

MIKROALGA LAUT *Nannochloropsis Oculata* SEBAGAI ALTERNATIF ANTIVIRUS *Viral Nervous Necrotic* (VNN) PADA IKAN KERAPU TIKUS (*Cromileptes Altivelis*)

MARINE MICROALGAE *Nannochloropsis Oculata* OCULATA ANTI VIRUS AS AN ALTERNATIVE VIRAL NERVOUS NECROTIC (VNN) ON HUMPAK GROUPER (*Cromileptes altivelis*)

Ach. Khumaidi

Program Studi Budidaya Perikanan, Akademi Perikanan Ibrahimy, Situbondo.

Penulis Korespondensi : Email: ach.khumaidi@gmail.com

(Diterima Desember 2015/Disetujui Januari 2015)

ABSTRAK

Viral nervous necrotic (VNN) merupakan agen penyebab penyakit yang cukup berbahaya bagi keberlangsungan budidaya ikan Kerapu Tikus (*C. altivelis*). Dampak serangan virus ini mampu menyebabkan mortalitas hingga 100%. Untuk menanggulangi serangan VNN dapat digunakan bahan sumberdaya hayati yaitu *N. oculata*. Pemanfaatan mikroalga laut *N. oculata* mampu meningkatkan sistem imun, meningkatkan respon imun dengan cara meningkatkan ekspresi *Toll-like Receptor* (TLR), ekspresi *Major Histocompatibility Complex* (MHC), mampu menginduksi gen antivirus (P56), dan mampu memberikan efek anti-inflamasi. Dengan berbagai kemampuan tersebut, layak untuk dikembangkan pemanfaatan mikroalga laut *N. oculata* sebagai alternatif untuk menanggulangi serangan VNN pada *C. Altivelis*.

Kata kunci: *C. altivelis*, Virus ssRNA, VNN, *N. oculata*, antiviral.

ABSTRACT

Viral nervous necrosis (VNN) is the causative agent of the disease that quite dangerous for the survival of grouper farming (*C. altivelis*). Impacts this virus attacks are capable of causing up to 100% mortality. For overcome attack VNN can be used materials of biological resources is *N. oculata*. Utilization marine microalgae *N. oculata* were able to improve the immune system, boost the immune response by improving the expression of *Toll-like Receptor* (TLR) expression *Major Histocompatibility Complex* (MHC), were able to inducing antiviral genes (P56), and able to provide an anti-inflammatory effect. With these capabilities. Feasible to develop the utilization of marine microalgae *N. oculata* as an alternative to tackling VNN attack on *C. altivelis*.

Keywords: *C. altivelis*, ssRNA virus, VNN, *N. oculata*, antiviral.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara maritim yang memiliki diversitas budidaya ikan cukup banyak. Ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) merupakan salah satu produk unggulan budidaya perikanan Indonesia. *C. altivelis* menjadi unggulan dikarenakan berbagai kelebihan yang dimiliki, seperti permintaan yang cukup tinggi dari dalam maupun luar negeri serta harga jual ikan ini terbilang cukup tinggi. Selain dari kelebihan *C. altivelis*, ada kesulitan yang juga menjadi faktor penting keberhasilan dalam budidaya ikan ini yaitu serangan dari berbagai patogen yang dapat menyebabkan kegagalan dalam proses budidayanya. Beberapa agen penyebab penyakit adalah bakteri, jamur, parasit, dan virus.

Dari beberapa agen penyebab penyakit, virus merupakan agen yang cukup berbahaya. Salah satu virus yang dapat menyebabkan kegagalan budidaya *C. altivelis* adalah *Viral Nervous Necrosis*

To Cite this Paper : Khumaidi, A. 2016. Mikroalga Laut *Nannochloropsis Oculata* sebagai Alternatif Antivirus *Viral Nervous Necrotic* (VNN) Pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes Altivelis*). Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan, 7(1): 45-50.

Journal Homepage: <http://samakia.aperiki.ac.id>

(VNN)(Shetty *et al.*, 2012). VNN merupakan virus single stranded RNA. Virus ini menyerang *C. altivelis* pada stadia larva maupun juvenil dan dapat menyebabkan mortalitas yang cukup tinggi hingga 100% (Yuwanita dan Yanuhar 2013).

