

Uji Pemanfaatan Rumput Laut *Halimeda* sp. Sebagai Sumber Makanan Fungsional untuk Memodulasi Sistem Pertahanan Non Spesifik pada Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*)

Subagiyo

Laboratorium Ilmu Kelautan, Program Studi Ilmu Kelautan,
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro,
Kampus Tembalang, Semarang, Indonesia
Telp./Fax. 0247474698; Hp 08157612300;
Email : subagiyo_kelautan@yahoo.co.id

Abstrak

Makanan fungsional bertujuan untuk mencegah terjadinya penyakit melalui target fungsional tertentu didalam proses fisiologi dan metabolisme tubuh, diantaranya adalah melalui proses immunomodulasi. Pada penelitian ini dilakukan percobaan aplikasi ekstrak dan serbuk simplisia rumput laut *Halimeda* sebagai makanan fungsional untuk memodulasi sistem pertahanan non spesifik pada udang *vannamei*. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental laboratoris menggunakan rancangan acak lengkap. *Halimeda* ditambahkan dalam pakan sebanyak 1%. Pakan diberikan sebanyak 5% berat badan per hari yang diberikan dalam tiga kali (pagi, sore dan malam). Parameter sistem pertahanan non spesifik udang diamati melalui penghitungan jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis hemosit. Selama penelitian juga dilakukan pengukuran kualitas air (salinitas, pH dan suhu) secara harian. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Halimeda* memberikan pengaruh dengan meningkatkan jumlah total hemosit 22,43% (hari ke-8) dan 96,24% (hari ke-12). Tetapi pemberian serbuk simplisia memberikan pengaruh lebih baik dengan meningkatkan jumlah total hemosit sebesar 76,18% (hari ke-8) dan 170,11 % (hari ke-12). Hasil pengamatan aktivitas fagositosis menunjukkan bahwa pemberian ekstrak dan serbuk simplisia *Halimeda* memberikan pengaruh meningkatkan aktivitas fagositosis pada pengamatan hari ke-12 yaitu berturut turut sebesar 35,75% dan 48,38% sehingga dapat disimpulkan bahwa *Halimeda* mampu memodulasi sistem pertahanan non spesifik pada *L. vannamei*.

Kata kunci : *Halimeda*, makanan fungsional, sistem pertahanan non spesifik, *L. vannamei*

Abstract

Functional foods should beneficially affect one or more target functions in the body, among others is through immunomodulation process. This research was conducted to determine the effect of hot-water extract and powder simplicia of *Halimeda* sp. as functional foods to modulate non-specific defense system in *vannamei* shrimp. Research was carried out by laboratory experimental methods using a complete randomized design. *Halimeda* was incorporated in the feed at concentrations of 1%. The feed was given as much as 5% of body weight per day given in three times (morning, afternoon and evening). Parameters of non-specific defense system of shrimp were observed by counting the total number of hemosit and hemosit phagocytosis activity. During the study also measured water quality (salinity, pH and temperature) daily. The results showed that administration of *Halimeda* extract increased total hemocyte count of 22.43% (at day 8) and 96.24% (at day 12). While administration of powder simplicia increased total hemocyt count of 76.18% (at day 8) and 170.11% (at day 12). Phagocytosis activity parameter indicate that administration of extracts and powders simplicia *Halimeda* increased phagocytosis activity on the observation of 12 days consecutive for 35.75% and 48.38% and could be concluded that *Halimeda* sp. was able to enhance non-specific defence of *L. vannamei*

Key words : *Halimeda*, functional food, non-spesific defence system, *L. vannamei*

Pendahuluan

Pencegahan penyakit merupakan strategi yang paling tepat dan menguntungkan dalam manajemen kesehatan dan pengendalian penyakit. Salah satu pendekatan dalam strategi ini melalui pengembangan dan penerapan makanan fungsional dan *nutraceutical*. *Nutraceutical* mempunyai peranan penting di bidang manajemen kesehatan (Maddi *et al.*, 2007) termasuk akuakultur (Singh *et al.*, 2008). Immunomodulasi sistem pertahanan tubuh merupakan salah satu target dari pengembangan dan aplikasi makanan fungsional dan *nutraceutical*.

