

Review Artikel

Respon imun krustase
(Crustacean immune response)

Henky Manoppo, Magdalena E.F. Kolopita

Abstract

Crustacean does not have adaptive immune system and mostly depends on innate or nonspecific immune response. This system can recognize and destroy foreign materials including pathogen. The nonspecific immune responses of crustacean consist of cellular and humoral responses. In cellular response, hemocyte plays an important role in body defenses to pathogen including virus, bacteria, fungi, and parasites. In humoral response, recognition of pathogen is mediated by protein and enzyme such as *β -1,3-glucan-binding protein (BGBP)*, *lipopolysaccharide-binding protein (LPS-BP)*, *peptidoglycan recognition protein*, *phenoloxydase enzyme*.

Keywords: crustacean, nonspecific immune response, cellular responses, humoral response, protein, enzyme

Krustase tidak memiliki respon imune spesifik (*adaptive*) dan nampak bergantung pada berbagai respon imun nonspesifik (*innate*). Meskipun dianggap tidak begitu memuaskan, respon imun nonspesifik mampu dengan cepat dan efisien mengenal dan menghancurkan material asing, termasuk patogen (Vargas-Albores & Yepiz-Plascencia 2000; Witteveldt *et al.* 2003). Respon imun nonspesifik terdiri atas respon selular dan respon humoral.

Respon Selular

Hemosit krustase, dan invertebrata lain, memainkan peranan penting dalam

sistem pertahanan tubuh terhadap patogen seperti virus, bakteri, fungi, protozoa, dan metazoa (Johansson *et al.* 2000; Sindermann 1990; Rodriquez & Le Moullac 2000). Pertama, hemosit mengeluarkan partikel asing dalam *hemocoel* melalui fagositosis, enkapsulasi dan agregasi nodular. Kedua, hemosit berperan dalam penyembuhan luka melalui *cellular clumping* serta membawa dan melepaskan *prophenoloxidase system* (proPO). Hemosit juga berperan dalam sintesa dan pelepasan molekul penting hemolim seperti α_2 -macroglubulin (α_2M), agglutinin, dan peptida antibakteri (Rodriquez & Le Moullac 2000).

Klasifikasi tipe hemosit krustase terutama didasarkan pada keberadaan granula sitoplasma, yaitu sel hyalin, semi granular, dan granular (Johansson *et al.* 2000; Le Moullac & Haffner 2000). Sel hyalin merupakan tipe sel yang paling kecil dengan ratio nukleus sitoplasma tinggi dan tanpa atau hanya sedikit granula sitoplasma; sel granular merupakan tipe sel paling besar dengan nukleus yang lebih kecil dan terbungkus dengan granula; sel semi granular merupakan tipe sel diantara hyalin dan granular. Masing-masing tipe sel aktif dalam reaksi kekebalan tubuh, sebagai contoh, sel hyalin terlibat dalam fagositosis, sel semi granular aktif dalam enkapsulasi, sel granular aktif dalam penyimpanan dan pelepasan proPO system dan sitotoksitas.

Jumlah hemosit dapat sangat bervariasi berdasarkan spesies, respon terhadap infeksi, stres lingkungan, aktivitas endokrin selama siklus molting (Johansson *et al.* 2000), seks, fase perkembangan, status reproduksi dan nutrisi (Song *et al.* 2003). Pada kuruma shrimp (*Marsupenaeus japonicus*), total hemocyte count (THC) sebanyak 1.7×10^7 sel ml^{-1} , pada *L. stylirostris* 1.84×10^7 sel ml^{-1} , *P. monodon* berkisar 2.10×10^7 sel ml^{-1} (flow cytometry) sampai 2.33×10^7 sel ml^{-1} (hemacytometer). Hasil penelitian Song *et al.* (2003)

menunjukkan bahwa setelah 3-5 hari diinfeksi dengan *Taura Syndrome Virus* (TSV), THC *L. vannamei* berukuran 10-20 g mengalami penurunan sebesar 70% menjadi 0.345×10^7 sel ml^{-1} dibandingkan dengan kontrol 1.64×10^7 sel ml^{-1} , dengan mortalitas mencapai 80%. Dalam kondisi hypoxia, THC *L. stylirostris* turun menjadi rendah serta udang menjadi lebih sensitif terhadap infeksi *V. aglinolyticus*. *Differential hemosit count* (DHC) juga berubah (sel granular, semi granular, dan hyalin) dengan perubahan besar terjadi pada sel hyalin dan semi granular (Le Moullac *et al.* 1998).

