

**PENAMBAHAN VITAMIN C DALAM PAKAN UNTUK MENINGKATKAN  
IMUNITAS BENIH IKAN KERAPU MACAN, *Epinephelus fuscoguttatus*  
TERHADAP INFEKSI VIRAL NERVOUS NECROSIS**

**Addition of Vitamin C on Diet to Improve Immunity on Tiger Grouper,  
*Epinephelus fuscoguttatus* to Infection Viral Nervous Necrosis**

F. Johnny, K. Mahardika, I.N.A. Giri & D. Roza

Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol PO BOX 140 – Singaraja 81101 – Bali  
Telepon : 0362 92278 – Faksimili : 0362 92272 E-mail : [frisjravael@yahoo.com](mailto:frisjravael@yahoo.com)

**ABSTRACT**

An attempt with a purpose to improve the fish seed immunity tiger grouper, *Epinephelus fuscoguttatus* to infection viral nervous necrosis (VNN) with addition of vitamin C have been done in Gondol Research Institute for Mariculture, Bali. Fish seed tiger grouper counted 400 fishes with wight between 35-55 disperse gram into 4 polycarbonate tanks volume of 1000 litres with density of 100 fish/tank. Each tank is equipped with flow-through water system and aeration. Experimental diets were formulated to have the same nutrients content except of vitamin C stable form (L-ascorbyl-2-Phosphate-Magnesium) with different dose, that is 0; 300; 600; 1.200 mg/kg diet was added to each formula. Experimental diets were prepared as dry pellet using freeze dryer Fish fed experimental diets twice everyday during 60 day. After 20, 40, and 60 days after treatment test to challange with VNN. Perception of test fish immunities parameter done to phagocytic activity (PA), make of phagocytic index (PI) and lysozyme activity (LA). Attempt result indicated that addition of vitamin C in diet dose between 600-1,200 mg/kg after 60 treatment day yield highest survival rate, PA and LA compared to other treatments.

Keywords: Immunity, tiger grouper, viral nervous necrosis, vitamin C

**ABSTRAK**

Suatu percobaan dengan tujuan meningkatkan imunitas benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* terhadap infeksi viral nervous necrosis (VNN) dengan penambahan vitamin C telah dilakukan di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol, Bali. Benih ikan kerapu macan sebanyak 400 ekor dengan bobot antara 35-55 gram ditebar ke dalam 4 buah bak polikarbonat volume 1000 liter dengan kepadatan 100 ekor/bak, menggunakan sistem air laut mengalir dan diaerasi. Ikan diberi pakan percobaan 2 kali sehari dan dipelihara selama 60 hari. Formulasi pakan percobaan diatur mempunyai kandungan nutrisi yang sama kecuali kandungan vitamin C. Pada formula pakan ditambahkan vitamin C bentuk stabil (L-ascorbyl-2-Phosphate-Magnesium) dengan dosis berbeda, yaitu 0; 300; 600; 1.200 mg/kg pakan. Pakan dibuat dalam bentuk pelet dan dikeringkan menggunakan “freeze dryer”. Setelah 20, 40, dan 60 hari setelah perlakuan dilakukan uji tantang dengan VNN. Pengamatan parameter imunitas ikan uji dilakukan terhadap aktivitas fagositik (PA), indeks fagositik (PI) dan aktivitas lisosim (LA). Hasil percobaan menunjukkan bahwa penambahan vitamin C dalam pakan dosis antara 600-1.200 mg/kg setelah 60 hari perlakuan menghasilkan sintasan, PA dan LA tertinggi.

Kata kunci: Imunitas, kerapu macan, viral nervous necrosis, vitamin C

**PENDAHULUAN**

Dalam upaya produksi benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* di hatchery Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol masih mengalami kendala dengan adanya kematian benih.

Diduga salah satu penyebab kematian adalah adanya infeksi penyakit, terutama infeksi viral nervous necrosis (VNN). Infeksi virus terhadap ikan kerapu di Indonesia telah ditemukan dan akibat serangan penyakit tersebut menimbulkan mortalitas yang tinggi pada semua stadia. Di Bali Utara infeksi virus

VNN dilaporkan menginfeksi larva dan juvenil ikan kerapu bebek (Koesharyani *et al.*, 1999; Zafran *et al.*, 2000) dan sampai sekarang virus ini merupakan salah satu kendala utama pada budidaya ikan kerapu bebek.

VNN merupakan salah satu penyakit infeksi yang sangat merugikan usaha budidaya laut, terutama pada pembenihan dan pembesaran kerapu bebek (Nakai *et al.*, 1994; Mori *et al.*, 1998; Roza *et al.*, 2002). Gejala ikan yang terserang virus ini berbeda menurut umurnya, pada umur 45 hari sampai 4 bulan akan terlihat ikan berdiam di dasar, berenang terbalik, gerakannya lemah dan kadang-kadang menyentak seperti tanpa kontrol serta nafsu makan menurun drastis, biasanya 3-5 hari setelah adanya gejala klinis ikan akan mati (Roza *et al.*, 2002; 2003; 2005).

Salah satu upaya pencegahan infeksi VNN ini di hatcheri adalah dengan cara meningkatkan respon imun non-spesifik ikan tersebut dengan menggunakan imunostimulan (Secombes, 1996; Rukyani *et al.*, 1997; Johnny *et al.*, 2001; 2002) dan vitamin C (Johnny *et al.*, 2005). Imunostimulan merupakan sekelompok senyawa biologi dan sintetis yang dapat meningkatkan tanggap kebal spesifik dan non-spesifik (Zafran *et al.*, 1998; Johnny *et al.*, 2001; 2004; Johnny dan Roza, 2002; 2004; Roza *et al.*, 2002; 2003; 2004; 2005). Upaya pencegahan lainnya adalah dengan cara vaksinasi baik menggunakan rekombinan vaksin (Watanabe *et al.*, 1998) maupun in-aktif vaksin (Roza *et al.*, 2002).