Imunostimulan merupakan salah satu senyawa yang sangat bermanfaat bagi pengendalian penyakit dalam budidaya perikanan (Sakai, 1998). Kemampuan imunostimulan dalam melakukan proteksi terhadap infeksi pada ikan dan udang secara luas telah direview oleh Smith *et al.*, (2003). Beberapa bahan yang terbukti menunjukkan aktivitas immunostimulasi pada sistem pertahanan non spesifik pada ikan dan udang adalah glukukan, khitin, laktoferin dan levamisole. Beberapa faktor nutrisi juga dilaporkan berperilaku sebagai immuno-stimulan, yaitu vitamin B, vitamin C, hormon pertumbuhan dan prolaktin (Sakai, 1998).

Glukan adalah komponen pembentuk dinding sel khamir (yeast). Beberapa penelitian membuktikan kemampuan glukukan sebagai immunostimulan yaitu terhadap *crayfish* (Barracco *et al.*, 1991), *Atlantic salmon* (Engstad *et al.*, 1992) *African catfish* (Yoshida *et al.*, 1995). Pemberian *whole cell yeast* juga mampu menstimulasi sistem pertahanan tubuh non spesifik (Scholz *et al.*, 1999; Vici *et al.*, 2000; Ortuno *et al.*, 2002; Subagiyo & Yudiati, 2002; Yudiati & Subagiyo, 2002). Selain itu, lipopolisakarida (LPS), yaitu komponen penyusun dinding sel bakteri juga mempunyai kemampuan sebagai immunomodulator sistem pertahanan nonspesifik. Hal ini dibuktikan oleh Lorenzon *et al.* (1999); Takahashi *et al.* (2000); dan Sung *et al.* (2000). Penelitian lain dilakukan oleh Itami *et al.* (1998) membuktikan peptidoglikan (komponen penyusun dinding sel bakteri) juga mampu berperan sebagai immunomodulator.

Pentingnya pengendalian penyakit berbasis preventif membawa kepada kebutuhan untuk terus dilakukan eksplorasi untuk mendapatkan jenis-jenis senyawa aktif yang dapat melakukan proteksi ikan dan udang terhadap serangan penyakit dan perubahan lingkungan. Selama ini eksplorasi telah dilakukan se-

cara luas terhadap organisme yang berasal dari daratan. Hal ini membawa kepada upaya untuk mencari sumber-sumber baru yang berasal dari non daratan. Ekosistem laut dengan karakteristiknya yang secara signifikan berbeda dengan ekosistem darat maka dimungkinkan untuk diperolehnya jenis-jenis baru dengan aktivitas yang dapat lebih tinggi. Diantara organisme laut yang telah banyak digunakan dalam kehidupan manusia adalah rumput laut. Beberapa rumput laut dikenal mempunyai senyawa aktif secara immunologis.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *hot-water extract* rumput laut meningkatkan sistem pertahanan dan memproteksi terhadap infeksi bakterial, misalnya *Gracilaria tenuistipitata* (Hou & Chen, 2005; Yeh & Chen, 2009), *Gelidium amansii* (Fu *et al.*, 2007), *Sargassum duplicatum* (Yeh *et al.*, 2006), *Ulva* dan *Dendrilla* (Selvin *et al.*, 2004). Selain itu senyawa yang terdapat dalam rumput laut juga terbukti mempunyai aktivitas immunostimulan, diantaranya adalah natrium alginate (Cheng *et al.*, 2004) dan karagenan (Yeh & Chen, 2008). Kemampuan immunostimulasi ini ditunjukkan oleh meningkatnya jumlah total hemosit (THC), *differential haemocyte count* (DHC), aktivitas phenoloksidase (PO), *respiratory burst* (RB) (pelepasan superoksida anion), dan aktivitas *super-oxide dismutase* (SOD), aktivitas fagositosis dan *clearance efficiency* terhadap pathogen.

Halimeda adalah rumput laut yang termasuk kedalam ordo Bryopsidales, kelas Chlorophyta. Halimeda merupakan genus *calcified coenocytic green algae*. Kelompok algae jenis ini dikenal mempunyai nilai penting secara ekologis di daerah perairan tropis. (Bandeira-Pedrosa *et al.*, 2004), dan mempunyai aktivitas anti bakteri (Mtolera & Semesi, 1996), anti jamur (Dzeha *et al.*, 2003), dan juga kaya akan antioksidan (Yoshie *et al.*, 2002; Linares *et al.*, 2004)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan *hot-water extract* dan serbuk simplisia rumput laut Halimeda untuk menstimulasi sistem pertahanan non spesifik udang putih (*L. vannamei*).

