

Respons imun dan pertumbuhan ikan kakap putih yang diberi pakan protein hidrolisis

Immune response and growth of *Lates calcarifer* fed on hydrolyzed protein-supplemented diet

Romi Novriadi^{1*}, Tinggal Hermawan¹, Ibtisam², Dikrurrahman¹, Muh Kadari¹, Mikael Herault³, Vincent Fournier³, Paul Seguin³

¹Balai Perikanan Budidaya Laut Batam, Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia
Jl. Raya Balerang, Jembatan III Pulau Setoko, PO BOX 60 Sekupang, Batam 29422

²Bidang Gizi Manusia, Universitas Ghent Belgia
St. Pietersnieuwstraat 33 Ghent, Belgium 9000

³Aquativ (DIANA Division, Member of SYMRISE Group)
ZA du Gohélis, Elven, Perancis 56250

*Surel: Romi_bbl@yahoo.co.id

ABSTRACT

This experiment was aimed to investigate the effects of protein hydrolysates on growth performance and immune response of the Asian sea bass *Lates calcarifer* Bloch. The experiment was performed in two different rearing period, namely nursery and grow out by using completely randomized design. Experimental fish were fed with three types of diets and each treatment was repeated three times: a local commercial diet (control), coated or not, with 2%, and 3% of protein hydrolysates. Challenge test was performed with *Vibrio parahaemolyticus* at a density of 10^5 sel/mL by using immersion method. The results showed that the neutrophil, leukocyte and monocyte of the fish fed on protein hydrolysates were significantly higher than those non-supplemented group ($P < 0.05$). Meanwhile, the lymphocyte on the fish treated with hydrolysates showed no difference amongst treatments ($P < 0.05$). The growth performance of Asian sea bass fed on protein hydrolysates significantly improved the total fish weight (g), relative weight gain, specific growth rate, final weight (g) and final length (cm) in comparison to the control ($P < 0.05$) both at nursery and grow out phase. Higher survival both at the nursery and grow out phase were obtained by the group fed with 3% protein hydrolysates: $97.28 \pm 0.18\%$ and $86.0 \pm 4.32\%$. Followed with 2% supplementation level $96.75 \pm 0.28\%$ and $78.4 \pm 7.7\%$. The lowest survival was shown by the control group with $93.65 \pm 0.13\%$ and $20.1 \pm 21.1\%$ from nursery and grow-out phase respectively. Results of challenged test showed that the protein hydrolysates supplementation was able to improve the post-challenged survival and resistency of Asian sea bass against *V. parahaemolyticus* infection. Fish treated with 3% protein hydrolysates generated higher survival $78.33 \pm 2.89\%$, followed by treatment 2% $73.33 \pm 5.77\%$, and control $31.67 \pm 7.64\%$ after five days post immersion ($P < 0.05$).

Keywords: Asian sea bass, protein hydrolysates, growth, immune system

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas suplementasi protein hidrolisis pada pakan terhadap respons kekebalan tubuh dan performa pertumbuhan ikan kakap putih *Lates calcarifer*. Penelitian dilakukan di dua fase pemeliharaan, yakni fase pendederan dan pembesaran dengan menggunakan rancangan acak lengkap. Penelitian ini menggunakan tiga perlakuan dan masing-masing perlakuan memiliki tiga ulangan, dengan deskripsi perlakuan adalah kontrol, aplikasi 3% dan 2% protein hidrolisis. Uji tantang dilakukan dengan menggunakan *Vibrio parahaemolyticus* pada konsentrasi 10^5 sel/mL dengan metode perendaman. Hasil analisa respons kekebalan tubuh menunjukkan bahwa neutrofil, leukosit, dan monosit pada kelompok ikan yang mendapatkan aplikasi protein hidrolisis meningkat secara nyata dibandingkan kontrol ($P < 0,05$). Sementara limfosit pada kelompok perlakuan protein hidrolisis tidak memiliki perbedaan yang nyata dibandingkan kontrol ($P < 0,05$). Performa pertumbuhan ikan kakap putih yang mendapatkan suplementasi protein hidrolisis juga memiliki total bobot (g), % bobot relatif, % laju pertumbuhan spesifik, bobot akhir (g) dan panjang akhir (cm) yang secara nyata lebih baik jika dibandingkan dengan kontrol ($P < 0,05$) baik pada masa pemeliharaan di pendederan maupun di pembesaran. Sintasan paling tinggi pada fase pendederan dan pembesaran terdapat pada kelompok suplementasi 3% dengan

97,28±0,18% dan 86,0±4,3%. Diikuti oleh kelompok 2% dengan 96,75±0,28% dan 78,4±7,7%; dan paling rendah diperoleh pada kelompok kontrol dengan 93,65±0,13 % dan 20,1±21,1% masing-masing dari fase pembenihan dan pembesaran. Hasil ujiantang menunjukkan bahwa suplementasi protein hidrolisis mampu meningkatkan sintasan dan meningkatkan resistensi ikan uji terhadap infeksi *V. parahaemolyticus*. Pemberian protein hidrolisis dengan konsentrasi 3% merupakan dosis terbaik dengan sintasan 78,33±2,89%, diikuti oleh aplikasi 2% dengan 73,33±5,77% dan kontrol dengan 31,67±7,64% setelah lima hari masa ujiantang ($P < 0,05$).

Kata kunci: ikan kakap putih, protein hidrolisis, pertumbuhan, sistem kekebalan tubuh

PENDAHULUAN

Pada sistem budidaya ikan kakap putih (*Lates calcarifer*), munculnya wabah penyakit menjadi salah satu ancaman utama terhadap keberlanjutan produksi. Kajian terkini dari Gibson-Kueh *et al.* (2012) menyebutkan bahwa kematian kumulatif ikan kakap putih akibat *scale drop syndrome* (SDS) diperkirakan mencapai 40–50%. Infeksi Iridovirus bahkan dilaporkan mampu menyebabkan kematian hingga mencapai 100% (Whittington *et al.*, 2010), dan infeksi *viral nervous necrosis* menyebabkan kematian benih kakap putih antara 50–100% (Maeno *et al.*, 2004).

