoderma* sp.

Peningkatan total hemosit pada jam ke-12 setelah perlakuan menunjukkan adanya kemampuan bahan aktif dari ekstrak untuk meningkatkan imunitas dengan cepat. Hal tersebut berbeda dengan pengaruh yang ditunjukkan oleh LPS, dimana total hemosit udang menurun pada saat 4 dan 24 jam setelah perlakuan dan baru meningkat kembali setelah 48 jam. Penurunan total hemosit setelah uji tantangan berhubungan dengan aktivitas pertahanan yang berbeda. Hemosit akan bermigrasi ke tempat injeksi menyebabkan berkurangnya konsentrasi sel dalam hemolim (Van de Braak, 2002).

Diferensial hemosit

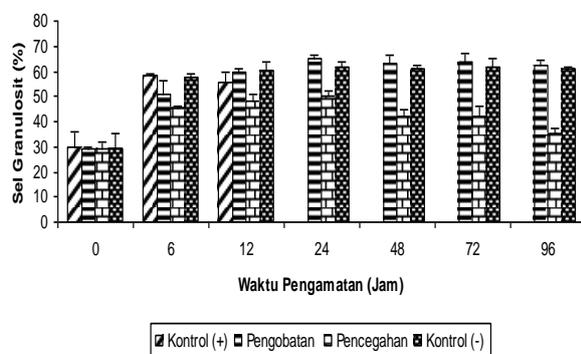
Persentase hyalin yang telah diberi perlakuan menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) terhadap kontrol (-) (Gambar 3).



Gambar 3. Persentase sel hyalin udang vaname *L. vannamei* pada perlakuan kontrol positif (+), kontrol negatif (-) serta pencegahan dan pengobatan dengan ekstrak *Trichoderma* sp.

Sedangkan antar perlakuan menunjukkan persentase hyalin kontrol (-) berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap persentase hyalin pencegahan, tetapi terhadap pengobatan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Persentase hyalin pada perlakuan pencegahan berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap perlakuan pengobatan. Persentase semigranulosit setelah perlakuan menunjukkan bahwa kontrol (-) tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) terhadap perlakuan pencegahan dan pengobatan.

Persentase sel semi granulosit pada hemosit udang setelah perlakuan menunjukkan bahwa kontrol (-) berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan perlakuan pencegahan tetapi tidak berbeda nyata terhadap perlakuan pengobatan (Gambar 4). Sedangkan perlakuan pengobatan berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan perlakuan pencegahan.

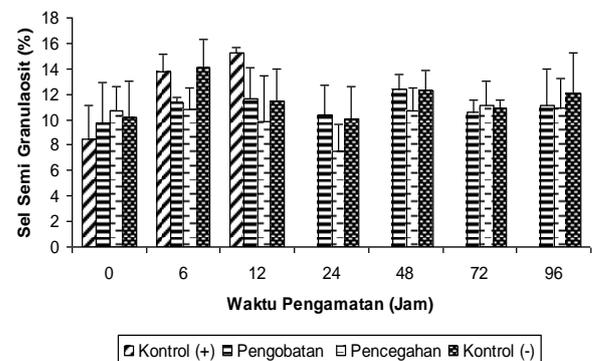


Gambar 4. Persentase sel semi granulosit udang vaname *L. vannamei* pada perlakuan kontrol positif (+), kontrol negatif (-) serta pencegahan dan pengobatan dengan ekstrak *Trichoderma* sp.

Untuk persentase sel granulosit menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) perlakuan dengan kontrol (-) (Gambar 5). Sedangkan antar perlakuan menunjukkan persentase hyalin kontrol (-) berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap persentase hyalin pencegahan, tetapi terhadap pengobatan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), persentase hyalin pada perlakuan pencegahan berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap perlakuan pengobatan.

Peningkatan sel-sel hyalin hemosit yang signifikan pada udang yang diberi *Trichoderma* sp. dan memberi pengaruh positif terhadap ketahanan tubuh udang yang dapat mengendalikan populasi *V. harveyi* dalam tubuh sehingga jenis sel tersebut merupakan sel hemosit yang besar peranannya dalam meningkatkan ketahanan tubuh udang. Dengan demikian, peningkatan sel-sel hyalin dalam hemosit merupakan salah satu parameter peningkatan status kesehatan atau ketahanan tubuh udang yang tentunya tidak lepas dari peran dan fungsi dari jenis sel lain dalam hemosit.