Materi dan Metode

Penelitian dilakukan di Unit Pembenuhan BBAP-Situbondo, Blitok. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimen menggunakan rancangan acak lengkap. Ada 2 perlakuan yang diperbandingkan yaitu *hot-water extract* rumput laut *Halimeda* sp. dan serbuk simplisia *Halimeda* sp. Efek perlakuan dihitung

dengan cara membandingkan nilai perlakuan dengan nilai kontrol (tanpa perlakuan). Eksperimen ini dilakukan menggunakan akuarium plastik dengan system *flow through* menggunakan konstruksi pipa goyang (hasil perekayasaan BBAP, Situbondo).

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut *Halimeda* sp. Rumput laut ini diambil dari perairan Bandengan, Jepara. Sedangkan hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah udang *Litopenaeus vanamei* hasil budidaya BBAP-Situbondo. Udang yang digunakan mempunyai ukuran \pm 10 gram/ekor.

Ekstraksi rumput laut dan pembuatan serbuk

Ekstraksi dilakukan dengan teknik *hot-water extraction*. Rumput laut yang diekstraksi dibersihkan dari kotoran yang menempel. Sampel selanjutnya dididihkan dalam akuadest menggunakan wadah nonlogam. Larutan ekstrak dipisahkan dari ampas dengan disaring. Evaporasi pelarut (air) dilakukan menggunakan rotavapor.

Serbuk simplisia rumput laut dibuat dengan cara menghancurkan rumput laut yang telah dikeringkan menggunakan blender. Serbuk rumput laut kemudian diayak untuk mendapatkan serbuk simplisia dengan ukuran yang seragam.

Pembuatan pakan fungsional

Pembuatan pakan fungsional dilakukan di Bangsal Pakan, BBAP-Situbondo. Pembuatan pakan fungsional dilakukan dengan menambahkan 1 % ekstrak rumput laut atau 1 % serbuk simplisia ke dalam pakan udang komersial. Pakan udang komersial dihancurkan kemudian diayak. Ekstrak rumput laut atau serbuk simplisia rumput laut dicampurkan ke dalam tepung pakan, selanjutnya dilakukan proses pencetakan pakan dan pengeringan. Pada penelitian ini digunakan pakan udang merek Bintang (komposisi: tepung ikan 25%, tepung teri 67,5%, minyak ikan 5%, vit mix 0,1%, CMC 1,39%, tepung kanji 1%, dan BHT 0,01).

Penyiapan udang uji

Sebelum digunakan untuk eksperimen udang uji mengalami proses aklimasi dengan modifikasi prosedur Rodryguez *et al.* (2003). Udang dipelihara dalam bak-bak besar yang dilengkapi sistem aerasi dan sirkulasi air. Aklimasi dilakukan selama 15 hari. Selama proses aklimasi dilakukan pemberian pakan menggunakan pelet komersial merek bintang den-

gan komposisi bahan pakan sama dengan perlakuan. Pakan diberikan sebanyak 5% per bobot udang per hari. Pemberian pakan dilakukan 4 kali/hari (Haliman, 2005) yaitu pagi (05.30 WIB), siang (11.30 WIB), sore (17.30 WIB), dan malam hari (23.00 WIB).

Penyiapan bak percobaan

Bak percobaan yang digunakan dalam penelitian ini terbuat dari plastik berbentuk trapesium dengan ukuran 60 x (25-30) x 40 cm. Bak percobaan didesain dengan sistem *flow-through* menggunakan teknik pipa goyang (hasil rekayasa BBAP-Situbondo) dengan 1 buah batu aerasi tiap bak. Sebelum digunakan untuk penelitian bak-bak percobaan di sterilkan menggunakan larutan klorin. Setiap bak diisi 15 ekor udang dengan ukuran \pm 10 g. Parameter kualitas air (temperatur, salinitas dan pH) diukur pada pagi, siang, sore, dan malam hari

Pengukuran parameter sistem pertahanan non-spesifik

Pengambilan sampel hemolimfe dilakukan pada sampel udang dengan prosedur Campa-cordova *et al.* (2002), yaitu diambil pada bagian pangkal pleopod pada segmen abdominal dekat lubang genital menggunakan 1,0 mL *syringe*, 27 *gauge needle* yang telah dibasahi dengan larutan antikoagulant (EDTA 10%). Hemolimfe selanjutnya ditempatkan dalam mikrotube steril dan disimpan dalam *ice bath*.

