

**ANALISIS HISTOPATOLOGI INSANG PADA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) YANG DIINFEKSI *White Spot Syndrome Virus* (WSSV)**

**SKRIPSI**

Oleh:

**ZULFATUN NADLIFAH  
NIM. 155080501111052**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

**ANALISIS HISTOPATOLOGI INSANG PADA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) YANG DIINFEKSI *White Spot syndrome Virus* (WSSV)**

**SKRIPSI**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya**

Oleh:

**ZULFATUN NADLIFAH  
NIM. 155080501111052**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

SKRIPSI

**ANALISIS HISTOPATOLOGI INSANG PADA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) YANG DIINFEKSI *White Spot syndrome Virus* (WSSV)**

Oleh:  
**ZULFATUN NADLIFAH**  
NIM. 155080501111052

telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 20 Mei 2019  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Pembimbing 1

**(Prof. Dr. Ir. Maftuch, M.Si)**  
NIP. 19660825 199203 1 001  
Tanggal : 19 JUN 2019

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing 2

**(Ir. Heny Suprastyani, MS)**  
NIP. 19620904 198701 2 001  
Tanggal 19 JUN 2019



Mengetahui :  
Kepala Jurusan MSP

**(M. Ardaus, MP.)**  
NIP. 19680919 200501 1 001  
Tanggal : 19 JUN 2019



## IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : ANALISIS HISTOPATOLOGI INSANG PADA UDANG VANAME  
(*Litopenaeus vannamei*) YANG DIINFEKSI *White Spot  
Syndrome Virus* (WSSV)

Nama Mahasiswa : ZULFATUN NADLIFAH

NIM : 155080501111052

Program Studi : Budidaya Perairan

### PENGUJI PEMBIMBING :

Pembimbing 1 : Prof. Dr.Ir.Maftuch, M.Si.

Pembimbing 2 : Ir.Heny Suprastyani, MS.

### PENGUJI BUKAN PEMBIMBING :

Penguji 1 : Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS.

Penguji 2 : Rani Yuwanita, S.Pi., MP.

Tanggal Ujian : 20 Mei 2019

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT atas karunia, kesehatan dan kelancaran yang diberikan selama ini sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi ini dengan baik. Penulis menyadari bahwa penulisan laporan skripsi ini tidak lepas dari dukungan moril dan materil dari semua pihak. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Dr. Ir. M. Firdaus, MP. selaku Ketua Jurusan MSP.
2. Bapak Wahyu Endra Kusuma, S.Pi., MP, D.Sc selaku Ketua Program Studi BP.
3. Bapak Dr.Ir. Maftuch, M.Si dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen pembimbing yang memberikan saran, wawasan serta bimbingan bagi penulis.
4. Kedua orang tua tercinta (Bpk. M. Ruskah dan Ibu S. Maimunah), Adik, Kakak dan keluarga yang selalu memberikan doa, semangat dan kasih sayang kepada penulis.
5. Ibu Drh. Ch Retno Handayani, M.Si, Ibu Yuni Setyowati, A.Md, Bapak Noor Fahriss, S.Pi dan Bapak Budi Santoso selaku pembimbing laboratorium Manajemen Kesehatan Hewan Akuatik.
6. Teman-teman satu perjuangan, satu angkatan (Aqualatte) yang selalu memberikan motivasi dan do'a bagi penulis.
7. Tim Cumi Rebus (Widia, Aimee, Emakkk dan Erlindutt) dan sahabat lainnya yang selalu mendukung dan memberi semangat dalam melakukan kegiatan penelitian.

## RINGKASAN

**ZULFATUN NADLIFAH.** Skripsi tentang Analisis Histopatologi Pada Insang Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang Diinfeksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) (dibawah bimbingan **Prof. Dr.Ir. Maftuch, M.Si dan Ir. Heny Suprastyani, MS**).

---

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu komoditas unggulan yang paling banyak diminati sehingga mendorong para industri akuakultur untuk membudidayakannya. Produksi budidaya udang di Indonesia mengalami peningkatan sejak tahun 2010. Menurut Rahmantya, *et al.* (2015), produksi budidaya udang pada tahun 2010 sebesar 380.972 ton hingga pada tahun 2014 sebesar 639.369 ton, sehingga kenaikan dari tahun 2010-2014 sebesar 15,82%. Salah satu penyakit yang sering menyerang pada budidaya udang vaname yaitu infeksi virus WSSV. Yanti, *et al.* (2017) mengatakan bahwa WSSV merupakan virus yang virulen dan menyebabkan kematian pada budidaya udang hingga 100% dalam kurun waktu 2-10 hari. Deteksi awal terhadap serangan virus WSSV dapat dilakukan melalui uji PCR dan gambaran organ udang yang terinfeksi virus dapat dilakukan melalui uji histopatologi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran histopatologi insang udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) serta mengetahui gejala klinis yang nampak pada udang vaname pasca infeksi virus WSSV. Metode penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang diberikan yaitu injeksi virus WSSV dengan konsentrasi  $10^2$ ,  $10^3$ , dan  $10^4$  serta perlakuan tanpa injeksi (kontrol) sebagai pembanding. Variabel utama yang diamati dalam penelitian ini yaitu gambaran histopatologi insang udang dan variabel penunjang meliputi gejala klinis udang yang terinfeksi virus WSSV, Survival Rate (SR) dan kualitas air.

Hasil pengamatan histopatologi didapatkan bahwa insang udang vaname yang diinfeksi WSSV pada konsentrasi yang berbeda rata-rata menunjukkan kerusakan yang sama yaitu hipertropi atau inti sel mengalami pembengkakan. Rata-rata kerusakan hipertropi tertinggi pada perlakuan infeksi virus dengan konsentrasi  $10^4$  yaitu sebesar 3,533, kemudian diikuti perlakuan infeksi menggunakan konsentrasi  $10^3$  dengan nilai rata-rata 3,067 dan terendah pada perlakuan infeksi virus pada konsentrasi  $10^2$  sebesar 2,80. Gejala klinis yang nampak pada udang vaname pasca infeksi virus WSSV antara lain: terjadi perubahan warna merah pada tubuh, kaki jalan dan bagian kaki renang udang, udang berenang miring, pergerakan pasif serta respon terhadap rangsangan lambat. Gejala klinis tersebut pada semua perlakuan infeksi muncul pada 24 jam setelah diinfeksi virus WSSV. Hasil pengamatan SR selama pemeliharaan diperoleh nilai rata-rata SR tertinggi pada perlakuan infeksi dengan konsentrasi  $10^2$  dengan nilai 36,67, kemudian diikuti perlakuan infeksi dengan konsentrasi  $10^3$  sebesar 3,33 dan terendah pada perlakuan konsentrasi  $10^4$  dengan rata-rata 0. Kualitas air selama pemeliharaan secara umum menunjukkan nilai yang berada pada kisaran optimal udang vaname. Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa infeksi virus WSSV dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan hipertropi pada insang udang vaname. Hasil pengamatan histopatologi menunjukkan bahwa infeksi virus dengan konsentrasi  $10^2$  inti sel sudah mengalami kerusakan hipertropi.

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur atas kehadiran Allah yang senantiasa memberikan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi dengan judul Analisis Histopatologi Insang Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang Diinfeksi *White Spot Syndrome Virus*. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada bapak Dr.Ir. Maftuch, M.Si selaku dosen pembimbing 1 dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen pembimbing 2 dan semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan laporan skripsi ini.

Saya menyadari dalam penyusunan Laporan Skripsi ini masih terdapat kekurangan dalam penulisan maupun isi materinya. Oleh karena itu, diharapkan kepada pembaca untuk memberikan saran dan kritik yang membangun untuk laporan skripsi ini agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua dalam menggali informasi. Demikian dan terima kasih.

Malang, April 2019

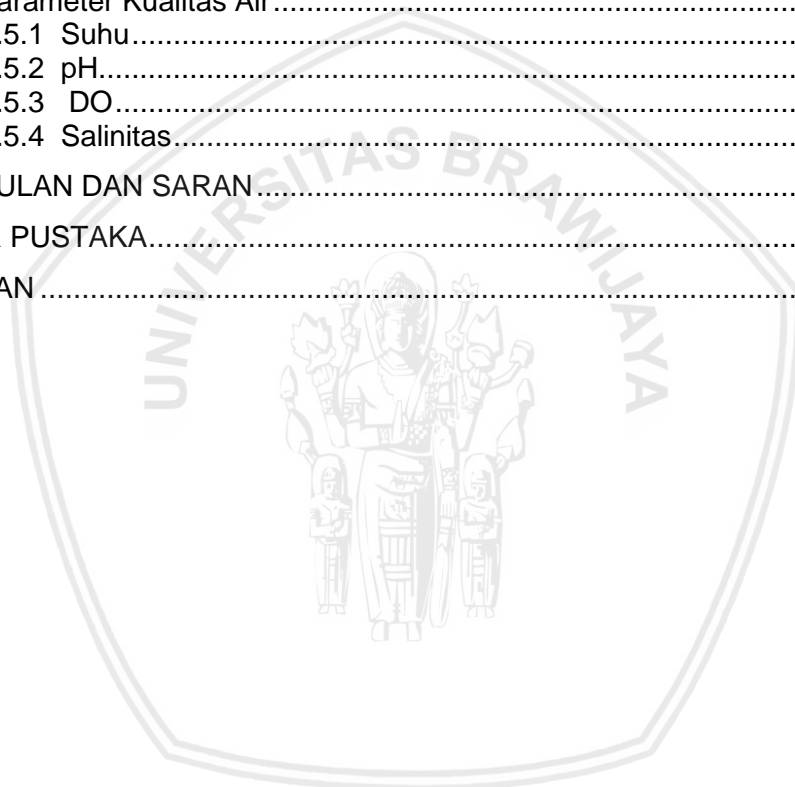
Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Kegunaan.....	4
1.6 Tempat, Waktu/Jadwal Penelitian.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Klasifikasi dan Morfologi Udang Vaname ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ).....	5
2.2 Habitat Udang Vaname.....	6
2.3 Siklus Hidup Udang vaname.....	6
2.4 Penyakit Pada Udang Vaname yang Disebabkan Oleh Virus.....	7
2.5 Insang Udang Vaname.....	8
2.6 Virus WSSV ( <i>White Spot Syndrome Virus</i> ).....	8
2.6.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	8
2.6.2 Penyebaran Virus WSSV.....	9
2.6.3 Organ Target WSSV.....	9
2.7 Metode Deteksi Virus.....	10
2.7.1 Analisis PCR.....	10
2.7.2 Analisis Histopatologi.....	11
2.8 Parameter yang Diamati.....	11
2.8.1 Histopatologi Insang Udang Vaname.....	11
2.8.2 Gejala Klinis Udang yang Terinfeksi WSSV.....	12
2.8.3 Tingkat Kelangsungan Hidup (SR).....	13
2.8.4 Kualitas Air.....	13
3. METODE PENELITIAN.....	15
3.1 Materi Penelitian.....	15
3.1.1 Alat-alat Penelitian.....	15
3.1.2 Bahan Penelitian.....	17
3.2 Metode Penelitian.....	18
3.3 Rancangan Penelitian.....	18
3.4 Prosedur Penelitian.....	20
3.4.1 Persiapan Wadah Penelitian.....	20
3.4.2 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	20
3.4.3 Persiapan Media Pemeliharaan.....	21
3.4.4 Penyediaan Virus WSSV.....	21
3.4.5 Persiapan Udang Uji.....	22
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	22



3.5.1	Penularan Virus WSSV.....	22
3.5.2	Deteksi WSSV dengan Metode PCR .....	22
3.5.3	Analisis Histopatologi.....	24
3.6	Parameter Uji.....	26
3.6.1	Parameter Utama .....	26
3.6.2	Parameter Penunjang.....	27
3.7	Analisis Data.....	28
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN .....	29
4.1	Hasil Uji PCR Sampel Udang Vaname ( <i>L. vannamei</i> ).....	29
4.2	Gambaran Histopatologi Insang.....	30
4.2.1	Histopatologi Insang Udang.....	30
4.3	Gejala Klinis Udang Vaname yang terinfeksi WSSV .....	36
4.4	Tingkat Kelangsungan Hidup.....	38
4.5	Parameter Kualitas Air .....	42
4.5.1	Suhu.....	42
4.5.2	pH.....	43
4.5.3	DO.....	43
4.5.4	Salinitas.....	43
	KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
	DAFTAR PUSTAKA.....	46
	LAMPIRAN .....	52



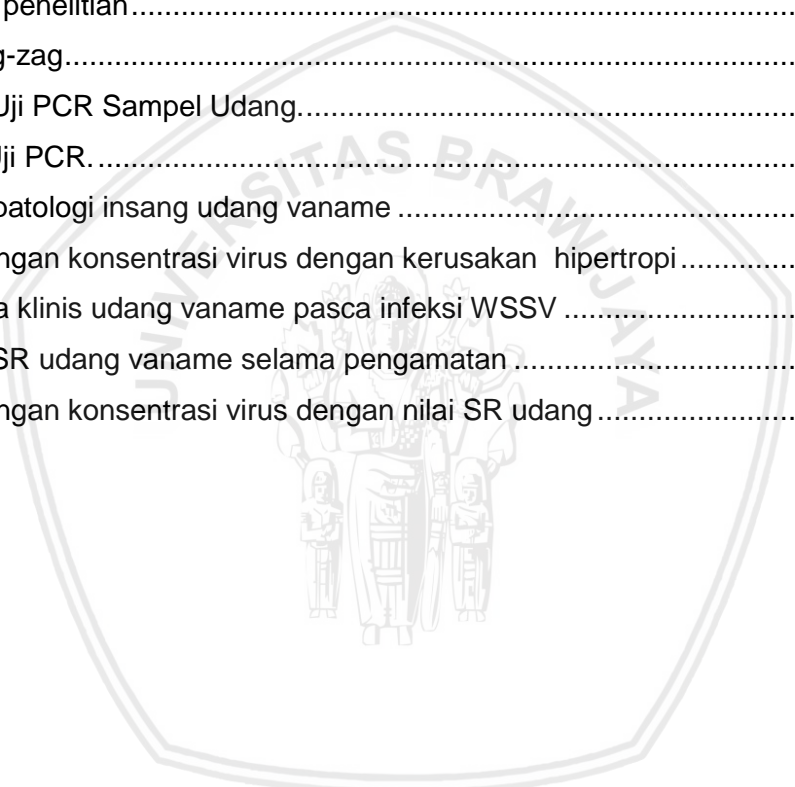
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat-alat Penelitian.....	15
2. Bahan Penelitian.....	17
3. Nilai Skoring Kerusakan Jaringan .....	27
4. Skoring Kerusakan Hipertropi .....	32
5. Analisis Sidik Ragam Skoring Kerusakan Hipertropi .....	32
7. Rerata SR Udang Vaname Selama Pemeliharaan.....	39
8. Analisis Sidik Ragam SR Udang Vaname.....	40
9. Uji BNT SR Udang Vaname.....	40
10. Hasil Pengukuran Parameter Kualitas Air .....	42



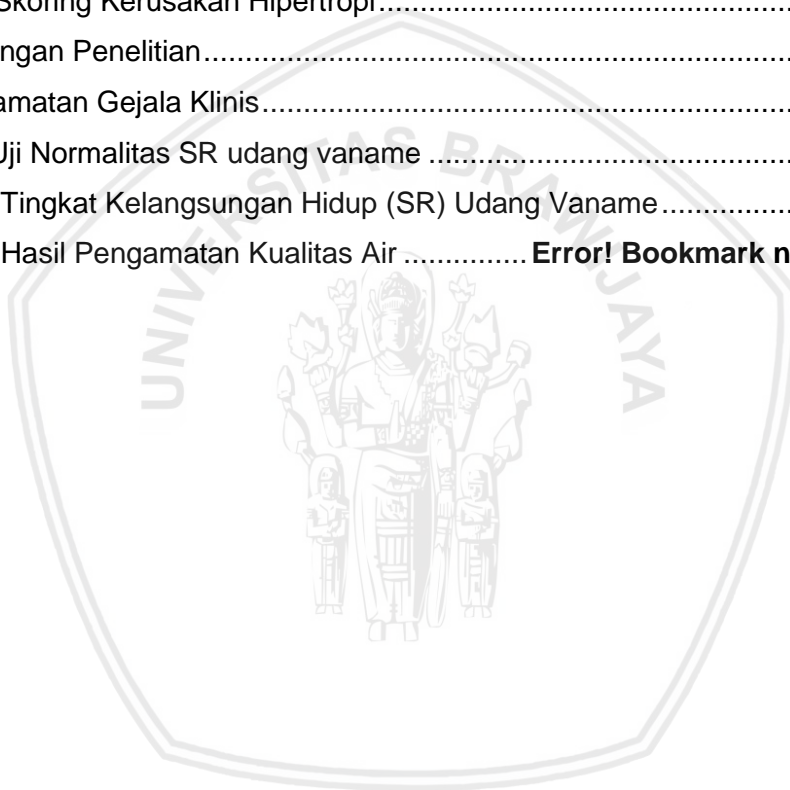
## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi udang vaname .....	6
2. Siklus hidup udang vaname .....	7
3. Insang udang vaname .....	8
4. Morfologi <i>White Spot Syndrome Virus</i> .....	9
5. Gambaran histopatologi insang udang vaname. ....	12
6. Denah penelitian.....	19
7. Alur zig-zag.....	27
8. Hasil Uji PCR Sampel Udang.....	29
9. Hasil Uji PCR.....	30
10. Histopatologi insang udang vaname .....	31
11. Hubungan konsentrasi virus dengan kerusakan hipertropi.....	34
12. Gejala klinis udang vaname pasca infeksi WSSV .....	36
13. Nilai SR udang vaname selama pengamatan .....	38
14. Hubungan konsentrasi virus dengan nilai SR udang .....	41



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian.....	52
2.. Bahan Penelitian.....	55
3. Perhitungan Konsentrasi Virus WSSV .....	56
4. Skema Kerja Pewarnaan Preparat Histopatologi .....	57
5. Skema Kerja Pembuatan Preparat Histopatologi .....	58
6. Data Skoring Kerusakan Hipertropi.....	59
7. Rancangan Penelitian.....	60
8. Pengamatan Gejala Klinis.....	64
9. Hasil Uji Normalitas SR udang vaname .....	67
10. Data Tingkat Kelangsungan Hidup (SR) Udang Vaname.....	68
11. Data Hasil Pengamatan Kualitas Air .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu komoditas unggulan yang paling banyak diminati di dunia sehingga mendorong para industri akuakultur untuk membudidayakannya. Menurut data statistik FAO (2016) menyebutkan bahwa produksi akuakultur dunia pada komoditas crustacea sebesar 6,9 juta ton pada tahun 2014. Nilai tersebut meningkat 7% apabila dibandingkan dengan nilai produksi tahun 2012 sebesar 6,4 juta ton. Komoditas crustacea yang dikembangkan sebanyak 62 spesies pada usaha budidaya di seluruh dunia. Spesies udang vaname merupakan spesies yang mendominasi dari produksi marikultur dan spesies lainnya dari udang windu (*Penaeus monodon*). Kontribusi budidaya udang yang paling besar berasal dari spesies udang vaname yang menyumbang sebanyak 80% dari seluruh produksi udang yang dibudidayakan. Produksi perikanan budidaya udang di Indonesia sendiri mengalami peningkatan sejak tahun 2010. Menurut Rahmantya, *et al.* (2015), produksi budidaya udang pada tahun 2010 sebesar 380.972 ton hingga pada tahun 2014 sebesar 639.369 ton, sehingga kenaikan dari tahun 2010-2014 sebesar 15,82%.

Keberhasilan usaha budidaya yang dijalankan dipengaruhi oleh beberapa faktor yang dapat menghambat usaha tersebut. Salah satu faktornya yaitu masalah serangan terhadap penyakit. Menurut Ashari, *et al.* (2014), penyakit yang menyerang berbagai komoditas ikan/udang dapat muncul karena adanya interaksi yang tidak seimbang antara ikan sebagai inang patogen, lingkungan budidaya, dan patogen itu sendiri. Jasmanindar (2011) menyebutkan bahwa penyakit ikan dibedakan menjadi dua yaitu penyakit infeksi dan non infeksi. Serangan patogen baik itu virus, bakteri, jamur, protozoa maupun parasit

merupakan golongan penyakit infeksi, sedangkan golongan dari penyakit non infeksi meliputi penyakit yang diakibatkan oleh lingkungan, pakan, dan faktor genetik.

WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) merupakan salah satu penyakit yang menjadi masalah serius pada sebagian besar budidaya udang. Yanti, *et al.* (2017) mengatakan bahwa WSSV merupakan virus DNA yang memiliki bentuk seperti batang menyelubung dan nampak berpori. Virus WSSV merupakan salah satu virus yang virulen dan menyebabkan kematian hingga 100% dalam kurun waktu 2-10 hari. Menurut Tampangallo, *et al.* (2017), penularan virus WSSV dapat melalui limbah air dari tambak udang yang dilakukan panen lebih awal akibat infeksi virus ini dan dibuang ke saluran tanpa melalui pengolahan terlebih dahulu. Kegiatan pergantian air yang tidak memperhatikan aktivitas budidaya di tambak sekitarnya juga akan memungkinkan penularan virus ini. WSSV juga dapat menyebar ke lingkungan budidaya akibat adanya organisme pembawa virus ini yang masuk ke kolam budidaya seperti ikan dan kepiting liar hingga beberapa spesies plankton. Haq, *et al.* (2015) mengatakan bahwa gejala klinis udang yang terinfeksi virus WSSV dapat dilihat dengan adanya bintik-bintik putih pada bagian eksoskeleton dan epidermisnya. Organ target dari virus ini meliputi bagian organ limfoid, hepatopankreas, insang dan organ usus.

Deteksi awal terhadap serangan virus WSSV pada budidaya udang dapat dilakukan melalui pengujian dengan teknik PCR. Masri (2013) mengatakan bahwa teknologi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan salah satu perkembangan IPTEK di bidang biologi molekuler yang dapat digunakan untuk proses deteksi virus yang menyerang organisme budidaya dalam waktu singkat dan akurat.

Pengamatan terhadap organ udang yang terinfeksi virus WSSV dapat dilakukan melalui uji histopatologi. Menurut Asniatih, *et al.* (2013), pemeriksaan

terhadap organ tubuh atau jaringan ikan yang terinfeksi penyakit dapat dilakukan dengan analisis histopatologi. Hasil pemeriksaan histopatologi jaringan yang diamati memberikan gambaran mengenai perubahan jaringan tersebut akibat infeksi penyakit. Pemeriksaan histopatologi ini dapat mendeteksi adanya komponen-komponen patogen yang bersifat infeksi melalui pengamatan secara mikro anatomi terhadap perubahan abnormal pada tingkat jaringan.

Informasi mengenai infeksi virus WSSV terhadap udang vaname diharapkan dapat menjadi salah satu solusi dalam usaha pengendalian penyakit yang menyerang udang vaname melalui gambaran histopatologi pada organ udang khususnya insang dan didukung adanya gejala-gejala klinis yang muncul akibat infeksi WSSV.

## 1.2 Rumusan Masalah

Udang vaname merupakan salah satu komoditas yang banyak dibudidayakan saat ini. Namun, beberapa masalah yang sering dihadapi dalam budidaya udang yaitu adanya infeksi virus WSSV. Serangan penyakit akibat virus WSSV ini dapat menyebabkan kematian masal pada udang dalam waktu yang relatif cepat. Deteksi awal terhadap infeksi virus ini dapat menggunakan teknologi PCR untuk mendeteksi adanya virus WSSV dalam budidaya udang, akan tetapi pengujian melalui PCR belum cukup untuk mendapatkan informasi mengenai serangan WSSV, sehingga analisis histopatologi terhadap organ target tertentu khususnya insang terhadap infeksi virus WSSV dapat memberikan gambaran mengenai adanya perubahan organ yang kemungkinan mengalami kerusakan akibat infeksi virus ini dalam tubuh udang, sehingga dalam penelitian ini memiliki rumusan masalah yaitu bagaimana gambaran histopatologi insang udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) ?

### 1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran histopatologi insang udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca infeksi virus WSSV. Tujuan lainnya yaitu untuk mengetahui gejala klinis yang nampak pada udang vaname pasca infeksi virus WSSV.

### 1.4 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

H0 : Diduga infeksi virus WSSV tidak berpengaruh terhadap histopatologi insang dan gejala klinis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*).

H1 : Diduga infeksi virus WSSV berpengaruh terhadap histopatologi insang dan gejala klinis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*).

### 1.5 Kegunaan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumber informasi mengenai pengaruh infeksi virus WSSV melalui gambaran histopatologi insang serta adanya gejala klinis yang ditimbulkan akibat infeksi virus tersebut.

### 1.6 Tempat, Waktu/Jadwal Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Manajemen Kesehatan Hewan Akuatik (MKHA) Balai Besar Perikanan Budidaya air Payau Jepara, Jawa Tengah pada bulan Januari sampai dengan Maret 2019.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Klasifikasi dan Morfologi Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Klasifikasi udang vaname (*L. vannamei*) menurut Rafiqie (2014), adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Anthropoda
Kelas	: Crustacea
Sub-kelas	: Malacostraca
Ordo	: Decapoda
Famili	: Penaeidae
Genus	: Litopenaeus
Spesies	: <i>Litopenaeus vannamei</i>

Morfologi pada spesies udang vaname adalah memiliki kurang lebih 19 pasang segmen dalam tubuhnya. Bagian kepala dan *thorax* menjadi satu atau disebut dengan *cephalothorax*. Udang vaname memiliki kaki renang (pleopoda) sebanyak 5 pasang di bagian abdomen perut. Ekor kipas pada udang vaname terdiri dari 2 pasang uropoda dibagian pinggir dan telson dibagian tengah. Hal ini dapat membantu udang untuk melompat dengan cepat untuk mengindar dari mangsa atau bahaya (Dugassa and Gaetan, 2018). Pratiwi (2008) mengatakan bahwa udang yang tergolong Penaeidae mempunyai bentuk tubuh yang sama yaitu terdiri dari dua bagian. Bagian depan meliputi kepala dan dada (*cephalothorax*) dan bagian belakang terdiri dari perut (abdomen) dan ekor (telson). Tubuh udang ditutupi oleh kerangka luar yang disebut dengan eksoskeleton yang terbuat dari khitin. Kerangka tersebut mengeras, kecuali pada daerah sambungan antar dua ruas. Morfologi udang vaname disajikan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Morfologi udang vaname (Suyanto dan Takarina, 2009)

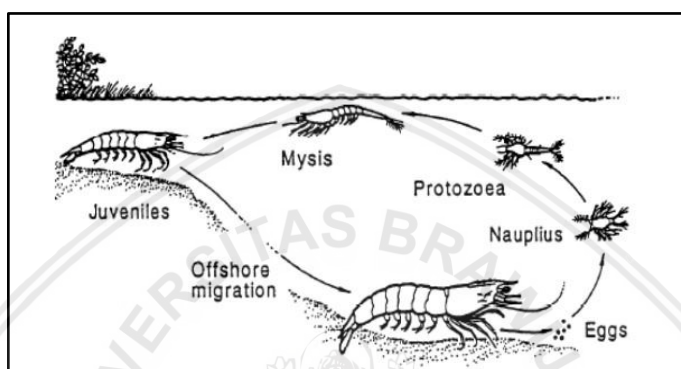
## 2.2. Habitat Udang Vaname

Kelompok crustacea yang tergolong dalam *Penaeus* biasanya ditemukan hidup di laut. Pada stadia juvenil dan udang muda sering ditemukan pada perairan payau, kadang-kadang dengan salinitas yang sangat rendah. Juvenil udang akan mengalami pertumbuhan dan bergerak menuju mulut sungai atau laguna atau estuari sampai pada tahap udang menjelang dewasa. Selanjutnya, udang akan bermigrasi ke perairan lepas pantai ketika mereka dewasa. (Putri *et al.*, 2014). Udang vaname memiliki beberapa keunggulan dibanding dengan udang windu, salah satunya memiliki sifat euryhalin. Euryhalin merupakan kemampuan organisme yang dapat hidup pada kisaran salinitas yang luas. Udang vaname dihabitat aslinya, hidup di perairan dengan kisaran salinitas 0,5-40 ppt (Kaligis, 2010).

## 2.3 Siklus Hidup Udang vaname

Siklus hidup udang vaname diawali pada tahap naupli yaitu tahap awal setelah udang menetas. Pada tahap tersebut naupli mendapatkan sumber makanan melalui kantung kuning telurnya. Tahap selanjutnya udang akan berubah menjadi zoea dengan tiga tingkatan yaitu zoea 1, zoea 2, dan zoea 3. Selanjutnya, zoea akan berkembang menjadi mysis. Tahap ini terdiri dari tiga tingkatan yaitu mysis 1, mysis 2, dan mysis 3. Pada tahap mysist sudah terbentuk ekor kipas (uropoda). Setelah itu, udang akan berkembang menjadi post larva. Stadia ini, larva udang sudah menyerupai udang dewasa dan sudah

dapat berenang normal. (Turkmen, 2003). Mahasri *et al.* (2014) mengatakan bahwa Perkembangan stadia nauplius berubah menjadi zoea membutuhkan waktu kurang lebih 4-5 hari. Selanjutnya, larva berkembang menjadi stadia mysis selama 3-4 hari, kemudian akan berubah menjadi stadia pasca larva yang membutuhkan waktu kurang lebih 11 hari. Siklus hidup udang vaname disajikan pada Gambar 2.



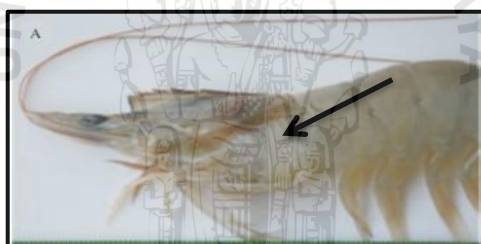
**Gambar 2.** Siklus hidup udang vaname (Pratiwi, 2008).

#### 2.4 Penyakit Pada Udang Vaname yang Disebabkan Oleh Virus

Duc, *et al.* (2015) mengatakan bahwa infeksi virus dianggap sebagai salah satu patogen penyebab penyakit yang paling serius pada kegiatan budidaya udang, hal ini karena menyebabkan kematian yang tinggi dan tidak mudah untuk mengetahui tanda-tanda yang nampak maupun tanda histologisnya. Menurut Carreno, *et al.* (2014), infeksi virus WSSV merupakan salah satu penyakit yang sering ditemukan pada budidaya udang vaname. Udang yang terinfeksi virus ini dapat menyebabkan kematian mencapai 100% dalam waktu yang cepat yaitu antara 3 sampai 7 hari pasca infeksi, sehingga dapat mempengaruhi kerugian ekonomi bagi pembudidaya udang. Nur'aini, *et al.* (2007) mengatakan bahwa dalam budidaya udang vaname sering terserang penyakit yang disebabkan oleh virus seperti *Taura Syndrom Virus* (TSV) dan *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV) sehingga dapat berpengaruh terhadap hasil produksi budidaya udang menurun.

## 2.5 Insang Udang Vaname

Insang udang terletak di sebelah samping kiri-kanan dibalik kelopak kepalanya. Insang ini merupakan salah satu organ yang penting dan berfungsi dalam proses respirasi, ekskresi dan pengaturan osmoregulasi dalam tubuhnya. Insang pada udang memiliki banyak lamela sekunder pada sumbunya. Filamen pada insang bentuknya memanjang dan halus (Wu *et al.*, 2009). Insang pada kelompok crustacea (misalnya udang, lobster dan kepiting) berada di dalam rongga insang dan dibungkus oleh pembungkus insang sehingga dapat melindungi insang terhadap gangguan dari luar. Proses pompa air yang masuk melalui insang terjadi secara cepat sehingga hal ini sangat berpengaruh dalam proses respirasi, ekskresi dan proses osmoregulasi (Bauer, 2004). Insang udang vaname disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Insang udang vaname (Dewangan *et al.*, 2015)

## 2.6 Virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*)

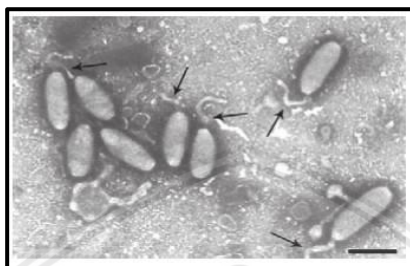
### 2.6.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi WSSV menurut Paz (2010) adalah sebagai berikut :

- Sub family : Nudibaculovirinae
- Family : Nimaviridae
- Genus : Whispovirus
- Spesies : *White Spot Syndrome Virus*

Bonilla, *et al.* (2008) mengatakan bahwa *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) memiliki bentuk lonjong atau *bacilliform*. Memiliki selaput yang melapisi

bagian inti dengan ketebalan berkisar antara 6-7 nm. Virus ini memiliki panjang tubuh berkisar 210-380 nm dan lebar kurang lebih antara 70-167 nm. WSSV juga memiliki bagian tonjolan tubuh yang menyerupai ekor dibagian ujung. Nukleokapsid terletak dibagian dalam selaput sel yang terdiri dari sub unit protein. Morfologi *White Spot Syndrome Virus* disajikan pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Morfologi *White Spot Syndrome Virus* (Durand *et al.*, 1996)

### 2.6.2 Penyebaran Virus WSSV

Virus WSSV yang menginfeksi pada budidaya udang menular melalui dua cara yaitu secara vertikal dan horizontal. Secara vertikal, virus ini menyebar melalui induknya yang kemudian diturunkan kepada benih udang. Selanjutnya penularan secara horizontal melalui kontak langsung terhadap udang yang terinfeksi WSSV. Hal ini dapat terjadi karena dalam kolam budidaya udang yang sakit biasanya akan dimakan oleh udang yang sehat sehingga udang yang sehat akan tertular (Muliani *et al.*, 2007). Penyebaran virus secara horizontal dapat terjadi melalui air, tanah, kanibalisme, feses atau lewat vektor (organisme pembawa penyakit). Spesies yang dapat berperan sebagai agen vektor atau pembawa bibit penyakit antara lain: kepiting liar, rajungan, dan benih udang yang telah terinfeksi virus (Rahmi, 2012).

### 2.6.3 Organ Target WSSV

Organ target yang diserang oleh virus WSSV dapat dijadikan sebagai indikator serangan yaitu pada bagian sel-sel insang, hepatopankreas, dan usus udang. Virus WSSV juga merusak organ lambung, sel epitel, subkutikula, organ

*lymphoid, antennal gland* dan *hemocyte*. Selanjutnya, bila dilakukan pemeriksaan hispatologi terdapat degenarasi sel berupa pembesaran pada berbagai jaringan meso dan ektodermal seperti pada lapisan kulit, jaringan penghubung, organ *lymphoid*, kelenjar antenal dan haematopitik, insang dan jaringan syaraf (Yanto, 2006). Jaringan atau organ tubuh yang menjadi target infeksi WSSV meliputi jaringan saraf, jaringan limfoid, insang, jaringan hematopoitik, dan epidermis kutikula pada udang. Organ lain yang terinfeksi oleh WSSV dengan tingkat infeksi yang ringan seperti organ hepatopankreas, bagian mata, dan jaringan yang berhubungan dengan saluran usus (Chang *et al.*, 1996).

## **2.7 Metode Deteksi Virus**

### **2.7.1 Analisis PCR**

Keberadaan virus yang menginfeksi udang dalam jumlah sedikit dan belum menunjukkan gejala penyakit dapat dideteksi dengan menggunakan teknik PCR. Teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan perkembangan teknologi di bidang biologi molekuler yang dapat digunakan untuk menentukan keberadaan suatu penyebab penyakit (patogen) serta dapat digunakan untuk menentukan kandungan materi genetik baik DNA maupun RNA. Proses deteksi menggunakan alat PCR terdapat 3 tahapan yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi, dan gel elektroforesis (Fajri *et al.*, 2015).

Keberadaan virus dapat dilacak sejak dini karena DNA/RNA virus yang jumlahnya sedikit dapat digandakan dengan PCR sehingga virus tersebut dapat terdeteksi. PCR bersifat sensitif yang hanya memerlukan sedikit virion (minimal  $10^1$  copy DNA untuk mengetahui keberadaan virus sebelum virus mampu menghancurkan atau merusak organ/jaringan udang). Hasil pengujian dengan teknik PCR terbukti positif adanya infeksi virus walaupun secara histopatologis belum terlihat kerusakan pada sel udang. Selain bersifat sensitif, PCR juga

bersifat spesifik yang artinya hanya DNA/RNA dari patogen tertentu (virus tertentu) saja yang akan dideteksi sesuai primer yang dimasukkan. Hal ini dapat meminimalisir agar tidak terjadi *false negative* atau *false positive* yaitu suatu kesalahan dalam diagnosa baik kesalahan pada hasil yang negatif dimana udang tersebut terinfeksi virus atau hasil yang positif dimana ternyata udang tersebut tidak terinfeksi virus (Sukenda *et al.*, 2009).

### **2.7.2 Analisis Histopatologi**

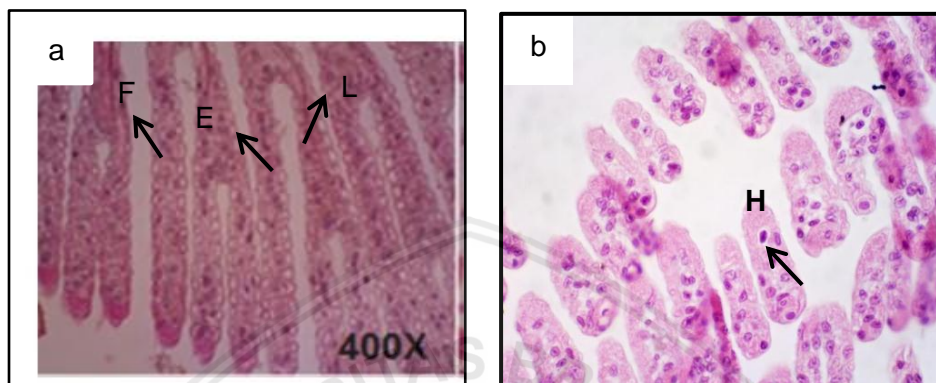
Analisis histopatologi dapat digunakan sebagai gambaran diagnosa untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ dalam. Wilisiani, *et al.* (2013) mengatakan bahwa untuk mengetahui kerusakan sel maupun jaringan yang disebabkan oleh infeksi virus, dapat dilakukan dengan analisa histopatologis dengan mengamati kerusakan jaringan secara mikroskopis akibat infeksi tersebut. Menurut Latriani (2017), prosedur pembuatan preparat histopatologi udang yaitu dilakukan preparasi organ yang akan diamati. Kemudian dilakukan perendaman jaringan dengan alkohol bertingkat yang meliputi proses dehidrasi, *clearing*, dan infiltrasi. Setelah itu dilakukan *embedding*, pemotongan jaringan dan terakhir pewarnaan menggunakan hematoksilin dan eosin.

## **2.8 Parameter yang Diamati**

### **2.8.1 Histopatologi Insang Udang Vaname**

Secara histopatologi insang udang yang sehat dapat dilihat pada inti sel yang dalam kondisi normal, tidak mengalami pembengkakan (*hypertropy*), dan tidak mengalami badan inklusi. Bagian lamela primer dan lamela sekunder dalam kondisi normal (Fahmi *et al.*, 2007). Adanya infeksi virus WSSV pada insang udang mengakibatkan beberapa perubahan yaitu inti sel membesar atau mengalami pembengkakan (*hypertropy*). Hal ini dapat terjadi karena virus

berkembang menjadi banyak dengan cepat di dalam inti sel. Kondisi ini juga mempengaruhi ukuran sel ikut membesar. Sel berubah dari eosinofilik atau berwarna kemerahan menjadi basofilik atau biru (Bir *et al.*, 2017). Gambaran histopatologi insang udang vaname disajikan pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Gambaran histopatologi insang udang vaname. (a) Struktur Insang normal (Maftuch, *et al.*, 2017) dan (b) Insang yang terinfeksi virus (Latriani *et al.*, 2017). ( F: filamen insang, EP: Epithelium, L: Lamela insang, dan H: Hipertropi). Perbesaran 400x (H&E).