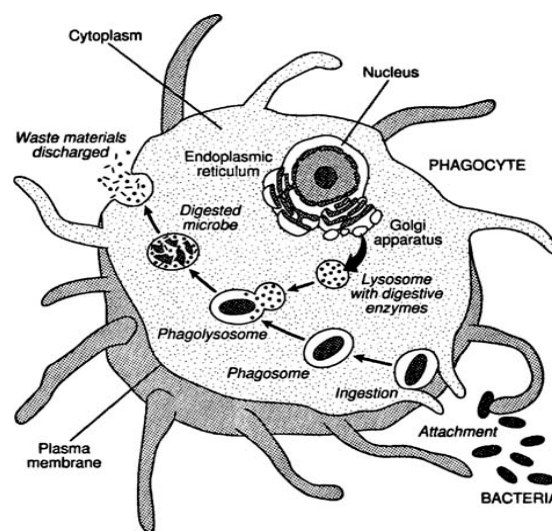
Pada *M. japonicus* dan *L. stylirostris*, jumlah hemosit terbesar ditemukan pada fase *postmoult* dan terendah pada fase *intermoult*. Sel granular tertinggi dilepaskan pada fase *postmoult* pada *L. stylirostris* dan *S. ingentis* sedangkan sel hyalin mencapai puncak selama proses ganti kulit pada *S. ingentis* dan *M. japonicus*. Adanya sel hyalin yang tinggi selama proses ganti kulit nampaknya penting sebab mereka mengawasi koagulasi dan mungkin terlibat dalam pembentukan kulit. Konsentrasi sel granular yang tinggi dalam hemolim *L. stylirostris* selama fase *intermoult* berhubungan dengan aktivitas phenoloxidase (PO) yang tinggi dan

resistensi terhadap vibriosis (Le Moullac *et al.* 1997)

Fagositosis merupakan reaksi yang paling umum dalam pertahanan selular udang. Proses fagositosis dimulai dengan perlekatan (*attachment*) dan penelanan (*ingestion*) partikel mikroba ke dalam sel fagosit. Sel fagosit kemudian membentuk vacuola pencernaan (*digestive vacuola*) yang disebut fagosom (Rodriquez & Le Moullac 2000). Lisosom (granula dalam sitoplasma fagosit) kemudian menyatu dengan fagosom membentuk fagolisosom. Mikroorganisme selanjutnya dihancurkan dan debris mikroba dikeluarkan dari dalam sel melalui proses *egestion* (Gambar 4). Pemusnahan partikel mikroba yang difagosit melibatkan pelepasan enzim ke dalam fagosom dan produksi ROI (*reactive oxygen intermediate*) yang kini disebut *respiratory burst* (Rodriquez & Le Moullac 2000; Sindermann 1990).

Hemosit berfungsi dalam enkapsulasi. Hal ini terjadi pada organisme yang memiliki tubuh terlalu besar untuk fagositosis. Pada saat hemosit mengelilingi tubuh benda asing yang besar, bagian sel terluar dari hemosit tetap berbentuk oval atau bulat sedangkan bagian tengah sel menjadi datar dan pada fase berikutnya

dilisis membentuk kapsul tebal berwarna coklat dan keras. Kapsul tersebut tidak diserap kembali dan tetap sebagai tanda enkapsulasi meskipun sudah tidak ada hemosit yang dikenal disitu. Hemosit juga berfungsi dalam formasi melanin pada fase



Gambar 4 Proses fagositosis

(Sumber: <http://www.cliffsnotes.com/WileyCDA/CliffsReviewTopic/Phagocytosis.topicArticleId-8524>)

akhir penyembuhan atau perbaikan luka. Enzim yang terlibat dalam formasi melanin adalah phenoloxidase (PO) dan telah ditemukan terdapat dalam hemolim dan kulit arthropoda (Sritunyalucksana & Söderhäll 2000).

Respon Humoral

Proses imun pertama pada krustase adalah pengenalan mikroorganisme

penyerang yang dimediasi oleh hemosit dan plasma protein (Bachere 2000). Beberapa tipe modulator protein telah diketahui dapat mengenal komponen dinding sel mikroorganisme seperti *β -1,3-glucan-binding protein* (BGBP), *lipopolysaccharide-binding protein* (LPS-BP), hemosit receptor yang mengikat *plasmatic glucan-binding protein* (PGBP) setelah PGBP bereaksi dengan β -1,3-glukan; *peptidoglycan recognition protein* yang mampu mengaktifkan phenoloxidase.