Total hemosit dihitung menggunakan *haemocytometer* dan diamati dengan mikroskop. Perbandingan *Total Hemocyte Count* (THC) antara perlakuan dengan kontrol digunakan sebagai nilai efek perlakuan.

Aktivitas fagositosis ditentukan dengan prosedur Isnansetyo (2007). Sel-sel bakteri yang akan digunakan untuk uji fagositosis dimatikan dengan larutan formalin selama 24 jam. Sel-sel bakteri selanjutnya dicuci beberapa kali dengan HBSS. 250 uL hemolimfe dicampurkan dengan 500 uL suspensi sel-sel bakteri yang telah dimatikan. Inkubasi pada suhu kamar selama 60 menit. Aktivitas fagositosis diamati secara mikroskopis menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000 kali.

Analisis data

Pengaruh pakan fungsional terhadap jumlah total hematosit dihitung dengan rumus :

$$\frac{(THC_P - THC_K)}{THC_K} \times 100 \%$$

THC_P = Jumlah total hematosit udang dengan perlakuan pakan fungsional

THC_K = Jumlah total hematosit udang dengan tanpa perlakuan (kontrol)

Pengaruh suplementasi ekstrak terhadap jumlah aktivitas fagositosis dihitung dengan rumus :

$$\frac{(AF_P - AF_K)}{AF_K} \times 100 \%$$

AF_P = Aktivitas fagositosis udang dengan perlakuan suplementasi ekstrak

AF_K = Aktivitas fagositosis udang dengan tanpa perlakuan (kontrol)

Hasil dan Pembahasan

Kualitas air media pada percobaan ini diukur secara harian. Hasil pengukuran kualitas air ditunjukkan pada Tabel 1.

Hasil pengukuran kualitas air media percobaan (Tabel 1) menunjukkan bahwa suhu, salinitas dan pH air berada pada kisaran yang sesuai untuk budidaya udang sehingga memberikan pengaruh yang sama terhadap perlakuan dan kontrol. Kualitas air berpengaruh terhadap aktivitas fagositosis, sehingga penguku-

ran kualitas air secara harian sangat diperlukan untuk mengetahui apakah ada pengaruh tambahan dari kualitas air terhadap parameter imunologi. Kualitas air secara nyata berpengaruh terhadap aktivitas fagositosis, seperti suhu (Cheng et al., 2003; Cheng et al., 2009), pH dan salinitas (Cheng et al., 2003). Hasil pengukuran suhu, pH dan salinitas air media selama waktu penelitian (diukur pada pagi, siang sore dan malam hari) (Tabel 1) menunjukkan tidak ada perubahan nilai yang secara signifikan berpengaruh terhadap sistem imun. Sehingga perubahan nilai kualitas air tidak memberikan pengaruh tambahan terhadap parameter imunologis pada hewan uji. Pada penelitian Cheng et al., (2009) perubahan suhu pada air media budidaya ikan *grouper* dari 27°C ke 19 °C dan 35 °C menyebabkan terjadinya penurunan immunitas. Penelitian yang lain dilakukan oleh Cheng et al., (2003) terhadap udang galah *Macrobrachium rosenbergii* dengan berbagai temperatur (20, 25, 30, 35 °C), pH (4.22, 7.27, 9.31), dan salinitas (0, 5, 10 and 15‰) menunjukkan bahwa perbedaan nilai-nilai tersebut berpengaruh terhadap aktivitas fagositosis.

Jumlah total hemosit udang *L. vannamei* pada perlakuan dan kontrol pada hari ke 4, 8 dan 12 hari setelah aplikasi disajikan pada Tabel 2. Jumlah THC pada hari ke 4 dan ke 8 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Halimeda* sp. dan serbuk simplisia

Tabel 1. Nilai suhu, salinitas dan pH air media percobaan selama waktu penelitian

Parameter Kualitas Air	Pagi	Siang	Sore	Malam	Referensi (Timothy & Limsuwan, 2007)
Suhu (°C)	26-27	27-28	27-28	26-27	27-31
Salinitas (ppt)	32-33	32-33	32-33	32-33	15-32
pH	7-8	7-7,5	7-7,5	7-7,5	7,5-8,5

Tabel 2. Pengaruh aplikasi ekstrak dan serbuk simplisia *Halimeda* terhadap jumlah total hemosit (THC) udang *L. vannamei*