Vitamin C (asam askorbat) merupakan salah satu bahan yang sering digunakan dalam pencegahan penyakit ikan, vitamin C dalam tubuh ikan berperan mengurangi stress dan mempercepat proses penyembuhan luka. Selain itu, vitamin C mempunyai kemampuan untuk mempercepat reaksi kelompok hidrosilasi dengan formulasi kolagen yang sangat penting untuk pemeliharaan keseimbangan alami oleh kulit beserta jaringan lainnya. Dalam percobaan di laboratorium, vitamin C memperlihatkan keterlibatannya dalam proses pelepasan zat kebal oleh sel kebal. Pada hewan, vitamin C merupakan suatu kebutuhan yang harus ada untuk produksi interferon dan komponen

komplemen. Banyak zat yang penting dikeluarkan atas bantuan vitamin C dalam pertahanan tubuh dari pencegahan infeksi patogen (Lagler *et al.*, 1977; Halver, 1989; Sandnes, 1991). Di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol telah dilakukan beberapa percobaan menggunakan vitamin C, terutama untuk pertumbuhan. Johnny *et al.* (2002) melaporkan bahwa vitamin C berpengaruh terhadap hemositologi ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. Penambahan vitamin C dalam pakan selain mempengaruhi pertumbuhan benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* juga dapat meningkatkan ketahanan ikan (Giri *et al.*, 2003). Dalam laporan lainnya, vitamin C dapat meningkatkan respon imun non-spesifik ikan kerapu lumpur, *Epinephelus coioides* (Johnny *et al.*, 2005). Pada ikan kerapu macan dilaporkan pula bahwa pemberian vitamin C dalam pakan pellet dapat meningkatkan respon imun terhadap infeksi VNN (Mahardika *et al.*, 2004).

Tujuan penelitian ini adalah untuk meningkatkan imunitas benih ikan kerapu macan terhadap infeksi VNN dengan penambahan vitamin C dalam pakan.

## BAHAN DAN METODE

### Pakan Uji

Dalam percobaan ini pakan yang digunakan adalah pakan dalam bentuk pelet kering. Komposisi pakan uji disajikan pada Tabel 1 dengan dosis vitamin C yang berbeda. Pakan uji yang digunakan sebanyak 4 perlakuan berisikan nutrisi esensial dan vitamin C. Vitamin C yang digunakan dalam bentuk stabil yaitu APM (L-ascorbyl-2-phosphate-Magnesium). Perlakuan tanpa vitamin C sebagai kontrol, dan perlakuan vitamin C masing-masing dengan dosis 300, 600, dan 1200 mg/kg pakan.

### Ikan uji

Dalam percobaan ini ikan uji yang digunakan adalah benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* dengan bobot rata-rata  $45,2 \pm 2,82$  gram. Sebelum dilakukan

pengujian ikan dikondisikan dengan pakan pelet.

### Inokulum VNN

Dari ikan yang positif terinfeksi VNN secara alami dan buatan (deteksi dengan PCR) diambil bagian organ mata dan otaknya, digerus dan ditambahkan 200 ml larutan 10 mM phosphate buffer saline (PBS) pH 7,2, disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 30 menit. Supernatan disaring dengan membran filter ukuran 0,45 µm, dikoleksi dan digunakan sebagai inokulum untuk uji tantang (Arimoto *et al.*, 1993).

### Perlakuan

Terhadap ikan uji masing-masing 100 ekor diberi perlakuan pakan pelet kering dengan penambahan vitamin C pada dosis berbeda, yaitu :

- A. 0 mg vitamin C/kg pakan (kontrol)
- B. 300 mg vitamin C/kg pakan
- C. 600 mg vitamin C/kg pakan
- D. 1.200 mg vitamin C/kg pakan

Selanjutnya ikan dipelihara dalam bak polikarbonat volume 1.000 L dengan kepadatan 100 ekor/bak. Pakan diberikan dua kali sehari pada pagi dan sore hari, pembersihan bak dilakukan satu kali sehari pada pagi hari, pemeliharaan menggunakan

air mengalir dan diaerasi. Pada hari ke-20, 40, dan 60 pemeliharaan masing-masing ikan sebanyak 30 ekor/perlakuan dilakukan uji tantang dengan penyuntikan VNN. Ikan yang telah diuji tantang dipelihara pada bak polikarbonat volume 100 L dengan kepadatan 10 ekor/bak. Ikan diberi pakan dua kali pada pagi dan sore hari, pembersihan bak dilakukan satu kali pada pagi hari, dilanjutkan dengan penggantian air 75% dan diaerasi. Pengamatan dilakukan selama 10 hari terhadap gejala klinis, sintasan dan respon imun non-spesifik. Rancangan percobaan yang digunakan untuk uji tantang dan respon imun non-sepsifik adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 3 perlakuan dan 3 ulangan.

### Koleksi leukosit dan pemisahan plasma

Darah ikan uji diambil dari vena anterior setelah terlebih dahulu ikan uji dipingsankan dengan menggunakan bahan pembius *FA-100* (Tanabe Seiyaku, Jepang) dengan kandungan minyak cengkeh dosis 0,2 ml/l. Sampel darah disedot dengan spuit plastik steril volume 2,5 cc dengan jarum no. 18 yang didalamnya telah berisikan Heparin (Sigma) sebagai antikoagulan. Selanjutnya darah disimpan dalam tabung mikro (microtube). Koleksi darah pada tabung mikro disedot dengan tabung kapiler plastik, ditutup dengan lilin lebah dan disentrifusi pada kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit.