Munculnya wabah penyakit umumnya disebabkan oleh kondisi stres yang berkaitan erat dengan sistem intensifikasi dan degradasi kualitas lingkungan. Tindakan pengendalian penyakit pada budidaya kakap putih telah banyak dilakukan seperti penggunaan antibiotika dan bahan kimia. Namun, penggunaan kedua bahan sintetik ini dalam waktu panjang akan berdampak negatif bagi lingkungan perairan, menimbulkan resistensi patogen (Defoirdt *et al.*, 2007; Subasinghe, 1997; Cabello, 2006), serta menimbulkan residu yang berdampak kepada kesehatan konsumen (Lalumera *et al.*, 2004; Cabelo, 2006; Anisha, 2008; Sapkota *et al.*, 2008). Oleh karena itu, upaya pengendalian melalui penguatan dan peningkatan sistem kekebalan tubuh organisme akuatik menjadi salah satu upaya yang efektif (Defoirdt *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2003). Peningkatan daya tahan tubuh kakap putih dapat dilakukan melalui pemberian immunostimulan atau bahan suplemen yang memiliki kemampuan untuk memperkuat sistem kekebalan tubuh dan melalui tindakan vaksinasi (Marques *et al.*, 2006).

Pada beberapa tahun terakhir, protein hidrolisis yang diperoleh dari sisa pengolahan ikan telah digunakan sebagai salah satu bahan penyusun pakan ikan laut (Kotzamanis *et al.*, 2007; Aguila *et al.*, 2007; Chalamaiah *et al.*, 2012), di antaranya karena kaya akan nutrisi, mengandung antioksidan dan bahan aktif seperti: hormon pertumbuhan, antistres dan

senyawa antimikrobal peptida (Klompong *et al.*, 2007; Thiansilakul *et al.*, 2007; Liaset & Espe, 2008). Beberapa kajian telah dilakukan untuk mengamati dampak penggunaan protein hidrolisis ini terhadap performa pertumbuhan dan induksi sistem kekebalan tubuh nonspesifik pada beberapa jenis ikan (Liang *et al.*, 2006; Duarte *et al.*, 2006; Kotzamanis *et al.*, 2007; Tang *et al.*, 2008), namun belum ada kajian yang dilakukan untuk mengamati dampak penggunaan protein hidrolisis ini pada komoditas kakap putih, khususnya pada dua fase pemeliharaan yang dilakukan dalam satu pengamatan, yakni fase pendederan dan pembesaran.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji respons ikan kakap putih terhadap pemberian protein hidrolisis yang disuplementasikan melalui pakan. Fokus pengamatan dilakukan terhadap performa pertumbuhan ikan kakap putih meliputi sintasan, total bobot yang diperoleh (g), % bobot relatif, % tingkat pertumbuhan spesifik, bobot akhir (g) dan panjang akhir (cm). Selain performa, fokus pengamatan juga dilakukan terhadap sistem kekebalan tubuh ikan, melalui pengamatan parameter sistem kekebalan tubuh, yang meliputi analisis neutrofil (%), monosit (%), limfosit (%), dan leukosit (10^3 sel/mL). Dengan melihat respons ikan kakap putih tersebut diharapkan protein hidrolisis dapat digunakan sebagai bahan suplemen untuk meningkatkan performa sistem kekebalan tubuh ikan kakap putih sebagai upaya pengendalian berbagai infeksi penyakit.

BAHAN DAN METODE

Protein hidrolisis

Protein hidrolisis yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari proses enzimatik produk sisa pengolahan ikan dan diproduksi oleh Aquatif, SPF Diana, Perancis dengan kode produksi: 203140305, ACTIPAL HL1 11-80320, krill dan cairan hidrolisat tuna untuk pakan ikan. Selama penelitian berlangsung, protein hidrolisis ini disimpan pada suhu 4 °C hingga penelitian selesai dilakukan.

Ikan uji coba

Ikan kakap putih yang dipakai pada penelitian ini berasal dari unit produksi Balai Perikanan Budidaya Laut Batam dengan bobot awal $2,53 \pm 0,35$ g dan panjang awal $4,1 \pm 0,56$ cm. Kepadatan ikan selama pengamatan di fase pendederan adalah 2.000 ikan/m³ dan pada fase pembesaran adalah 500 ekor di dalam jaring yang berukuran $1 \times 1 \times 1$ m³. Proses adaptasi dilakukan selama dua minggu sebelum percobaan dilakukan dan disertai proses pengamatan kesehatan ikan.

Desain percobaan dan pemberian pakan

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan tiga perlakuan dan masing-masing memiliki tiga ulangan. Setiap unit percobaan ditempatkan secara acak agar mendapat perlakuan yang sama atau homogen. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pemberian 3% protein hidrolisis, 2% protein hidrolisis, dan kontrol tanpa pemberian protein hidrolisis. Setiap perlakuan memiliki tiga ulangan. Semua ikan uji dalam penelitian ini masing-masing menerima pakan dengan kualitas yang sama. Selama masa penelitian, Pemberian pakan ditetapkan sebanyak 7% dari total biomass yang disesuaikan berdasarkan pertumbuhan harian (pertambahan panjang dan bobot) serta jumlah ikan kakap putih pada setiap perlakuan. Bak percobaan dilengkapi dengan sistem aerasi yang berkelanjutan, pergantian air dilakukan pagi dan sore hari. Penelitian pada fase pendederan dihentikan ketika ikan mencapai bobot ± 20 g dan fase pembesaran mencapai bobot antara 50–60 g.