Serangan VNN menjadi masalah yang cukup serius dalam proses budidaya. Serangan VNN dapat menyebabkan kerusakan jaringan seperti hiperlasia, necrosis, hipertrofi, vakuolasi (Yuwanita dan Yanuhar 2013). Berbagai macam penelitian telah dilakukan, seperti penggunaan antibiotik dan penggunaan bahan-bahan alami. Penggunaan bahan berdasarkan sumberdaya hayati untuk pengelolaan kesehatan ikan merupakan cara yang lebih efektif daripada penggunaan antibiotik, dikarenakan sifat antibiotik yang dapat menimbulkan residu.

Mikroalga laut *Nannochloropsis oculata* merupakan salah satu sumberdaya hayati yang dapat digunakan untuk memelihara kesehatan ikan baik dari serangan bakteri maupun virus (Yanuhar, 2009; Yanuhar, 2011; Yanuhar, 2011, dan Yanuhar, 2015). *N. oculata* mengandung berbagai komponen penting seperti, -karoten, klorofil, violaxanthin, dan zeaxanthin (Cohen, 1999; Cao *et al.*, 2013). Pemanfaatan *N. oculata* mampu menjadi imunostimulan yang mampu meningkatkan sistem imun ikan dengan baik untuk menanggulangi serangan VNN pada ikan *C. altivelis*.

Sistem imun ikan hampir sama dengan organisme vertebrata pada lainnya yaitu terdiri dari sistem imun *innate* (bawaan) dan *adaptive* (dapat) (Tort *et al.*, 2003). Respon imun bawaan (*innate*) merupakan garis pertahanan pertama terhadap infeksi, memainkan peranan penting dalam ketahanan infeksi sebelum respon imun yang diperoleh (*adaptive*) diaktifkan. Dalam artikel ini dituliskan pengaruh pemanfaatan *N. oculata* dalam menstimulasi respon imun *C. altivelis* dalam menghadapi serangan VNN. Stimulasi sistem imun dibahas berdasarkan pada peningkatan fungsi reseptor, inducer gen antivirus P56.

MATERI DAN METODE

Metode yang digunakan dalam penulisan artikel ini adalah studi literature untuk menelusuri berbagai konsep dan teori dalam berbagai referensi buku, laporan penelitian, artikel jurnal yang disusun secara sistematis mengenai pemanfaatan mikroalga *N. oculata* sebagai bahan alternatif antivirus *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada ikan Kerapu Tikus (*C. altivelis*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

SISTEM IMUN *C. altivelis*

Secara fisiologis, sistem imun ikan hampir sama dengan vertebrata lainnya. Sistem kekebalan terdiri dari dua cabang, yaitu : (1) Sistem kekebalan bawaan adalah garis pertama pertahanan host terhadap patogen pengganggu. (2) Sistem kekebalan dapat (*adaptive*), yang ditandai dengan spesifisitas yang tinggi, terlibat dalam penghapusan patogen dalam tahap akhir dari infeksi dan pembentukan memori kekebalan. Dari tahap embrio ikan juga memanfaatkan sistem kekebalan bawaan dalam menghadapi serangan agen penyakit (Rombout *et al.*, 2005). Menurut Chen *et al.*, (2014) sistem kekebalan tubuh sangat kompleks dan terintegrasi, terdapat beberapa komponen yang memberikan cadangan jika komponen lain gagal.

Respon imun terbagi menjadi hambatan fisik, respon imun humoral dan seluler. Parameter imun ini yaitu inhibitor pertumbuhan, enzim litik, jalur komplemen klasik, alternatif dan jalur lektin, aglutinin dan presipitin (opsonin dan lektin primer), antibodi, sitokin, kemokin dan peptida antibakteri. Berbagai faktor internal dan eksternal juga dapat mempengaruhi respon imun pada tubuh ikan, seperti padat tebar dan perubahan suhu memiliki dampak penekanan terhadap respon imun, imunostimulan dan makanan tambahan juga mampu meningkatkan efisiensi respon imun (Magnadottir, 2010).

Ketika patogen menginfeksi inang, keberadaan patogen diakui oleh reseptor seluler yang memicu sel untuk melakukan tindakan untuk membatasi penyebaran patogen tersebut. Tindakan pencegahan ini meliputi sintesis protein efektor yang berfungsi di dalam sel dan sitokin yang disekresikan sebagai sinyal "alarm" untuk mengingatkan sel tetangga akan adanya bahaya.