Tabel 1. Komposisi pakan uji (g/kg pakan) dengan level vitamin C berbeda untuk benih ikan kerapu macan

BAHAN	PERLAKUAN			
	A	B	C	D
Kasein	15	15	15	15
Tepung Ikan	35	35	35	35
Tepung hati cumi	9	9	9	9
Tepung rebon	6,08	6,08	6,08	6,08
Minyak ikan	8	8	8	8
Mineral Mix	2,5	2,5	2,5	2,5
Vitamin Mix (tanpa vit. C)	1,19	1,19	1,19	1,19
<b>Vitamin C (APM) *</b>	<b>0,0</b>	<b>0,03</b>	<b>0,06</b>	<b>0,012</b>
Dekstrin	20,12	20,09	20,06	20,00
CMC	3,0	3,0	3,0	3,0

• Vitamin C yang digunakan adalah L-ascorbyl-2-Phosphate-Magnesium dengan rumus kimia  $(C_6H_6O_9P)_2Mg_3 \cdot 10H_2O$

Tabung kapiler dipotong dengan gunting pada batas leukosit dengan eritrosit, leukosit dikoleksi dan disimpan pada tabung mikro baru, dan siap digunakan untuk uji fagositosis.

Sisa koleksi darah pada tabung mikro disentrifusi dengan minisentrifusi kecepatan 6.000 rpm selama 5 menit, kemudian plasma darah dipisahkan ke tabung mikro baru dengan mikropipet, plasma ini siap digunakan untuk uji aktivitas lisosim.

### Uji aktivitas fagositik (PA) dan indeks fagositik (PI)

Untuk uji dibutuhkan bahan enzim *Zymosan A* (Sigma) yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae*. *Zymosan A* sebanyak 50 µl dilarutkan dalam larutan 10 ml PBS, dimasukkan kedalam tabung mikro. Lima puluh µl leukosit dicampur dengan *Zymosan A*, diaduk rata dengan mikro pipet dan disimpan pada suhu 25 °C selama 1 jam. Selanjutnya ditetaskan pada kaca slide, dibuatkan preparat ulas tipis, diwarnai dengan *May-Gruenwald's Solution Modified* dan *Giemsa Solution 3%*. Pengamatan aktivitas fagositik (PA) dan indeks fagositik (PI) dilakukan dibawah mikroskop menggunakan rumus :

$$PA (\%) = \frac{\text{Fagositosis}}{\text{Total Leukosit}} \times 100\%$$

$$PI = \frac{\text{Jumlah Zymosan A}}{\text{Jumlah Fagosit}}$$

Jumlah fagositosis yang dihitung adalah sebanyak 100 sel fagosit, sedangkan untuk *Zymosan A* adalah sejumlah *Zymosan A* yang berada dalam sel fagosit.

Untuk uji PA dan PI menggunakan modifikasi dari metoda Siwicki & Anderson (1993) dan Ellis (1993).

### Uji aktivitas lisosim (LA)

Metoda yang digunakan adalah modifikasi dari metoda Rowley (1993) dan Klontz (1997). Sebelumnya disiapkan media agar yang mengandung *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma) pada cawan petri.

Pada cawan petri yang berisi agar dibuat sumuran diameter 40 mm sebanyak tiga sumuran dengan menggunakan pipet. Plasma darah sebanyak 10 µl dimasukkan ke dalam 2 sumuran, sedangkan satu sumuran sisa dimasukkan 10 µl *Chicken egg white lysozyme* (Sigma) sebagai kontrol. Cawan petri tersebut didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian diinkubasi pada suhu 25 °C. Aktivitas lisosim (LA) diamati dengan mengukur diameter zona yang terbentuk. Pengamatan dilakukan selama 3 hari, dan dilakukan penghitungan dengan rumus :

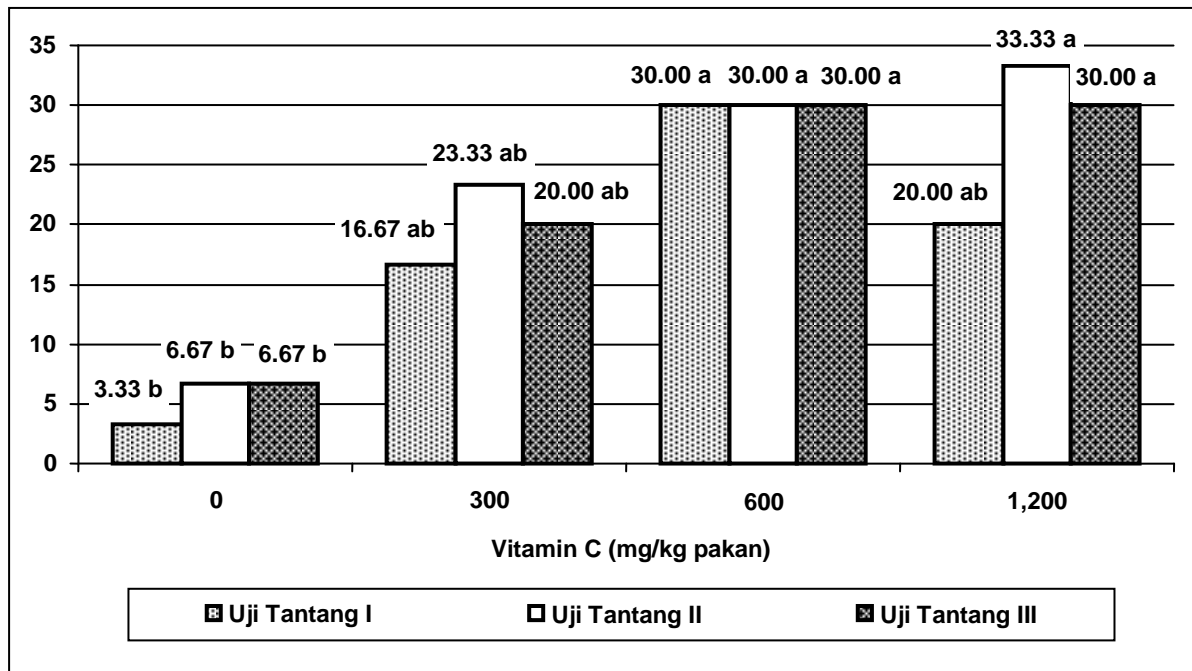
$$LA (\text{cm}) = \frac{\text{Diameter zona plasma darah uji}}{\text{Diameter zona kontrol}}$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintasan (%) yang diperoleh setelah benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* diuji tantang dengan VNN setelah 20, 40 dan 60 hari pemberian vitamin C dalam pakan dengan dosis yang berbeda disajikan pada Gambar 1.