### 2.8.2 Gejala Klinis Udang yang Terinfeksi WSSV

Munculnya bintik-bintik putih yang terdapat dibagian karapas merupakan salah satu tanda klinis pada udang yang terinfeksi WSSV. Bintik putih ini biasanya muncul dengan diamter sampai 3 mm dan kadang-kadang menyatu membentuk seperti lempengan dengan diameter yang lebih besar. Selain itu, udang yang terinfeksi WSSV menunjukkan penurunan nafsu makan, gerakan berenang menjadi lambat, berada di dekat permukaan dan kadang-kadang berkumpul di bagian tepi kolam. Mortalitas yang tinggi pada budidaya udang dapat diperkirakan dalam beberapa hari setelah munculnya tanda-tanda perilaku tersebut (Lighter, 1996). Reddy, *et al.* (2011) mengatakan bahwa udang yang terinfeksi WSSV tidak menunjukkan timbulnya bintik-bintik putih pada karapas namun terjadi perubahan warna gelap dan kemerahan yang tampak pada bagian uropod dan pleopoda. Selain itu, udang mengalami penurunan nafsu makan dan mengalami anoreksia.



### 2.8.3 Tingkat Kelangsungan Hidup (SR)

Iskandar dan Elrifadah (2015) mengatakan bahwa tingkat kelangsungan hidup atau biasa dikenal dengan *Survival Rate* (SR) adalah nilai presentase jumlah organisme ikan/udang yang hidup selama periode pemeliharaan pada kolam budidaya. Nilai SR pada suatu organisme budidaya sangat bergantung pada beberapa faktor seperti pakan dan kondisi lingkungan hidupnya. Pakan yang diberikan dengan kualitas dan kuantitas yang cukup serta kondisi lingkungan yang dikontrol dengan baik maka dapat menunjang kelangsungan hidup bagi organisme tersebut. Rumus untuk menghitung SR menurut Arisanti, *et al.* (2013), adalah sebagai berikut :

$$SR (\%) = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

Keterangan :

SR : Kelulushidupan hewan uji (%)

No : Jumlah hewan uji yang ditebar saat pemeliharaan (ekor)

Nt : Jumlah hewan uji yang hidup pada akhir pemeliharaan (ekor)

### 2.8.4 Kualitas Air

Pengelolaan kualitas air dalam kegiatan budidaya cukup penting, karena hal ini dilakukan untuk menjaga agar kondisi lingkungan udang tetap optimal dan sesuai untuk kelangsungan hidupnya. Menurut Fuady, *et al.* (2013), salah satu faktor yang dapat mempengaruhi tinggi rendahnya tingkat kelangsungan hidup dalam organisme budidaya adalah faktor abiotik atau disebut dengan kualitas air. Kualitas air dengan kisaran yang optimal dapat mengakibatkan proses fisiologi dalam tubuh biota tersebut berjalan dengan baik, sehingga dapat mendukung pertumbuhan dan kelangsungan hidup biota.

Dede, *et al.* (2014) mengatakan bahwa parameter kualitas air yang sesuai untuk pemeliharaan udang adalah sebagai berikut: Kisaran suhu yang baik

dalam budidaya udang berkisar 26-30°C. Nilai pH yang disarankan berkisar antara 7-8,5, dimana apabila perairan dengan pH asam (kurang dari 7) akan kurang produktif dan dapat membunuh udang dalam air. Kisaran salinitas yang layak yaitu berkisar antara 12-20 ppt, namun udang akan mengalami kematian apabila nilai salinitas lebih dari 50 ppt. Konsentrasi amonia dalam perairan yang disarankan adalah tidak lebih dari 0,1 mg/l. Kadar oksigen terlarut yang optimal untuk kelangsungan hidup udang kurang lebih antara 3-8 mg/l (Wedjatmiko, 2010).



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat-alat Penelitian

Peralatan dan fungsinya yang digunakan dalam kegiatan penelitian ini disajikan pada Tabel 1 serta dokumentasi alat yang digunakan disajikan pada Lampiran 1.

**Tabel 1.** Alat-alat Penelitian

No	Alat	Fungsi
1	Bak <i>Container</i> (150 L)	Untuk wadah pemeliharaan udang vaname
2	Thermometer	Untuk mengukur suhu selama proses pemeliharaan
3	pH meter	Untuk mengukur kadar PH selama proses pemeliharaan
4	DO meter	Untuk mengukur kadar DO selama proses pemeliharaan
5	Refraktometer	Untuk mengukur kadar salinitas selama proses pemeliharaan
6	Sectio set	Untuk membantu proses pembedahan sampel udang
7	Seser	Untuk mengambil udang
8	Selang aerator	Untuk alat perantara suplai oksigen
9	Batu aerasi	Untuk memecah gelembung oksigen
10	Autoklaf	Untuk proses sterilisasi alat yang akan digunakan
11	Botol sprayer	Untuk wadah larutan alkohol 70%
12	Nampan	Untuk wadah alat dan bahan yang digunakan
13	Mikroskop binokuler	Untuk mengamati organ pada udang vaname
14	<i>Freezer</i> suhu – 80°C	Untuk menyimpan sampel uji
15	<i>Tissue prosesor</i>	Untuk wadah larutan pada proses dehidrasi dan clearing
16	<i>Slide drying</i>	Untuk membantu mengeringkan slide setelah ditempeli potongan sediaan
17	<i>Cassette</i>	Untuk wadah meletakkan organ pada pembuatan preparat histopatologi
18	<i>Object glass</i>	Untuk tempat meletakkan organ yang akan diamati
19	Pisau mikrotom	Untuk memotong jaringan udang
20	<i>Water bath</i>	Untuk wadah air panas
21	<i>Wax dispenser</i>	Untuk wadah parafin ketika proses blocking

No	Alat	Fungsi
22	Oven	Untuk mencairkan agarose yang memadat
23	Cetakan agar	Untuk pembuatan sumur pada agarose
24	Mikropipet	Untuk membantu mengambil larutan sampel pada skala tertentu
25	<i>Sentrifuge</i>	Untuk memisahkan larutan supernatan dan residu
26	<i>Thermall Cycler</i>	Untuk alat yang berfungsi dalam proses penggandaan DNA dan RNA
27	<i>Laminary air flow</i>	Untuk tempat melakukan proses ekstraksi DNA dalam proses PCR
28	Pellet pastel	Untuk menghaluskan sampel saat ekstraksi DNA
29	<i>Spin down</i>	Untuk perlakuan putaran agar seluruh komponen berada di bawah tabung
30	Bunsen	Untuk tempat spiritus
31	Tangki elektroforesis	Untuk proses <i>running</i> DNA
32	UV transiluminator	Untuk visualisasi pewarnaan DNA didalam gel agarosa
33	Toples supernatan	Untuk tempat membuang larutan supernatan
34	Mikrotube	Untuk wadah sampel yang akan dilakukan proses ekstraksi
35	<i>Spuilt</i> 1 ml	Untuk injeksi virus ke dalam tubuh udang
36	Tube	Untuk wadah isolat virus
37	Saringan <i>miliophore</i> no. 45	Untuk alat menyaring virus
38	Inkubator	Untuk alat inkubasi sampel yang akan di PCR
39	Timbangan digital	Untuk menimbang pakan udang
40	Blue tip	Untuk membantu mengambil larutan menggunakan mikropipet
41	Blower	Untuk membantu suplai oksigen ke seluruh akuarium
42	Ember	Untuk membantu memindahkan udang ke bak kontainer
43	Pipa paralon	Untuk mengalirkan oksigen dari blower ke seluruh bak kontainer
44	Tandon	Untuk menampung air laut
45	Botol film	Untuk tempat menyimpan organ setelah di bedah
46	<i>Sterofoam</i>	Untuk tempat sementara saat transportasi udang
47	Mortal dan alu	Untuk menghaluskan sampel organ
48	<i>Cover glass</i>	Untuk menutup <i>object glass</i>

### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan dan fungsinya yang digunakan dalam kegiatan penelitian disajikan pada Tabel 2 serta dokumentasi bahan yang digunakan disajikan pada Lampiran 2.

**Tabel 2.** Bahan Penelitian

No	Bahan	Fungsi
1	Bubuk agarose	Sebagai bahan gel <i>agarose</i>
2	Larutan TBE (Tris-Borat EDTA)	Sebagai larutan buffer pada proses elektroforesis
3	<i>Nuclease free water</i>	Sebagai pelarut saat ekstraksi DNA
4	Alkohol 70%	Sebagai larutan untuk meluruhkan lemak dan protein dan sebagai pengkondisian aseptis
5	Larutan Etbr	Sebagai bahan untuk memvisualisasi pita DNA selama proses elektroforesis.
6	<i>Marker</i>	Sebagai bahan untuk mengetahui ukuran DNA hasil amplifikasi
7	PBS	Sebagai bahan pelarut dalam proses pembuatan virus
8	Inokulum WSSV	Sebagai bahan yang digunakan untuk infeksi pada udang
9	<i>GT buffer</i>	Sebagai bahan untuk penjaga struktur DNA dalam proses PCR
10	Aquades	Sebagai bahan pelarut dalam proses histopatologi
11	Plastik klip	Sebagai tempat sampel udang
12	Udang vaname	Sebagai bahan sampel yang diuji
13	Air laut	Sebagai media hidup udang
14	Sarung tangan lateks	Sebagai pelindung tangan
15	Tisu	Sebagai bahan untuk membersihkan alat-alat yang telah digunakan
16	Sampel insang udang	Sebagai bahan yang akan dianalisis histopatologinya
17	Kertas label	Sebagai bahan untuk penanda setiap perlakuan
18	Larutan davidson	Sebagai pengawet sampel sebelum dilakukan analisis histopatologi
19	Parafin	Sebagai bahan pengawet organ saat proses histopatologi
20	Xylol	Sebagai bahan untuk meluruhkan sisa alkohol pada jaringan
21	Alkohol 70%, 80%, 90% dan 100%	Sebagai bahan untuk mengeluarkan air dan sisa parafin dari jaringan
22	Eosin	Sebagai pewarna preparat jaringan dan memiliki sifat asam

No	Bahan	Fungsi
23	<i>Hematoxyline</i>	Sebagai pewarna preparat jaringan dan bersifat basa
24	Entelan	Sebagai bahan perekat cover glass
25	<i>Cover glass</i>	Sebagai penutup objek glass
26	Kaporit	Sebagia bahan sterilisasi air, drum, dan toples
27	Na-thiosulfat	Sebagai bahan penetral kaporit
28	<i>Dry ice</i>	Sebagai pengkondisian suhu saat transportasi virus
29	Es batu	Sebagai bahan untuk pengkondisian suhu saat transportasi ikan
30	Kantong plastik PE	Sebagai wadah udang saat transportasi

### 3.2 Metode Penelitian

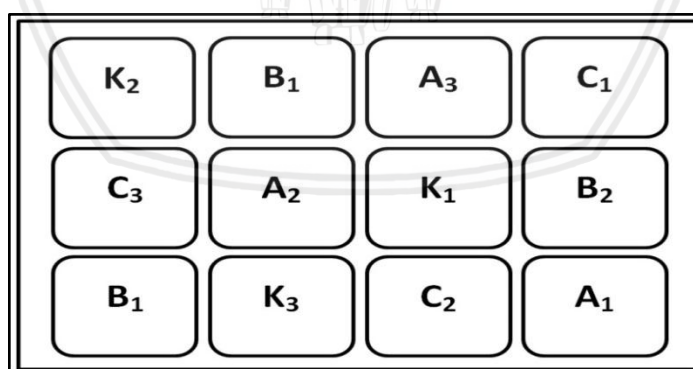
Metode penelitian ini menggunakan metode eksperimen. Setyanto (2015) mengatakan bahwa penelitian dengan metode eksperimen bertujuan untuk meneliti kemungkinan sebab akibat dengan menggunakan satu atau lebih kondisi perlakuan pada satu atau lebih kelompok eksperimen. Eksperimen dapat membandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan dan mengontrol satu atau lebih variabel bebas dan melakukan pengamatan terhadap variabel-variabel terikat untuk menemukan variasi variabel yang muncul bersamaan terhadap variabel bebas yang digunakan.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap (RAL) atau disebut dengan desain acak sempurna merupakan salah satu jenis rancangan yang paling sederhana dan biasa digunakan dalam penelitian. Rancangan ini biasanya digunakan dalam suatu penelitian yang mempunyai media atau lingkungan yang seragam atau sama. Desain dalam RAL yaitu perlakuan dikenakan sepenuhnya secara acak pada setiap unit-unit penelitian atau eksperimen. Model RAL sangat cocok diaplikasikan pada penelitian yang memiliki jumlah perlakuan dan pengulangan

yang relatif sedikit (Andriani *et al.*, 2017). Beberapa kelebihan apabila menggunakan desain RAL dalam suatu percobaan penelitian yaitu pembuatan denah rancangan percobaan lebih mudah, analisis statistik terhadap objek percobaan sederhana, dan fleksibel terhadap jumlah perlakuan dan ulangan yang akan digunakan (Pratisto, 2004).

Penelitian ini menggunakan tiga perlakuan yaitu perlakuan injeksi virus WSSV dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu  $10^2$ ,  $10^3$ , dan  $10^4$ . Dasar penentuan konsentrasi virus yang digunakan bersumber dari penelitian sebelumnya. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Durand and Lightner (2002), mengatakan bahwa inokulum virus dengan konsentrasi  $10^4$  yang diinjeksi pada intramuskular udang dalam waktu kurang lebih 49-52 jam mengakibatkan kematian sebesar 50% udang yang dipelihara. Menurut Yu-Mi *et al.* (2008), injeksi virus WSSV di intramuskular udang *Penaeus chinensis* dengan konsentrasi  $10^2$  dan  $10^3$  menyebabkan kematian lebih dari 40% dalam waktu 2-3 hari pasca infeksi dan kematian total dalam waktu 5 hari. Adapun denah penelitian ini disajikan pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Denah penelitian

Keterangan :

- K : Perlakuan tanpa injeksi WSSV (kontrol)
- A : Perlakuan injeksi virus WSSV konsentrasi  $10^2$ .
- B : Perlakuan injeksi virus WSSV konsentrasi  $10^3$ .
- C : Perlakuan injeksi virus WSSV konsentrasi  $10^4$ .
- 1, 2, 3 : Ulangan.

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Persiapan Wadah Penelitian

Wadah pengamatan yang digunakan berupa bak kontainer dengan kapasitas 150 L sebanyak 12 buah. Bak yang akan digunakan dibersihkan terlebih dahulu dengan air dan sabun, lalu dikeringkan kurang lebih selama 24 jam. Setelah itu, air laut sebagai media hidup udang diisikan ke dalam bak kontainer sebanyak 80 liter. Air laut yang digunakan telah disterilkan terlebih dahulu menggunakan kaporit dengan dosis 20 ppm. Kemudian dilakukan pemasangan aerator set untuk membantu suplai ketersediaan oksigen selama pemeliharaan udang.

#### 3.4.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan perlu dilakukan sebelum maupun setelah melakukan penelitian. Tujuan dari proses sterilisasi yaitu untuk menghilangkan mikroba yang terdapat pada alat maupun bahan yang akan kita gunakan, sehingga hasil penelitian yang dilakukan tidak terkontaminasi mikroba dan valid. Sterilisasi pada alat dapat menggunakan autoklaf yang termasuk dalam sterilisasi basah. Menurut Lingga, *et al.* (2012), cara mencegah adanya kontaminasi pada alat dan media, cawan petri dan media yang digunakan yaitu dengan dimasukkan dalam autoklaf bertekanan 1 atm pada suhu 121°C selama 15 menit. Menghindari kontaminasi media kultur, meja dan alat yang digunakan cukup dibersihkan dengan alkohol 70%. Adapun tahapan dalam proses sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan adalah sebagai berikut :

- Peralatan yang akan digunakan dalam pengujian PCR dicuci terlebih dahulu menggunakan sabun dan air mengalir, lalu dikeringkan.
- Bahan yang berukuran kecil seperti saringan *miliophore* dimasukkan ke dalam beaker glass dan bagian atas dibungkus dengan aluminium foil.



- Alat dan bahan yang akan disterilisasi dimasukkan kedalam autoklaf yang telah disiapkan sebelumnya. Sterilisasi menggunakan autoklaf dilakukan selama kurang lebih 15 menit, dengan tekanan 1 atm dan suhu 121°C. Setelah 15 menit, dapat ditekan tombol power off pada autoklaf dan dibuka klep secara perlahan setelah alarm berbunyi. Kemudian diambil alat dan bahan yang ada di dalam autoklaf.

### 3.4.3 Persiapan Media Pemeliharaan

Media pemeliharaan udang vaname dalam penelitian ini bersumber dari air laut yang telah ditampung di dalam tandon BBPBAP Jepara. Air laut kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan kaporit dengan dosis 20 ppm dalam waktu 24 jam. Setelah itu, ditambahkan *Na-Thiosulfat* untuk menghilangkan sisa-sisa kaporit setengah dari dosis kaporit yang digunakan yaitu kurang lebih 10 ppm. Kemudian dilakukan aerasi selama 14 jam secara terus menerus. Air laut yang telah steril dapat digunakan sebagai media hidup udang.

### 3.4.4 Penyediaan Virus WSSV

Virus yang digunakan untuk diinfeksi ke dalam tubuh udang vaname diperoleh dari udang vaname yang terinfeksi WSSV. Inokulum virus kemudian dibuat dengan mengacu pada Amrillah *et al.* (2015), yaitu diambil 1 gram organ udang yang terinfeksi WSSV. Organ yang telah digerus menggunakan mortal dan alu agar halus. Lalu disuspensi dengan 9 ml air laut steril. Setelah itu, dilakukan sentrifuse selama 20 menit dengan kecepatan 3.000 rpm dan pada suhu 4°C dan diulang lagi proses sentrifuse dengan kecepatan yang berbeda yaitu 8.000 rpm selama kurang lebih 30 menit. Larutan supernatan yang terbentuk disaring dengan kertas filter *milipore* sehingga di dapatkan suspensi virus. Inokulum virus yang diperoleh dengan konsentrasi  $10^4$  diencerkan menjadi  $10^3$  dan  $10^2$  yang ditambah dengan larutan PBS steril. Adapun perhitungan konsentrasi virus yang digunakan disajikan pada Lampiran 3.

### 3.4.5 Persiapan Udang Uji

Udang vaname yang akan diuji dalam penelitian ini dipilih udang vaname dengan kondisi sehat dan memiliki ukuran size 50 yang sesuai dengan ukuran udang konsumsi. Hal ini agar lebih mudah dalam pengamatan organnya. Udang yang digunakan sebanyak 120 ekor. Setiap bak kontainer dimasukkan udang 10 ekor lalu diaerasi untuk membantu suplai oksigen selama pemeliharaan. Waktu pemeliharaan udang dilakukan selama kurang lebih 4 hari sebagai perlakuan aklimatisasi sebelum dilakukan injeksi virus. Selama pemeliharaan ini, udang diberi pakan pelet secara *ad libitum* dengan frekuensi pemberian sebanyak 4 kali sehari. Penyiponan akuarium juga dilakukan secara rutin agar kondisi kualitas air tetap stabil.

## 3.5 Pelaksanaan Penelitian

### 3.5.1 Penularan Virus WSSV

Penularan virus WSSV pada udang vaname dilakukan melalui injeksi. Virus disuntikkan di bagian intramuskular segmen abdominal ketiga sebanyak 0,1 ml/ekor. Jumlah udang yang diinjeksi sebanyak 90 ekor. Taslihan, *et al.* (2002) mengatakan bahwa uji transmisi virus WSSV melalui metode injeksi pada bagian intramuskular udang memberikan hasil reaksi yang lebih cepat apabila dibandingkan dengan metode infeksi secara oral. Pengamatan udang pasca injeksi virus dilakukan pada jam ke 0, 6, 12, 24, 48, 60, dan 72 jam.