Selain itu, sistem kekebalan tubuh *innate* (bawaan) memiliki spesialisasi sel efektor (seperti sel dendritik (DC), sel-sel pembunuh alami (NK) dan makrofag) yang siap untuk memerangi patogen. Sel efektor ini merupakan sebagian kecil dari jumlah sel dalam darah. Akan tetapi meskipun jumlahnya hanya sedikit, sel-sel ini mengitari jaringan perifer menuju tempat mereka menfagositosis partikel asing atau sel yang terinfeksi untuk mencari patogen.

Respon imun *adaptive* terbagi atas limfosit (B-dimediasi humoral) dan respon imun selular (T limfosit-dimediasi). Stimulasi dari sistem imun *innate* juga berdampak terhadap aktivasi respon imun *adaptive*. Keberadaan patogen ekstraseluler dan efek racunnya serta protein terlarut menjadi sasaran respon kekebalan humoral yang dimediasi oleh antibodi yang disekresi oleh reseptor sel B. Sebaliknya, infeksi patogen intraseluler dibersihkan oleh sel T, yang merupakan mediator dari respon imun yang diperantarai sel. Berbeda dengan reseptor sel B, reseptor sel T hanya mengakui peptida antigenik yang diproses oleh molekul *major histocompatibility complex* (MHC) yang diekspresikan oleh *antigen presenting cell* (APC). Setelah aktivasi, limfosit B dan T akan berproliferasi dan berdiferensiasi menjadi sel efektor, yang akan membersihkan infeksi. Respon imun adaptif terlibat dalam pembentukan memori imunologi yang berumur panjang, dan dapat memastikan respon imun antigen spesifik secara cepat dan kuat ketika bertemu (terpapar) kembali dengan patogen.

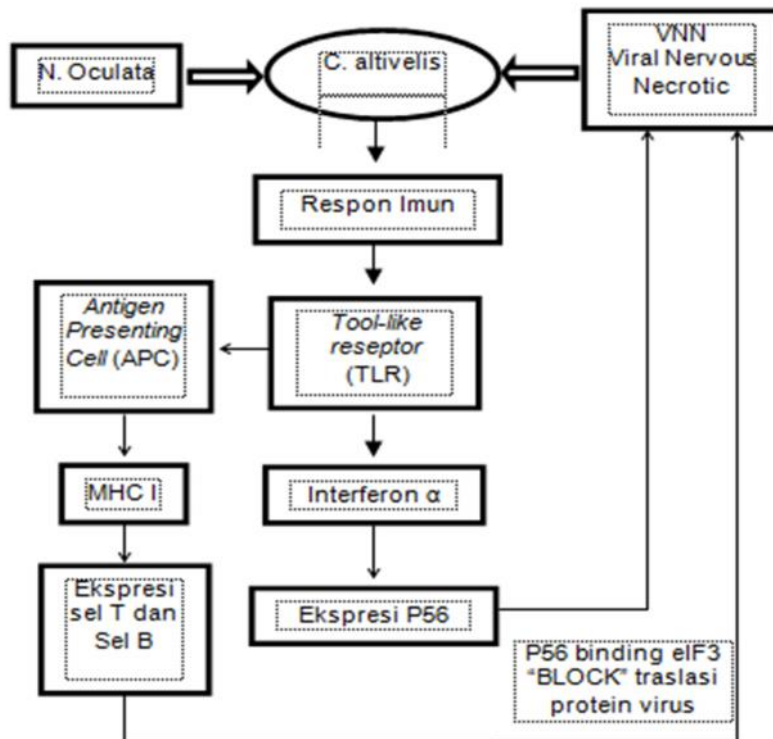
Menurut Janeway dan Medzhitov, (2000) dalam menghadapi serangan virus, respon imun bergantung pada pengenalan patogen. Pengenalan ini dilakukan oleh reseptor pengenalan pola (PRR) yang mampu mengenali molekul patogen atau yang biasa disebut *pathogen-associated molecular patterns* (PAMP). PRR mampu memicu berbagai respon imun bawaan termasuk jalur komplemen, apoptosis, aktivasi dan migrasi leukosit, dan produksi sitokin. Terdapat tiga macam reseptor pengenalan pola yang mampu mengenali komponen asam nukleat virus, yaitu *Toll-like reseptor* (TLR), *cytosolic retinoic acid inducible gene I (RIG- I) like reseptor* (RLR) dan *Nucleotide oligomerization domainlike reseptor* (NLR) (Harton *et al*, 2002; Inohara *et al*, 2001.).