Pada Gambar 1 diperoleh hasil sintasan setelah diuji tantang I dengan VNN pada hari ke-20 perlakuan yaitu sintasan tertinggi pada penambahan vitamin C dosis 600 mg/kg pakan (30%), diikuti dosis 1.200 mg/kg pakan (20%), dosis 300 mg/kg pakan (16,67%), dan kontrol (3,33%). Sintasan setelah uji tantang II pada hari ke-40 setelah perlakuan diperoleh nilai tertinggi pada penambahan vitamin C dosis 1.200 mg/kg pakan (33,33%), diikuti dosis 600 mg/kg pakan (30%), dosis 300 mg/kg pakan (23,33%), dan kontrol (6,67%). Sedangkan nilai sintasan tertinggi setelah uji tantang III pada hari ke-60 setelah perlakuan diperoleh pada penambahan vitamin C dengan dosis 600 dan 1.200 mg/kg pakan (30%), diikuti dosis 300 mg/kg pakan (20%), dan kontrol (6,67%). Secara statistik hasil sintasan setelah diuji tantang dengan VNN terhadap benih ikan kerapu macan yang dalam pakannya ditambahkan vitamin C tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ).

Selama pengamatan setelah diuji tantang dengan VNN, gejala klinis mulai terlihat



- Setiap nilai yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata ( $P>0,05$ )

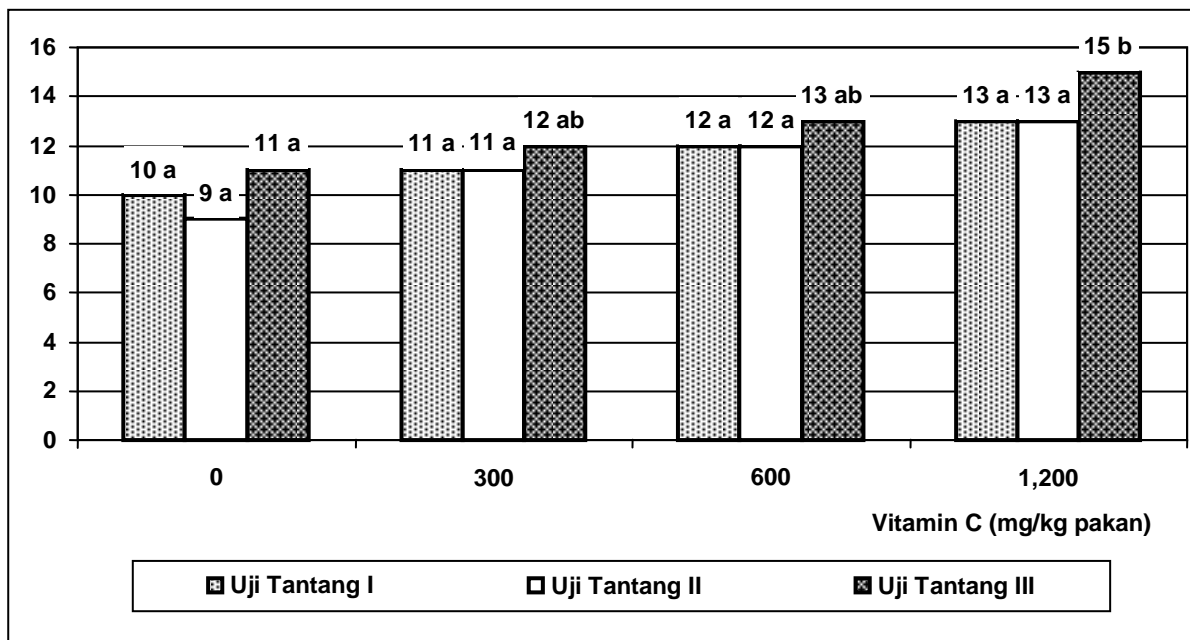
Gambar 1. Sintasan (%) benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* dengan penambahan vitamin C dalam pakan pelet dengan dosis yang berbeda.

seperti penurunan nafsu makan pada hari ke-2.

Pada hari ke-4 dan ke-4 ikan memperlihatkan gejala klinis diam di dasar dengan tubuh miring atau satu sisi menghadap ke atas. Mulai hari ke-5 benih ikan sudah ada yang mengalami kematian, bahkan ada ikan yang mati dengan mendadak tanpa memperlihatkan gejala klinis. Gejala klinis yang terlihat sama dengan gejala klinis yang diperlihatkan oleh benih ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* (Koesharyani *et al.*, 2001; Roza *et al.*, 2004; Johnny & Roza, 2005). Penambahan vitamin C dalam pakan berpengaruh terhadap ketahanan ikan, nilai sintasan terlihat meningkat mulai dari uji tantang I (hari ke-20) sampai uji tantang III (hari ke-60). Hal ini nampaknya sesuai dengan pernyataan Verlhac *et al.* (1998) bahwa vitamin C mempunyai kemampuan untuk menstimulasi tanggap kebal beberapa hewan, termasuk ikan dan fungsi biokimianya mempunyai pengaruh untuk meningkatkan daya tanggap kebal non-spesifik dan spesifik secara optimal.

