

Full Paper

**PENGARUH HORMON LHRH-a DAN 17α -MT TERHADAP RESPON IMUN
NON-SPESTIFIK INDUK IKAN KERAPU LUMPUR, *Epinephelus coioides***

**THE INFLUENCE OF HORMONE LHRH-a AND 17α -MT ON NON-SPESTIFIC IMMUNE
RESPONSE OF ORANGE SPOT GROUPER BROODSTOCK, *Epinephelus coioides***

Fris Johnny^{*)}, Agus Priyono^{*)} dan Des Roza^{*)}

Abstract

The aim of this research was to find out the influence of the chronic hormone LHRH-a and 17α -MT on non-specific immune response of mangrove grouper, *Epinephelus coioides* broodstock. Female and male fish weight used in this experiment ranged 4.7-10.4 kg and 10.4-17.8 kg, respectively. The female fish were treated with hormone 17α -MT at a dosage of 50 μ g/kg body weight, while the male fish treated with hormone LHRH-a at dosages of 50 and 100 μ g/kg body weight. Fish were kept separately in two concrete tanks contained 100 m³ sea water, and 2 meters depth. The stocking density was 15 fishes/tank with male and female ratio 1 : 2. The blood samples were collected before treatment by hormone and every two months, subsequently. The non-specific immune response parameters evaluated were phagocytic activity (PA), phagocytic index (PI), and lysozyme activity (LA). Results indicated that chronic hormone could increase non-specific immune response especially phagocytic activity up to 17.3%.

Key words : chronic hormone, *Epinephelus coioides*, non-specific immune response

Pengantar

Di pembenihan Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol, Bali, saat ini telah berhasil diproduksi benih ikan kerapu lumpur, *Epinephelus coioides* sebagai sumber benih untuk budidaya di keramba jaring apung (KJA). Namun produktivitas induk masih mengalami kendala dengan terbatasnya induk yang berkualitas. Suatu upaya untuk meningkatkan produktivitas induk ikan kerapu lumpur adalah dengan implantasi hormon kronik (Priyono & Setiadharna, 2004). Hormon kronik diyakini dapat membantu mempercepat pematangan gonad dan pemijahan (Crim *et al.*, 1984; Lee *et al.*, 1986; Priyono *et al.*, 1990), juga berpengaruh terhadap keragaan respon imun non-spesifik (Secombes, 1988; 1996

Munoz-Cueto *et al.*, 1996; Narnaware *et al.*, 1997).

Hormon kronik secara alami langsung merangsang perkembangan gonad dan merupakan hormon utama yang dihasilkan oleh kelenjar gonad. Hormon ini disintesis dari kolesterol dengan bantuan enzim-enzim metabolik yang terdapat di dalam sel-sel yang menghasilkan hormon-hormon kronik. Sintesis hormon ini diatur oleh hormon-hormon dari kelenjar hipofisa yaitu *luteinizing hormone* (LH), *follicle stimulating hormone* (FSH), *adrenocorticotrophic hormone* (ACTH) dan *prolactin* (Lee *et al.*, 1986; Crim *et al.*, 1986).

Aplikasi hormon terhadap pematangan gonad telah banyak dilaporkan, namun pengaruh hormon kronik terhadap keraga-

^{*)} Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol P.O. Box 140 Singaraja, Bali 81101

^{*)} Penulis untuk korespondensi : E-mail : frisjravel@yahoo.com

an respon imun non-spesifik masih minim. Secombes (1988) melaporkan bahwa hormon kronik disamping berfungsi untuk mempercepat pematangan gonad ikan, juga dapat meningkatkan respon imun non-spesifik melalui peningkatan jumlah total leukosit. Dalam upaya peningkatan imunitas ikan yang berperan penting adalah sel darah putih atau leukosit. Kemampuan leukosit dapat ditingkatkan dengan imunostimulan, vitamin dan hormon (Anderson, 1974; Manning & Tatner, 1985; Post, 1987; Schubert, 1987; Andrew *et al.*, 1988; Secombes, 1988; Tizard, 1988; Brown, 1993; Klontz, 1994; Anderson, 1996).

Saat ini laporan percobaan tentang hubungan hormon dengan keragaan darah ikan di Indonesia sangat minim. Hormon kronik selain berfungsi untuk mempercepat proses pematangan gonad, juga diduga dapat meningkatkan respon imun non-spesifik ikan. Berdasarkan hal ini, sangat penting dilakukan percobaan untuk melihat pengaruh hormon kronik terhadap keragaan respon imun non-spesifik induk ikan kerapu lumpur.

Percobaan ini bertujuan untuk melihat pengaruh hormon kronik LHRH-a pada induk ikan kerapu lumpur betina dan hormon kronik 17α -MT pada induk jantan terhadap keragaan respon imun non-spesifik.