### 3.5.2 Deteksi WSSV dengan Metode PCR

Udang vaname yang telah diinjeksi virus WSSV selanjutnya di uji menggunakan metode PCR untuk memastikan keberadaan virus WSSV tersebut dalam tubuh udang. Sampel organ pada udang yang biasa digunakan dalam proses ekstraksi DNA untuk deteksi virus yaitu bagian insang atau kaki renang (pleopoda). Prosedur ekstraksi DNA mengikuti instruksi kerja yang tersedia di

Laboratorium Biologi Molekuler yang mengacu pada *The Office International des Epizooties*, OIE (2009) tentang *Manual of Diagnostics Test for Aquatic Animal* chapter 2.2.2 yaitu menggunakan metode lisis buffer yaitu sebagai berikut :

- Sampel organ diambil ( insang dan kaki renang) kemudian dipotong-potong dengan gunting atau pestel hingga benar-benar halus.
- Sampel dimasukkan ke dalam mikrotube steril ukuran 1,5 mL
- Ditambahkan larutan lysis buffer sebanyak 500  $\mu$ L dan di homogenkan menggunakan vortex mixer selama kurang lebih 5 menit
- Sampel kemudian diinkubasi pada suhu 95°C selama 10 menit
- Setrifugasi mikrotube yang berisi sampel tersebut pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit
- Larutan supernatan yang terbentuk diambil menggunakan mikropipet dan dipindahkan pada mikrotube yang baru
- Ditambahkan 400  $\mu$ L ethanol absolut ke dalam mikrotube dan dihomogenkan dengan *vortex mixer* selama 5 menit
- Sentrifugasi kembali pada kecepatan 10.000 rpm selama kurang lebih 5 menit
- Cairan yang ada di dalam mikrotube dibuat dan tube yang berisi pellet dikering anginkan dalam LAF
- Setelah itu, pellet dilarutkan dengan menambahkan NFW sebanyak 25 ml
- DNA sudah siap digunakan untuk proses selanjutnya.

Menurut Hidayati, *et al.* (2014), proses PCR merupakan proses replikasi DNA yang dilakukan secara *in vitro*. Proses PCR terdiri atas tiga tahapan, yaitu pemisahan dua untai ganda DNA, penempelan primer dan pemanjangan untai DNA baru. Tahapan-tahapan PCR yang dilakukan yaitu denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit, denaturasi pada 95°C selama 1 menit, *annealing*

pada suhu 58°C selama 1 menit, polimerisasi pada suhu 72°C selama 1 menit dan polimerisasi final pada 72°C selama 7 menit. Proses denaturasi hingga polimerisasi dilakukan sebanyak 35 siklus. Amplikon DNA hasil PCR Gradien dan PCR yang dihasilkan dianalisis menggunakan elektroforesis gel agarose 0.8% dilanjutkan visualisasi menggunakan Etidium Bromida (EtBr).

### 3.5.3 Analisis Histopatologi

Persiapan preparat histopatologi udang vaname dilakukan dengan mengambil udang vaname yang menunjukkan gejala klinis terinfeksi virus WSSV pada bak pemeliharaan dan disuntik terlebih dahulu dengan larutan davidson pada bagian *cepalotorax*. Udang vaname kemudian dibedah untuk diambil insang dengan alat sectio set. Langkah selanjutnya yaitu pembuatan preparat histologi dengan tahapan-tahapan antara lain :

- Tahap Fiksasi

Tahap fiksasi dilakukan dengan tujuan untuk mempertahankan struktur jaringan atau organ yang akan diamati. Sampel insang yang telah diambil difiksasi dengan larutan davidson selama kurang lebih 48 jam. Menurut Mohajeri *et al.* (2011), jaringan udang pada analisis histopatologi difiksasi menggunakan larutan davidson selama 48 jam. Setelah itu, jaringan ditiriskan dan dilakukan pemotongan menggunakan pisau scalpel dengan ketebalan 3-5 mm dan ukuran berkisar 1 cm<sup>3</sup> dan diletakkan ke dalam *cassette*. *Cassette* lalu dimasukkan ke dalam keranjang khusus (basket).

- Tahap Dehidrasi

Pada tahap ini dilakukan proses penarikan air secara bertahap pada jaringan/organ yang menggunakan *tissue processor*. Proses dehidrasi ini menggunakan larutan alkohol bertingkat yaitu 70%, 80%, 90%, dan 100% secara berurutan dengan waktu masing-masing 2 jam.

- Tahap *Clearing*

Tahapan ini bertujuan untuk menjernihkan dan mengeluarkan sisa alkohol yang menempel pada jaringan. Sampel jaringan dicelupkan ke dalam larutan *xylol* 1 selama 2 jam, kemudian dicelupkan lagi pada larutan *xylol* 2 selama 2 jam dan dilakukan pencelupan pada larutan *xylol* 3 selama 2 jam.

- Tahap Impregnasi

Pada tahap ini sampel jaringan dimasukkan ke dalam parafin cair pada suhu 56-60<sup>0</sup>C dalam waktu 2 jam dan diulang kembali dengan suhu dan waktu yang sama. Tahap impregnasi dilakukan dengan tujuan agar morfologi sel/jaringan tetap sama seperti kondisi aslinya.

- Tahap *Embedding*

Tujuan dilakukan proses *embedding* adalah untuk memudahkan dalam proses pemotongan jaringan. Pembuatan blok parafin menggunakan cetakan alumunium. Jaringan dikeluarkan dari *cassette* dan dimasukkan ke dalam cetakan yang sudah berisi parafin cair, kemudian ditekan tekan agar jaringan terendam. Setelah itu, ditutup dengan *cassette* sebagai penutup. Cetakan lalu diletakkan pada *cool plate* yang memiliki suhu - 5<sup>0</sup>C agar membeku dan terbentuk blok jaringan.

- *Sectinoning* (pemotongan)

Blok parafin berisi jaringan yang sudah jadi lalu dilakukan pemotongan menggunakan alat mikrotom dengan ketebalan 4-5 $\mu$ . Irisan hasil dari pemotongan mikrotom kemudian dicelupkan ke dalam *water bath* yang berisi air bersuhu 40<sup>0</sup>C. Setelah itu, irisan yang memiliki bentuk rapi dan sesuai diambil kemudian diletakkan di atas *object glass* yang telah diolesi perekat dari putih telur dan gliserol. *Object glass* kemudian dikeringkan menggunakan *slide drying* pada suhu 50-60<sup>0</sup>C dalam waktu 30 menit.

- Tahap Pewarnaan

Pewarnaan preparat dilakukan menggunakan mesin pewarna otomatis. Zat warna yang digunakan dalam proses ini yaitu hematoksilin dan eosin dengan tahapan-tahapan sebagai berikut dan skema kerja pewarnaan preparat disajikan pada Lampiran 4.

- Xylo – 5 menit
- Xylo – 5 menit
- 100% alkohol – 1 menit
- 100% alkohol – 1 menit
- 95% alkohol – 1 menit
- Hematoxilin – 10 menit
- Akuades – 4 celup
- Air mengalir – 10 menit
- Tahap *Mounting*
- Eosin – 2 menit
- 95% alkohol – 2 celup
- 95% alkohol – 2 celup
- 100% alkohol – 1 menit
- 100% alkohol – 1 menit
- Xylo – 2 menit
- Xylo – 2 menit
- Xylo – 2 menit

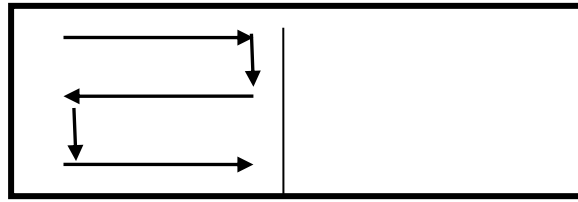
Pada tahap ini dioleskan perekat atau lem entelan pada preparat dan ditutup menggunakan *cover glass*. Selanjutnya preparat dibiarkan pada suhu ruang sampai lem mengering lalu dilakukan pengamatan dibawah mikroskop. Skema kerja pembuatan preparat disajikan pada Lampiran 5.

### 3.6 Parameter Uji

#### 3.6.1 Parameter Utama

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini yaitu hasil histopatologi yang dilakukan pada insang udang. Analisis histopatologi dilakukan ketika udang menunjukkan perubahan gejala klinis terserang WSSV serta hampir mengalami kematian atau sekarat. Pengamatan preparat dibawah mikroskop dilakukan secara zig-zag sesuai dengan pernyataan Surantika (2018), pengamatan preparat histopatologi dimulai pada bagian tepi kiri menuju ke arah

kepala selanjutnya turun ke bawah dan menuju ke bagian ekor kembali (seperti gerakan zig-zag) yang ditunjukkan pada Gambar 7.



**Gambar 7.** Alur zig-zag (Surantika, 2018)

Hasil pengamatan histopatologi yang diperoleh dilakukan perhitungan presentase sesuai dengan tingkat kerusakan organ yang diakibatkan oleh infeksi virus WSSV. Nurin, *et al.* (2018) mengatakan bahwa persentase jumlah kerusakan insang pada setiap lapang pandang yang diamati dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Persentase Kerusakan} = \frac{\text{Jumlah sel yang rusak}}{\text{Jumlah sel analisis}} \times 100\%$$

Selanjutnya dilakukan skoring dari hasil presentase kerusakan tersebut berdasarkan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Nilai Skoring Kerusakan Jaringan

Nilai Skor	Presentase Kerusakan (%)
1	0-5
2	6-25
3	26-50
4	>50

### 3.6.2 Parameter Penunjang

#### a. Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis terhadap udang yang diinfeksi virus WSSV terdiri dari perubahan tingkah laku dan morfologis selama pemeliharaan. Pengamatan tersebut dilakukan pada 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, hingga 72 jam pasca injeksi yang meliputi nafsu makan, aktivitas berenang, dan perubahan warna tubuh udang.

**b. Kelangsungan hidup (SR)**

kelangsungan hidup udang vaname dihitung pada akhir pemeliharaan berdasarkan rumus sebagai berikut :

$$SR (\%) = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan :

SR : Tingkat kelangsungan hidup (%)

$N_t$  : Jumlah udang yang hidup pada akhir pemeliharaan (ekor)

$N_0$  : Jumlah udang pada awal pemeliharaan (ekor).

**c. Parameter Kualitas Air**

Parameter kualitas air yang diamati selama penelitian meliputi suhu, pH, salinitas, dan kadar oksigen terlarut (DO). Pengamatan kualitas air ini dilakukan setiap tiga kali sehari yaitu pada pagi, siang, dan sore hari selama pemeliharaan.

**3.7 Analisis Data**

Data yang didapatkan selama pengamatan dianalisis dengan uji ANOVA berdasarkan rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada selang kepercayaan 95 % ( $\alpha = 0,05$ ) dan 99% ( $\alpha = 0,01$ ). Jika hasil data sidik ragam menunjukkan pengaruh nyata atau berbeda sangat nyata ( $F_{hitung} > F_{tabel}$ ) dari setiap perlakuan yang diuji maka dilanjutkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perbedaan antar perlakuan. Setelah itu, dilakukan uji polinomial orthogonal untuk mengetahui hubungan antar perlakuan dengan parameter utama. Data hasil pengamatan gejala klinis dan kualitas air dianalisis secara deskriptif.

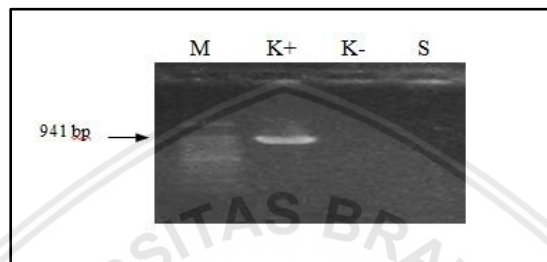


## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Uji PCR Sampel Udang Vaname (*L. vannamei*)

#### A. Hasil Uji PCR Sebelum Perlakuan Infeksi

Hasil pengujian sampel udang melalui uji PCR sebelum diberi perlakuan infeksi virus disajikan pada Gambar 8 berikut ini:

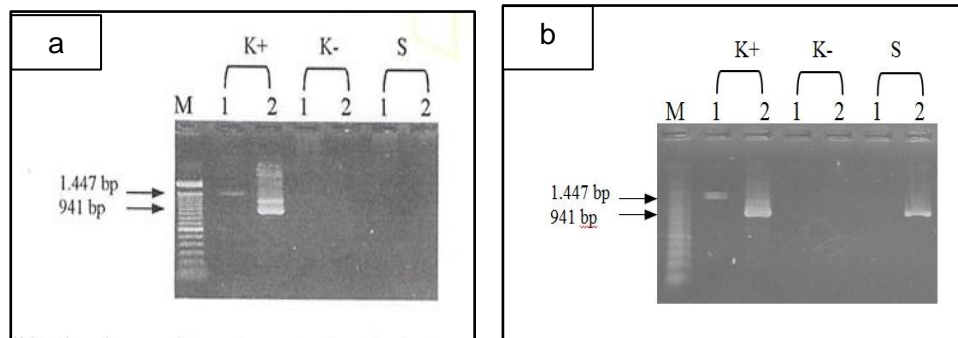


**Gambar 8.** Hasil Uji PCR Sampel Udang. M : Marker (100 bp DNA ladder), K(-): Kontrol negatif, K(+): Kontrol positif terinfeksi WSSV , step 2 (941 bp), S : Sampel udang yang dianalisis

Hasil uji PCR berdasarkan pada Gambar 8 tersebut menunjukkan sampel udang yang diuji negatif WSSV. Hasil negatif tersebut dinyatakan dengan tidak adanya kemunculan *band* atau pita DNA pada sampel udang diuji yang sejajar dengan *band* kontrol positif (941 bp). Hal tersebut dapat diartikan bahwa udang vaname yang digunakan dalam penelitian ini tidak terindikasi adanya infeksi virus WSSV. Setyorini, *et al.* (2008) mengatakan bahwa pembacaan hasil uji PCR yaitu hasil uji positif apabila muncul garis perpendaran pita DNA atau *band* yang sesuai dengan *band* pada kontrol positif virus, sedangkan hasil negatif terinfeksi virus apabila tidak terlihat garis perpendaran pita DNA atau *band* pada kode sampel yang sesuai dengan *band* kontrol positif.

#### B. Hasil Uji PCR Pasca Infeksi Virus

Hasil yang diperoleh dari pengujian sampel udang vaname menggunakan analisis PCR setelah diberi perlakuan infeksi virus WSSV disajikan pada Gambar 9 sebagai berikut :



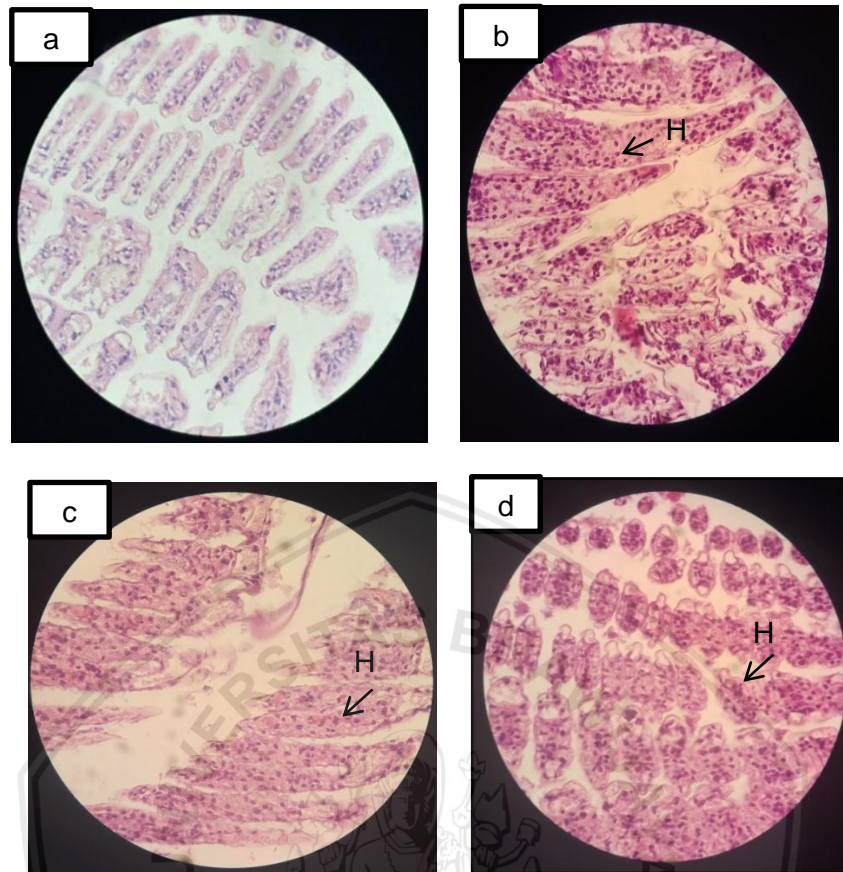
**Gambar 9.** Hasil Uji PCR. (a) perlakuan tanpa infeksi virus (kontrol) dan (b) perlakuan infeksi virus. Keterangan: M: Marker (100 bp DNA ladder), K(-): Kontrol negatif, K(+): Kontrol positif terinfeksi WSSV, step 1 (1.447 bp) dan step 2 (941 bp), S: Sampel udang yang dianalisis.

Hasil uji PCR sesuai dengan Gambar 9a menunjukkan hasil negatif. Hasil analisis negatif dinyatakan dengan tidak adanya kemunculan *band* atau pita DNA pada sampel udang yang diuji. Hal tersebut dapat diartikan bahwa udang vaname yang digunakan dalam penelitian ini pada perlakuan kontrol tidak terindikasi adanya kontaminasi virus WSSV, sedangkan hasil pada kelompok perlakuan yang diinjeksi virus pada Gambar 9b positif terinfeksi WSSV yang ditandai dengan adanya kemunculan *band* DNA pada sampel yang sejajar dengan *band* kontrol positif pada ukuran fragmen 941 bp. Menurut Fitriatin dan Manan (2018), hasil analisis sampel melalui pengujian PCR dapat dilihat pada layar monitor yang dihubungkan dengan alat UV *Transluminator*. *Band* atau pita DNA yang muncul pada sampel uji kemudian dibandingkan dengan *band* pada kontrol positif. Hasil positif ditunjukkan dengan *band* atau pita DNA pada sampel yang sejajar dengan *band* pada kontrol positif.

## 4.2 Gambaran Histopatologi Insang

### 4.2.1 Histopatologi Insang Udang

Pengamatan histopatologi insang udang pada setiap perlakuan dibawah mikroskop binokuler diperoleh hasil yang disajikan pada Gambar 10.



**Gambar 10.** Histopatologi insang udang vaname. (a) Insang pada perlakuan kontrol, (b) konsentrasi  $10^2$ , (c) konsentrasi  $10^3$ , dan (d) konsentrasi  $10^4$ . (H: Hipertropi). Perbesaran 400x (H&E).

Hasil pengamatan berdasarkan pada gambar diatas didapatkan bahwa organ insang udang vaname perlakuan kontrol tidak ditemukan adanya kerusakan pada sel. Hal ini dapat diketahui bahwa tidak terdapat kerusakan hipertropi dan inti sel rata-rata berada pada kondisi normal. Pada kelompok perlakuan infeksi virus dengan konsentrasi yang berbeda rata-rata menunjukkan kerusakan hipertropi. Jamin dan Erlangga (2016) mengatakan bahwa hipertropi merupakan kerusakan organ atau jaringan yang mengalami pembengkakan disebabkan oleh ukuran sel yang terus bertambah besar. Subkhan *et al.* (2005), mengatakan bahwa inti sel yang terinfeksi virus WSSV akan mengalami pembengkakan atau hipertropi yang disebabkan karena perkembangan dan penumpukan virus di dalam inti tersebut. Infeksi virus pada tahap awal akan

terlihat kemerahan atau disebut dengan eusinofilik hipertropi dengan inti di tengah, kemudian pada tingkat infeksi selanjutnya akan bersifat basofilik. Kondisi inti yang terus membengkak ini lama kelamaan akan menekan cairan sel sehingga menyebabkan sel pecah pada tahap perkembangan yang lebih lanjut dan mengalami lisis. Pada tahap selanjutnya sel akan hancur dan mengalami nekrosis.