Perlakuan	Waktu Pengamatan					
	Hari ke-4		Hari ke-8		Hari ke-12	
	THC (x 10 ⁷ sel/l)	Pengaruh (%)	THC (x 10 ⁷ sel/l)	Pengaruh (%)	THC (x 10 ⁷ sel/l)	Pengaruh (%)
Kontrol	0,589 ± 0,273 ^a		0,323 ± 0,068 ^a		0,541 ± 0,160 ^a	
Ekstrak <i>Halimeda</i> sp.	0,340 ± 0,131 ^a	-42,27	0,396 ± 0,089 ^a	22,423	1,062 ± 0,619 ^{ab}	96,242
Serbuk <i>Halimeda</i> sp.	0,561 ± 0,107 ^a	-4,810	0,570 ± 0,336 ^a	76,186	1,461 ± 0,314 ^b	170,117

Keterangan : Nilai adalah rerata dan SD dari n=2

Huruf yang sama dibelakang nilai dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (p<0,05)

Halimeda sp. tidak menyebabkan perubahan nilai THC secara signifikan. Tetapi pada hari ke 12 terjadi peningkatan THC yang signifikan, yaitu sebesar 96,242 dan 170,117 % berturut-turut untuk perlakuan ekstrak *Halimeda* sp. dan serbuk simplisia *Halimeda* sp.

Jumlah total hemosit udang *L. vannamei* tidak terpengaruh secara nyata oleh aplikasi ekstrak *Halimeda* dan serbuk simplisia *Halimeda* sp. pada hari ke-4 dan 8. Akan tetapi setelah 12 hari aplikasi, perlakuan pemberian ekstrak *Halimeda* dan serbuk simplisia *Halimeda* sp. memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah total hemosit yaitu menyebabkan peningkatan berturut-turut sebesar 92,242 dan 170,117%. Fenomena yang sama ditunjukkan oleh perlakuan menggunakan rumput laut *Ulva* yang menyebabkan meningkatnya jumlah total hemosit udang (Selvine et al., 2004). Penelitian yang lain juga memberikan fenomena yang sama yaitu perendaman *L. vannamei* dalam air laut yang mengandung *hot-water extract Gracilaria tenuistipitata* konsentrasi 600 mg L⁻¹ menyebabkan meningkatnya jumlah hemosit, aktivitas Phenol Oksidase dan aktivitas superoksida dismutase (Yeh & Chen, 2009). Mengingat fungsi penting hemosit dalam sistem pertahanan tubuh udang, maka meningkatnya jumlah total hemosit akan berdampak pada meningkatnya kapasitas sistem pertahanan tubuh. Hemosit pada krustasea memainkan peranan penting dalam respon imun yang meliputi *recognition, phagocytosis, melanization, cytotoxicity* dan *cell to cell communication* (Johansson et al., 2000). Selain itu menurut Bachere et al., (1995) hemosit semigranular merupakan sel utama yang berperan dalam fagositosis partikel asing dalam udang. Menurut Chisholm & Smith (1995) sel-sel granular juga berperan dalam sistem pertahanan udang melalui aktivitas antibakterial yang dihasilkannya. Dibawah kondisi *non-challenge* (misalnya tidak ada infeksi) faktor immunoreaktif (seperti *peroxinectin, antibacterial peptides, clotting components*) disimpan di dalam hemosit, biasanya dalam bentuk inaktif (Smith et al., 2003).

Meskipun berdasarkan hasil analisis hemo-gram menunjukkan bahwa pada perlakuan selama 4 hari tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah total hemosit, namun terdapat kecenderungan penurunan jumlah total hemosit. Tetapi secara signifikan perlakuan menyebabkan menurunnya aktivitas fagositosis hemosit *L. vannamei*. Setelah itu terjadi proses pemulihan (*recovery*), yang ditunjukkan dengan meningkatnya jumlah total hemosit pada pengamatan hari 8. Hasil pengamatan hari ke 12 menunjuk-

kan adanya pengaruh yang nyata perlakuan terhadap aktivitas fagositosis, yaitu menyebabkan peningkatan berturut-turut sebesar 35,75 dan 48,38 %. Fenomena yang sama juga ditunjukkan oleh hasil penelitian Selvine et al., (2004) yang membuktikan bahwa rumput laut *Ulva* secara signifikan meningkatkan faktor-faktor pertahanan tubuh diantaranya adalah aktivitas fagositosis. Penelitian lain menggunakan perlakuan injeksi *hot-water extract G. tenuistipitata* pada dosis 6 µg g⁻¹ terhadap *L. vannamei* menyebabkan meningkatnya THC, aktivitas fenoloksidase, *respiratory burst*, aktivitas fagositosis dan *clearance efficiency* terhadap *V. alginolyticus* (Hou & Chen, 2005). *L. vannamei* yang direndam dalam air laut yang mengandung *hot-water extract* rumput laut *Gelidium amansii* pada konsentrasi 400 dan 600 mg l⁻¹ mengalami peningkatan *total haemocyte count* (THC), aktivitas fenoloksidase, dan *respiratory burst*. Namun *L. vannamei* yang mendapat perlakuan 1 dan 2 g kg⁻¹ mengalami peningkatan signifikan aktivitas fagositosis dan *clearance efficiency* (Fu et al., 2007).