Bahan dan Metode

Ikan uji

Ikan uji adalah induk ikan kerapu lumpur jantan dengan bobot antara 10,4-17,8 kg dan panjang total antara 84-94 cm, dan induk ikan kerapu lumpur betina dengan bobot antara 4,7-10,4 kg dan panjang total antara 62-90 cm. Induk ikan dipelihara dalam 2 bak beton volume 100 m³ dengan kepadatan 15 ekor/bak, pergantian air antara 200-300% per hari, sistim air mengalir dan diaerasi. Ikan diberi pakan segar sekali per hari pada pagi hari sebanyak 3-5% berat biomas. Induk ikan

jantan diimplan dengan hormon 17α -MT dosis 50 dan 100 µg/kg bobot, induk betina diimplan dengan hormon LHRH-a dosis 50 µg/kg bobot. Hormon dibuat dalam bentuk pelet, kemudian diimplantasikan ke otot ikan kira-kira 5 cm dari sirip dorsal perbandingan induk jantan dengan betina adalah 1:2. Pada awal percobaan (bulan ke-0) dilakukan sampling pengambilan darah untuk uji hemositologi, dilanjutkan pada bulan ke-2, bulan ke-4, dan bulan ke-6.

Koleksi darah uji

Induk ikan kerapu lumpur dibius dengan bahan pembius phenoxy. Setelah ikan uji pingsan, sampel darah diambil melalui vena anterior sebanyak 1 ml dengan spuit plastik steril volume 3 ml yang di dalamnya telah berisikan antikoagulan *Heparin Leo* (Pharmaceutical, Denmark). Selanjutnya koleksi darah disimpan dalam boks styrofoam berisikan es, dan siap digunakan untuk uji-uji respon imun non-spesifik.

Pemisahan plasma

Koleksi darah yang telah disimpan dalam tabung mikro (ependorf) selanjutnya disedot dengan tabung kapiler plastik, ditutup dengan lilin lebah dan disentrifus pada kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Selanjutnya tabung kapiler dipotong dengan gunting pada batas leukosit dengan eritrosit, leukosit dikoleksi dan disimpan pada tabung mikro baru, kemudian leukosit ini siap digunakan untuk uji fagositosis (PA).

Sisa koleksi darah pada tabung mikro disentrifus dengan minisentrifus pada kecepatan 6.000 rpm selama 5 menit, setelah disentrifus dipisahkan plasma darah ke tabung mikro baru dengan mikropipet, kemudian plasma ini siap digunakan untuk uji aktivitas lisosim (LA).

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

Untuk uji PA dan PI dibutuhkan bahan enzim Zymosan A (produksi Sigma) yang

berasal dari *Saccharomyces cerevisiae*. Zymosan A diambil sebanyak 50 ml yang telah dilarutkan dengan larutan Phosphate Buffer Saline (PBS), dimasukkan ke dalam tabung mikro. Selanjutnya diambil leukosit yang telah disiapkan sebanyak 50 ml dan dicampurkan dengan Zymosan A, diaduk rata dengan mikropipet, disimpan pada suhu 25 °C selama 1 jam. Kemudian ditetaskan pada kaca slide, dibuatkan preparat ulas tipis, dilakukan pewarnaan darah dengan *May-Gruenwald's Solution Modified* dan *Gyemsa Solution 3%*. Uji PA dan PI menggunakan modifikasi dari metoda Siwicki & Anderson (1993) dan Ellis (1993). Aktivitas fagositik (PA) dan indeks fagositik (PI) dihitung berdasarkan rumus berikut:

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

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

Uji aktivitas lisosim (LA)

Mula-mula disiapkan media agar yang mengandung *Micrococcus lysodeikticus* (produksi Sigma) pada cawan petri. Cawan petri yang berisikan media agar, dibuatkan lubang kecil sebanyak tiga lu-

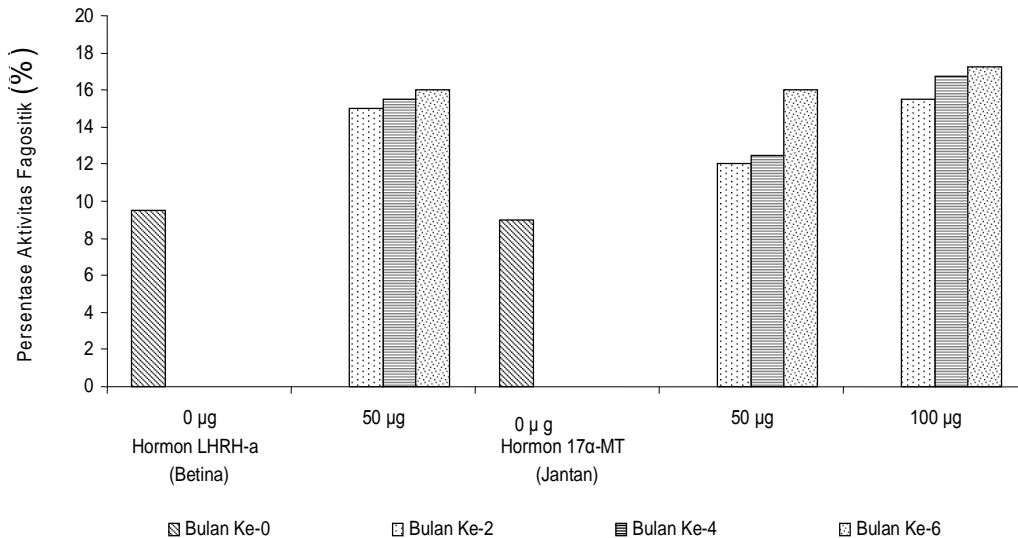
bang pada permukaan agar dengan menggunakan *straw*, dimasukkan sebanyak 10 µl plasma darah, dan pada lubang satunya dimasukkan *Chicken egg white lysozyme* (produksi Sigma) sebagai kontrol. Didiamkan dulu selama 10 menit pada suhu kamar, kemudian disimpan pada inkubator dengan suhu 25°C, dicek setiap hari dan diukur cakram zona aktivitas lisosim (LA), pengamatan dilakukan selama 3 hari. Pengujian LA menggunakan modifikasi dari metoda Rowley (1993) dan Klontz (1997). Nilai LA dihitung berdasarkan rumus berikut:

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

Hasil dan Pembahasan

Pengaruh hormon LHRH-a pada induk ikan kerapu lumpur betina dan hormon 17α-MT pada induk jantan terhadap keragaan persentase (%) aktivitas fagositik (PA) disajikan pada Gambar 1.

Pada Gambar 1, sebelum penggunaan hormon LHRH-a pada induk ikan kerapu lumpur kelamin betina (bulan ke-0) diperoleh nilai aktivitas fagositik (PA) sebesar 9,5%. Setelah penggunaan hor-



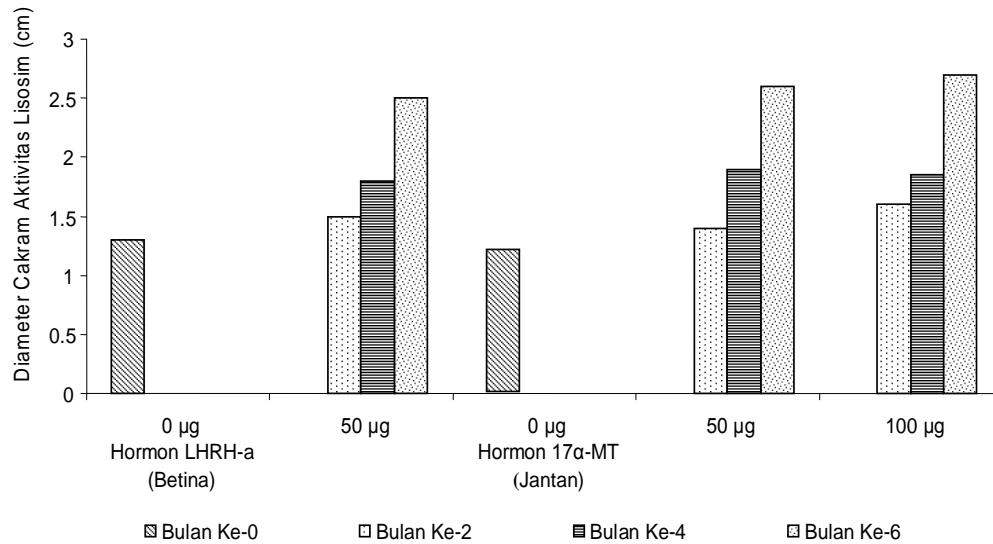
Gambar 1. Pengaruh hormon LHRH-a pada induk ikan kerapu lumpur betina dan hormon 17α-MT pada induk jantan terhadap persentase (%) aktivitas fagositik (PA).

mon LHRH-a pada induk ikan kerapu lumpur betina dengan dosis 50 µg/kg bobot pada bulan ke-2 diperoleh nilai PA sebesar 15,0%, bulan ke-4 sebesar 15,5%, dan pada bulan ke-6 sebesar 16,0%. Sedangkan pada induk ikan kerapu lumpur jantan, sebelum penggunaan hormon 17α-MT (bulan ke-0) diperoleh nilai PA sebesar 9,0%. Setelah implantasi hormon 17α-MT dosis 50 µg/kg bobot diperoleh nilai PA pada bulan ke-2 sebesar 12,0%, bulan ke-4 sebesar 12,5% dan pada bulan ke-6 sebesar 16,0%. Penggunaan hormon 17α-MT dosis 100 µg/kg bobot diperoleh nilai PA pada bulan ke-2 sebesar 15,5%, bulan ke-4 sebesar 16,8% dan pada bulan ke-6 sebesar 17,3%.