Hasil perhitungan persentase tingkat kerusakan organ yang diperoleh dilakukan skoring dan analisis data. Analisis data skoring kerusakan hipertropi pada insang udang disajikan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Skoring Kerusakan Hipertropi

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata $\pm$ STDV
	1	2	3		
A (Konsentrasi $10^2$ )	2,60	2,80	3	8,40	2,80 $\pm$ 0,2
B (Konsentrasi $10^3$ )	3,00	3,20	3,00	9,20	3,067 $\pm$ 0,115
C (Konsentrasi $10^4$ )	3,60	3,60	3,40	10,60	3,533 $\pm$ 0,115
Total				28,20	

Berdasarkan pada tabel tersebut, rata-rata kerusakan hipertropi paling tinggi terdapat pada perlakuan yang diinfeksi virus dengan konsentrasi  $10^4$ . Hal ini diduga berkaitan dengan konsentrasi virus yang diinjeksikan pada udang di perlakuan tersebut lebih tinggi sehingga kerusakan hipertropi yang ditimbulkan semakin banyak. Skoring kerusakan hipertropi secara lengkap disajikan pada Lampiran 6. Selanjutnya dilakukan analisis sidik ragam untuk mengetahui pengaruh infeksi virus dengan konsentrasi yang berbeda terhadap kerusakan hipertropi pada insang udang yang disajikan pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Analisis Sidik Ragam Skoring Kerusakan Hipertropi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	2	0,826	0,413	18,60**	5,14	10,92
2. Acak	6	0,133	0,022			
3. Total	8	0,960				

Keterangan \*\*: Berbeda Sangat Nyata

Hasil analisis sidik ragam pada Tabel 5 menunjukkan nilai F hitung > F tabel (5% dan 1%), hal ini berarti infeksi virus WSSV berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan hipertropi pada histopatologi insang udang vaname, sehingga untuk mengetahui perbedaan pada masing-masing perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang disajikan pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Uji BNT Skoring Kerusakan Hipertropi

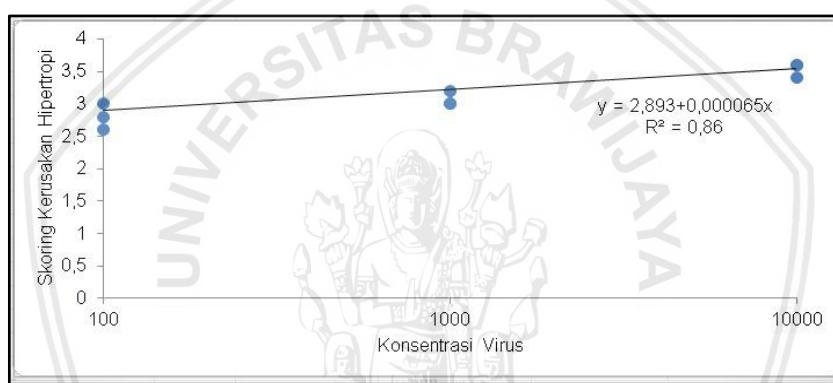
Perlakuan	Rata-rata	A	B	C	Notasi
		2,80	3,067	3,533	
A	2,80	-			a
B	3,067	0,2667 <sup>ns</sup>	-		a
C	3,533	0,7333 <sup>**</sup>	0,4667 <sup>**</sup>	-	b

Keterangan : Huruf yang berbeda pada notasi menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata pada setiap perlakuan. (<sup>ns</sup>: tidak berbeda nyata, \*: berbeda nyata, dan \*\*: berbeda sangat nyata).

Berdasarkan hasil uji BNT dengan taraf kepercayaan 5% pada tabel diatas dapat dikatakan bahwa perlakuan C infeksi virus dengan konsentrasi  $10^4$  berbeda sangat nyata dengan perlakuan B yang diinfeksi pada konsentrasi  $10^3$  dan perlakuan A dengan konsentrasi  $10^2$ , kemudian perlakuan B dengan konsentrasi  $10^3$  tidak berbeda dengan perlakuan A konsentrasi  $10^2$ . Hasil tersebut menunjukkan bahwa infeksi virus WSSV dengan konsentrasi sebesar  $10^4$  dapat menyebabkan kerusakan hipertropi pada jaringan udang yang semakin banyak. Kerusakan hipertropi pada inti sel adalah tahap awal dari infeksi virus WSSV. Menurut Latriani *et al.* (2017), adanya hipertropi pada inti sel akibat infeksi virus WSSV karena DNA virus tersebut telah masuk ke dalam sel udang untuk melakukan proses replikasi dan merusak kerja inti sel sehingga inti sel mengalami pembengkakan atau hipertropi. Doan *et al.* (2009), mengatakan bahwa injeksi virus dengan konsentrasi  $10^4$  menyebabkan organ insang dan kelenjar antennal terdeteksi WSSV dalam waktu 12 jam pasca injeksi dibandingkan organ target lainnya. Hal tersebut dapat dikatakan bahwa replikasi awal virus WSSV mulai terjadi pada organ tersebut melalui sirkulasi darah. Pada

21 jam pasca infeksi beberapa organ target lain seperti jantung, sel epithelium, usus, organ limfoid dan organ target lainnya terinfeksi virus. Hal ini menunjukkan bahwa injeksi virus dengan dosis yang tinggi dapat meningkatkan dan mempercepat perkembangan infeksi WSSV dalam tubuh udang sehingga mempengaruhi kerusakan organ atau jaringan akibat infeksi virus yang ditimbulkan.

Analisis data selanjutnya yaitu dilakukan uji polinomial orthogonal untuk mengetahui hubungan antara perlakuan infeksi virus dengan kerusakan hipertropi insang udang yang disajikan pada Gambar 11.



**Gambar 11.** Hubungan konsentrasi virus dengan kerusakan hipertropi

Berdasarkan Gambar 11 didapatkan kurva regresi linier dengan persamaan  $y = 2,893 + 0,000065x$  dengan koefisien determinasi atau  $R^2 = 0,86$ . Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan infeksi virus WSSV berpengaruh terhadap kerusakan hipertropi pada insang udang. Semakin tinggi konsentrasi virus yang diinfeksi akan menyebabkan tingkat kerusakan hipertropi meningkat pula. Analisis data mengenai rancangan penelitian secara lengkap disajikan pada Lampiran 7.

- Mekanisme infeksi virus ke dalam insang udang

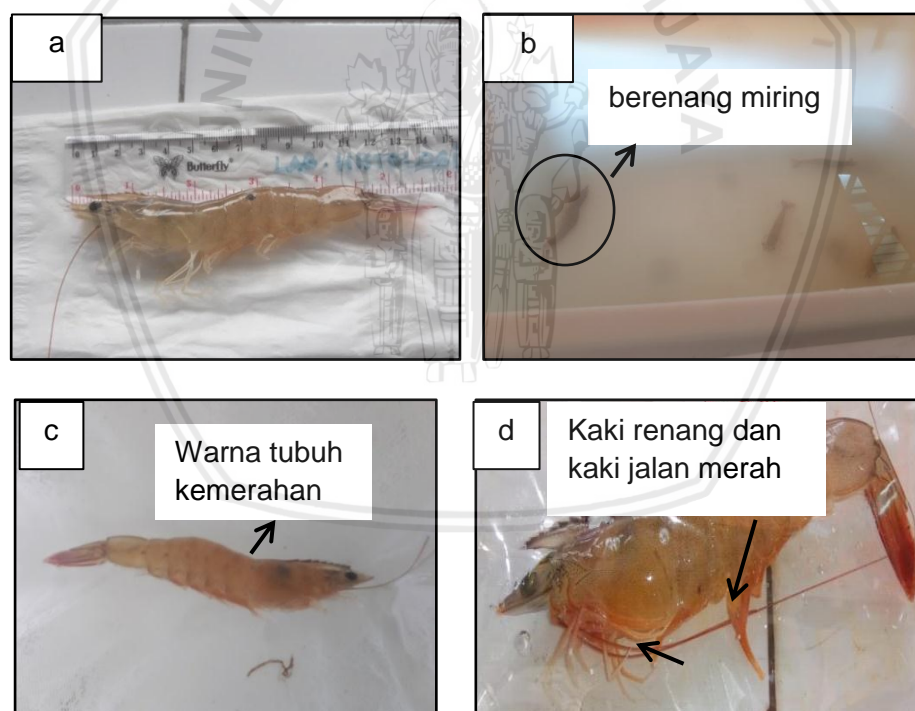
Perkembangan infeksi virus pada masing-masing organ target dari WSSV dalam periode waktu tertentu berbeda-beda. Menurut Jeswin *et al.* (2015), pada

pengamatan 12 jam pasca infeksi replikasi virus tertinggi terjadi dalam sel hemosit udang atau dalam peredaran darah (Hemolim). kemudian diikuti oleh insang, pleopod dan organ target lainnya. Virus yang telah diinfeksi ke dalam tubuh udang akan melakukan replikasi untuk memproduksi virus baru, kemudian akan dilepaskan dari jaringan epitel dan melewati membran basal hingga mencapai jaringan ikat dan berhubungan dengan hemolim atau peredaran darah udang. Hemolim yang membawa virus akan menyebar ke organ target lain dan secara bersamaan akan meningkatkan jumlah replikasinya, sehingga sel yang terinfeksi WSSV akan terlihat di berbagai organ di seluruh tubuh. Sistem peredaran darah pada udang juga melewati organ insang. Hemolim yang membawa virus WSSV juga dapat menyebar dalam organ insang, sehingga insang dapat dengan mudah terinfeksi.

Hidayati, *et al.* (2017) mengatakan bahwa virus yang diinfeksi dalam tubuh udang dapat menyebar melalui hemolim atau aliran darah, dalam hemolim udang virus memperbanyak selnya atau melakukan replikasi dan jika telah terbentuk individu virus baru, kemudian virus akan keluar menyebar pada kelenjar antenal, hal ini berkaitan dengan fungsi dari kelenjar antenal yang berfungsi untuk menjaga volume hemolim dalam tubuh udang agar stabil serta berperan dalam regulasi ion dan osmotik, sehingga virus WSSV juga dapat menyebar dan menginfeksi kelenjar antenal. Melalui sistem peredaran darah, virus juga dapat menyebar ke organ insang. Hal ini dapat terjadi karena selain sebagai organ respirasi, insang juga merupakan organ yang berperan dalam proses peredaran darah udang, sehingga hemolim yang terinfeksi WSSV dalam proses peredaran darah melewati organ insang, akan menyebabkan insang juga terinfeksi virus tersebut.

### 4.3 Gejala Klinis Udang Vaname yang terinfeksi WSSV

Pengamatan terhadap gejala klinis merupakan tahap diagnosa awal atau indikasi pada udang bahwa udang tersebut terserang penyakit khususnya terinfeksi WSSV. Sarjito *et al.* (2013) mengatakan bahwa diagnosa awal terhadap suatu penyakit pada ikan/udang dapat dilakukan dengan mengamati gejala klinis seperti perubahan tingkah laku (lesu, lemah, menolak makanan, berenang miring) serta adanya perubahan morfologis dan anatomi ikan/udang. Gejala klinis udang uji mulai diamati pasca injeksi virus dengan selang waktu 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, dan 72 jam yang meliputi adanya perubahan tingkah laku, morfologis serta mortalitas udang. Pengamatan gejala klinis udang yang terinfeksi WSSV ditunjukkan pada Gambar 12.



**Gambar 12.** Gejala klinis udang vaname pasca infeksi WSSV. (a) Udang vaname normal, (b) udang berenang miring, (c) Warna tubuh kemerahan, (d). Kaki renang dan kaki jalan kemerahan.

Sampel Udang normal (Gambar 12a) selama pengamatan berlangsung tidak terjadi perubahan tingkah laku maupun perubahan morfologis pada tubuhnya . Pada udang normal menunjukkan pergerakan aktif, respon terhadap



rangsangan cepat, warna tubuh putih, dan bagian tubuh lengkap. Menurut Fahmi *et al* (2007), udang yang sehat menunjukkan ciri-ciri yaitu warna tubuh kehijauan, nafsu makan normal, dan bergerak aktif.

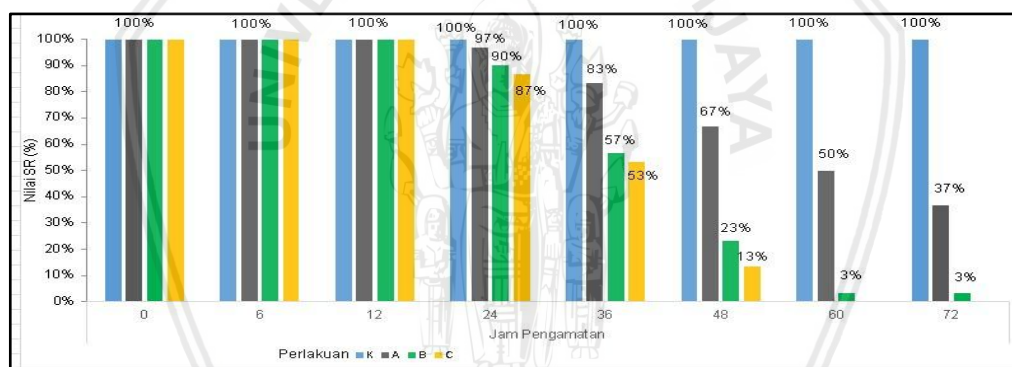
Gambar 12b, 12c, dan 12d merupakan hasil pengamatan gejala klinis pada udang vaname yang terinfeksi WSSV pada konsentrasi yang berbeda yaitu  $10^2$ ,  $10^3$  dan  $10^4$ . Gejala klinis yang tampak pada udang uji selama pengamatan berlangsung, secara umum terlihat adanya perubahan warna tubuh menjadi kemerahan, pada bagian kaki renang dan kaki jalan juga berwarna merah, pergerakan pasif, cenderung diam di dasar namun tidak terdapat bercak-bercak putih pada bagian karapasnya. Arafani, *et al.* (2016) mengatakan bahwa patologi klinis yang umum ditemukan yaitu bintik putih pada karapas udang yang terinfeksi virus WSSV tidak selalu muncul, akan tetapi udang yang terinfeksi virus akan mengalami perubahan warna kemerahan pada tubuhnya, nafsu makan udang menurun dan kurang peka terhadap rangsangan.

Pada pengamatan 6 hingga 12 jam pasca infeksi virus, udang uji disemua perlakuan masih dalam keadaan normal atau tidak terlihat adanya perubahan pada tubuhnya sebagaimana udang perlakuan kontrol. Perubahan gejala klinis pada udang mulai muncul pada 24 jam pasca injeksi. Pengamatan gejala klinis secara lengkap disajikan pada Lampiran 9. Menurut Afsharnasab, *et al.* (2014), udang vaname yang terinfeksi WSSV menunjukkan tanda-tanda udang menjadi lemah, nafsu makan menurun, adanya perubahan warna tubuh menjadi kemerahan. Azizah dan Kurniasih (2005) menyebutkan bawah adanya perubahan warna merah jambu hingga merah kecoklatan akibat infeksi virus WSSV disebabkan karena perluasan dari kromatofor kutikula udang. Selain itu, udang yang terinfeksi WSSV juga mengalami anoreksia, berenang lambat, dan akhirnya tenggam di dasar kolam kemudian mati.

Infeksi WSSV pada udang menunjukkan tanda-tanda perubahan warna kemerahan pada bagian tubuhnya. Perkembangan penyakit virus ini dalam tubuh udang hanya membutuhkan waktu singkat karena sangat virulen dan ukuran pori-porinya kecil sehingga gejala bintik putih mungkin tidak berkembang. Infeksi WSSV juga menyebabkan penurunan nafsu makan sehingga berpengaruh pada kondisi udang menjadi lemah (Reddy *et al.*, 2011).

#### 4.4 Tingkat Kelangsungan Hidup

*Survival rate* (SR) atau tingkat kelangsungan hidup yaitu persentase kelangsungan hidup organisme dari awal pemeliharaan dibandingkan dengan akhir pemeliharaan. Data nilai SR udang vaname selama pengamatan disajikan pada Gambar 13.



**Gambar 13.** Nilai SR udang vaname selama pengamatan

Nilai SR udang vaname selama pengamatan sesuai dengan Gambar 13, diketahui bahwa udang vaname pada perlakuan tanpa infeksi virus atau kontrol tidak mengalami kematian selama pengamatan berlangsung yang ditunjukkan dengan nilai SR sebesar 100%, hal ini berbeda dengan nilai SR pada kelompok perlakuan yang diinfeksi virus meliputi perlakuan A, B, dan C mengalami perubahan selama pengamatan.

Pada kelompok perlakuan infeksi virus, nilai SR mulai mengalami penurunan pada 24 jam pasca injeksi dan terus menurun sampai akhir pengamatan diperoleh nilai SR tertinggi sebesar 37% pada perlakuan A, diikuti

dengan perlakuan B dengan nilai SR 3% serta perlakuan C dengan nilai 0%. Hal ini menunjukkan bahwa virus WSSV sangat virulen yang menyebabkan kematian udang dalam waktu singkat sehingga mempengaruhi SR udang menjadi rendah.

Rahman *et al.*, (2007) mengatakan bahwa penyebab kematian udang akibat infeksi WSSV karena mengalami disfungsi pada beberapa organ target termasuk insang. Virus ini melakukan replikasi pada organ target setelah 12-24 jam pasca infeksi.

Data hasil pengamatan SR udang vaname yang diperoleh tersebut dilakukan uji normalitas melalui analisis spss dengan hasil normal yang disajikan pada Lampiran 8. Kemudian dilakukan analisis data yang disajikan pada Tabel 6 sebagai berikut.

**Tabel 6.** Rerata SR Udang Vaname Selama Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata ± STDV
	1	2	3		
K	100	100	100	300	100 ± 0
A	40	30	40	110	36,67 ± 5,77
B	0	10	0	10	3,33 ± 5,77
C	0	0	0	0	0
<b>Total</b>				420	

Hasil pengamatan terhadap SR udang vaname selama pemeliharaan sesuai dengan tabel 6. menunjukkan bahwa perlakuan kontrol (K) atau tanpa infeksi virus WSSV tidak mengalami kematian sampai akhir pemeliharaan, sedangkan pada perlakuan A konsentrasi  $10^2$  rata-rata nilai SR lebih tinggi yaitu 36,67 dibandingkan dengan perlakuan yang diinfeksi virus lainnya yaitu perlakuan B dan C dengan konsentrasi berturut-turut  $10^3$  dan  $10^4$ . Pada perlakuan C dengan konsentrasi  $10^4$  diperoleh rata-rata SR paling rendah yaitu 0, hal ini karena udang uji pada perlakuan C mengalami kematian total pada jam pengamatan ke-60 pasca infeksi virus. Hal tersebut dapat terjadi karena insang merupakan salah satu organ target dari WSSV serta perkembangan virus yang

relatif cepat dalam inti sel menyebabkan insang dan organ target lainnya rusak dan akhirnya udang mengalami kematian. Bonilla *et al.* (2008) mengatakan pada tahap akhir infeksi virus, organ target dari virus tersebut termasuk insang akan mengalami kerusakan sehingga menyebabkan beberapa organ tidak berfungsi dan dapat menyebabkan kematian. WSSV merupakan salah satu yang virulen pada budidaya udang dan dapat menyebabkan kematian massal sebesar 100% dalam waktu 2-10 hari setelah muncul gejala-gejala klinis. Data yang diperoleh kemudian dilakukan analisis sidik ragam yang disajikan pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Analisis Sidik Ragam SR Udang Vaname

Keragaman	Db	JK	KT	F.hit	F. Tabel	
					F.1%	F5%
Perlakuan	3	19366,67	6455,56	387,33**	7,590	4,07
Acak	8	133,33	16,67			
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>19500</b>				

Keterangan \*\* : Berbeda Sangat Nyata

Hasil analisis yang disajikan pada Tabel 8 menunjukkan bahwa nilai F hitung lebih besar dari F tabel (F.5% dan F.1%). Hal ini berarti infeksi virus WSSV dengan konsentrasi berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap SR udang vaname, sehingga untuk mengetahui adanya perbedaan pada setiap perlakuan dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang disajikan pada Tabel 8.