Tabel 3 menunjukkan bahwa aktivitas fagositosis hemosit *L. vannamei* berkisar 56,562 % ± 10,966 sampai 83,264 % ± 9,100. Perlakuan pemberian ekstrak dan serbuk simplisia *Halimeda* sp. secara signifikan menyebabkan penurunan aktivitas fagositosis pada pengamatan hari ke-4, yaitu berturut-turut -51,235 dan -32,035 %. Akan tetapi pada hari ke-8 terjadi pemulihan. Pada pengamatan hari ke-8 ini aktivitas fagositosis hemosit udang *L. vannamei* kontrol dan perlakuan tidak berbeda nyata. Pada pengamatan hari ke-12 terjadi perbedaan yang nyata nilai aktivitas fagositosis hemosit udang *L. vannamei* antara perlakuan dan kontrol.

Kemampuan *Halimeda* sp. memodulasi sistem pertahanan non spesifik pada udang diantaranya dimungkinkan selain oleh adanya senyawa spesifik imunostimulant, juga oleh kandungan senyawa poliphenol yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi. Hal ini dibuktikan secara *in vitro* dan *in vivo* oleh penelitian Rivero et al., (2003). Hasil penelitian Yoshie et al., (2002) menunjukkan bahwa *Halimeda* mengandung *epigallocatechin* (sejenis antioksidan) dalam jumlah yang sangat tinggi yaitu 28µg/g berat kering. Selain itu *Halimeda* juga kaya akan mineral seperti Fe, Mn, Zn dan Cu (Tabel 4.). Menurut Bendich (1993) mineral merupakan komponen penting dari enzim-enzim antioksidan. Mineral Zn, Cu dan Mn merupakan mineral esensial untuk aktivitas superoksida dismutase.

Tabel 3. Pengaruh aplikasi ekstrak dan serbuk simplisia *Halimeda* sp. terhadap aktivitas fagositosis (AF) hemosit udang *L. vannamei*

Perlakuan	Waktu Pengamatan					
	Hari ke-4		Hari ke-8		Hari ke-12	
	AF (%)	Pengaruh (%)	AF (%)	Pengaruh (%)	AF (%)	Pengaruh (%)
Kontrol	73,57 ± 8,61 ^a		83,26 ± 9,10 ^a		56,56 ± 10,97 ^a	
Ekstrak <i>Halimeda</i> sp.	35,88 ± 6,142 ^b	-51,24	25,67 ^a	-12,084	76,78 ± 16,54 ^a	35,75
Serbuk <i>Halimeda</i> sp.	50,01 ± 0,748 ^b	-32,04	50,34 ± 9,75 ^a	-39,543	83,92 ± 3,47 ^b	48,38

Keterangan : Nilai adalah rerata dan SD dari n=2

Huruf yang sama dibelakang nilai dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (p<0,05)

Tabel 4. Kandungan mineral beberapa jenis *Halimeda* (Khristoforova & Bogdanova, 1980)

Spesies	Jenis mineral (µg.g ⁻¹)			
	Fe	Zn	Cu	Mn
<i>Halimeda taenicola</i>	27.62	5.95	2.86	6.43
<i>Halimeda micronesia</i>	25.99	6.93	2.97	7.43
<i>Halimeda discoidea</i>	45.37	10.88	3.01	6.94
<i>Halimeda simulaus</i>	41.63	9.85	3.20	6.90