Penggunaan hormon kronik pada induk kerapu lumpur, baik hormon LHRH-a pada induk ikan kerapu lumpur betina maupun penggunaan hormon 17α-MT pada induk jantan, nampaknya terjadi kecenderungan peningkatan nilai PA seiring dengan pengulangan kembali implantasi maupun dengan peningkatan dosis. Pada induk betina, penggunaan hormon LHRH-a dengan dosis 50 mg/kg bobot tubuh terlihat peningkatan nilai PA dari bulan ke-2 sampai bulan ke-6. Demikian pula induk jantan, penggunaan hormon 17α-MT dosis 50 mg dan 100 mg/kg bobot terlihat nilai PA semakin meningkat dari bulan ke-2 sampai bulan ke-6. Penurunan nilai PA belum terlihat sampai bulan ke-6, dibandingkan dengan dosis 50 mg nilai PA dengan dosis 100 mg/kg bobot lebih tinggi. Hal ini, memperlihatkan bahwa hormon kronik dapat meningkatkan nilai PA induk ikan kerapu lumpur betina dan jantan. Pada percobaan lainnya, Johnny *et al.* (2000) melaporkan bahwa pemberian imunostimulan peptidoglikan dalam pakan dengan dosis 0,2 g/kg pakan pada benih ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* dapat meningkatkan nilai PA sebesar 8,8% dibanding kontrol sebesar 2,8%. Penyun-

tikan imunostimulan peptidoglikan pada benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* dosis 50 mg/kg ikan meningkatkan nilai PA sebesar 11,7% dibanding kontrol sebesar 6,7% (Johnny *et al.*, 2001). Dan penyuntikan imunostimulan bakterin dengan kepadatan 10⁷ cfu/ml dosis 0,1 ml/ekor pada benih ikan kerapu lumpur, *Epinephelus coioides* memberikan nilai PA sebesar 17,33% (Johnny & Roza, 2004). Penambahan vitamin B6 dalam pakan pelet dengan dosis 6 mg/100 g pakan pada benih ikan kerapu bebek memberikan nilai PA sebesar 10,08% dibanding kontrol sebesar 7,25% (Johnny *et al.*, 2005), dan pada jenis ikan yang sama penyuntikan peptidoglikan secara intraperitoneal dengan dosis 200 mg/kg bobot memberikan nilai PA sebesar 20% dan kontrol sebesar 10% (Johnny & Roza, 2005).

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 mikroorganisme 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 sedikit 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 (Tizard, 1988; Stoskopf, 1993; Secombes, 1996; Baratawidjaja, 2002).



Gambar 2. Pengaruh hormon LHRH-a pada induk ikan kerapu lumpur betina dan hormon 17α-MT pada induk jantan terhadap keragaan indeks fagositik (PI).

Sebelum penggunaan hormon LHRH-a pada induk ikan kerapu lumpur betina (bulan ke-0) diperoleh nilai indeks fagositik (PI) sebesar 1,4 (Gambar 2). Setelah penggunaan hormon LHRH-a pada induk ikan kerapu lumpur kelamin betina dengan dosis 50 mg/kg bobot pada bulan ke-2 diperoleh nilai PI sebesar 1,8, bulan ke-4 sebesar 1,9, dan pada bulan ke-6 sebesar 1,7. Sedangkan pada induk ikan kerapu lumpur kelamin jantan, sebelum penggunaan hormon 17α-MT (bulan ke-0) diperoleh nilai PI sebesar 1,5. Setelah implantasi hormon 17α-MT dosis 50 mg/kg bobot diperoleh nilai PI pada bulan ke-2 sebesar 1,7 bulan ke-4 sebesar 1,8 dan pada bulan ke-6 sebesar 1,7. Penggunaan hormon 17α-MT dosis 100 mg/kg bobot diperoleh nilai PI pada bulan ke-2 sebesar 1,75, bulan ke-4 sebesar 1,75 dan pada bulan ke-6 sebesar 1,7.

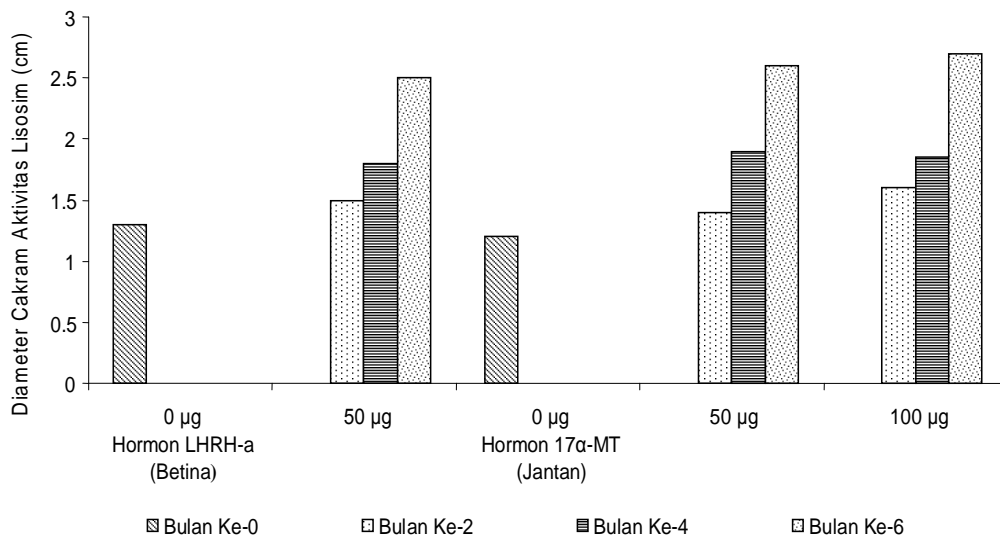
Hasil yang diperoleh pada Gambar 2, memperlihatkan bahwa penggunaan hormon berdasarkan pengulangan dan peningkatan dosis memberikan nilai PI maksimal pada bulan ke-4, namun pada bulan ke-6 terlihat penurunan nilai PI. Indeksi fagositik merupakan perbandingan jumlah agen patogen (digunakan Zymozan