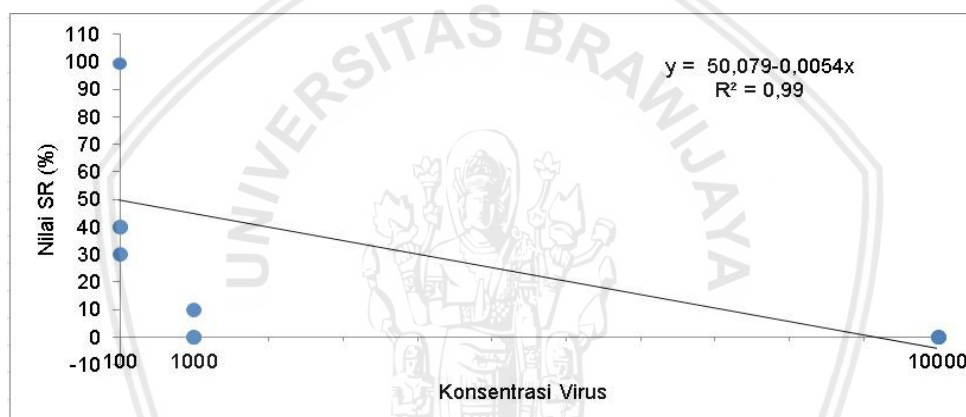
**Tabel 8.** Uji BNT SR Udang Vaname

Perlakuan	Rata-rata	C	B	A	K	Notasi
		0	3,33	36,67	100	
C	0	-	-	-	-	a
B	3,33	3,33 <sup>ns</sup>	-	-	-	a
A	36,67	36,67**	33,33**	-	-	b
K	100	100**	96,67**	63,338**	-	c

Keterangan : Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda sangat nyata setiap perlakuan. <sup>ns</sup>: tidak berbeda nyata, \*: berbeda nyata, \*\*: berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil uji BNT dengan taraf kepercayaan 5% menunjukkan bahwa perlakuan kontrol memiliki pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap

kelompok perlakuan yang diinfeksi virus pada konsentrasi  $10^2$ ,  $10^3$ , dan  $10^4$ . Hal ini disebabkan karena pada udang kontrol tidak diberi perlakuan sehingga nilai SR yang didapat lebih tinggi dan tidak terdapat udang yang mati selama pemeliharaan. Sedangkan perlakuan yang diinfeksi dengan konsentrasi virus WSSV  $10^2$  memiliki pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap perlakuan konsentrasi  $10^3$  dan  $10^4$ , kemudian perlakuan konsentrasi  $10^3$  dan  $10^4$  tidak berbeda nyata terhadap SR udang vaname dengan infeksi virus WSSV. Adapun hubungan antar perlakuan yang diberikan terhadap nilai SR udang disajikan pada Gambar 14.



**Gambar 14.** Hubungan konsentrasi virus dengan nilai SR udang

Berdasarkan pada Gambar 14, diperoleh grafik regresi linier dengan persamaan  $y=50,079-0,0054x$  dan  $R^2= 0,99$ . Semakin tinggi konsentrasi virus yang diinfeksi mengakibatkan nilai SR udang vaname menjadi turun. Hal ini disebabkan karena virus WSSV yang diinfeksi masuk ke dalam inti sel udang dan berkembang secara cepat. Kilawati dan Darmanto (2009) mengatakan bahwa DNA virus akan masuk ke dalam sel dan melakukan proses replikasi secara terus menerus sehingga menyebabkan udang tidak mampu bertahan dan mengalami kematian. Menurut Alifuddin *et al.* (2003), infeksi virus dengan pemberian dosis yang tinggi akan mempengaruhi tingkat kematian udang uji. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka akan menyebabkan

kematian udang semakin tinggi. Analisis rancangan penelitian SR udang vaname secara lengkap disajikan pada Lampiran 8.

#### 4.5 Parameter Kualitas Air

Pengukuran kualitas air selama pemeliharaan udang dilakukan sebanyak 3 kali sehari yaitu pada pagi, siang, dan sore hari. Parameter kualitas air yang diukur meliputi suhu, salinitas, pH dan DO (*Dissolved Oxygen*). Hasil pengukuran tersebut secara umum menunjukkan nilai yang berada dalam batas optimal. Pengukuran kualitas air selama pemeliharaan disajikan pada Tabel 9 dan secara lengkap disajikan pada Lampiran 10.

**Tabel 9. Hasil Pengukuran Parameter Kualitas Air**

Parameter Kualitas Air	Hasil Pengukuran	Referensi
Suhu (°C)	26,3-29,4	26-31 (Pasongli et al., 2015)
pH	7,73-8,06	6,6-8,6 (Parlina et al., 2018)
Do (mg/l)	5,27-6,15	4-8 (Fuady et al., 2013)
Salinitas (ppt)	23-30	10-30 (Arsad et al., 2017)

##### 4.5.1 Suhu

Suhu air memiliki peranan yang penting untuk mengatur aktivitas udang seperti hewan air lainnya. Hasil pengukuran suhu selama pemeliharaan udang vaname berkisar antara 26,3-29,4 °C. Nilai tersebut masih berada dalam kisaran optimal untuk kelangsungan hidup udang vaname. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pasongli et al. (2015), suhu optimal untuk budidaya udang vaname berkisar 26-31 °C. Suhu perairan yang terlalu tinggi akan mempengaruhi perkembangan organisme air karena jika suhu perairan tinggi maka akan mengeluarkan lebih banyak energi untuk mempertahankan hidup. Amri dan Kanna (2008) mengatakan bahwa nilai suhu perairan dibawah 25°C akan mempengaruhi proses daya cerna pakan yang masuk ke dalam tubuh udang

menjadi menurun, hal ini akan menyebabkan respon pakan dan sistem kekebalan tubuh udang ikut menurun.

#### 4.5.2 pH

Nilai pH yang didapatkan selama pemeliharaan yaitu berkisar 7,73-8,06. Hasil pengukuran tersebut menunjukkan bahwa nilai pH air dalam masa pemeliharaan udang vaname cukup optimal. Kisaran pH optimal untuk udang vaname antara 6,6-8,6 (Parlina *et al.*, 2018). Arsad *et al.* (2017) mengatakan bahwa nilai pH perairan yang tidak sesuai dengan kisaran optimal menyebabkan proses moulting terganggu sehingga kulit menjadi lembek dan kelangsungan hidup menurun. Nilai pH air pada titik antara 4-6 dan 9-11 akan berpengaruh pada pertumbuhan udang menjadi lambat.

#### 4.5.3 DO

Hasil pengukuran DO perairan selama pemeliharaan diperoleh nilai yaitu 5,27-6,15 mg/l. Kisaran tersebut masih berada pada kategori DO optimal bagi udang vaname. Oksigen terlarut (DO) merupakan salah satu faktor yang penting dalam budidaya udang. Kadar oksigen dalam air yang rendah menyebabkan stress pada udang dan udang akan lebih rentan terkena penyakit. Kadar oksigen terlarut diperairan sebaiknya lebih dari 4 mg/l dan optimal pada kisaran 4-8 mg/l. Nilai oksigen dibawah 4 mg/l, akan terjadi persaingan pada udang untuk memperoleh oksigen, hal ini akan berpengaruh terhadap nafsu makan menurun dan stres sehingga penyakit mudah masuk ke tubuh udang. (Fuady *et al.*, 2013).

#### 4.5.4 Salinitas

Nilai salinitas yang diperoleh selama pemeliharaan berlangsung berkisar antara 23-30 ppt. Kisaran salinitas tersebut berada dalam kondisi yang optimal. Adapun kisaran salinitas optimum pada udang kurang lebih 10-30 ppt. (Arsad *et al.*, 2017). Menurut Parlina, *et al.* (2018), udang vaname juga mampu bertahan

hidup pada salinitas yang berkisar antara 2-45 ppt, hal ini karena umumnya udang vaname termasuk dalam organisme yang memiliki toleransi salinitas yang luas. Yanti, *et al* (2017) mengatakan bahwa nilai salinitas berkaitan langsung dengan sistem osmoregulasi udang. Salinitas yang tinggi akan menyebabkan pertumbuhan udang menjadi lambat, hal ini disebabkan karena energi lebih banyak digunakan untuk proses osmoregulasi dibanding untuk pertumbuhannya. Salinitas perairan yang berubah secara cepat akan berpengaruh pada kematian udang.





## KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai analisis histopatologi insang udang vaname yang diinfeksi WSSV didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

- infeksi virus WSSV pada udang vaname berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan hipertropi pada insang. Hal ini dibuktikan melalui gambaran histopatologi insang udang dengan konsentrasi virus sebesar  $10^2$  sudah menunjukkan kerusakan hipertropi
- Gejala klinis yang nampak pasca infeksi virus yaitu rata-rata menunjukkan adanya perubahan warna pada bagian tubuh menjadi kemerahan, berenang miring, pergerakan pasif dan respon terhadap rangsangan lambat.

### 5.2 Saran

Berdasarkan dari hasil penelitian yang dilakukan mengenai histopatologi insang udang vaname yang diinfeksi virus WSSV dengan konsentrasi  $10^2$  sudah menyebabkan kerusakan hipertropi pada organ tersebut. Adapun saran yang diberikan antara lain :

- Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai infeksi virus WSSV melalui analisis hematologi pada udang.
- Dapat dilakukan penelitian lanjutan mengenai upaya pengobatan terhadap infeksi virus WSSV.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afsharnasab, M., S. Kakoolaki, and F. Afazli. 2014. The status of *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) in Islamic Republic of Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. **13** (4): 1021-1055.
- Alifuddin, M., D. Dana, M. Eidman, M.B. Malole, dan F.H. Pasaribu. 2003. Penyakit white spot pada udang windu (*Penaeus monodon* FAB.): penularan melalui perendaman dengan virus white spot 20,100, dan 200 ug/ml dengan waktu ekspos 120 menit. *Jurnal akuakultur Indonesia*. **2** (1): 31-35.
- Amri, K dan I. Kanna. 2008. Budidaya Udang Vaname: Semi intensif, Intensif, dan Tradisional. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 5-6 hlm.
- Amrillah, A.M., S. Widyarti, Y. Kilawati. 2015. Dampak stres salinitas terhadap prevalensi *White Spot syndrome Virus* (WSSV) dan *Survival Rate* udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pada kondisi terkontrol. *Research Journal of Life Science*. **2** (1): 110-123.
- Arisanti, F.D., E. Arini, dan T. Elfitasari. 2013. Pengaruh kepadatan yang berbeda terhadap kelulushidupan dan pertumbuhan ikan mas (*Cyprinus carpio*) pada sistem resirkulasi dengan filter arang. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2** (4): 139-144.
- Arsad, S., A. Afandy, A.P. Purwadhi, B. Maya, D. K. Saputra, N. R. Buwono. 2017. Studi kegiatan budidaya pembesaran udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan penerapan sistem pemeliharaan berbeda. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **9** (1): 1-14.
- Ashari, C., R.A. Tumbol, dan M.E.F. Kolopita. 2014. Diagnosa penyakit bakterial pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan pada jaring tancap di Danau Tondano. *Budidaya Perairan*. **2** (3): 24-30.
- Asniatih, I.M. dan K.L. Sabilu. 2013. Studi histopatologi pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Mina Laut Indonesia*. **3** (12): 13-21.
- Balakrishnan, G, S. Peyail, K. Ramachandran, A. Theivasigamani, K.A. Savji, M. Chokkalah, and P. Nataraj. 2011. Growth of Cultured white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) in different stocking density. *Pelagia Research Library*. **2** (3): 107-113.
- Bauer, R.T. 2004. Remarkable Shrimps: Adaptations and Natural History of The Carideans. The University of Oklahoma Press. USA. 279 p.
- Bir, J., P. Howlader, S. Ray, S. Sultana, S.M.I. Khalil, dan G.R. Banu. 2017. A critical review on White Spot syndrome Virus (WSSV): A potential threat to shrimp farming in Bangladesh and some Asian countries. *International Journal of Microbiology and Mycology*. **6** (1): 39-48.

- Bonilla, C.M.E., V.A.Sanz, M.Wille, P.Sorgeloos, M.B. Pensaert, and H.J. Nauwynck. 2008. A review on the morphology, molecular characterization, morphogenesis and pathogenesis of white spot syndrome virus. *Journal of Fish Diseases*. **31**: 1-18.
- Carreno, S.R., R.V. Yanez, F.C. Sandoval, N.R. Garcia, F.D. Herrera, and I.G. Mena. 2014. *White Spot Syndrome Virus (WSSV) infection in shrimp (Litopenaeus vannamei) exposed to low and high salinity. Journal of the Virology*. **159** (3): 1-13.
- Chang, P.S., C.F. Lo, Y.C. Wang, and G.H. Kou. 1996. Identification of *White Spot Syndrome associated Baculovirus (WSBV)* target organs in the shrimp *Penaeus monodon* by in situ hybridization. **27**: 131-139.
- Dede, H., R. Aryawati, dan G. Diansyah. 2014. Evaluasi tingkat kesesuaian kualitas air tambak udang berdasarkan produktivitas primer PT. Tirta Bumi Nirbaya Teluk Hurun Lampung Selatan. *Maspari Journal*. **6** (1): 32-38.
- Dewangan, N.K., A. Gopalakrishnan, D. Kannan, N. Shettu, and R.R. Singh. 2015. Black gill disease of pacific white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by *Aspergillus flavus*. *Journal of Coastal Life Medicine*. **3** (10): 761-765.
- Doan, C.V., A. T. T. Pham, T.X. Ngo, P.H. Le, and H.V. Nguyen. Study on the pathogenesis of the *White Spot Syndrome Virus (WSSV)* on juvenile *Penaeus monodon* in Vietnam. *The Israeli Journal Of Aquaculture*. **61** (3): 249-254.
- Duc, P.M., T.T.T. Hoa, N.T. Phuong, R.H. Bosma, H.V. Hien, and T.N. Tuan. 2015. Virus diseases risk-factors associated with shrimp farming practices in rice-shrimp and intensive culture systems in Mekong Delta Vietnam. *International Journal of Scientific and Research Publications*. **5** (8): 1-6.
- Dugassa, H. and D.G. Gaetan. 2018. Biology of white leg shrimp, *Penaeus vannamei*. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. **10** (2): 5-17.
- Durand, S. V. and D.V. Lightner. 2002. Quantitative real time PCR for the measurement of *white spot syndrome virus* in shrimp. *Journal of Fish Diseases*. **25** : 381-389.
- , S. V, D.V. Lightner, L.M. Nunan, R.M. Redman, J. Mari, and J.R. Bonami. 1996. Application of gene probes as diagnostic tools for *White Spot Baculovirus (WSBV)* of penaeid shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*. **27**: 59-66.
- Fahmi, M. R. Dan M. B. Malole. Respon udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) terhadap antigen WSSV yang diinaktivasi dengan Formaldehid. *J. Ris. Akuakultur*. **2** (1): 77-86.
- Fajri, N.A., M.Ali, dan S.N. Depamede. 2015. Deteksi WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) pada lobster air tawar (*Procambarus clarkii*) menggunakan metode Real time-PCR. *Jurnal Sains Teknologi dan Lingkungan*. **1** (1): 30-36.
- FAO, 2016. *FAO Statistical Yearbook: Fishery and Aquaculture Statistics*. The Organization of Food and Agriculture of the United Nations, Rome.

- Fitriatin, E. dan A. Manan. 2015. Pemeriksaan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada ikan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **7** (2): 149-152.
- Fuady, M.F., M.N. Supardjo, dan Haeruddin. 2013. Pengaruh pengelolaan kualitas air terhadap tingkat kelulushidupan dan laju pertumbuhan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di PT. Indokor Bangun Desa, Yogyakarta. *Diponegoro Journal of Maquares*. **2** (4): 155-162.
- Gomathi, A., S.K. Otta, and M.S. Shekhar. 2015. Aquantitative study on the relative virus load of white spot syndrome virus in infected tissues of tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Indian Journal of Geo-Marine Science*. **44** (6): 800-807.
- Haq, M.A.B., K. Durgadevi, M.N. Banu, A.S. Ahamad, C.Tiwary, and M. Srinivasan. 2015. Detection of *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) in the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in southern India using PCR, SEM, and histological techniques. *Indian Journal of Biotechnology*. **14**. 369-375.
- Iskandar, R. dan Elrifadah. 2015. Pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi pakan buatan berbasis kiambang. *Ziraa'ah*. **40** (1): 18-24.
- Jamin dan Erlangga. 2016. Pengaruh insektisida golongan organofosfat terhadap benih ikan nila gift (*Oreochromis niloticus*, Bleeker): analisis histologi hati dan insang. *Acta Aquatica*. **3** (2): 46-53.
- Jasmanindar, Y. 2011. Prevalensi parasit dan penyakit ikan air tawar yang dibudidayakan di Kota/Kabupaten Kupang. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati dan Fisik*. **13** (1): 25-30.
- Jeswin, J., A. Anju, P. C. Thomas, M.P. Paulton, and K. Vijayan. 2015. Analysis of viral load between differernt tissues and rate of progression of *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) in *Penaeus monodon*. *Aquaculture Research*. **46**: 2003-2012.
- Kaligis, E.Y. Laju pertumbuhan, efisiensi pemanfaatan pakan, kandungan potasium tubuh, dan gradien osmotik postlarva vaname (*Litopenaeus vannamei*, Boone) pada potasium media berbeda. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **6** (2): 92-97.
- Kilawati, Y. Dan W. Darmanto. 2009. Karakter protein ICP11 pada DNA udang vaname(*Penaeus vannamei*) yang terinfeksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV). *Berk. Penelitian Hayati*. **15** : 21-24.
- Kumbayono. 2011. Perbedaan efek penyuluhan kesehatan menggunakan media cetak dengan media audio visual terhadap peningkatan pengetahuan pasien tuberkulosis. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Keperawatan*. **7** (1): 9-25.
- Latritiani, R., Desrina, dan Sarjito. 2017. Keberadaan *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di pertambakan kota Pekalongan. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **6** (3): 276-283.

- Maftuch, K. Aziz, D. Esfitri, E. Sanoesi, dan A.A. Prihanto. 2017. Enrofloxacin stimulates cell death in several tissues of vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Comparative Clinical Pathology*. **26** (2): 1-11.
- Maftuchah, A. Winaya, dan A. Zainudin. 2014. Teknik Dasar Analisis Biologi Molekuler. Deepublish. Yogyakarta. 239 hlm.
- Masri, M. 2013. Deteksi *Koi Herpes Virus* (KHV) pada Ikan Mas Koi (*Cyprinus carpio* L.) dengan menggunakan metode aplikasi Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Teknosains*. **7** (2): 189-200.
- Mohajeri, J., M. Afsharnasab, B. Jalali, S. Kakoolaki, M. Sharifrohani, dan A. Haghighi. 2011. Immunological and histopathological changes in *Penaeus semisulcatus* challenged with *Vibrio harveyi*. *Irian Journal of Fisheries Sciences*. **10** (2): 254-265.
- Muliani, B.R. Tampangallo, dan M. Atmomarson. 2007. Penyebaran dan prevalensi White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada budidaya udang windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal Riset Akuakultur*. **2** (2): 231-241.
- Nur'aini, Y.L., B. Hanggono, S. Subyakto, dan G. Triastutik. 2007. Surveilans aktif *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang dibudidayakan di Jawa Timur dan Bali. *Jurnal Perikanan*. **9** (1): 25-31.
- Nurbariah dan Khairurrazi. 2015. Virulensi White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada udang pisang (*Penaeus* sp). Prosiding Seminar Nasional Biotik. 401-404.
- Nurin, F. N., Maftuch, and U. Yanuhar. 2018. Larvae of hermitia illucens promotes the immunocompetence of haematology and muscle histopathology of common carp (*Cyprinus carpio*) challenged with *Aeromonas hydrophila*. *International Journal of Scientific and Technology Research*. **7** (4) : 126-131.
- Oktafitria, D. dan N. Maulidina. 2018. Kajian kesehatan ikan kurisi (*Nemipterus* sp.) di TPI Kabupaten Tuban berdasarkan histologi hati dan insang. *Jurnal Ilmiah Teknosains*. **4** (1). 1-5.
- OIE. 2018. Infection with White Spot Syndrome Virus. *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals*. Chapter 2.2.8.
- Parlina, I., Nasirin, I.M. Ihsan, Suharyadi, A. Syahputra, S. Budiani, M. Hanif. 2018. Perbandingan pengelolaan lingkungan pada budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan aplikasi anorganik Chelated dengan probiotik. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. **19** (1): 33-40.
- Pasongli, H., G.D. Dirawan, dan Suprpta. 2015. Zonasi kesesuaian tambak untuk pengembangan budidaya udang vaname (*Penaeus vannamei*) pada aspek kualitas air di Desa Todowongi Kecamatan Jailolo Kabupaten Halmahera Barat. *Jurnal Bioedukasi*. **3** (2): 324-335.
- Paz, A.S. 2010. White spot syndrome virus: an overview on an emergent concern. *Vet.Res.* **41**: 1-34.