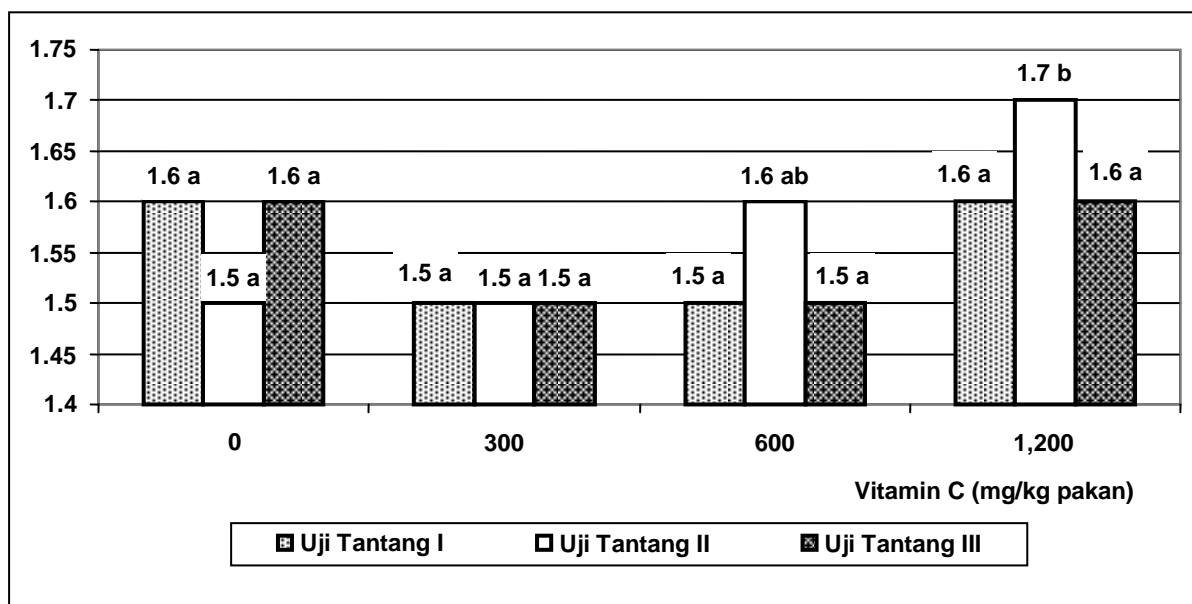
Hasil persentase aktivitas fagositik (PA) yang diperoleh setelah penambahan vitamin C dalam pakan pada Gambar 2 menghasilkan

nilai PA tertinggi pada uji tantang I (setelah 20 hari perlakuan) dengan penambahan vitamin C dosis 1.200 mg/kg pakan (13%) diikuti dosis 600 mg/kg pakan (12%), dosis 300 mg/kg pakan, dan kontrol (10%). Nilai PA tertinggi pada uji tantang II (setelah 40 hari perlakuan) adalah pada penambahan vitamin C dosis 1.200 mg/kg pakan (13%), diikuti dosis 600 mg/kg pakan (12%), dosis 300 mg/kg pakan (11%), dan kontrol (9%). Setelah uji tantang III (setelah 60 hari perlakuan) nilai PA tertinggi pada penambahan vitamin C dosis 1.200 mg/kg pakan (15%), diikuti dosis 600 mg/kg pakan (13%), dosis 300 mg/kg pakan (12%), dan kontrol (11%). Secara statistik nilai persentase PA tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ). Dalam percobaan ini terlihat bahwa penambahan vitamin C dalam pakan berpengaruh positif terhadap daya tahan ikan. Pada benih ikan kerapu lumpur, *Epinephelus coioides* Johnny *et al.* (2005) melaporkan bahwa penambahan kombinasi 1.000 mg vitamin C + 1 mL bakterin/kg pakan memberikan nilai PA (21%) lebih tinggi dibandingkan hanya dengan penambahan 1.000 mg vitamin C/kg pakan (18,5%) dan kontrol (9,5%).



- Setiap nilai yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata ( $P>0,05$ )

Gambar 2. Persentase aktivitas fagositik (PA) leukosit benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* dengan penambahan vitamin C dalam pakan pelet dengan dosis yang berbeda.



- Setiap nilai yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata ( $P>0,05$ )

Gambar 3. Nilai indeks fagositik (PI) leukosit benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* dengan penambahan vitamin C dalam pakan pelet dengan dosis yang berbeda.