Kesimpulan

Rumput laut *Halimeda* sp. dapat dimanfaatkan sebagai pakan fungsional untuk memodulasi sistem pertahanan non spesifik pada udang putih (*Litopenaeus vannamei*). Hal ini ditunjukkan dengan kemampuan hot water extract *Halimeda* sp untuk meningkatkan jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis hemosit udang *L. vannamei*.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih ditujukan kepada Ir. Slamet Subyakto, MS., Ketua BBAP-Situbondo; Ir. Yani, MSi., staf Laboratorium Hama dan Penyakit BBAP-Situbondo; Ir. Veny, Kepala Laboratorium Pakan BBAP-Situbondo; Ir. Mei, Kepala Balai Benih BBAP-Situbondo Blitok; Ir. Suyud, Pelaksana Balai Benih BBAP-Situbondo Blitok, serta M. Zainuddin, Larasati, Ismi, Arif, Ucup, Anwar dan Alfa mahasiswa tugas akhir PS Ilmu Kelautan yang telah membantu dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

Bachere, E., E. Mialhe, & D. Noel, 1995. Knowledge and research prospects in marine mollusc and crustacean immunology. *Aquaculture* 132: 17-32.

Bandeira-Pedrosa M.R.E., S.M.B.Pereira, & E.C. Oliveira, 2004. Taxonomy and distribution of the green algal genus *Halimeda* (Bryopsidales, Chlorophyta) in Brazil. *Revista Brasil. Bot.* .27: 363-377.

Barracco, M.A, Duvic B, & So"derha"ll, 1991. The beta-1,3-glucan-binding protein from the crayfish *Pacifastacus leniusculus*, when reacted with a beta-1,3-glucan, induces spreading and degranulation of crayfish granular cells. *Cell Tissue Research* 266: 491-497.

Bendich, A, 1993. Physiological Role of Antioxidants in the Immune System. *J Dairy Sci*, 76: 2789-2794

Cheng, A.C., S. A. Cheng, Y.Y. Chen, & J.C. Chen, 2009. Effects of temperature change on the innate cellular and humoral immune responses of orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish & shellfish immunology*, 26: 768-72.

Cheng, W., C.H. Liu, S.T. Yeh, & J.C. Chen, 2004. The immune stimulatory effect of sodium alginate on the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology* 17: 41-51

- Cheng, W., S.M. Chen, F.I. Wang, P.I. Hsu, C.H. Liu, & J.C. Chen, 2003. Effects of temperature, pH, salinity and ammonia on the phagocytic activity and clearance efficiency of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* to *Lactococcus garvieae*. *Aquaculture* 219: 111-121
- Chisholm, J.R.S. & V.J. Smith, 1995. Comparison of antibacterial activity in the haemocytes of different crustacean species. *Comp. Biochem. Physiol.* 110A: 39-45.
- Dzaha, T., M. Jaspars, & J. Tabudravu, 2003. Clionasterol, a Triterpenoid from the Kenyan Marine Green Macroalga *Halimeda macroloba*. *J. Mar. Sci.* 2: 157-161
- Engstad, R.E, B. Robertsen, & E. Frivold, 1992. Yeast glucan induces increase in lysozyme and complement-mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood. *Fish & Shellfish Immunology* 2: 287-297.
- Fu, Y.W., W.Y. Hou, S.T. Yeh, C.H. Li, & J.C. Chen, 2007. The immunostimulatory effects of hot-water extract of *Gelidium amansii* via immersion, injection and dietary administrations on white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology* 22: 673-685.
- Hou, W.Y. & J.C. Chen, 2005, The immuno stimulatory effect of hot-water extract of *Gracilaria tenuistipitata* on the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology* 19: 127-138.
- Isnansetyo, A., 2007, Evaluasi Pertahanan Non Spesifik Ikan. Pelatihan Hematologi Ikan, Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Itami, T., M. Asano, K.Tokushige, K. Kubono, A. Nakagawa, & N. Takeno, 1998. Enhancement of disease resistance of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, after oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum*. *Aquaculture* 164: 277-288.
- Johansson, M.W., P. Keyser, K. Sritunyalucksana, & K. Soderhall, 2000. Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture* 191: 45- 52.
- Linares, A. F., J. Loikkanen, M.F. Jorge, R.B. Soria, & A.V. Novoa, 2004. Antioxidant and neuroprotective activity of the extract from the seaweed, *Halimeda incrassata* (Ellis) Lamouroux, against *in vitro* and *in vivo* toxicity induced by methylmercury. *Vet Hum Toxicol* 46: 1-5.
- Lorenzon, S., S. De Guarrini, V.J. Smith, & E.A. Ferrero, 1999. Effects of LPS on circulating haemocytes in crustaceans *in vivo*. *Fish Shellfish Immunol* 9: 31-50.
- Maddi, V.S., Aragade Digge, V.G. & M.N. Nitalikar, 2007. Short Review Importance of Nutraceuticals in Health Management, *Pharmacognosy Reviews* 1: 377-379.
- Mtolera, M.S.P, & A.K. Semesi, 1996. Antimicrobial Activity of Extracts from Six Green Algae from Tanzania. *Current Trends in Marine Botanical Research in East African Region* 211-217.
- Ortuno, J., A. Cuesta, A. Rodríguez, M.A. Esteban, & J. Meseguer, 2002. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 85: 41-50.
- Rivero, F., A. Fallarero, O. Castaneda F. Dajas, E. Manta, A. Aereces, J. M. Filho, & A. Vidal, 2003. Antioxidant activity *in vivo* and *in vitro* of *H. incrassata* Aqueous extracts. *Ciencia. Tecnol. Aliment Campinas* 23: 256-263
- Sakai, M., 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* 172:63-92.
- Scholz, U., G. Garcia Diaz, D. Ricque, L.E. Cruz Suarez, F. Vargas Albores, & J. Latchford, 1999. Enhancement of vibriosis resistance in juvenile *Penaeus vannamei* by supplementation of diets with different yeast products. *Aquaculture*, 176: 271-83.
- Selvina, J., A.J. Huxleya, & A.P. Lipton, 2004. Immunomodulatory potential of marine secondary metabolites against bacterial diseases of shrimp. *Aquaculture*, 230: 241-248
- Singh, S.D., S.K. Nayak, M. Sekar & B.K. Behera, 2008. Applications of nutritional Biotechnology in aquaculture. *Aquaculture Asia Magazin*, p.17-23
- Smith, V.J., J.H. Brown, & C. Hauton, 2003. Immunostimulation in Crustaceans : Does It Really Protect Against Infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 15: 71-90.
- Subagiyo & E. Yudiati, 2000. Induksi Immunitas Post Larva Udang Menggunakan Kombinasi Ekstrak