Analisis performa pertumbuhan

Performa pertumbuhan dilakukan dengan mengamati sintasan, total bobot yang diperoleh (g), % bobot relatif, % tingkat pertumbuhan spesifik, bobot akhir (g) dan panjang akhir (cm). Formula untuk masing-masing pengamatan dilakukan berdasarkan persamaan berikut: Total bobot yang diperoleh (g) = $W_t - W_i$; bobot relatif yang diperoleh (%) = $(W_t - W_i) \times 100 / W_i$; Laju pertumbuhan spesifik (%) = $(\ln W_t - \ln W_i) \times 100 / d$. W_i dan W_t merupakan rerata bobot awal dan akhir (g), dan d merupakan jumlah hari pengamatan Persentase sintasan = (jumlah ikan hidup/jumlah ikan awal) $\times 100$. *Feed conversion ratio* (FCR) = jumlah pakan yang diberikan (g)/peningkatan biomass (g) (Mojjada *et al.*, 2013).

Analisis sistem kekebalan tubuh

Pengambilan sampel darah sebagai parameter

imun ikan dilakukan satu kali pada tiap fase pemeliharaan. Parameter imun yang diamati dalam penelitian ini adalah menghitung jumlah dan persentase limfosit, neutrofil, monosit, dan leukosit. Sampel darah diperoleh dari *vena caudalis*. Seluruh sampel darah dimasukkan ke dalam *eppendorf* yang sebelumnya telah dibilas dengan heparin (Sigma-Aldrich #H4784). Metode analisis darah dilakukan berdasarkan Blaxhall (1972).

Analisis kualitas air

Pengamatan kualitas air dilakukan secara harian dan mingguan. Analisis harian dilakukan untuk parameter pH, oksigen terlarut, kadar garam dan suhu. Sementara untuk analisis mingguan dilakukan untuk parameter amonia dan fosfat yang ditentukan secara spektrofotometri pada panjang gelombang 560 nm and 640 nm (Perkin Elmer[®] Lambda XLS), analisis nitrit dan nitrat ditentukan secara kolorimetri (HACH DR 890), dan kekeruhan dengan mengikuti metode turbidimetri (*Thermo Scientific*). Analisis kualitas air juga dilengkapi dengan perhitungan total bakteri dan total *Vibrio* dalam air (Fardiaz, 1993).

Identifikasi bakteri

Identifikasi dan karakter bakteri selama masa pemeliharaan dilakukan melalui pengamatan morfologi koloni, pengujian sifat fisiologis dan biokimia untuk kemudian dicocokkan dengan karakter bakteri yang terdapat pada Austin dan Austin (1987).

Uji tantang

Isolat murni *V. parahaemolyticus* yang sebelumnya telah dikarakterisasi, disimpan dalam larutan 30% gliserol pada suhu -80°C , diinokulasi secara aseptik didalam 30 mL media *marine broth* dan diinkubasi selama satu malam pada suhu $25-28^\circ\text{C}$ dengan pengadukan yang konstan. Sebanyak 150 μL kultur isolat selanjutnya ditransfer dan dikembangkan hingga fase statione dalam 30 mL media *marine broth* selama enam jam sebelum digunakan untuk uji tantang. Kepadatan bakteri (10^5 sel/mL) ditentukan secara spektrofotometri pada panjang gelombang 550 nm (Marques *et al.*, 2006).

Kepadatan bakteri kemudian dihitung dengan menggunakan perhitungan: konsentrasi bakteri = $[1200 \times 10^6 \times \text{OD}]$. Berdasarkan perhitungan baku Mc Farland (Bio Merieux, Marcy L'Etoile, France), diasumsikan bahwa $\text{OD}_{550} = 1.000$ sebanding dengan $1,2 \times 10^9$ sel/mL bakteri.

Analisis statistik

Data untuk performa pertumbuhan dan sistem kekebalan tubuh ikan disajikan sebagai nilai rata-rata yang diikuti oleh perhitungan penyimpangan baku. Data performa pertumbuhan dan sistem kekebalan tubuh diubah ke dalam bentuk *arcsine* untuk memenuhi persyaratan distribusi normal dan keseragaman data. Data performa pertumbuhan dan sistem kekebalan tubuh kemudian dianalisis menggunakan *one way ANOVA* yang diikuti dengan analisa *Tukey's multiple comparison range* menggunakan piranti lunak SPSS. Seluruh level signifikan ditentukan pada $P < 0,05$.

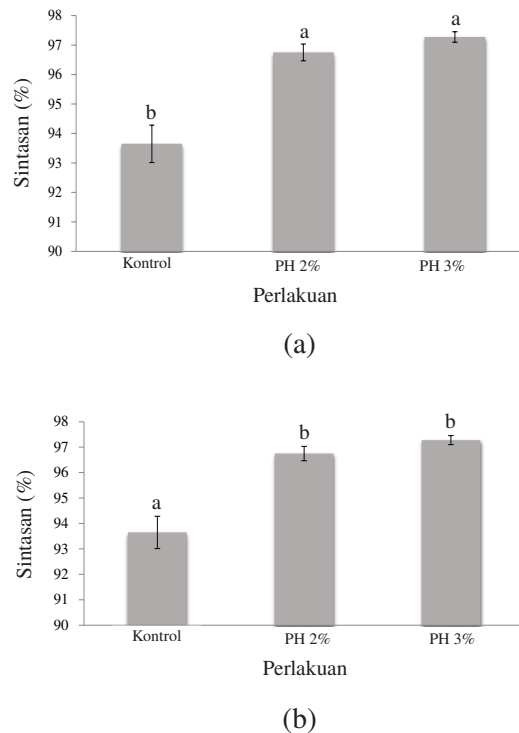
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Performa pertumbuhan ikan kakap putih

Pada penelitian ini, pengaruh pemberian protein hidrolisis terhadap performa pertumbuhan ikan kakap putih, meliputi total bobot yang diperoleh (g), % bobot relatif, % laju pertumbuhan spesifik, bobot akhir (g), dan panjang akhir (cm) pada fase pendederan dan fase pembesaran disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2