A) dibandingkan dengan jumlah sel fagosit yang ditemukan. Artinya, bisa saja sel fagosit yang melakukan fagositosis ditemukan dalam jumlah yang banyak, akan tetapi kemampuan fagositosisnya bisa saja rendah. Dalam percobaan ini, ditemukan satu sel fagosit yang melakukan fagositosis 4-6 sel Zymozan A, akan tetapi setelah dilakukan penghitungan rata-rata satu sel fagosit melakukan fagositosis sebesar 1,9 pada penggunaan hormon LHRH-a dosis 50 mg/kg bobot pada induk ikan kerapu lumpur kelamin betina sampai bulan ke-4, satu sel fagosit melakukan fagositosis sebesar 1,8 pada penggunaan hormon 17α-MT dosis 50 mg/kg bobot pada induk ikan kerapu lumpur kelamin jantan sampai bulan ke-4, dan sebesar 1,75 pada penggunaan hormon 17α-MT dosis 100 mg/kg bobot pada induk ikan kerapu lumpur kelamin jantan sampai bulan ke-4. Dibandingkan antara induk kelamin betina dan kelamin jantan, nilai PI yang diperoleh lebih tinggi pada induk kelamin betina (1,9 pada bulan ke-4) dibanding induk kelamin jantan (1,8 dosis 50 mg dan 1,75 dosis 50 mg/kg). Penggunaan hormon 17α-MT pada induk kelamin jantan juga mengalami perbedaan, penggunaan dosis 50 g memberikan

nilai PI lebih tinggi (1,8) dibanding dengan dosis 100 µg/kg bobot (1,75). Pada percobaan sebelumnya (Johnny *et al.*, 2005) melaporkan bahwa penambahan vitamin B6 dalam pakan pelet dengan dosis 6 mg/100 g pakan pada benih ikan kerapu bebek memberikan nilai PI sebesar 1,98 dibanding kontrol sebesar 1,67. Penyuntikan imunostimulan peptidoglikan secara intra peritoneal dengan dosis 200 mg/kg bobot pada benih ikan kerapu bebek memberikan nilai PI sebesar 2,1 dibanding kontrol sebesar 1,5 (Johnny & Roza, 2005). Hormon LHRH-a merupakan hormon gonadotropin yaitu hormon-hormon yang menunjang aktivitas gonad, dan dihasilkan oleh kelenjar hipofisa anterior. Hormon LHRH-a dalam fungsinya mematangkan gonad, secara tidak langsung menstimulir pembuluh limfe dan sumsum tulang belakang untuk meningkatkan leukositosis. Efek tak langsung hormon LHRH-a juga meningkatkan sistim fagositik mononukleus (Secombes, 1988). Leukositosis adalah suatu gambaran darah berupa peningkatan jumlah absolut dari sel-sel leukosit. Efek tak langsung dari hormon ini terlihat meningkatnya jumlah leukosit pada masa birahi dan pe-

matangan gonad. Leukosit merupakan salah satu jenis sel darah yang mempunyai peran sangat penting dalam sistem tanggap kebal ikan, dan akan meningkat secara pesat apabila terjadi suatu infeksi (Anderson, 1974; Manning & Tatner; 1985; Secombes, 1988; Tizard, 1988; Nabib & Pasaribu, 1989; Anderson, 1996). Leukosit adalah sistim pertahanan tubuh terhadap infeksi patogen (Anderson, 1974; Manning & Tatner, 1985; Post, 1987; Brown, 1993; Stoskopf, 1993; Anderson, 1996; Klontz, 1994; Dharmawan, 2002).

Diameter cakram nilai aktivitas lisosim (LA) yang diperoleh disajikan pada Gambar 3, sebelum penggunaan hormon LHRH-a pada induk ikan kerapu lumpur kelamin betina (bulan ke-0) diperoleh nilai LA sebesar 1,3 cm. Setelah penggunaan hormon LHRH-a pada induk ikan kerapu lumpur kelamin betina dengan dosis 50 mg/kg bobot pada bulan ke-2 diperoleh nilai LA sebesar 1,5 cm, bulan ke-4 sebesar 1,8 cm dan pada bulan ke-6 sebesar 2,5 cm. Sedangkan pada induk ikan kerapu lumpur kelamin jantan, sebelum penggunaan hormon 17α-MT (bulan ke-0) diperoleh nilai LA sebesar 1,2 cm. Setelah implantasi hormon 17α-MT