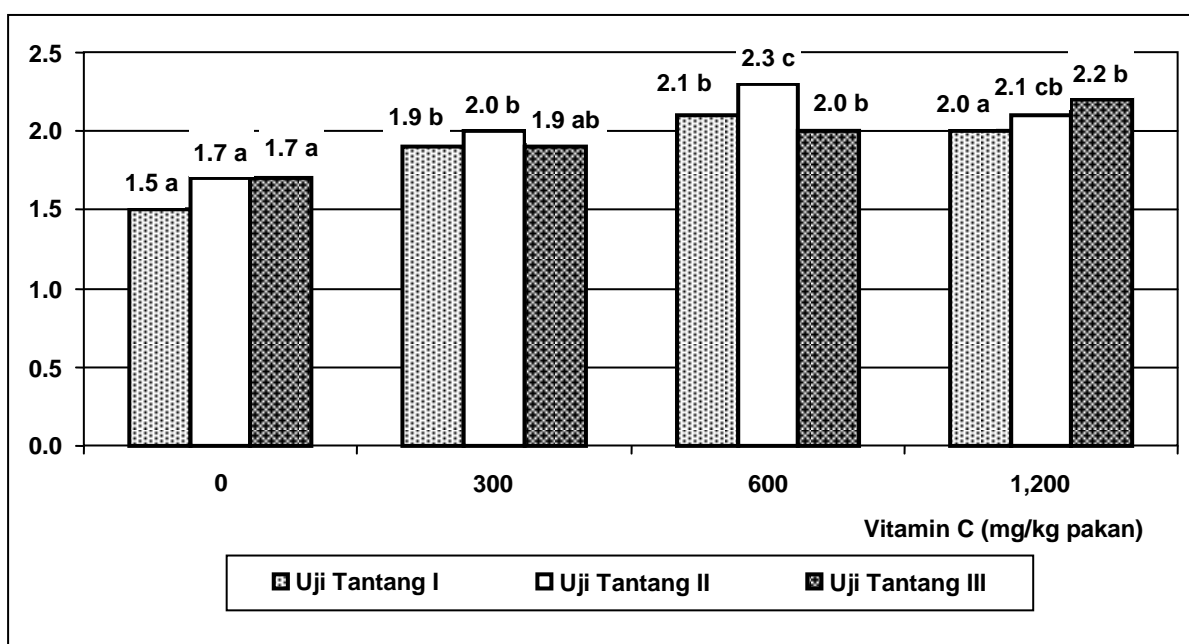
Aktivitas fagositik (PA) adalah suatu kegiatan sel-sel fagosit untuk melakukan fagositosis dalam suatu sistim kekebalan non-spesifik, dengan melibatkan sel mononuklier (monosit dan makrofag), granulosit (neutrofil), dan limfosit. Fagosit mempunyai kemampuan intrisik untuk mengikat mikroorganismenya secara langsung. Fagositosis yang efektif pada invasi kuman dini akan dapat mencegah timbulnya infeksi. Dalam kerjanya, sel fagosit juga berinteraksi dengan komplemen dan sistim kekebalan spesifik. Monosit ditemukan dalam sirkulasi, tetapi dalam jumlah yang lebih kurang dibanding neutrofil. Sel-sel tersebut bermigrasi ke jaringan dan disana berdiferensiasi menjadi makrofag yang seterusnya hidup dalam jaringan. Makrofag dapat hidup lama, mempunyai beberapa granula dan melepas berbagai bahan, antara lain lisosim, komplemen, interferon dan sitokin yang semuanya memberikan kontribusi dalam sistim kekebalan non-spesifik dan spesifik (Post, 1987; Tizard, 1988; Stoskopf, 1993; Secombes, 1996; Baratawidjaja, 2002).

Nilai indeks fagositik (PI) yang diperoleh pada Gambar 3 setelah uji tantang I (20 hari perlakuan) tertinggi dengan

penambahan vitamin C dosis 1.200 mg/kg pakan dan kontrol (1,6) diikuti dosis 300 dan 600 mg/kg pakan (1,5). Nilai PI tertinggi setelah uji tantang II (40 hari perlakuan) adalah pada penambahan vitamin C dosis 1.200 mg/kg pakan (1,7), diikuti dosis 600 mg/kg pakan (1,6), dosis 300 mg/kg pakan dan kontrol (1,5). Setelah uji tantang III (60 hari perlakuan) nilai PI tertinggi pada penambahan vitamin C dosis 1.200 mg/kg pakan dan kontrol (1,6), diikuti dosis 300 dan 600 mg/kg pakan (1,5). Secara statistik nilai PI tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ).

Pada percobaan lainnya dengan menggunakan benih ikan kerapu lumpur, *epinephelus coioides* penambahan vitamin C dalam pakan (1.000 mg vitamin C/kg pakan) dan penambahan kombinasi vitamin C dengan imunostimulan (1.000 mg vitamin C + 1 mL bakterin/kg pakan) memberikan nilai PI (1,8) lebih baik dibanding kontrol sebesar 1,6 (Johnny *et al.* 2005).

Nilai diameter cakram aktivitas lisosim (LA) yang diperoleh setelah penambahan vitamin C dalam pakan (Gambar 4) menghasilkan nilai LA tertinggi pada uji tantang I (20 hari perlakuan) dengan penambahan vitamin C dosis 600 mg/kg



• Setiap nilai yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata ( $P>0,05$ )

Gambar 4. Diameter cakram aktivitas lisosim (LA) plasma benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* dengan penambahan vitamin C dalam pakan pelet dengan dosis yang berbeda.

pakan (2,1 cm) diikuti dosis 1.200 mg/kg pakan (2 cm), dosis 300 mg/kg pakan (1,9 cm), dan kontrol (1,5 cm). Nilai LA tertinggi pada ujiantang II (40 hari perlakuan) adalah pada penambahan vitamin C dosis 600 mg/kg pakan (2,3 cm), diikuti dosis 600 mg/kg pakan (2 cm), dan kontrol (1,5 cm). Setelah ujiantang III (60 hari perlakuan) nilai LA tertinggi penambahan vitamin C dosis 1.200 mg/kg pakan (2,2 cm), diikuti dosis 600 mg/kg pakan (2 cm), dosis 300 mg/kg pakan (1,9 cm), dan kontrol (1,7 cm). Secara statistik nilai diameter cakram LA tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ).