Pengambilan data performa pertumbuhan juga dilengkapi dengan persentase kelulushidupan ikan kakap putih selama periode pemeliharaan. Data pada Gambar 1 menunjukkan bahwa benih kakap putih yang dipelihara selama fase pendederan, aplikasi 3% protein hidrolisis memiliki sintasan sebesar $97,28 \pm 0,18\%$ dan aplikasi 2% memiliki sintasan sebesar $96,75 \pm 0,28\%$. Sementara kelompok tanpa perlakuan protein hidrolisis memiliki tingkat persentase kelulushidupan yang paling rendah yaitu $96,75 \pm 0,28\%$. Pada fase



Gambar 1. Sintasan (a) ikan kakap putih *Lates calcarifer* selama masa percobaan di fase pendederan, dan (b) fase pembesaran. Perbedaan yang nyata di antara perlakuan dan kontrol diindikasikan dengan huruf yang berbeda ($P < 0,05$).

pembesaran, persentase kelulushidupan memiliki kecenderungan yang sama. Aplikasi 3% protein hidrolisis memiliki nilai rata-rata kelulushidupan ikan kakap putih tertinggi dengan $86,0 \pm 4,32\%$, diikuti oleh kelompok ikan dengan aplikasi 2% protein hidrolisis $78,4 \pm 7,7\%$ dan kontrol $20,1 \pm 21,1\%$.

Tabel 1. Dampak pemberian protein hidrolisis (PH) terhadap performa ikan kakap putih pada fase pendederan

Perlakuan	Total berat (g)	Berat relatif (%)	Laju pertumbuhan spesifik (%)	Berat akhir (g)	Panjang akhir (cm)
PH 3%	18,25 ± 0,47a	530,35 ± 44,39a	6,57 ± 0,25a	21,71 ± 0,39a	11,76 ± 0,21a
PH 2%	16,64 ± 0,45b	483,65 ± 39,81b	6,29 ± 0,25a	20,10 ± 0,39a	11,00 ± 0,17a
Kontrol	9,87 ± 0,89c	287,13 ± 35,99c	4,82 ± 0,34b	13,33 ± 0,84b	10,33 ± 0,32b

Keterangan: perbedaan yang nyata di antara perlakuan diindikasikan dengan huruf yang berbeda ($P < 0,05$).

Tabel 2. Dampak pemberian protein hidrolisis (PH) terhadap performa ikan kakap putih pada fase pembesaran

Perlakuan	Total berat (g)	Berat relatif (%)	Laju pertumbuhan spesifik (%)	Berat akhir (g)	Panjang akhir (cm)
PH 3%	40,74 ± 1,23a	187,80 ± 7,40a	1,92 ± 0,05a	62,94 ± 1,47a	16,56 ± 0,23a
PH 2%	36,76 ± 2,60b	182,99 ± 13,84a	1,89 ± 0,09a	56,94 ± 2,26b	15,55 ± 0,28b
Kontrol	26,31 ± 1,99c	198,77 ± 26,21a	1,98 ± 0,15b	39,60 ± 1,49c	13,77 ± 0,31c

Keterangan: perbedaan yang nyata di antara perlakuan diindikasikan dengan huruf yang berbeda ($P < 0,05$).

Respons sistem kekebalan tubuh ikan

Hasil penghitungan rata-rata untuk leukosit, monosit dan limfosit ikan kakap putih dengan penambahan protein hidrolisis baik pada fase pendederan maupun pada fase pembesaran disajikan pada Tabel 3 dan 4. Jumlah rata-rata leukosit (10^3 sel/mL) tertinggi pada fase pendederan dicapai pada perlakuan 3% protein hidrolisis ($56,34 \pm 1,17$), diikuti berturut-turut 2% ($55,67 \pm 1,14$) dan kontrol ($48,33 \pm 1,36$). Persentase monosit, limfosit, dan neutrofil tertinggi dicapai pada perlakuan 3% ($2,8 \pm 0,13$; $66,71 \pm 0,71$; dan $6,73 \pm 0,12$ secara berurutan) dan diikuti dengan perlakuan 2% ($2,65 \pm 0,1$; $63,74 \pm 1,19$; dan $6,31 \pm 0,15$), serta kontrol ($1,93 \pm 0,2$; $50,87 \pm 1,49$; dan $5,07 \pm 0,19$). Hal yang sama juga terlihat di fase pembesaran, jumlah rata-rata leukosit (10^3 sel/mL) tertinggi dicapai oleh perlakuan 3% protein hidrolisis ($54,67 \pm 0,43$), diikuti oleh perlakuan 2% ($57,01 \pm 2,36$), dan kelompok kontrol ($49,68 \pm 0,56$).

Kecenderungan peningkatan monosit dan neutrofil pada kelompok 3% juga mencapai persentase tertinggi ($2,93 \pm 0,06$ dan $6,63 \pm 0,12$), diikuti dengan perlakuan 2% ($2,87 \pm 0,12$ dan $6,60 \pm 0,10$), serta kelompok kontrol ($2,40 \pm 0,10$ dan $6,03 \pm 0,12$). Sementara itu, tidak terdapat perbedaan yang nyata untuk parameter limfosit untuk masing-masing perlakuan, baik di fase pendederan maupun di pembesaran.

Identifikasi bakteri dan ujiantang

Berdasarkan hasil pengamatan di fase pembesaran, terdapat serangan infeksi penyakit yang menyebabkan kematian massal pada ikan kontrol dan memengaruhi tingkat persentase kelulushidupan. Namun, infeksi ini hanya sedikit berpengaruh pada ikan dengan aplikasi protein hidrolisis. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa infeksi disebabkan oleh bakteri dan dirangkum pada Tabel 5.