Gambar 3. Pengaruh hormon LHRH-a pada induk ikan kerapu lumpur betina dan hormon 17α-MT pada induk jantan terhadap keragaan diameter cakram (cm) aktivitas lisosim (LA).

dosis 50 mg/kg bobot diperoleh nilai LA pada bulan ke-2 sebesar 1,4 cm, bulan ke-4 sebesar 1,9 cm dan pada bulan ke-6 sebesar 2,6 cm. Penggunaan hormon 17α -MT dosis 100 mg/kg bobot dosis 100 μ g/kg bobot diperoleh nilai LA pada bulan ke-2 sebesar 1,6 cm, bulan ke-4 sebesar 1,85 cm dan pada bulan ke-6 sebesar 2,7 cm. Dari percobaan ini terlihat bahwa implantasi hormon pada induk ikan kerapu lumpur betina dan jantan menghasilkan nilai LA semakin meningkat dengan pengulangan implantasi dan peningkatan dosis hormon. Nilai LA masih meningkat sampai bulan ke-6, dapat dinyatakan bahwa penggunaan hormon pada induk ikan kerapu lumpur berpengaruh terhadap respon imun non-spesifik dan meningkatkan nilai LA.

Lisosim adalah enzim hidrolitik yang ada di dalam lendir, serum dan sel-sel fagositik dari pelbagai spesies ikan. Kemungkinan zat ini memberikan daya kekebalan yang penting terhadap patogen mikrobik. Neutrofil dan monosit dari ikan-ikan mengandung lisosim dalam sitoplasmanya dan lisosim serum mungkin berasal dari leukosit-leukosit tersebut (Ellis, 1993). Upaya peningkatan kekebalan pada ikan budidaya laut sudah banyak dilaporkan. Matsuyama *et al.* (1992) melaporkan bahwa penyuntikan imunostimulan Schizophyllan derivat dari *Schizophyllum commune* dan β -glucan derivat dari *Sclerotium glaucum* secara intraperitoneal dengan dosis 2-10 mg/kg dapat meningkatkan daya tahan ikan yellowtail, *Seriola quinqueradiata* terhadap infeksi bakteri *Streptococcus* sp. Pada hewan air, pemberian imunostimulan β -1,3/1.6-glucans dapat meningkatkan daya tahan ikan terhadap infeksi mikroba (Raa *et al.*, 1992). Penyuntikan yeast glucan pada ikan Atlantic salmon, *Salmo salar* L. dapat meningkatkan daya tahan ikan terhadap infeksi bakteri patogen. Pemberian peptidoglikan derivat *Bifidobacterium thermophilum* dengan dosis 60 mg PG/kg bobot badan per hari, dapat meningkatkan daya tahan ikan Rainbow

Trout terhadap infeksi bakteri *Vibrio anguillarum* (Matsuo & Miyazono, 1993). Selanjutnya pemberian LPS, laminaran dan sulphated laminaran (β (1,3)-D-glucan) dapat meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag ikan Atlantic salmon (Dalmo & Seljelid, 1995). Aktivitas lisosim pada ikan turbot, *Scophthalmus maximus* L., meningkat pesat setelah penyuntikan β -glucan (Santarem *et al.*, 1997). Pada ikan Atlantic cod, *Gadus morhua* L., penyuntikan imunostimulan β (1,3)-D-glucan (laminaran) dapat meningkatkan kekebalan ikan tersebut terhadap infeksi bakteri *Aeromonas salmonicida* dan *Vibrio salmonicida* (Dalmo *et al.*, 1998). Penyuntikan M-glucan secara intraperitoneal dengan dosis 640 mg/ml pada ikan yellowtail, *Seriola quinqueradiata* dapat meningkatkan daya tahan ikan terhadap infeksi bakteri *Vibrio anguillarum* (Kawakami *et al.*, 1998). Pada ikan turbot, *Scophthalmus maximus* L. β -glucan dapat meningkatkan kekebalan (Figueras *et al.*, 1998).

Pada percobaan sebelumnya, Johnny *et al.* (2001) melaporkan bahwa pemberian imunostimulan peptidoglikan dalam pakan dengan dosis 0,2 g/kg pakan pada benih ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* dapat meningkatkan nilai LA sebesar 1,92 cm dibanding kontrol sebesar 1,72 cm. Penyuntikan imunostimulan peptidoglikan pada benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* dosis 100 mg/kg ikan meningkatkan nilai LA sebesar 1,81 cm dibanding kontrol sebesar 1,46 cm (Johnny *et al.*, 2001). Penyuntikan imunostimulan bakterin dengan kepadatan 10^7 cfu/ml dosis 0,1 ml/ekor pada benih ikan kerapu lumpur, *Epinephelus coioides* memberikan nilai LA sebesar 1,97 cm (Johnny & Roza, 2004). Penambahan vitamin B6 dalam pakan pelet dengan dosis 6 mg/100 g pakan pada benih ikan kerapu bebek memberikan nilai LA sebesar 1,38 cm dibanding kontrol sebesar 1,08 cm (Johnny *et al.*, 2005), dan pada jenis ikan yang sama penyuntikan peptidoglikan secara intraperitoneal dengan dosis 200

mg/kg bobot memberikan nilai LA sebesar 1,8 cm dan kontrol sebesar 1,2 cm (Johnny & Roza, 2005).