- Pazir, M.K., M. Afsharnasab, B. J. Jalali, I. Sharifpour, A. A. Motalebi, A. Dashtiannasab. 2011. Detection and identification of *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) and *Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus* (IHHNV) of *Litopenaeus vannamei* from Bushehr and Sistan and Baloochestan provinces, Iran, during 2009-2010. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. **10** (4): 708-726.
- Priatni, D., M. Alifuddin, dan D. Djokosetiyanto. 2006. Pengaruh pemanasan pada temperatur berbeda selama 30 menit terhadap patogenitas *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.). *Jurnal akuakultur Indonesia*. **5** (1): 5-12.
- Putri, S.M., A.H.C. Haditomo, dan Desrina. 2016. Infestasi monogenia pada ikan konsumsi air tawar di kolam budidaya desa Ngrajek Magelang. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **5** (1): 162-170.
- Rafiqie, M. 2014. Penyakit udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) di tambak PT Tanjung Bejo, Pajarakan Kabupaten Probolinggo. *Samakia Jurnal Ilmu Perikanan*. **5** (1): 20-24.
- Rahman, M.M., M. Corteel, M. wille, V. A. Sanz, M.B. Pensaert, P.Sorgeloos and H.J. Nauwynck. 2007. The effect of raising water temperature to 33 oC in *Penaeus vannamei* juveniles at different stages of infection with *White Spot Syndrome Virus* (WSSV). *Aquaculture*. **272**: 240-245.
- Rahmantya, K.F., A.D. Asianto, D. Wibowo, T. Wahyuni, dan W.A.Somad. 2015. Kelautan dan Perikanan dalam Angka 2015: Pusat Data, Statistik dan Informasi, Kementerian Kelautan dan Perikanan. Jakarta. 308 hlm.
- Rahmi. 2012. Deteksi molekular vektor penyebab WSSV pada udang windu (*Penaeus monodon*) di Kabupaten Takalar. *Jurnal Ilmu Perikanan*. **1** (2): 96-101.
- Reddy, A.D., G. Jeyasekaran, and R.J. Shakila. 2011. White Spot Syndrome Virus (WSSV) transmission risk through infected cooked shrimp products assessed by Polymerase Chain Reaction (PCR) and bio-inoculation studies. *Continental Journal Fisheries and Aquatic Science*. **5** (1): 16-23.
- Santoso, S. 2010. Statistik Parametrik. PT. Elex Media Komputindo. Jakarta. 227 hlm.
- Sarjito, S.B. Prayitno, dan Haditomo. 2013. Pengantar Parasit dan Penyakit Ikan. UNDIP Press. Semarang.
- Setyorini, N., A. Khusnah, dan L. Widajatiningrum. 2009. Kelangsungan hidup ikan koi (*C. carpio*) yang terinfeksi KHV (*Koi Herpesvirus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **1** (2): 135-142.
- Sukenda, S.H. Dwinanti, dan M. Yuhana. 2009. Keberadaan *White Spot Syndrome Virus* (WSSV), *Taura Syandrome Virus* (TSV), dan *Infectious Hypodermal Haematopoitic Necrosis Virus* (IHHNV) di tambak intensif udang vaname *Litopenaeus vannamei* di Bakauheni, Lampung Selatan. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **8** (2): 1-8.

- Suyanto, R.S dan E.Ptakarani. 2009. Panduan budidaya Udang Windu. Penebar Swada: Jakarta. 116 hlm.
- Swastina, L. 2013. Penerapan algoritma C4.5 untuk penentuan jurusan mahasiswa. *Jurnal Gema Aktualita*. **2** (2): 93-98.
- Tampangallo, B.R., Herlinah, dan M.C. Undu. 2017. Insidensi dan prevalensi infeksi white spot syndrome virus pada plankton di tambak budidaya udang. *Jurnal Riset Akuakultur*. **12** (4): 361-367.
- Umami, F., Wisanti, dan Yuliani. 2012. Kerusakan insang dan pertumbuhan udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) di tambak keputih Surabaya yang tercemar logam timbal (Pb). *Lentera Biologi*. **1**(1): 25-33.
- Verbruggen, B., L. K. Bickley., R. V. Aerle, K.S. Bateman, G. D. Stentiford, E. M. Santos, and C. R. Tyler. 2016. Molecular mechanisms of *White Spot Syndrome Virus* infection and perspective on treatments. *Viruses*. **8** (23): 1-29.
- Wedjatmiko, A.S. 2010. Budidaya Udang di Sawah dan Tambak. Penebar Swadaya. Depok. 74 hlm.
- Wilisiani, F., N. Rohmah, I.N. Rahmawati, dan N. Wijayanti. 2013. Deteksi molekuler infeksi Taura Syndrome Virus pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dan udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*). *Jurnal Sain Veteriner*. **31** (2): 243-250.
- Wu, J.P., H.C. Chen, and D.J. Huang. 2009. Histopathological alterations in gills of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) after acute Exposure to cadmium and zinc. *Bull Environmental Contam Toxicol*. **82**: 90-95.
- Yanti, M.E.G., N.E.Herliany, B.F. Negara, dan M. A.F. Utami. 2017. Deteksi molekuler White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di PT. Hasfam Inti Sentosa. *Jurnal Enggano*. **2** (2): 156-169.
- Yanto, H. 2006. Diagnosa dan identifikasi penyakit udang asal tambak intensif dan panti benih di Kalimantan Barat. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. **7** (1): 17-32.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Alat Penelitian



Bak Kontainer Kapasitas 150 liter



Aerator set



DO Meter



Refraktometer



pH Pen



Laminary Air Flow







Timbangan Digital



Mikrotube



Sentrifuge



Vortex Mixer



Mesin PCR



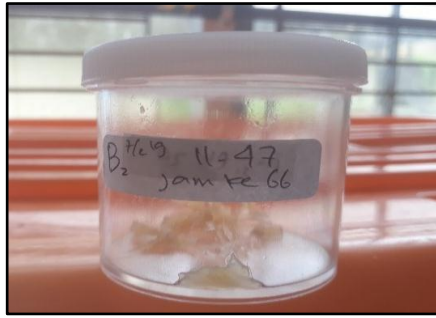
Mikroskop



Cassette Embedding



Histostar



Botol Sampel



Spuit 1 ml



Mikropipet



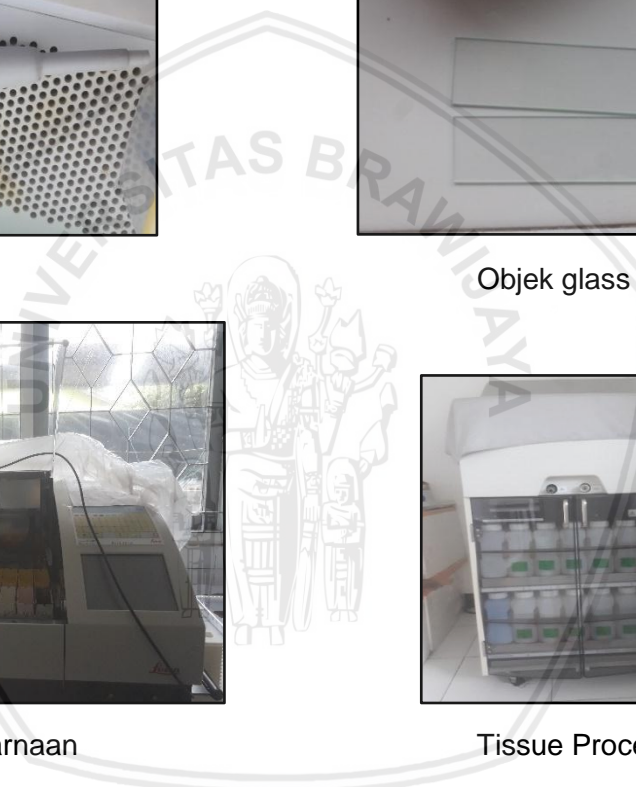
Objek glass



Mesin Pewarnaan



Tissue Processor



## Lampiran 2. Bahan Penelitian



Udang vaname



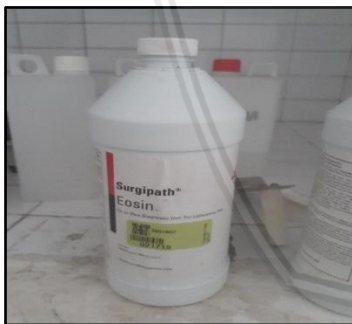
Alkohol 70%



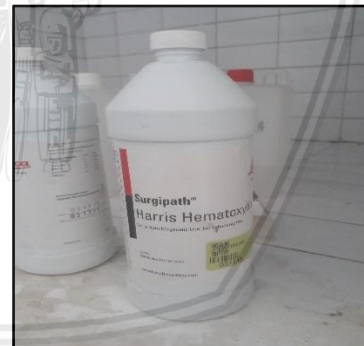
Air laut steril



Inokulum WSSV



Pewarna Eosin



Pewarna Hematoxylin



Xylool



Parafin

**Lampiran 3. Perhitungan Konsentrasi Virus WSSV**Konsentrasi  $10^3$ 

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$10.000 \times N1 = 1.000 \times 4$$

$$N1 = \frac{4.000}{10.000}$$

$$= 0,4 \text{ ml}$$

Larutan PBS yang digunakan :

$$\text{PBS} = 4 \text{ ml} - 0,4 \text{ ml}$$

$$= 3,6 \text{ ml}$$

Konsentrasi  $10^2$ 

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$1000 \times N1 = 100 \times 4$$

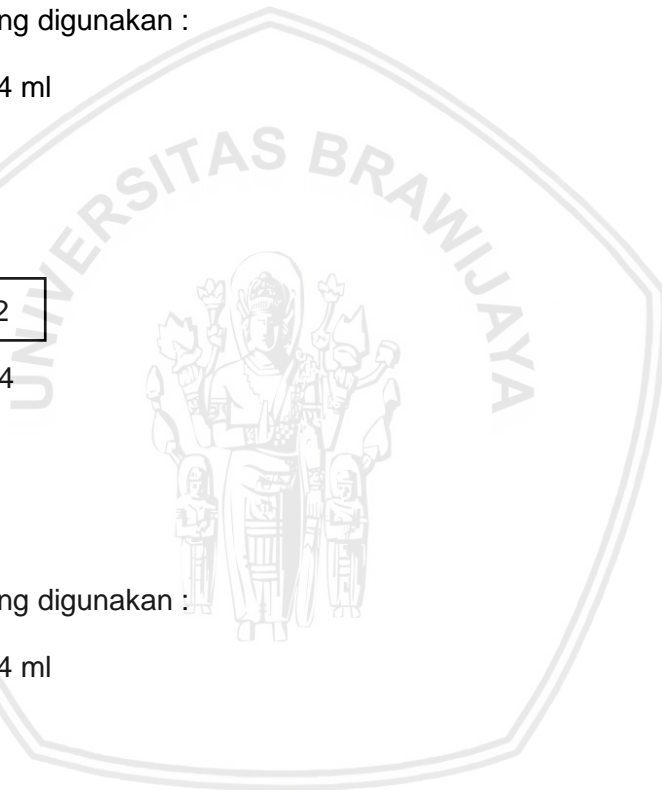
$$N1 = \frac{400}{1000}$$

$$= 0,4 \text{ ml}$$

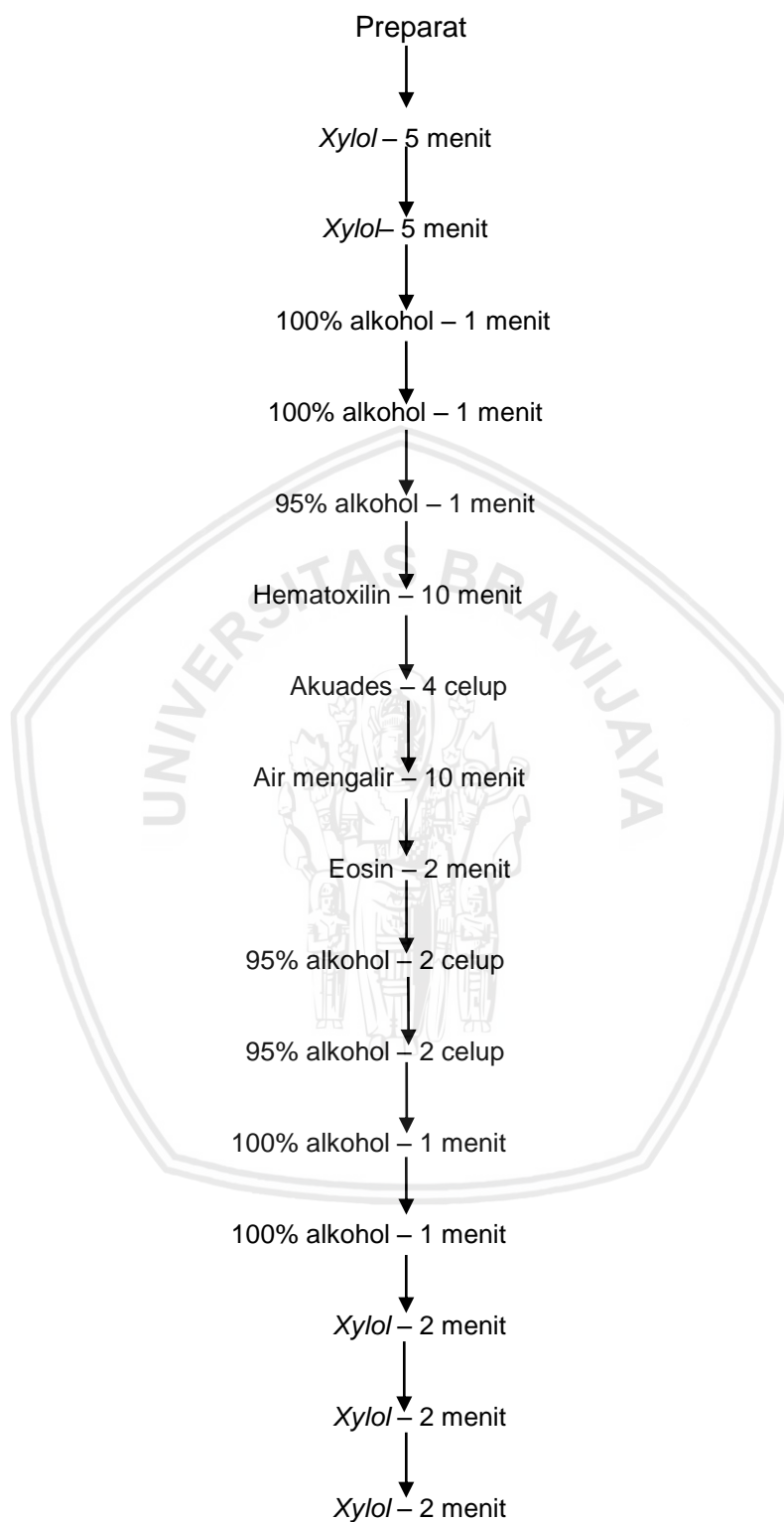
Larutan PBS yang digunakan :

$$\text{PBS} = 4 \text{ ml} - 0,4 \text{ ml}$$

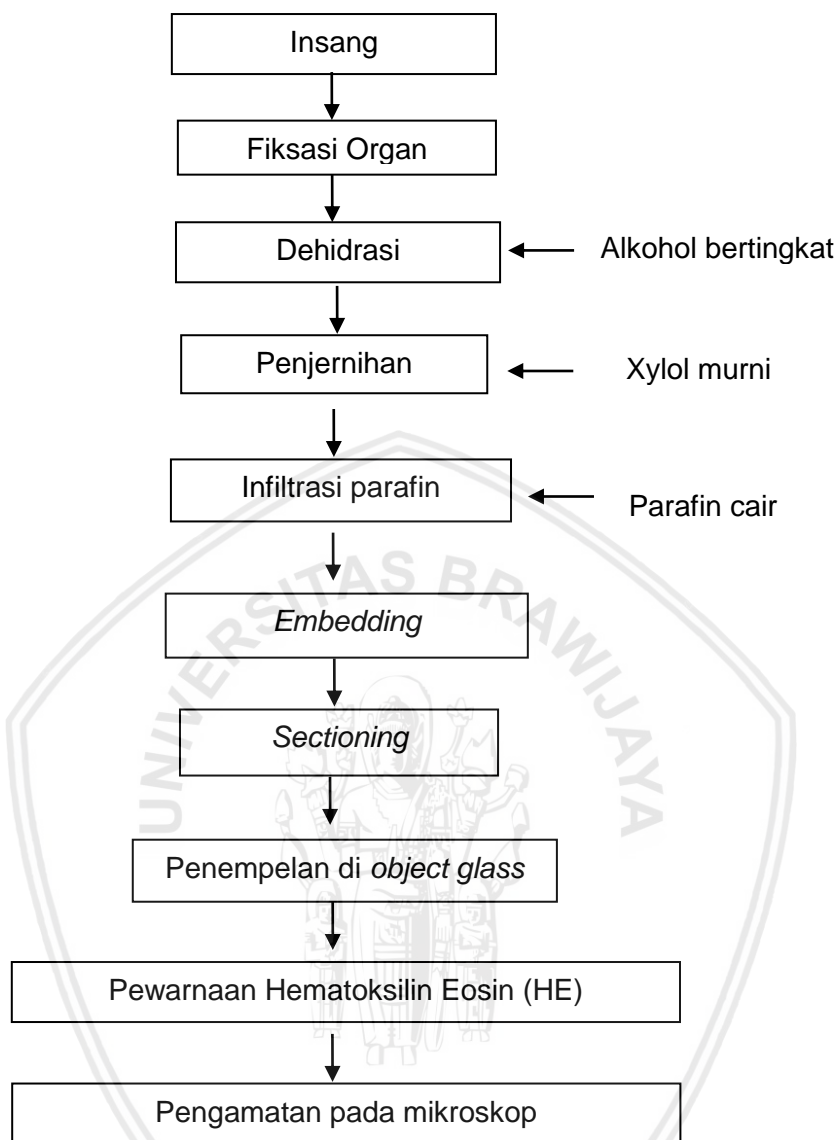
$$= 3,6 \text{ ml}$$



Lampiran 4. Skema Kerja Pewarnaan Preparat Histopatologi

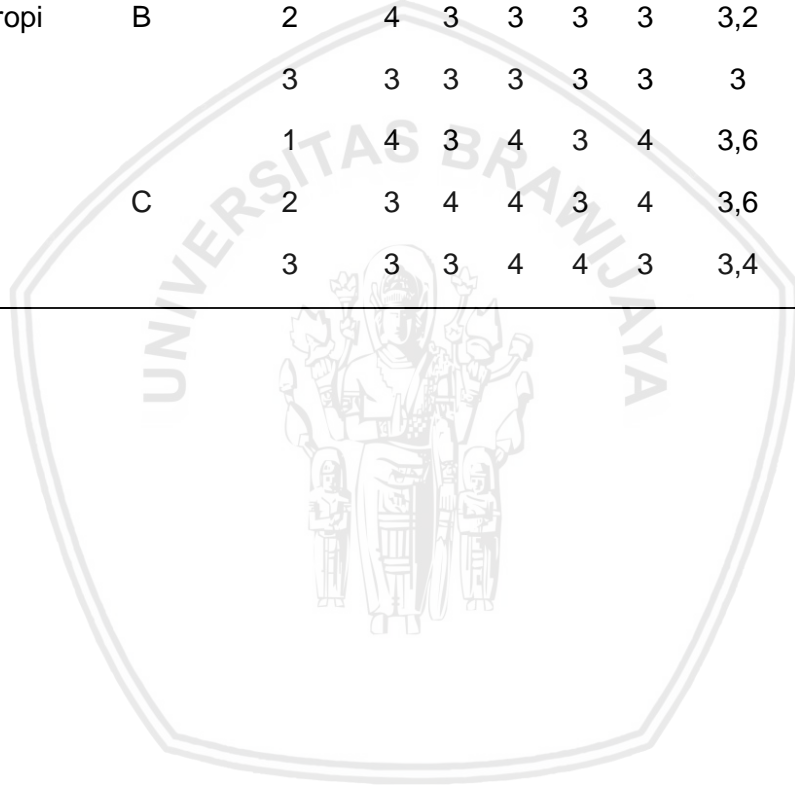


Lampiran 5. Skema Kerja Pembuatan Preparat Histopatologi



Lampiran 6. Data Skoring Kerusakan Hipertropi

Jenis Kerusakan	Sampel	Ulangan	Area Lapang Pandang (LP)					Rerata LP	Rerata Sampel
			1	2	3	4	5		
Hipertropi	A	1	3	3	2	3	2	2,6	2,80
		2	3	3	3	2	3	2,8	
		3	3	3	3	3	3	3	
	B	1	3	3	3	3	3	3	3,067
		2	4	3	3	3	3	3,2	
		3	3	3	3	3	3	3	
	C	1	4	3	4	3	4	3,6	3,533
		2	3	4	4	3	4	3,6	
		3	3	3	4	4	3	3,4	