Pada kajian lanjutan, pengaruh penggunaan protein hidrolisis dengan konsentrasi 2% dan 3% diamati. Ikan kakap putih pada fase pembesaran diuji tantang dengan *Vibrio parahaemolyticus* (Gambar 2) pada kepadatan 10^5 sel/mL dan kelulushidupan (%) dihitung setelah lima hari pascauji tantang. Pada Gambar 2, terlihat bahwa perlakuan protein hidrolisis 3% mampu memberikan sintasan (%) ikan kakap putih *L. calcarifer* yang secara nyata lebih tinggi dengan $78,33 \pm 2,89\%$, diikuti oleh penambahan 2% protein hidrolisis dengan $73,33 \pm 5,77\%$ dan kontrol dengan $31,67 \pm 7,64\%$ ($P < 0,05$).

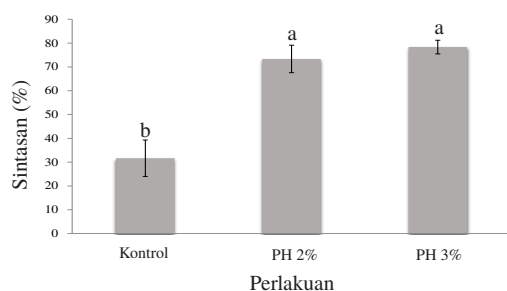
Karakteristik kualitas air

Selama masa pemeliharaan, kualitas media pemeliharaan diamati secara harian untuk parameter pH (derajat keasaman), oksigen terlarut (mg/L), salinitas (‰) dan suhu ($^{\circ}\text{C}$). Analisis parameter amonia (NH_3), posfat (PO_4), nitrit (NO_2), nitrat (NO_3), total bakteri umum (cfu/mL) dan total bakteri *Vibrio* (cfu/mL) dilakukan secara mingguan. Data hasil pengamatan kualitas air selama masa penelitian dirangkum dalam Tabel 6 dan 7.

Hasil pengukuran kualitas air di fase pendederan (Tabel 6) menunjukkan bahwa di seluruh perlakuan, suhu berkisar antara $30,1$ – $30,4$ $^{\circ}\text{C}$, nitrat $< 0,01$ mg/L, nitrit $< 0,1$ mg/L, amonia antara $< 0,02$ hingga $0,094$ mg/L, salinitas berada pada kisaran 30 – 31 ‰, pH kontrol $7,76$ – $8,25$, pH aplikasi 2% $7,72$ – $8,18$ dan $7,73$ – $8,19$ untuk aplikasi 3%, turbiditas bervariasi antara $0,65$ – $1,42$ ntu pada grup kontrol, $0,81$ – $1,44$ ntu pada aplikasi 2% dan $0,65$ – $1,42$ ntu pada aplikasi 3%. Total bakteri di kontrol berada pada kisaran $1,1$ – $2,7 \times 10^2$ cfu/mL, $1,4$ – $2,7 \times 10^2$ cfu/mL di aplikasi 2% dan pada aplikasi 3% berada pada kisaran $1,1$ – $2,8 \times 10^2$ cfu/mL. Total *Vibrio* pada grup kontrol berada pada kisaran $0,2$ – $1,1 \times 10^2$ cfu/mL, $0,23$ – $1,28 \times 10^2$ cfu/mL pada aplikasi 2% dan $0,66$ – $1,10 \times 10^2$ cfu/mL pada aplikasi protein hidrolisis 3%. Sementara di fase pembesaran, dikarenakan memiliki media pemeliharaan yang sama, kualitas air yang disajikan pada Tabel 7 adalah untuk semua perlakuan, yaitu suhu berada pada kisaran $28,7$ – $30,7$ $^{\circ}\text{C}$; pH $7,76$ – $8,37$; turbiditas $2,44$ – $27,00$ ntu; dan salinitas 30 – 31 ‰. Konsentrasi NO_2 , NO_3 , dan NH_3 cenderung stabil selama fase pembesaran. Total bakteri umum selama fase pembesaran berada pada kisaran $0,173$ – $3,7 \times 10^3$ cfu/mL dan total bakteri *Vibrio* berada pada kisaran $0,23$ – $3,40 \times 10^2$ cfu/mL.

Pembahasan

Proses hidrolisis protein terhadap sisa produk pengolahan ikan merupakan salah satu tindakan efektif untuk meningkatkan sifat kimia fisik, fungsi dan komposisi nutrisi dari protein yang dihasilkan (Šližytė *et al.*, 2005). Bahkan, banyak kajian telah mengungkapkan bahwa protein hidrolisis dapat meningkatkan laju penyerapan di saluran pencernaan (Kotzamanis *et al.*, 2007; Chalamaiah *et al.*, 2012). Pada industri akuakultur, penggunaan protein hidrolisis, selain untuk menggantikan penggunaan tepung ikan, juga digunakan secara luas sebagai suplemen protein dan untuk meningkatkan nafsu makan



Gambar 2. Sintasan (%) ikan kakap putih *Lates calcarifer* yang diuji tantang dengan penambahan *Vibrio parahaemolyticus* dengan konsentrasi 10^5 sel/mL. Perbedaan yang nyata di antara perlakuan dan kontrol ditunjukkan oleh huruf yang berbeda ($P < 0,05$). Keterangan: PH: protein hidrolisis.

(Kotzamanis *et al.*, 2007; Aguila *et al.*, 2007; Chalamaiah *et al.*, 2012). Beberapa penulis juga menyebutkan bahwa penggunaan protein hidrolisis dapat meningkatkan pertumbuhan dan meningkatkan efisiensi penggunaan pakan (Hevroy *et al.*, 2005; Refstie *et al.*, 2004; Kotzamanis *et al.*, 2007. Hal ini sesuai dengan grafik pertumbuhan dalam penelitian ini yaitu performa pertumbuhan ikan kakap putih dengan penambahan protein hidrolisis 2% dan 3%, meliputi total bobot yang diperoleh (g), % bobot relatif, % laju pertumbuhan spesifik, bobot akhir (g) dan panjang akhir (cm) secara nyata lebih baik jika dibandingkan dengan kontrol ($P < 0,05$).