Menurut Soderhall dan Cerenius (1992), kerjasama dan komunikasi sel pada beberapa reaksi pertahanan dan terjadi ketika mikroorganisme atau parasit dikenali dan respons imun dibentuk. Bachere (2000), mengemukakan bahwa berdasarkan karakteristik morfologi dan sitokimia, beberapa fungsi dan keterlibatan dalam reaksi pertahanan yang berbeda berhubungan dengan jenis sel yang berbeda, misalnya sel hyalin dengan koagulasi, sel granulosit dan semi granulosit dengan fagositosis dan sistem profenoloksidase (Johansson dan Soderhall, 1985).



Gambar 5. Persentase sel granulosit udang vaname *L. vannamei* pada perlakuan kontrol positif (+), kontrol negatif (-) serta pencegahan dan pengobatan dengan ekstrak *Trichoderma* sp.

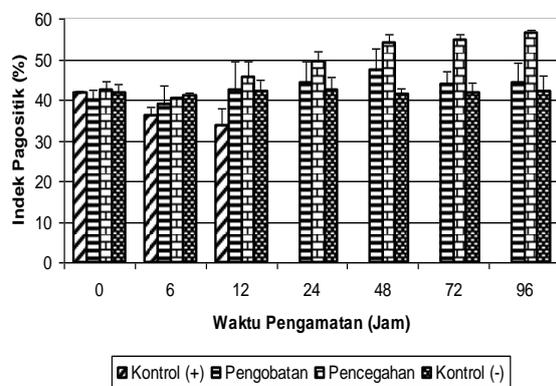
Indeks fagositik

Indeks fagositik pada kontrol (-) yang telah diberi perlakuan menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) terhadap perlakuan pencegahan, tetapi tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) terhadap perlakuan pengobatan (Gambar 6). Dan perlakuan pencegahan berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap perlakuan pengobatan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian *Trichoderma* sp. mampu meningkatkan aktivitas fagositosis pada perlakuan pencegahan.

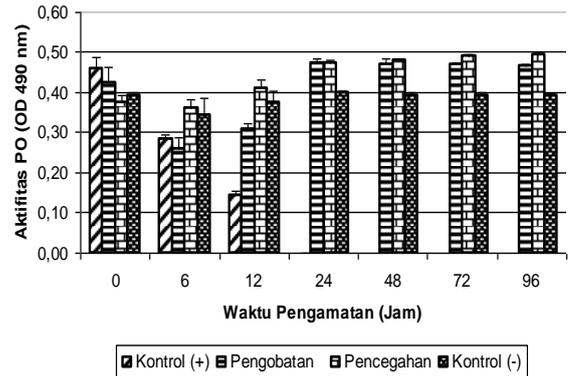
Penurunan indeks fagositik udang uji setelah uji tantangan disebabkan oleh berkurangnya sel-sel fagositik dalam hemolim. Sel-sel fagositik dapat berkurang dalam hemolim karena dalam aktivitas fagositosis, sel-sel fagositik sebagian akan hancur bersama dengan bakteri setelah melewati berbagai proses fagositosis. Menurut Secombes (1996), mekanisme proses fagositosis melalui tahapan-tahapan sebagai berikut: (1) perlekatan partikel pada permukaan sel, (2) penelanan, (3) penghancuran dan pencernaan bakteri.

Aktivitas fenoloksidase

Peningkatan aktivitas fenoloksidase pada udang uji yang telah diberi perlakuan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$) terhadap semua perlakuan (Gambar 7). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Trichoderma* sp. memberikan pengaruh terhadap udang uji pada perlakuan pencegahan maupun pengobatan bila dibandingkan dengan kontrol (-).



Gambar 6. Indeks fagositik udang vaname *L. vannamei* pada perlakuan kontrol positif (+), kontrol negatif (-) serta pencegahan dan pengobatan dengan ekstrak *Trichoderma* sp.