PENGARUH *N. oculata* TERHADAP RESPON IMUN *C. altivelis*

Salah satu reseptor pengenalan pola yang banyak dipelajari adalah *Toll-like Receptor* (TLR), karena memiliki kemampuan mengenali berbagai macam ligan. TLR merupakan membran glikoprotein tipe I dengan struktur trimodular, yang ditandai dengan domain ekstraseluler yang mengandung berbagai jumlah yang kaya akan motif *leusin-repeat* yang bertanggung jawab untuk mendeteksi PAMP dan domain homolog sitoplasma ke daerah sitoplasma pada reseptor IL-1, yang dikenal sebagai Toll/IL-1 reseptor (TIR). Domain intraseluler ini diperlukan untuk interaksi dan perekrutan berbagai molekul adaptor untuk mengaktifkan jalur sinyal hilir (Kawai dan Akira, 2005; Kumar *et al*, 2009.). TLR diekspresikan pada berbagai sel kekebalan, termasuk sel dendritik, makrofag, dan sel-sel B. Akan tetapi, ekspresi dapat bervariasi tergantung pada status aktivasi atau subset sel. Ekspresi TLR telah diidentifikasi pada sel non-imun, seperti fibroblas dan sel epitel (Akira *et al*, 2006; Iwasaki dan Medzhitov, 2004). Menurut Routa *et al.*, terdapat 20 macam TLR yang memiliki spesifitas tersendiri dalam mengenali ligan untuk menghasilkan respon spesifik. seperti TLR4 akan berikatan dengan lipopolisakarida (LPS), TLR5 dan flagelin, TLR1/TLR2/TLR6 dan lipoprotein, serta TLR3/TLR7/TLR8/TLR9 dengan asam nukleat tertentu (Ehrentraut, 2011; Petry, 2006).

Semakin tinggi ekspresi TLR akan meningkatkan kecepatan respon imun ikan. Ekspresi TLR dapat distimulasi dengan pemberian protein dari luar. Mikroalga *N. oculata* memiliki kandungan protein yang cukup penting yang dapat digunakan sebagai antivirus. Salah satu protein tersebut adalah *peridinin chlorophyll protein* (PCP) (Kuntari, 2014). PCP diketahui mengandung enzim ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase (RubisCO) yaitu enzim yang berfungsi untuk fiksasi karbon. *Pirenoide* mempunyai fungsi fisiologis sebagai zat antioksidan, dimana *piridinin* merupakan senyawa yang melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas. Menurut Yanuhar, (2012) pemberian PCP dapat menjadi inducer pada ikan *C. altivelis* untuk menanggulangi serangan virus RNA (VNN), dimana protein tersebut mampu meregulatori viabilitas sistem imun sehingga dapat meningkatkan viabilitas atau ketahanan dan kelulusan hidup ikan Kerapu.

Berdasarkan hasil penelitian Komariah, (2014) menyebutkan bahwa pemberian PCP dengan dosis 304 µl dan diberikan melalui metode sonde pada *C. altivelis* mampu meningkatkan ekspresi TLR 7. Peningkatan ekspresi TLR 7 menjadi indikator peningkatan respon imun terhadap serangan virus RNA (VNN). TLR 7 memiliki spesifitas dalam mengenali asam nukleat virus single stranded RNA (VNN). Aktivasi TLR7 dalam mengaktifkan sel-sel kekebalan tubuh yaitu dengan merespon RNA virus beruntai tunggal. Stimulasi dari TLR7 akan mengikat molekul adaptor (MyD88) mengaktifkan IRAF dan TRAF6 yang kemudian mengaktifkan TANK/I-TRAF. Kemudian TANK berinteraksi dengan TBK1 dan IKK- untuk mengaktifkan IRF3. TLR7 juga mengaktifkan IRF7 melalui interaksi dengan MyD88, BTK dan TRAF6, sehingga merangsang respon antivirus dengan memproduksi IFN- (Interferon Alpha). Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa respon TLR yang lemah terhadap virus tertentu menyebabkan respon antibodi dan Th1 sangat minim, dan kombinasi mengarah ke infeksi virus secara persisten (Tail, 2008).