Kesimpulan

Penggunaan hormon kronik LHRH-a pada induk ikan kerapu lumpur kelamin betina dengan dosis 50 µg/kg bobot dan hormon kronik 17α-MT pada induk kerapu lumpur kelamin jantan dengan dosis 50-100 µg/kg bobot berpengaruh terhadap keragaan respon imun non-spesifik dan dapat meningkatkan nilai persentase aktivitas fagositik (PA) sampai 17,3% serta diameter cakram aktivitas lisosim (LA) sampai 2,7 cm.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada saudara Agus Supriatna dan Ahmad Zaelani teknisi induk ikan kerapu lumpur, serta saudara Putu Suarjana dan Slamet Haryanto teknisi Laboratorium Patologi atas kelancaran penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Anderson, D.P. 1974. Fish immunology. T.F.H. Publication Inc. Ltd. U.S.A. 239p.
- Anderson, D.P. 1996. Environmental factors in fish health: immunological aspects. *In: The fish immune system: organism, pathogen and environment.* G. Iwama and T. Nakanishi (Eds.). Academic Press, USA. 289-310.
- Anderson, D.P. and A.K. Siwicki. 1995. Basic haematology and serology for fish health programs. *In: Diseases in Asian Aquaculture II.* M. Syariff, J.R. Arthur and R.P. Subasinghe (Eds.). Fish Health Section. Asian Fisheries Society. Manila. Philippines.:185-202.
- Andrew, C., A. Exell, and N. Carrington. 1988. The fish immune system. *In:*

The manual of fish health. Iwama, and T. Nakanishi. (Eds.). Academic Press, Inc. USA.: 208.

- Baratawidjaja, K.G. 2002. Immunologi dasar. Edisi Kelima. Balai Penerbit FK-UI. Jakarta. 457p.
- Brown, L. 1993. Aquaculture for veterinarians: fish husbandary and medicine. Pergamon Press Ltd. USA. 447 p.
- Crim, L.W., N.M. Serwood and C.E. Wilson. 1984. Sustained hormone release II effectiveness of LHRH analogue (LHRH) administration by either single time injection or cholesterol pellet implantation on plasma. Gonadotropin levels in abrayssay model fish, the juvenile rainbow trout. *Aquaculture.* 74: 87-95.
- Dharmawan, N.S. 2002. Pengantar patologi klinik veteriner : Hematologi klinik. Universitas Udayana. Denpasar. 111p.
- Dalmo, R.A. and R. Seljelid. 1995. The immunomodulatory effect of LPS, laminaran and sulphated laminaran {(1,3)-D-glucan} on Atlantic salmon, *Salmo salar* L., macrophages *in vitro*. *J. Fish Diseases.* 18:175-185.
- Dalmo, R.A., B. Martinsen, T.E. Horsberg, A. Ramstad, C. Syvertsen, R. Seljelid and K. Ingebrigtsen. 1998. Prophylactic effect of β(1,3)-D-glucan (laminaran) against experimental *Aeromonas salmonicida* and *Vibrio salmonicida* infection. *J. Fish Disease.* 21:459-462.
- Ellis, A.E. 1993. Lysozyme assays. *In: Techniques in fish immunology-1.* Stolen, J.S., T.C. Fletcher, A.F. Rowley, J.T. Zelikoff, S.L. Kaattari, S.A. Smith. (Eds.). Sos Publications, Fair Haven, NJ 07704-3303. USA.: 101-103.