Tabel 3. Nilai rata-rata parameter sistem imun kakap putih pada fase pendederan

Parameter	Kontrol	Perlakuan protein hidrolisis	
		2%	3%
Neutrofil (%)	5,07±0,19b	6,31±0,15a	6,73±0,12a
Monosit (%)	1,93±0,20b	2,65±0,10a	2,80±0,13a
Limfosit (%)	50,87±1,49a	51,74±1,19a	52,71±0,71a
Leukosit (10^3 sel/mL)	48,33±1,36b	55,67±1,14a	56,34±1,17a

Keterangan: perbedaan yang nyata di antara perlakuan diindikasikan dengan huruf yang berbeda ($P < 0,05$).

Tabel 4. Nilai rata-rata parameter sistem imun kakap putih pada fase pembesaran

Parameter	Kontrol	Perlakuan protein hidrolisis	
		2%	3%
Neutrofil (%)	6,03±0,12b	6,60±0,10a	6,63±0,12a
Monosit (%)	2,40±0,10c	2,87±0,12b	2,93±0,06a
Limfosit (%)	55,21±0,76a	55,25±1,09a	56,30±1,07a
Leukosit (10^3 sel/mL)	49,68±0,56b	54,67±0,43a	57,01±2,36a

Keterangan: perbedaan yang nyata di antara perlakuan diindikasikan dengan huruf yang berbeda ($P < 0,05$).

Tabel 5. Karakteristik kualitas air selama fase pendederan.

Parameter	Satuan	Hasil uji kualitas air			Metode analisis
		Kontrol	PH 2%	PH 3%	
Total bakteri umum	cfu/mL	1,1–2,7 x 10^2	1,4–2,7 x 10^2	1,1–2,8 x 10^2	IKM/5.4.10/BBL-B
Total bakteri <i>Vibrio</i>	cfu/mL	0,2–1,1 x 10^2	1,4–2,7 x 10^2	1,1–2,8 x 10^2	Konvensional
pH		7,76–8,25	7,72–8,18	7,73–8,19	SNI 06-6989.11-2004
Nitrat (NO_3)	mg/L	<0,01	<0,01	<0,01	Kolorimetri
Nitrit (NO_2)	mg/L	<0,1	<0,1	<0,1	Kolorimetri
Amonia (NH_3)	mg/L	<0,02–0,094	<0,02–0,094	<0,02–0,094	IKM/5.4.6/BBL-B
Posfat (PO_4)	mg/L	0,012–0,024	0,018–0,027	0,015–0,022	IKM/5.4.8/BBL-B
Salinitas	‰	30–31	30–31	30–31	IKM/5.4.4/BBL-B
Turbiditas	ntu	0,65–1,42	0,81–1,44	0,65–1,42	IKM/5.4.9/BBL-B
Suhu	°C	30,1–30,4	30,1–30,4	30,1–30,4	Elektrometri

Keterangan: PH: protein hidrolisis.

Persentase bobot relatif yang diperoleh (%) dan laju pertumbuhan spesifik untuk ikan uji dengan perlakuan protein hidrolisis memiliki grafik lebih baik pada masa pemeliharaan di pendederan jika dibandingkan dengan pembesaran. Hal ini menunjukkan bahwa pemeliharaan dalam lingkungan yang terkendali menjadi salah satu keuntungan untuk mendorong pertumbuhan kakap putih. Selama masa pemeliharaan di fase pembesaran, ikan uji terpapar oleh sejumlah bahan beracun alamiah dan stres. Jika senyawa penyebab stres ini berada dalam waktu yang lama (kronis), maka dapat menyebabkan kematian pada ikan atau menyebabkan ikan menjadi rentan terhadap infeksi mikroorganisme (Ashley, 2007). Ikan yang rentan terhadap serangan penyakit akan mengalami kematian massal pada lingkungan yang kurang baik. Hal ini menjelaskan tentang tingkat persentase kelulushidupan yang lebih rendah untuk semua perlakuan pada fase pembesaran dibandingkan dengan pendederan. Namun secara umum, tingkat persentase kelulushidupan ikan dengan perlakuan protein hidrolisis lebih baik dibandingkan kelompok ikan kontrol baik di fase pendederan maupun di pembesaran ($P < 0,05$).

Hasil kajian ini menunjukkan bahwa penggunaan protein hidrolisis (2% dan 3%) pada pakan secara nyata meningkatkan bobot akhir (g) dan panjang akhir (cm) ikan kakap putih *L. calcarifer*. Ikan dengan perlakuan 3% protein

hidrolisis memiliki bobot akhir tertinggi dengan $62,94 \pm 1,47$ g, diikuti oleh perlakuan 2% protein hidrolisis dengan $56,94 \pm 2,26$ g dan kontrol yang memiliki bobot terendah dengan $39,60 \pm 1,49$ g. Perlakuan protein hidrolisis juga memberikan efek positif terhadap panjang akhir yang diperoleh, yakni $16,56 \pm 0,23$ cm untuk perlakuan 3% protein hidrolisis, $15,55 \pm 0,28$ cm untuk 2% protein hidrolisis dan $13,77 \pm 0,31$ cm untuk kontrol. Dampak positif ini dapat disebabkan oleh proses penyerapan asupan gizi pakan yang lebih baik dengan penggunaan protein hidrolisis (Kotzamanis *et al.*, 2007; Tang *et al.*, 2008). Hal ini akan sangat menguntungkan bagi para pembudidaya karena dapat hasil panen yang dihasilkan akan lebih berkualitas dengan masa produksi yang lebih cepat dan biaya produksi yang lebih rendah sehingga lebih efisien.