- Yeast dan Vitamin C. Laporan Penelitian. FPIK Undip., Semarang.
- Sung, H.H., P.A .Kuo, & W.Y. Kao, 2000. Effect of lipopolysaccharide on in vitro phagocytosis by hemocytes from giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Fish Pathology* 35:109–16.
- Takahashi, Y., M. Kondo, T. Itami, T. Honda, H. Inagawa, & T. Nishizawa, 2000. Enhancement of disease resistance against penaeid acute viraemia and induction of virus-inactivating in haemolymph of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, by administration of *Pantoea agglomerans* lipopolysaccharide (LPS). *Fish Shellfish Immunol*, 10: 555–568.
- Vici, V., B. Singh, & S.G. Bhat, 2000. Application of bacterins and yeast *Acremonium dyosporii* to protect the larvae of *Macrobrachium rosenbergii* from vibriosis. *Fish Shellfish Immunol* 10: 559–563.
- Wang, S.H, & J.C. Chen, 2005. The protective effect of chitin and chitosan against *Vibrio alginolyticus* in white shrimp *Litopenaeus vannamei*, *Fish Shellfish Immunol*, 19: 191-204.
- Yoshie, Y., W. Wang, Y. P. Hsieh, & T. Suzuki, 2002. Compositional Difference of Phenolic Compounds between Two Seaweeds, *Halimeda* spp. *J. of Tokyo Univ. of Fisheries* 88: 21-24
- Yeh, S.T. & J.C. Chen, 2008. Immunomodulation by carrageenans in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Aquaculture* 276: 22-28
- Yeh, S.T., C.S. Lee, & J.C. Chen, 2006. Administration of hot-water extract of brown seaweed *Sargassum duplicatum* via immersion and injection enhances the immune resistance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol*, 20: 332-45
- Yeh, S.T., & J.C. Chen, 2009. White shrimp *Litopenaeus vannamei* that received the hot-water extract of *Gracilaria tenuistipitata* showed earlier recovery in immunity after a *Vibrio alginolyticus* injection. *Fish Shellfish Immunol*, 26:724-730
- Yoshida, T., R. Kruger, & V. Inglis, 1995. Augmentation of non-specific protection in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), by the long-term oral administration of immunostimulants. *J. Fish Diseases* 18: 195–208.
- Yudiati, E. & Subagiyo, 2000. Immunostimulasi Post Larva Udang Windu Menggunakan Kombinasi Ekstrak Yeast dan Vitamin A. Laporan Penelitian. FPIK Undip Semarang.