Johnny *et al.* (2005) melaporkan bahwa penambahan vitamin C dan kombinasi vitamin C dengan imunostimulan pada benih ikan kerapu lumpur, *Epinephelus coioides* berpengaruh terhadap respon imun non-spesifik. Penambahan 1.000 mg vitamin C + 1 mL bakterin memberikan nilai LA lebih tinggi (2 cm) dibandingkan penambahan 1.000 mg vitamin C (1,9 cm) dan kontrol (1,3 cm). Setelah dilakukan ujiantang dengan virus irido pada hari ke-60 setelah perlakuan, sintasan tertinggi diperoleh pada penambahan 1.000 mg vitamin C + 1 mL bakterin/kg pakan (76,7%), diikuti penambahan 1.000 mg vitamin C/kg pakan (68,3%) dan kontrol (48,3%).

Lisosim adalah enzim hidrolitik yang ada di dalam lendir, serum dan sel-sel fagositik dari pelbagai spesies ikan. Kemungkinan zat ini memberikan daya pertahanan yang penting terhadap patogen mikrobik. Neutrofil dan monosit dari ikan-ikan mengandung lisosim dalam sitoplasmanya dan lisosim serum mungkin berasal dari leukosit-leukosit tersebut. Lisosim mempunyai aktivitas biologi sebagai mukopeptidase yang menghidrolisa peptidoglikan dinding sel bakteri, hilangnya struktur, dan sel menjadi sensitif terhadap lisis osmotik (Ellis, 1993; Yano, 1996; Baratawidjaja, 2002).

## KESIMPULAN

Penambahan vitamin C dalam pakan pelet dengan dosis antara 600 – 1.200 mg/kg pakan dapat meningkatkan sintasan sampai

30%, meningkatkan aktifitas fagositik (PA) sebesar 13 – 15% dan aktivitas lisosim (LA) sebesar 2,0 – 2,2 cm. Benih ikan kerapu macan yang distimulir dengan vitamin C lebih tahan terhadap infeksi viral nervous necrosis (VNN).

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih diucapkan kepada saudara Putu Suarjana dan Slamet Haryanto selaku Teknisi Laboratorium Patologi yang telah banyak membantu penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arimoto, M., K. Mori, T. Nakai, K. Muroga dan I. Furusawa (1993). Pathogenicity of the causative agent of viral nervous necrosis disease in striped jack, *Pseudocaranx dentex* (Bloch and Schneider). *J. Fish Disease*, 16, 461 – 469.
- Baratawidjaja, K.G., 2002. *Imunologi Dasar Edisi Kelima*. Balai Penerbit FK-UI. Jakarta. 457 hal.
- Ellis, A.E. 1993. Lysozyme assays, halaman: 101-103. Dalam Stolen *et al.* (Editor). *Techniques in Fish Immunology-1*. Sos Publications, Fair Haven, NJ 07760. USA.
- Giri, I.N.A, F. Johnny, K. Suwirya dan M. Marzuqi. 2003. Kebutuhan vitamin C untuk pertumbuhan dan meningkatkan ketahanan benih kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus*. Laporan Hasil Penelitian Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol-Bali TA. 2003. Halaman: 133-143.
- Halver, J.E. 1989. The Vitamin, halaman 32-101. Dalam Halver, J.E. (Editor) *Fish Nutrition; Second Edition*. Academic Press, Inc., San Diego, California.
- Johnny, F., Koesharyani, I., Roza, D., Tridjoko, N.A. Giri dan Suwirya, K. 2001. Respon ikan kerapu bebek,



- Cromileptes altivelis* terhadap imunostimulan peptidoglycan melalui pakan pelet. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia, 7(4):52-56.
- Johnny, F., Zafran, D. Roza dan I. N. A. Giri. 2002. Pengaruh vitamin C dalam pakan terhadap perubahan hemositologi ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. Aquaculture Indonesia. 3(1):27-34.
- Johnny, F., D. Roza, K. Mahardika, Zafran dan A. Prijono. 2004. Peningkatan kekebalan benih ikan kerapu lumpur, *Epinephelus coioides* terhadap infeksi iridovirus melalui manajemen lingkungan, penggunaan imunostimulan dan vaksin. Laporan Hasil Penelitian BBRPBL (tidak dipublikasikan). 14 halaman.
- Johnny, F., D. Roza, Zafran dan A. Prijono. 2005. Aplikasi vitamin C dan imunostimulan pada produksi benih ikan kerapu lumpur, *Epinephelus coioides* untuk meningkatkan sistim kebal ikan terhadap infeksi virus irido. Laporan Hasil Penelitian Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondolbali, T.A. 2005.
- Johnny, F. dan D. Roza. 2002. Pengaruh penyuntikan imunostimulan peptidoglikan terhadap peningkatan tanggap kebal non-spesifik ikan kerapu macan, *Epinephelus Fuscoguttatus*. Laporan Penelitian Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondolbali. 12 hal.
- Johnny, F. dan D. Roza. 2004. Pengaruh penyuntikan imunostimulan peptidoglikan terhadap peningkatan tanggap kebal non-spesifik ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus*. Jurnal Aquaculture Indonesia. Volume 5(2): 109-115.
- Johnny, F. dan D. Roza. 2005. Pengaruh vaksin viral nervous necrosis (VNN) terhadap kekebalan benih ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. Prosiding Seminar Nasional Perikanan Indonesia. STP Jakarta, 21-22 September 2005. Hal. 21-28.
- Klontz, G.W. 1997. Fish Hematology, halaman: 121-131. Dalam: J.S. Stolen, T.C. Fletcher, A.F. Rowley, J.T. Zelikoff, S.L. Kaattari dan S.A. Smith. (Editor). Techniques in Fish Immunology. SOS Publications.
- Koesharyani, I., Zafran, F. Johnny dan Tridjoko. 1999. Respon ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*, terhadap imunostimulan peptidoglycan melalui suntikan. Loka Penelitian Perikanan Pantai Gondol-Bali. Laporan Penelitian. 5 hal.
- Koesharyani, I., D. Roza, K. Mahardika, F. Johnny, Zafran dan K. Yuasa. 2001. Marine Fish and Crustaceans Diseases in Indonesia. Dalam K. Sugama, K. Hatai dan T. Nakai (Editor). Manual for Fish Disease Diagnosis II. 49 p. Gondol Research Station for Coastal Fisheries, CRIFI and Japan International Cooperation Agency.
- Lagler, K.F., J.E. Bardach, R.R. Miller dan D.R.M. Passino. 1977. Ichthyology. John Willey and Sons. Inc., New York-London. 506 pp.
- Mahardika, K., Zafran, F. Johnny dan D. Roza. 2004. Peningkatan imunitas benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* dengan aplikasi vitamin C dalam pakan. Laporan Teknis Proyek Riset Perikanan Budidaya Laut Gondolbali. T.A. 2004. Hal. 176-194.
- Mori, K., K. Mushiake dan M. Arimoto. 1998. Control measures for viral nervous necrosis in striped jack. Fish Pathologi, 33(4):443-444.
- Nakai, T., H.D. Nguyen, T. Nishizawa, K. Muroga, M. Arimoto dan Otsuki. 1994. Outbreaks of viral nervous necrosis in *Epinephelus moara* and tiger puffer *Takifugu rubripes*. Fish Pathology, (29):211-212.