Gambar 1. Mekanisme pengaruh pemberian *N. oculata* terhadap sistem imun *C. altivelis* yang terinfeksi VNN

Selain peningkatan TLR, pemberian PCP juga mampu meningkatkan ekspresi *major histocompatibility complex* (MHC). Menurut Kuntari, (2014) pengiduksian PCP pada *C. altivelis* mampu meningkatkan ekspresi MHC I. Peningkatan ekspresi molekul MHC berkenaan dengan fungsi sel T dalam menjalankan fungsinya untuk mengeliminasi infeksi pada sel organisme. Menurut Munazir, (2001) sel T hanya akan mengenali sel yang terinfeksi jika terekpresi molekul MHC di permukaan sel, sebaliknya jika tidak terekpresi maka sel T tidak akan memberikan respon pada sel tersebut. Dengan meningkatnya ekspresi MHC ini menandakan semakin baiknya presentasi antigen yang akan mempercepat respon spesifik untuk mengeliminasi serangan virus RNA (VNN) (lihat gambar 1).

Peningkatan ekspresi TLR juga akan berdampak terhadap peningkatan ekspresi molekul-molekul atau gen-gen antivirus. Salah satu gen penting yang diekspresikan organisme dalam menghadapi serangan virus RNA (VNN) adalah gen P56 atau yang juga disebut dengan IFIT1/ISG56. Rima, (2013) membuktikan bahwa pemberian PCP dari *N. oculata* mampu meningkatkan ekspresi gen P56. Mekanisme terekpresi gen ini merupakan sinyal hilir dari pengenalan TLR terhadap PCP dan VNN. Sinyal dari TLR akan menstimulasi terekpresinya interferon yang juga merupakan sitokin antivirus. Ketika interferon terekspresi akan memodulasi kemunculan gen antivirus, salah satunya P56 (Li *et al.* 2009). Menurut (Fensterl dan Sen 2011) terekpresinya P56 dapat menimbulkan banyak efek pada fungsi seluler maupun virus, seperti inisiasi translasi, replikasi virus, pensinyalan double-stranded RNA, migrasi dan proliferasi sel. P56 mampu memblokir atau menghambat sintesis protein virus. Gen ini mampu mengenali sequens virus RNA. Dalam menjalankan fungsinya Gen akan berikatan dengan *eukaryotic initiation factor 3* (eIF3) dan memblokir sintesis virus (Guo *et al.*, 2000). Pemblokiran sintesis protein virus akan menghambat infeksi VNN pada ikan *C. altivelis*.

Manfaat dari mikroalga *N. oculata* dalam manajemen kesehatan juga dibuktikan oleh Yanuhar, (2015). Pemberian Fragmen pigemen protein dari *N. oculata* ternyata mampu meningkatkan ekspresi sitokin TNF dan IL-6. Dimana sitokin tersebut berfungsi sebagai antiinflamasi pada *C. altivelis* yang terinfeksi VNN.

KESIMPULAN DAN SARAN

Mikroalga laut *N. oculata* memiliki kandungan yang cukup penting untuk dijadikan alternatif antivirus *Viral Nervous Necrotic* (VNN), pemanfaatannya pada ikan kerapu tikus (*C. altivelis*) mampu meningkatkan sistem imun dan juga mampu menginduksi terekpresinya gen-gen antivirus.