Beberapa hasil kajian telah mengungkapkan bahwa selama proses hidrolisis protein, juga dihasilkan berbagai bahan aktif, seperti senyawa aktif peptida, yang memiliki kemampuan untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan berbagai senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri (Daoud *et al.*, 2005). Senyawa ini sangat penting untuk membangkitkan respons imun ikan, baik alamiah maupun adaptif dalam menghadapi serangan infeksi patogen. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini sejalan dengan pernyataan diatas, dimana ikan kakap putih

Tabel 6. Karakteristik kualitas air selama fase pendederan

Parameter	Satuan	Hasil uji kualitas air							Metode analisis
		15 Juli	22 Juli	29 Juli	5 Agus	12 Agus	19 Agus	26 Agus	
Total bakteri umum	cfu/ mL	173	$1,2 \times 10^3$	$5,2 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	2×10^2	$2,7 \times 10^2$	$3,7 \times 10^3$	IKM/5.4.10/ BBL-B
Total bakteri <i>Vibrio</i>	cfu/ mL	23	131	$2,7 \times 10^2$	$3,4 \times 10^2$	$1,9 \times 10^2$	$3,1 \times 10^2$	$1,9 \times 10^2$	Konvensional
pH		8,18	7,78	8,26	7,76	8,18	8,37	8,25	SNI 06- 6989.11-2004
Nitrat (NO ₃)	mg/L	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	Kolorimetri
Nitrit (NO ₂)	mg/L	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	Kolorimetri
Amonia (NH ₃)	mg/L	<0,009	<0,009	<0,009	0,357	<0,009	<0,009	<0,009	IKM/5.4.6/ BBL-B
Posfat (PO ₄)	mg/L	0,027	0,025	0,047	<0,033	<0,033	<0,033	<0,033	IKM/5.4.8/ BBL-B
Salinitas	‰	30	30	31	30	30	31	31	IKM/5.4.4/ BBL-B
Turbiditas	ntu	7,15	2,63	5,33	27,00	2,44	6,52	7,26	IKM/5.4.9/ BBL-B
Suhu	°C	29,1	30,5	28,7	29,6	30,5	29,7	30,7	Elektrometri

Keterangan: PH: protein hidrolisis.

dengan perlakuan protein hidrolisis mampu menstimulasi jumlah monosit, neutrofil dan leukosit dalam sel darah ikan. Perubahan jumlah leukosit khususnya, dapat dijadikan indikator terhadap status kesehatan ikan. Peningkatan jumlah leukosit merupakan respons dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel asing termasuk oleh adanya infeksi bakteri. Selain berperan sebagai sistem kekebalan tubuh, leukosit juga berperan penting dalam mengeluarkan partikel asing dan proses koagulasi (Sahan & Duman, 2010).

Konsentrasi neutrofil, sebagai salah satu parameter imun ikan kakap putih juga meningkat pada kelompok ikan yang mendapatkan suplementasi protein hidrolisis. Kondisi ini sangat menguntungkan bagi ikan karena menurut kajian yang dilakukan oleh Himaya *et al.*, (2010), neutrofil yang teraktivasi akan memiliki kemampuan untuk menghasilkan jenis oksigen (*reactive oxygen species*; ROS) dan nitrogen (*reactive nitrogen species*; RNS) relatif yang bersifat toksik terhadap berbagai spesies bakteri, parasit dan protozoa. Hal ini berarti bahwa peningkatan aktivitas neutrofil akan sangat berguna untuk memproteksi inang dari berbagai infeksi mikroorganisme patogen. Peningkatan berbagai parameter sistem imun ini sejalan dengan kajian yang dilakukan oleh Tang *et al.*, (2008), yang menyatakan bahwa performa pertumbuhan dan respons imun ikan *yellow croaker* dapat ditingkatkan dengan penambahan protein hidrolisis pada pakan.

Berdasarkan hasil kajian, terdapat tiga jenis bakteri utama yang menyebabkan luka pada bagian permukaan tubuh dan kematian pada ikan kakap putih. Jenis bakteri tersebut adalah: *V. parahaemolyticus*, *Vibrio damsella* dan *Vibrio scophthalmi*. Luka pada bagian tubuh menjadi pemicu terjadinya infeksi sekunder yang menyebabkan kematian pada ikan uji coba. Hasil kajian lanjutan dengan melakukan uji tantang dengan menambahkan *V. parahaemolyticus* dengan konsentrasi 10^5 sel/mL di ruangan terkendali untuk ikan pembesaran, menunjukkan bahwa ikan dengan perlakuan protein hidrolisis mampu secara nyata melindungi ikan uji dari infeksi *V. parahaemolyticus* yang ditunjukkan dengan tingginya sintasan jika dibandingkan kontrol selama lima hari masa uji tantang ($P < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam protein hidrolisis mampu meningkatkan kekebalan spesifik dan merangsang aktivitas sel yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh ikan.

KESIMPULAN

Suplementasi protein hidrolisis pada pakan dapat meningkatkan respons imun dan performa pertumbuhan ikan kakap putih *L. calcarifer*. Parameter hematologi yaitu monosit, neutrofil dan leukosit mengalami peningkatan yang nyata dibandingkan kontrol. Sementara limfosit tidak berbeda nyata antarperlakuan. Parameter pertumbuhan yang meliputi total bobot (g), % bobot relatif, % laju pertumbuhan spesifik, bobot akhir (g) dan panjang akhir (cm) meningkat secara nyata dibandingkan kontrol baik pada fase pendederan maupun di pembesaran. Pemberian protein hidrolisis dengan konsentrasi 3% merupakan dosis optimal dalam peningkatan respons imun dan performa pertumbuhan ikan kakap putih.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguila J, Cuzon G, Pascual C, Dominguesd PM, Gaxiolac G, Sánchezc A, Maldonadoe T, Rosas C. 2007. The effects of fish hydrolysate (CPSP) level on *Octopus maya* (Voss and Solis) diet: digestive enzyme activity, blood metabolites, and energy balance. *Aquaculture* 273: 641–655.
- Ashley PJ. 2007. Fish welfare: current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science* 104: 199–235.
- Austin B, Austin, DA. 1987. *Bacterial and Fish Pathogens: Disease Farmed and Wild Fish*. Chichester: John Wiley and Sons.
- Blaxhall PC. 1972. The Haematological assesment of the health of fresh water fish. A Review of Selected Literatur. *Journal of Fish Biology* 4: 593–604.
- Cabello FC. 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology* 8: 1.137–1.144.
- Chalamaiah M, Kumar BD, Hemalatha R, Jyothirmayi T. 2012. Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: a review. *Food Chemistry* 135: 3.020–3.038.
- Daoud R, Dubois V, Bors-Dodita L, Nedjar-Arroume N, Krier F, Chihib NE, Mary P, Kouach M, Briand G, Guillochon D. 2005. New antibacterial peptide derived from bovine hemoglobin. *Peptides* 26: 713–719.