- Rowley, A.F. 1993. Collection, separation and identification of fish leukocytes, halaman: 113-136. Dalam Stolen *et al.* (Editor). *Techniques in Fish Immunology-1*. Sos Publications, Fair Haven, NJ 07760. USA.
- Roza, D., K. Mahardika, F. Johnny, Zafran dan Tridjoko. 2002. Pengaruh lama perendaman dalam terhadap ketahanan juvenil kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* oleh infeksi viral nervous necrosis (VNN). Laporan Hasil Penelitian DIP 2002 Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol. Hal. 102-111..
- Roza, D., F. Johnny, K. Mahardika, Zafran dan Tridjoko. 2003. Penggunaan imunostimulan pada pemeliharaan larva dan benih ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. Laporan Teknis Proyek Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol, T.A. 2003. Hal. 39-59
- Roza, D., F. Johnny dan Tridjoko. 2004. Peningkatan imunitas yuwana ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* terhadap infeksi viral nervous necrosis (VNN) dengan cara vaksinasi melalui perendaman. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* Vol. 10 No.1 Tahun 2004. Hal. 61-70.
- Roza, D., F. Johnny dan Tridjoko. 2005. Peningkatan imunitas juvenil ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* terhadap infeksi viral nervous necrosis (VNN) dengan cara vaksinasi melalui perendaman. *Jurnal Perikanan*, 8(1): 143-153.
- Rukyani, A., E. Silvia, A. Sunarto dan Taukhid. 1997. Peningkatan respon kebal non-spesifik pada ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) dengan pemberian imunostimulan ( $\beta$ -glucan). *JPPi*, 2(1):1-10.
- Sandnes, J., 1991. Studies on vitamin C in fish Nutrition. Norway : Dept. Fisheries and marine Biology : Univ. of Bergen, 32pp.
- Secombes, C.J., 1996. The Nonspecific Immune System; Cellulae Defences halaman: 63-95. Dalam G. Iwana dan T. Nakanishi (Editor). *The Fish Immune System: Organism, Pathogen and Environment*. Academic Press. USA.
- Siwicki, A.K., dan Anderson, D.P. 1993. Immunostimulation in fish : Measures the effects of stimulants by serological and immunological methods, International Workshop and Training Course in Poland. 15 halaman.
- Stoskopf, M.K. 1993. *Fish Medicine*. W.B. Saunders Company. Philadelphia. Pennsylvania. 664 halaman.
- Thompson, K.D., Lilley, J.H., Chen, S.C., Adams, A. dan Richards, R.H. 1999. The immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Aphanomyces invadans*. *Fish & Shellfish Immunology*, 9;195-210.
- Tizard, I. 1988. *An introduction to veterinary immunology*. Terjemahan. Universitas Airlangga. Surabaya. 497 hal.
- Verlhac, V., A. Obach, J. Gabadan, W. Schuep dan R. Hole. 1998. Immunomodulation by dietary vitamin c and glucan in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, (8):409-424.
- Watanabe, K., S. Suzuki, T. Nishizawa, K. Suzuki, M. Yoshimizu dan Y. Ezura. 1998. Control strategy for viral nervous necrosis of barfin flounder. *Fish Pathology*, 33 (4):445-446.
- Yano, T. 1996. The Nonspecific Immune System; Humoral Defense, halaman 106-140. Dalam G. Iwana dan T. Nakanishi (Editor), *The Fish Immune System: Organism, Pathogen and Environment*. Academic Press., USA.

Zafran, I. Koesharyani, D. Roza, F. Johnny dan K. Yuasa. 1998. Peningkatan sintasan ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) dengan penambahan vitamin dan imunostimulan ke dalam pakan segar, halaman 165-168. Dalam A. Sudrajat, E.S. Heruwati, K. Sugama, A. Purnomo, Z.I. Azwar dan I.N.A. Giri.

(Editor) Seminar Teknologi Perikanan Pantai. Denpasar 6-7 Agustus 1998.  
Zafran, I. Koesharyani, F. Johnny, K. Mahardika dan K. Hatai. 2000. Viral nervous necrosis in humpback grouper, *Cromileptes altivelis* larvae and juveniles in Indonesia. Fish Pathology, 35(2):95-96, 2000.6.