Enzim phenoloxidase (PO) terdapat dalam hemolim sebagai *inactive pro-enzyme* yang disebut proPO. Transformasi proPO menjadi PO melibatkan beberapa reaksi dikenal sebagai *proPO activating system* (sistem aktivasi proPO). Sistem ini terutama diaktifkan oleh beta glukon, dinding sel bakteri dan LPS. Sistem aktivasi proPO dipertimbangkan sebagai bagian dari sistem imun yang mungkin bertanggung jawab terhadap proses pengenalan benda asing dalam sistem pertahanan krustase dan insekta. Sistem proPO dapat digunakan sebagai marker kesehatan udang dan lingkungan karena perubahan sistem proPO berkorelasi dengan tahap infeksi dan variasi lingkungan.

Enzim phenoloxidase (PO) bertanggung jawab terhadap proses melanisasi pada artropoda (Rodriquez & Le Moullac 2000). Enzim ini mengkatalis hidrosilasi monophenol dan oksidasi phenol menjadi quinones yang diperlukan untuk proses melanisasi sebagai respon terhadap penyerang asing dan selama proses penyembuhan (Sritunyalucksana & Söderhäll 2000; Vargas-Albores & Yepiz-Plascencia 2000). Quinone selanjutnya diubah melalui suatu reaksi non-enzymatic menjadi melanin dan sering dideposit pada benda yang dienkapsulasi, dalam nodul hemosit, dan pada daerah kulit yang terinfeksi jamur. Produksi *reactive oxygen species* seperti *superoxide anion* dan *hydroxyl radical* selama pembentukan quonoid juga memainkan peranan penting sebagai antimikroba. Reaksi biologi seperti fagositosis, enkapsulasi dan nodulasi juga diaktifkan.

Vaksinasi mungkin dapat meningkatkan aktivitas hemosit, fagositosis dan aktivitas opsonin. Pada invertebrata yang tidak memiliki antibodi, lektin berfungsi sebagai molekul pengenal (*recognition molecules*) untuk aktivitas pertahanan seperti agregasi dan opsonisasi (Wittevelt *et al.* 2003). Lektin merupakan suatu set protein yang secara spesifik

mengikat pada molekul gula termasuk glikoprotein dan glikolipid. Hasil uji coba Namikoshi *et al.* (2004) menunjukkan bahwa penggunaan *formalin-inactivated* WSSV vaksin dapat meningkatkan resistensi *P. japonicus* terhadap WSSV sepuluh hari setelah divaksinasi dengan metoda vaksinasi intramuskular. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Wittevelt *et al.* (2003) juga memperlihatkan bahwa penggunaan WSSV subunit vaksin dapat meningkatkan resistensi udang windu terhadap WSSV meskipun udang tidak memiliki respon imun spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

- Bachere E. 2000. Shrimp immunity and disease control. *Aquac* 191: 3-11
- Johansson MW, Keyser P, Sritunyalucksana K, Soderhall K. 2000. Crustacean hemocytes and haemotopoiesis. *Aquac* 191: 45-52
- Le Moullac G, Haffner P. 2000. Environmental factors affecting immune responses in crustacea. *Aquac* 19: 121-131
- Le Moulac G, Soyez C, Soulnier D, Ansquer D, Avarre JC, Levy P. 1998. Effect of hypoxic stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris*. *Fish Shellfish Immunol* 8: 621-629
- Le Moulac G, Le Groumellec M, Ansquer D, Froissard S, Levy P. 1997. Haematological and phenoloxidase activity changes in the shrimp *Penaeus stylirostris* in relation with the moult cycle: protection against vibriosis. *Fish Shellfish Immunol*. 7: 227-234
- Namikoshi A, Wu JL, Yamashita T, Nishizawa T, Nishioka T, Arimoto M, Muroga K. 2004. Vaccination trials with *Penaeus japonicus* to induce resistance to white spot syndrome virus. *Aquac* 229: 25-35
- Rodriguez L, Le Moullac G. 2000. State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture* 191: 109-119
- Sindermann CJ. 1990. Principal disease of marine fish and shellfish Vol II. Academic Press, Inc., San Diego, California.
- Song YL, Yu CI, Lien TW, Huang CC, Lin MN. 2003. Hemolymph parameters of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) infected with Taura Syndrome Virus. *Fish Shellfish Immunol* 14: 317-331
- Sritunyalucksana K, Söderhäll K. 2000. The proPO and clotting system in crustacean. *Aquac* 191: 53-69
- Vargas-Albores F, Yepiz-Plascencia G. 2000. Beta glucan binding protein and its role in shrimp immune response. *Aquac* 191: 13-21
- Witteveldt J, Vlak JM, van Hulten MCW. 2003. Protection of *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus using a WSSV subunit vaccine. *Fish Shellfish Immunol*.