Gambar 7. Aktivitas fenoloksidase udang vaname *L. vannamei* pada perlakuan kontrol positif (+), kontrol negatif (-) serta pencegahan dan pengobatan dengan ekstrak *Trichoderma* sp.

Enzim fenoloksidase dihasilkan melalui sistem pro fenoloksidase yang dapat diaktifkan oleh adanya imunostimulan dan enzim yang berperan dalam proses melanisasi. Pemberian ekstrak *Trichoderma* sp. mampu meningkatkan aktivitas fenoloksidase. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dapat menstimulasi hemosit udang vaname hingga aktivitas fenoloksidase terbentuk. Dengan meningkatnya aktivitas fenoloksidase, maka kemampuan udang vaname untuk mengenali partikel asing yang masuk ke dalam tubuh semakin baik dan untuk selanjutnya terjadi proses fagositosis. Proses ini akan mengurangi partikel asing dalam tubuh sehingga daya tahan udang dapat meningkat.

Trichoderma sp. telah terbukti sebagai anti mikroba. Pada penelitian selanjutnya perlu diuji pemberian *Trichoderma* sp. secara berulang dengan waktu tertentu agar diketahui respons stimulan dan pertumbuhan optimal udang vaname baik secara perendaman maupun pemberian pada pakan.

KESIMPULAN

Trichoderma sp. memiliki kemampuan sebagai anti mikroba dengan dosis 600 ppm dan memiliki potensi immunostimulan terhadap udang vaname dengan nilai kelangsungan hidup 71,43%, total hemosit $2,53 \pm 2,02 (x 10^6 \text{ sel/ml})$, indeks fagositik 56,55%, dan aktivitas fenoloksidase 0,50.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, D.P., 1992. Immunostimulant, adjuvants, and vaccine carrier in fish: application to aquaculture. *Annual Review Fish Disease* 2, 281-307.
- Anderson, D.P., Sewicki A.K., 1993. Basic Haematology and Serology for Fish Health Program. Paper presented in Second Symposium on Disease in Asian Aquaculture "Aquatic Animal Health and the Environment". Thailand, 25-29th October 1993.
- Blaxhall, P., Daisley, K., 1973. Some blood parameters of the rainbow trout I. The Kamloops Variety. *J. Fish. Biol.* 5, 1-8.
- Bachere, E., 2000. Introduction shrimp immunity and disease control. *Aquaculture* 191, 3–11.
- Dugger, D.M., Jory, D.E., 1999. Bio-modulation of the non-specific immune response in marine shrimp with beta-glucan. *Aquaculture Magazine* 25 (1), 81–89.
- Effendie, I., 1997. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta.
- Fassatiava, A., 1986. Mould and filamentous fungi in technical microbiology. Dept of Cryptogamic Botani, Charles University, Prague.
- Johansson, M.W., Soderhall K., 1989. A cell adhesion factor from crayfish hemocytes has degranulating activity toward crayfish granular cells. *Insect. Biochem.* 19, 183-190.
- Kwang, L.C., 1996. *Immune Enhancer in the Control of Disease in Aquaculture*. Encap Technology Pte. Ltd. Singapore.
- Lay, B.W., 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Liu, C.H., Chen, J.C., 2004. Effect of ammonia on the immune respons of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology* 16, 321-334.
- Martin, G.G., Graves, L.B., 1985. Fine structure and classification of shrimp hemocytes. *J. Morphology* 185, 339-348.
- Mayer, G., 2007. *Medical Microbiology and Immunology*. Univ of South Caroline. 3rd Ed, pp 165-168.
- Secombes, C.J., 1994. Enhancement of fish phagocyte activity. *Fish Shellfish Immunology* 4, 421-436.
- Soderhall, K., Cerenius L., 1992. Crustacean immunity. *Annu. Rev. Fish Dis.* 2, p 323.
- Tomia, A., 2005. Identifikasi penyakit utama pada daun *Acacia crassicarpa* Cunn ex Benth dan alternatif pengendaliannya dengan menggunakan *Trichoderma* sp. [Tesis] Bogor: IPB.
- Van de Braak, K., 2002. *Haemocytic defence in black tiger shrimp (Penaeus monodon)*. Wageningen. Netherland.