- Defoirdt T, Boon N, Sorgeloos P, Verstraete W, Bossier P. 2007. Alternatives to antibiotics to control bacterial infections: luminescent *Vibriosis* in aquaculture as an example. *Trends in Biotechnology* 25 10: 472–479.
- Duarte J, Vinderola G, Ritz B, Perdigón Gabriela, Matar C. Immunomodulating capacity of commercial fish protein hydrolysate for diet supplementation. *Immunobiology* 211: 341–350.
- Fardiaz S. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan. Yogyakarta: Liberty.
- Gibson-Kueh S, Chee d, Chen J, Wang YH, Tay S, Leong LN, Ng ML, Jones JB, Nicholls PK, Ferguson HW. 2012. The pathology of scale drop syndrome in Asian sea bass *Lates calcarifer* Bloch a first description. *Journal of Fish Diseases* 35: 19–27.
- Havrøy EM, Espe M, Waagbø R, Sandnes K, Ruud M, Hemre GI. 2005. Nutrient utilization in Atlantic salmon *Salmo salar* L. fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. *Aquaculture Nutrition* 11: 301–313.
- Himaya SWA, Ryu BM, Qian ZJ, Kim SK. 2010. Sea cucumber *Stichopus japonicus* ethyl acetate fraction modulates the lipopolysaccharide induced iNOS and COX-2 via MAPK signaling pathway in murine macrophages. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 9: 68–75.
- Klompong V, Benjakul S, Kantachote D, Shahidi F. 2007. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally *Selaroides leptolepis* as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry* 102: 1.317–1.327.
- Kotzamanis YP, Gisbert E, Gatesoupe FJ, Infante JZ, Cahu C. 2007. Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology* 147: 205–214.
- Lalumera GM, Calamari D, Galli P, Castiglioni S, Crosa G, Fanelli Roberto. 2004. Preliminary investigation on the environmental occurrence and effects of antibiotics used in aquaculture in Italy. *Chemosphere* 54: 661–668.
- Liang M, Wang J, Chang Q, Mai K. 2006. Effects of different levels of fish protein hydrolysate in the diet on the nonspecific immunity of Japanese sea bass *Lateolabrax japonicus* (Cuvieret Valenciennes, 1928). *Aquaculture Research* 37: 102–106.
- Liaset B, Espe M. 2008. Nutritional composition of soluble and insoluble fractions obtained by enzymatic hydrolysis of fish-raw materials. *Process Biochemistry* 43: 42–48.
- Maeno Y, De La Pena LD, Cruz-Lacierda ER. 2004. Mass mortality associated viral nervous necrosis in hatchery-reared sea bass *Lates calcarifer* in the Philippines. *Japan Agricultural Research Quarterly* 38: 69–73.
- Marques A, Dhont J, Sorgeloos P, Bossier P. 2006. Immunostimulatory nature of β -glucans and baker's yeast in gnotobiotik *Artemia* challenge tests. *Fish and Shellfish Immunology* 20: 682–692.
- Mojjada SK, Dash B, Pattnaik P, Anbarasu M, Joseph I. 2013. Effect of stocking density on growth and survival of hatchery reared fry of Asian sea bass *Lates calcarifer* (Bloch) under captive conditions. *Indian Journal of Fish* 60: 71–75.
- Nisha AR. 2008. Antibiotic residues-a global health hazard. *Veterinary World* 1: 375–377.
- Refstie S, Olli JJ, Standal H. 2004. Feed intake, growth and protein utilization by post-smolt Atlantic salmon *Salmo salar* in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. *Aquaculture* 239: 331–349.
- Sahan A, Duman S. 2010. Influence of β -1,3/1,6 glucan applications on some non-specific cellular immune response and haematologic parameters of healthy Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. (1758). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 34: 75–81.
- Sapkota A, Sapkota AR, Kucharski M, Burke J, McKenzie S, Walker P, Lawrence R. 2008. Aquaculture practices and potential human health risks: current knowledge and future priorities. *Environment International* 34: 1.215–1.226.
- Šližytė R, Daukšas E, Falch E, Storrø I, Rustad T. 2005. Characteristics of protein fractions generated from cod *Gadus morhua* by-products. *Process Biochemistry* 40: 2.021–2.033.
- Smith VJ, Brown JH, Hauton C. 2003. Immunostimulation in crustaceans: does it really protect against infection. *Fish and Shellfish Immunology* 15: 71–90.
- Subasinghe R. 1997. Fish health and quarantine: Review of The State of the World Aquaculture.

- FAO Fisheries Circular no. 886. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Tang HG, Wu TX, Zhao ZY, Pan XD. 2008. Effects of fish protein hydrolysate on growth performance and humoral immune response in large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* R. Journal of Zhejiang University Science B 9: 684–690.
- Thiansilakul Y, Benjakul S, Shahidi F. 2007. Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad *Decapterus maruadi*. Food Chemistry 103: 1.385–1.394.
- Viswanathan K, Dhabhar FS. 2005. Stress-induced enhancement of leukocyte trafficking into sites of surgery or immune activation. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 102: 5.808–5.813.
- Whittington RJ, Becker JA, Dennis MM. 2009. Iridovirus infections in finfish – critical review with emphasis on rana viruses. Journal of Fish Disease 33: 95–122.