- Figueras, A., M.M. Santarem and B. Novoa. 1998. Influence of the sequence of administration of β -glucans and *Vibrio damsela* vaccine on the immune response of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 64:59-68.
- Johnny, F., I. Koesharyani, D. Roza, Tridjoko, N.A. Giri, dan K. Suwirya. 2001. Respon ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* terhadap imunostimulan peptidoglycan melalui pakan pelet. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. VII(4): 52-56.
- 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, Gondol. 12 p.
- Johnny, F. dan D. Roza. 2004. Pengaruh penyuntikan imunostimulan peptidoglikan terhadap peningkatan tanggap kebal non-spesifik ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus*. *Jurnal Aquaculture Indonesia*. 5(2): 109-115.
- Johnny, F., N.A. Giri, K. Suwirya dan D. Roza. 2005. Pengaruh vitamin B₆ dalam pakan terhadap sistim kekebalan benih ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 11(1):73-79.
- Johnny, F. dan D. Roza. 2005. Aplikasi imunostimulan pada pemeliharaan benih ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis* di hatcheri untuk pencegahan infeksi viral nervous necrosis (VNN). *Jurnal Medicine Veteriner Indonesia*. 9(1): 14-21.
- Kawakami, H., N. Shinohara and M. Sakai. 1998. The non-specific immunostimulation and adjuvant effects of *Vibrio anguillarum* bacterin, M-glucan, chitin and Freud's complete adjuvant against *Pasteurella piscicida* infection in yellowtail. *Fish Pathology*, 33(4):287-292.
- Klontz, G.W. 1997. Fish hematology. *In: Techniques in fish immunology-3* (2nd ed). Stolen, J.S., T.C. Fletcher, A.F. Rowley, J.T. Zelikoff, S.L. Kaattari, S.A. Smith. (Eds.). SOS Publications, Fair Haven, NJ 07704-3303. USA. : 121-131.
- Lee, C.S., C.S. Tamaru, and C.D. Kelly. 1986. Technique for making chronic release LHRH-a and 17 α MT pellet for intramuscular implantation in fishes. *Aquaculture*. 59:161-168.
- Manning, M.J. and M.F. Tatner. 1985. *Fish immunology*. Academic Press Inc. London. 369 p.
- Matsuo, K. and I. Miyazono. 1993. The influence of long-term administration of peptidoglycan on disease resistance and growth of juvenile rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 59(8):1377-1379.
- Matsuyama, H., R.E.P. Mangindaan and T. Yano. 1992. Protective effect of schizophyllan and scleroglucan against *Streptococcus* sp. infection in yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture*. 10:197-203.
- Munoz-Cueto, J.A., J.P. Martinez-Barbera, C. Pendon, R.B. Rodriguez, and C. Sarasquete. 1996. Autoradiographic localization of growth hormone binding sites in *Sparus aurata* tissues using a recombinant gilthead seabream growth hormone. *Comp.-Biochem. Physiol.-C*. 114C(1):17-22.

- Nabib, R., dan F.H. Pasaribu. 1989. Bahan pengajaran patologi dan penyakit ikan. Dept. P&K. Ditjen. Pendidikan Tinggi. PAU Bioteknologi-IPB. Bogor. 158 p.
- Narnaware, Y.K., S.P. Kelly, and N.Y.S. Woo. 1997. Effect of injected growth hormone on phagocytosis in silver seabream, *Sparus sarba* adapted to hyper and hypo osmotic salinities. *Fish-Shellfish-Immunol.* 7(7):515-517.
- Post, G. 1987. Textbook of fish health. T.F.H. Publications Inc. USA. 288 p.
- Priyono, A., G.S. Sumiarsa dan Z.I. Azwar. 1990. Implantasi hormon LHRH-a dan 17 alfa methyltestosterone untuk pematangan gonad calon induk bandeng *Chanos chanos*. *J. Penelitian Budidaya Pantai.* 6(1):20-23.
- Priyono, A. dan T. Setiadharna. 2004. Pematangan dan pemijahan induk kerapu lumpur dengan chronik hormon LHRH-a dan 17 α -MT. Laporan Riset BBRPBL Tahun 2004. Hal. 256-269.
- Raa, J., G. Roerstad, R. Engstad and B. Robertsen. 1992. The use of immunostimulants to increase resistance of aquatic organisms to microbial infections. *In: Diseases in Asian Aquaculture.* I.M. Shariff, R.P. Subasinghe & J.R. Arthur (Eds.). Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 39-50.
- Rowley, A.F. 1993. Collection, separation and identification of fish leucocytes. *In: Techniques in Fish Immunology-1.* Stolen, J.S., T.C. Fletcher, A.F. Rowley, J.T. Zelikoff, S.L. Kaattari, S.A. Smith. (Eds.). Sos Publications, Fair Haven, NJ 07704-3303. USA: 114-136.
- Santarem, M., B. Novoa and A. Figueras. 1997. Effect of β -glucan on the non-specific immune responses of turbot (*Schophthalmus maximus* L.). *Fish and selffish Immunology.* 7:429-437.
- Schubert, G. 1987. Fish diseases a complete introduction. T.F.H. Publications Inc. USA. 125 p.
- Secombes, C.J. 1988. Immune control of sexual maturation in fish. *In: Fish vaccination.* A.E. Ellis (Ed.). Academic Press. London: 237-247.
- Secombes, C.J. 1996. The nonspecific immune system; cellulae defences. *In: The fish immune system: organism, pathogen and environment.* G. Iwama and T. Nakanishi (Eds.), Academic Press. USA: 63-95.
- Shedpure, M. and A. K. Pati. 1996. Do thyroid and testis modulate the effect of pineal and melatonin on haemopoietic variables in *Clarias batrachus*. *J. Biosci.* 21(6):797-808.
- Siwicki, A.K., and D.P. Anderson. 1993. Immunostimulation in fish; measures the effects of stimulants by serological and immunological methods. International Workshop and Training Course in Poland. 15 p.
- Stoskopf, M.K. 1993. Fish medicine. W.B. Saunders Company. Philadelphia. Pennsylvania. 664 p.
- Tizard, I. 1988. An introduction to veterinary immunology. (Pengantar imunologi veteriner. Diterjemahkan oleh P. Masduki dan S. Hardjosworo). Universitas Airlangga. Surabaya. 497 p.