DAFTAR PUSTAKA

- Akira, S., Uematsu, S., and Takeuchi, O. 2006. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 124, 783-801.
- Cao, S., Zhang, X., Fan, X., Qiao, H., Liang, C., Xu, D., Mou, S., Wang, W. & Ye, N. 2013. Phylogeny and characterization of *Nannochloropsis oceanica* var. *sinensis* var. nov (Eustigmatophyceae), a new oleaginous alga from China. *Phycologia* 52(6): 573-577.
- Chen, Y.-M., Wang, T.-Y. & Chen, T.-Y., 2014. Immunity to betanodavirus infections of marine fish. *Developmental and comparative immunology*, 43(2), pp.174–83.
- Cohen, Zeis. 1999. *Chemical microalga*. Taynol and Fancis
- Ehrentraut H, Meyer R, Schwederski M, Ehrentraut S, Velten M, Grohe C. 2011. Systemically administered ligands of Toll-like receptor 2, -4, and -9 induce distinct inflammatory responses in the Murine Lung. *Mediators of inflammation* :1-11.
- Fensterl, V., & Sen, G. C. (2011). The ISG56 / IFIT1 Gene Family, 31(1). doi:10.1089/jir.2010.0101
- Guo, J., Hui, D. J., Merrick, W. C., & Sen, G. C. (2000). A new pathway of translational regulation mediated by eukaryotic initiation factor 3. *The EMBO Journal*, 19(24), 6891–9. doi:10.1093/emboj/19.24.6891
- Harton, J.A., Linhoff, M.W., Zhang, J., Ting, J.P., 2002. Cutting edge: CATERPILLER: a large family of mammalian genes containing CARD, pyrin, nucleotide-binding, and leucine-rich repeat domains. *Journal of immunology* 169, 4088-4093.
- Inohara, N., Nunez, G., 2001. The NOD: a signaling module that regulates apoptosis and host defense against pathogens. *Oncogene* 20, 6473-6481.
- Iwasaki, A. and Medzhitov, R., 2004. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat Immunol* 5, 987-95.
- Janeway, C.A., Jr., Medzhitov, R., 2002. Innate immune recognition. *Annual review of immunology* 20, 197-216.
- Kawai, T. & Akira, S., 2005. Pathogen recognition with Toll-like receptors. *Current opinion in immunology*, 17(4), pp.338–44.
- Kumar, H., Kawai, T., and Akira, S. 2009. Pathogen recognition in the innate immune response. *Biochem J* 420, 1-16.
- Li, Y., Li, C., Xue, P., Zhong, B., Mao, A., Ran, Y., ... Yang, F. (2009). ISG56 is a negative-feedback regulator of virus-triggered signaling and cellular, 106(19), 7945–7950.
- Magnadottir B., 2010. Immunological control of fish diseases. *Journal of Marine Biotechnology* 12, 361–379.
- Munazir, Zaikudin. 2001. Respon Imun Terhadap Infeksi Bakteri. *Sari Pediatri*, Vol. 2, No. 4 (193-197).
- Petry V, Gaspari A. 2006. Toll-like receptors and dermatology. *International Journal of Dermatology*. 2006:558-70.
- Rombout JH, Huttenhuis HBT, Picchietti S, Scapigliati S. 2005. Phylogeny and ontogeny of fish leucocytes. *Fish and Shellfish Immunology* 19, 441–455.
- Shetty, M. et al., 2012. Betanodavirus of marine and freshwater fish: distribution, genomic organization, diagnosis and control measures. *Indian journal of virology: an official organ of Indian Virological Society*, 23(2), pp.114–23.
- Tort, L., Balasch, J.C. & Mackenzie, S., 2003. Fish immune system . A crossroads between innate and adaptive responses. , 22, pp.277–286.
- Yanuhar, U. 2009. *Pengaruh Pemberian Bahan Aktif Ekstrak Nannochloropsis oculata Terhadap Kadar Radikal Bebas pada Ikan Kerapu Tikus (Cromileptes altivelis) yang Terinfeksi Bakteri Vibrio alginoliticus*. Unpublished.
- Yanuhar, U. 2015. Effects of Pigment-Protein Fraction from *Nannochloropsis Oculata* on TNF and IL-6 which Act as an Anti-Inflammatory Against Viral Nervous Necrosis (VNN) Infection. *Procedia Chemistry*. Volume 14 Pages 437– 443.
- Yanuhar, U. Gusman E., and Arfiati, D., 2012. The Exposure Immunogenic Protein of Viral Nervous Necrotic on Humpback Grouper That Influences to Proliferation and Expression of Immune

Cells (Interferon and NFKb Cell). *Advances in Environmental Biology*, 6(1): 388-396, 2012
ISSN 1995-0756

Yanuhar, U., Nurdiani, R. & Hertika, A.M.S., 2011. Potency of *Nannochloropsis oculata* as Antibacterial, Antioxidant and Antiviral on Humpback Grouper Infected by *Vibrio alginolyticus* and Viral Nervous Necrotic. , 1, pp.323–330.

Yuwanita, R. & Yanuhar, U., 2013. Pathognomonic of Viral Nervous Necrotic (VNN) Virulence on Larvae of Humpback. , 7(6), pp.1074–1081.