## Lampiran 7. Rancangan Penelitian

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata ± STDV
	1	2	3		
A (Konsentrasi 10 <sup>2</sup> )	2,60	2,80	3	8,40	2,80 ± 0,2
B (Konsentrasi 10 <sup>3</sup> )	3,00	3,20	3,00	9,20	3,067 ± 0,115
C (Konsentrasi 10 <sup>4</sup> )	3,60	3,60	3,40	10,60	3,533 ± 0,115
Total				28,20	

- Perhitungan Sidik Ragam Skoring
- Frekuensi Kuadrat (FK)

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{28,20^2}{9} = \frac{795,24}{9} = 88,36$$

- Jumlah Kuadrat (JK)

- JK Total

$$JK \text{ Total} = (A1^2 + A2^2 + A3^2 + B1^2 + B2^2 + B3^2 + C1^2 + C2^2 + C3^2) - FK$$

$$JK \text{ Total} = ((2,6)^2 + (2,8)^2 + (3)^2 + (3)^2 + (3,2)^2 + (3)^2 + (3,6)^2 + (3,6)^2 + (3,4)^2) - 88,36$$

$$JK \text{ Total} = 89,32 - 88,36$$

$$JK \text{ Total} = 0,96$$

- JK Perlakuan

$$JK \text{ Per} = \left( \frac{(A \text{ Total})^2 + (B \text{ Total})^2 + (C \text{ Total})^2}{n} \right) - FK$$

$$JK \text{ Per} = \left( \frac{(70,56)^2 + (84,64)^2 + (112,36)^2}{3} \right) - 88,36$$

$$JK \text{ Per} = 89,186 - 88,36 = 0,826$$

- JK Acak

$$JK \text{ Acak} = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$$

$$= 0,96 - 0,826 = 0,133$$

- Derajat Bebas (Db)

- db Total = (n-r) - 1

$$= (3 \times 3) - 1$$



$$= 9 - 1 = 8$$

- db Perlakuan = n - 1

$$= 3 - 1 = 2$$

- db Acak = db Total - db Perlakuan

$$= 8 - 2 = 6$$

- Kuadrat Tengah (KT)

- KT Perlakuan

$$KT \text{ Perlakuan} = \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{0,8266}{2} = 0,413$$

- KT Acak

$$KT \text{ Acak} = \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{0,133}{6} = 0,022$$

- F Hitung

$$F \text{ Hitung} = \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{0,413}{0,022} = 18,60$$

- Tabel Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	2	0,826	0,413	18,60**	5,14	10,92
2. Acak	6	0,133	0,022			
3. Total	8	0,960				

Keterangan: \*\*= berbeda sangat nyata

- Perhitungan Uji BNT

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{\text{ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,022}{3}} = 0,122$$

BNT 5% = t. tabel 5% (db Acak) x SED = 2,446 x 0,122 = 0,298 (yg dipake)

- Tabel BNT Rerata

Perlakuan	Rata-rata	A	B	C	Notasi
		2,80	3,067	3,533	
A	2,80	-			a
B	3,067	0,2667 <sup>ns</sup>	-		a
C	3,533	0,7333**	0,4667**	-	b

Keterangan: \*=berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata



- Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total Perlakuan (Ti)	Pembanding	
		Linier	Kuadratik
A	8,4	-1	1
B	9,20	0	-2
C	10,60	1	1
Q= $\sum(Ti \times Ci)$		2,2	0,6
$\sum(Ci^2)$		2	6
K $\pi$ =( $\sum Ci^2$ )*n		6	18
JK=Q <sup>2</sup> /K $\pi$		0,806	0,020

- Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	2	0,826	0,413	-	5,14	10,92
Linier	1	0,806	0,806	36,309		
Kuadratik	1	0,020	0,02	0,9002		
2. Acak	6	0,133	0,022	-		
3. Total	8	0,960	-	-		

- Menghitung R Square (R<sup>2</sup>)

$$R^2_{\text{Linier}} = \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{JK Acak}} = \frac{0,806}{0,806 + 0,133} = 0,858$$

$$R^2_{\text{Kuadratik}} = \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak}} = \frac{0,020}{0,020 + 0,133} = 0,130$$

- Persamaan Regresi Linier Rerata

Persamaan regresi linier yaitu  $y = b_0 + b_1x$ , sehingga untuk mendapatkan nilai untuk persamaan tersebut maka di lakukan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	XY	Y <sup>2</sup>	x <sup>2</sup>
A1	100	2,60	260	6,76	10000
A2	100	2,80	280	7,84	10000
A3	100	3	300	9	10000
B1	1000	3	3000	9	1000000
B2	1000	3,2	3200	10,24	1000000
B3	1000	3	3000	9	1000000

Perlakuan	X	Y	XY	Y <sup>2</sup>	x <sup>2</sup>
C1	10000	3,6	36000	12,96	100000000
C2	10000	3,6	36000	12,96	100000000
C3	10000	3,4	34000	11,56	100000000
Jumlah	33300	28,2	116040	89,32	303030000
Rerata	3700	3,133	-	-	-

Perhitungan untuk mencari nilai pada persamaan tersebut ialah sebagai berikut:

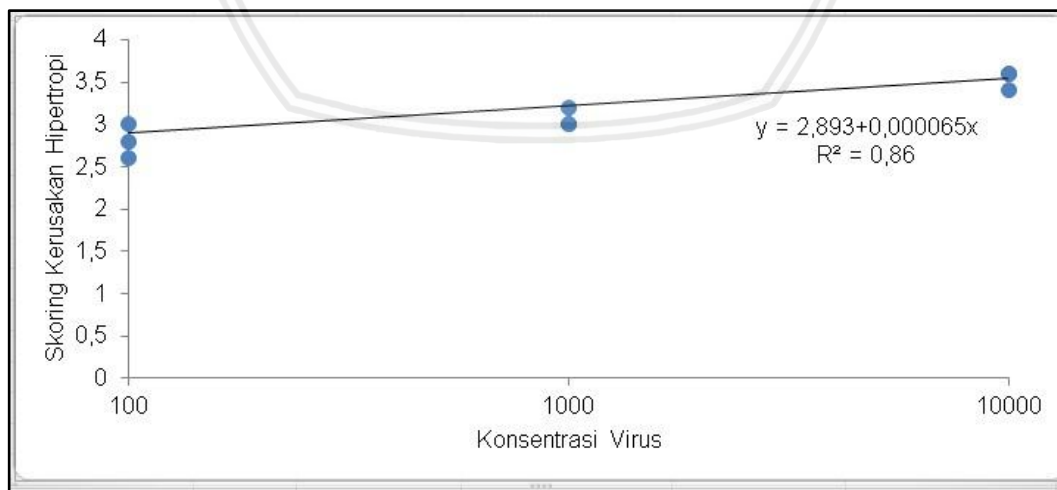
$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{116040 - \frac{(33300)(28,2)}{9}}{303030000 - \frac{(33300)^2}{9}} = 0,000065$$

$$b_0 = \bar{y} - (b_1)(\bar{x})$$

$$= 3,1333 - (0,000065 \cdot 3700) = 2,8925$$

$$R^2 = \frac{JK \text{ Total Regresi}}{JK \text{ Total Regresi} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,826}{0,826 + 0,133} = 0,86$$

Berdasarkan hasil perhitungan persamaan di atas, maka persamaan regresi linier yang diperoleh dari rerata skoring hipertropi yaitu  $y = 2,893 + 0,000065x$ . Berikut adalah gambar kurva regresi dari rerata skoring hipertropi :



**Lampiran 8. Pengamatan Gejala Klinis**

Perlakuan	Waktu pasca injeksi	Ulangan		
		1	2	3
K	0			
	6			
	12			
	24	Normal	Normal	Normal
	36			
	48			
	60			
	72			
A	0	Normal	Normal	Normal
	6	Normal	Normal	Normal
	12	Normal	Normal	Normal
	24	Normal	Normal	Warna tubuh mulai pucat,
	36	Pergerakan pasif	Pergerakan pasif	Pergerakan pasif
	48	Berenang tidak terarah, nafsu makan menurun	Berenang tidak terarah, nafsu makan turun	Berenang tidak terarah, nafsu makan menurun
	60	Warna tubuh kemerahan, Berenang tidak terarah, pergerakan pasif	Warna tubuh kemerahan, berenang tidak terarah	Warna tubuh kemerahan, berenang tidak terarah
	72	Warna tubuh kemerahan, berenang tidak terarah dan cenderung ke tepi	Kaki renang dan kaki jalan kemerahan, respon rangsangan lambat	Kaki renang dan kaki jalan kemerahan, berenang tidak terarah
B	0	Normal	Normal	Normal
	6	Normal	Normal	Normal
	12	Normal	Normal	Normal
	24	Normal	Warna tubuh kemerahan	Warna tubuh kemerahan, gerakan lambat



Perlakuan	Waktu pasca injeksi	Ulangan		
		1	2	3
	36	Pergerakan pasif, kaki renang kemerahan, nafsu makan menurun	Pergerakan pasif, kaki renang kemerahan, nafsu makan menurun	Kaki renang kemerahan, pergerakan pasif, nafsu makan menurun
	48	Warna tubuh kemerahan, berenang tidak terarah dan cenderung ke tepi	Warna tubuh kemerahan, berenang tidak terarah dan cenderung ke tepi	Warna tubuh kemerahan, berenang tidak terarah dan cenderung ke tepi, hepatopankreas kemerahan
	60	Warna tubuh kemerahan, kaki renang merah	Warna tubuh kemerahan, berenang ke tepi	Warna tubuh kemerahan, berenang tidak terarah, kaki renang dan kaki jalan kemerahan
	72	Udang mati semua	Udang mati semua	Udang mati semua
	0	Normal	Normal	Normal
C	6	Normal	Normal	Normal
	12	Normal	Normal	Normal
	24	Warna tubuh mulai kemerahan, pergerakan lambat, kaki renang mulai kemerahan	Warna tubuh mulai kemerahan, pergerakan lambat, kaki renang mulai kemerahan	Warna tubuh mulai kemerahan, pergerakan lambat, kaki renang mulai kemerahan
	36	Kaki renang kemerahan, pergerakan pasif, berenang ke tepi, nafsu makan menurun	Kaki renang kemerahan, pergerakan pasif, berenang ke tepi, nafsu makan turun	Kaki renang kemerahan, pergerakan pasif, berenang ke tepi, nafsu makan turun, respon lambat



Perlakuan	Waktu pasca injeksi	Ulangan		
		1	2	3
	48	Warna tubuh kemerahan, berenang tidak terarah, kaki renang dan kaki jalan	Warna tubuh kemerahan, berenang tidak terarah, kaki renang dan kaki jalan	Warna tubuh kemerahan, berenang tidak terarah, kaki renang dan kaki jalan
	60	kemerahan, Udang mati semua	kemerahan, Udang mati semua	kemerahan, Udang mati semua
	72	-	-	-



Lampiran 9. Hasil Uji Normalitas SR udang vaname

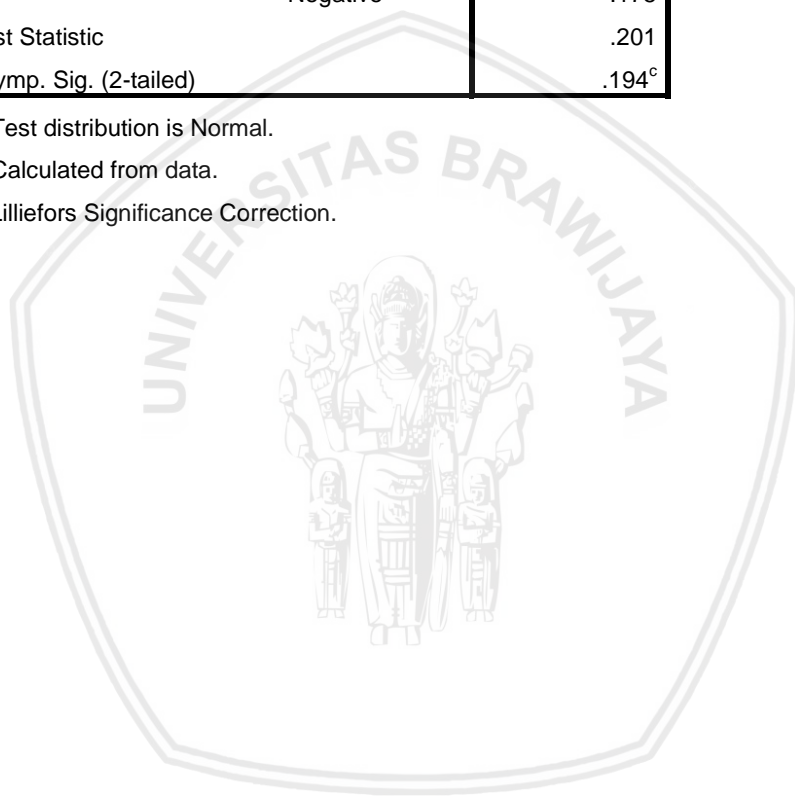
**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Unstandardized Residual
N		12
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.0000000
	Std. Deviation	34.74702101
Most Extreme Differences	Absolute	.201
	Positive	.201
	Negative	-.175
Test Statistic		.201
Asymp. Sig. (2-tailed)		.194 <sup>c</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.



**Lampiran 10. Data Tingkat Kelangsungan Hidup (SR) Udang Vaname**

- Tabel SR selama pengamatan

Perlakuan Ulangan		Jam Pengamatan							Persentase	
		0	6	12	24	36	48	60		72
K	1	10	10	10	10	10	10	10	10	100%
	2	10	10	10	10	10	10	10	10	100%
	3	10	10	10	10	10	10	10	10	100%
A	1	10	10	10	10	9	7	5	4	40%
	2	10	10	10	10	8	7	5	3	30%
	3	10	10	10	10	8	6	5	4	40%
B	1	10	10	10	10	7	3	0	0	0%
	2	10	10	10	9	6	2	1	1	10%
	3	10	10	10	8	4	2	0	0	0%
C	1	10	10	10	8	5	1	0	0	0%
	2	10	10	10	9	6	2	0	0	0%
	3	10	10	10	9	5	1	0	0	0%

- Perhitungan SR (%)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata ± STDV
	1	2	3		
K	100	100	100	300	100,00 ± 0
A	40	30	40	110	36,67 ± 5,77
B	0	10	0	10	3,33 ± 5,77
C	0	0	0	0	0,00 ± 0
<b>Total</b>				<b>420</b>	

- Perhitungan Sidik Ragam Skoring
- Frekuensi Kuadrat (FK)

$$FK = \frac{G^2}{n} = \frac{420^2}{12} = \frac{176400}{12} = 14700$$



- Jumlah Kuadrat (JK)

- JK Total

$$JK \text{ Tot} = (K_1^2 + K_2^2 + K_3^2 + A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + B_1^2 + B_2^2 + B_3^2 + C_1^2 + C_2^2 + C_3^2) - FK$$

$$JK \text{ Tot} = ((100)^2 + (100)^2 + (100)^2 + (40)^2 + (30)^2 + (40)^2 + (0)^2 + (10)^2 + (0)^2 + (0)^2 + (0)^2 + (0)^2) - 14700$$

$$JK \text{ Tot} = 34200 - 14700 = 19500$$

- JK Perlakuan

- JK Perlakuan =  $\left( \frac{(K \text{ Total})^2 + (A \text{ Total})^2 + (B \text{ Total})^2 + (C \text{ Total})^2}{n} \right)$

$$= \left( \frac{(300)^2 + (110)^2 + (10)^2 + (0)^2}{3} \right) - 14700$$

$$= 102200 - 14700$$

$$= 19366,667$$

- JK Acak

$$JK \text{ Acak} = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$$

$$= 19500 - 19366,667$$

$$= 133,333$$

- db Total = (n-r) - 1

$$= (4 \times 3) - 1 = 12 - 1 = 11$$

- db Perlakuan = n - 1

$$= 4 - 1 = 3$$

- db Acak = db Total - db Perlakuan

$$= 11 - 3 = 8$$

- Kuadrat Tengah (KT)

- KT Perlakuan

$$KT \text{ Perlakuan} = \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{19366,667}{3} = 6455,55$$

- KT Acak

$$KT \text{ Acak} = \frac{Jk \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{133,333}{8} = 16,67$$

- F Hitung
- $F \text{ Hitung} = \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{64455,56}{16,67} = 387,33$
- F. Tabel 1% = 7,59
- F. Tabel 5% = 4,07
- Tabel Analisis Sidik Ragam

Keragaman	Db	JK	KT	F.hit	F. Tabel	
					F.1%	F5%
Perlakuan	3	19366,67	6455,56	387,33**	7,59	4,07
Acak	8	133,33	16,67			
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>19500</b>				

Keterangan: \*\*=berbeda sangat nyata

- Perhitungan Uji BNT

$$SED \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{\text{ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 16,667}{3}} = 1,924$$

BNT 5% : tabel 5% (db Acak) x SED = 2,306 x 1,924 = 4,44

- Tabel Uji BNT

Perlakuan	Rata-rata	C	B	A	K	Notasi
		0	3,33	36,67	100	
C	0	-	-	-	-	a
B	3,33	3,33 <sup>ns</sup>	-	-	-	a
A	36,67	36,67**	33,33**	-	-	b
K	100	100**	96,67**	63,338**	-	c

- Uji Polinomial Ortogonal

Perlakuan	Total Perlakuan (Ti)	Pembanding		
		Linier	Kuadratik	Kubik
K	300	-3	1	-1
A	110	-1	-1	3
B	10	1	-1	-3
C	0	3	1	1



Perlakuan	Total Perlakuan (Ti)	Pembanding		
		Linier	Kuadratik	Kubik
	$Q = \sum(T_i, C_i)$	-1000	180	0
	$\sum(C_i^2)$	20	4	20
	$K\pi = (\sum C_i^2) * n$	60	12	60
	$JK = Q^2 / Kn$	16666,667	2700	0

- Sidik Ragam Regresi Rerata

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
1. Perlakuan	3	19366,667	6455,55	-	5,14	10,92
Linier	1	16666,667	16666,667	1000**		
Kuadratik	1	2700	2700	162**		
Kubik	1	0	0	0		
1. Acak	8	133,333	16,66	-		
2. Total	11	19500	-	-		

- Menghitung R Square (R<sup>2</sup>)

$$R^2_{\text{Linier}} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{16666,667}{16666,667 + 133,333} = 0,9920$$

$$R^2_{\text{Kuadratik}} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{2700}{2700 + 133,333} = 0,9529$$

$$R^2_{\text{Kubik}} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0}{0,0 + 133,333} = 0,0$$

- Persamaan Regresi Linier Rerata

Persamaan regresi linier yaitu  $y = b_0 + b_1x$ , sehingga untuk mendapatkan nilai untuk persamaan tersebut maka di lakukan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	XY	x <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>
K1	0	100	0	0	10000
K2	0	100	0	0	10000
K3	0	100	0	0	10000
A1	100	40	4000	10000	1600
A2	100	30	3000	10000	900
A3	100	40	4000	10000	1600
B1	1000	0	0	1000000	0
B2	1000	10	10000	1000000	100
B3	1000	0	0	1000000	0

Perlakuan	X	Y	XY	x <sup>2</sup>	Y <sup>2</sup>
C1	10000	0	0	100000000	0
C2	10000	0	0	100000000	0
C3	10000	0	0	100000000	0
Jumlah	33300	420	21000	303030000	34200
Rerata	2775	35	-	-	-

Perhitungan untuk mencari nilai pada persamaan tersebut ialah sebagai berikut:

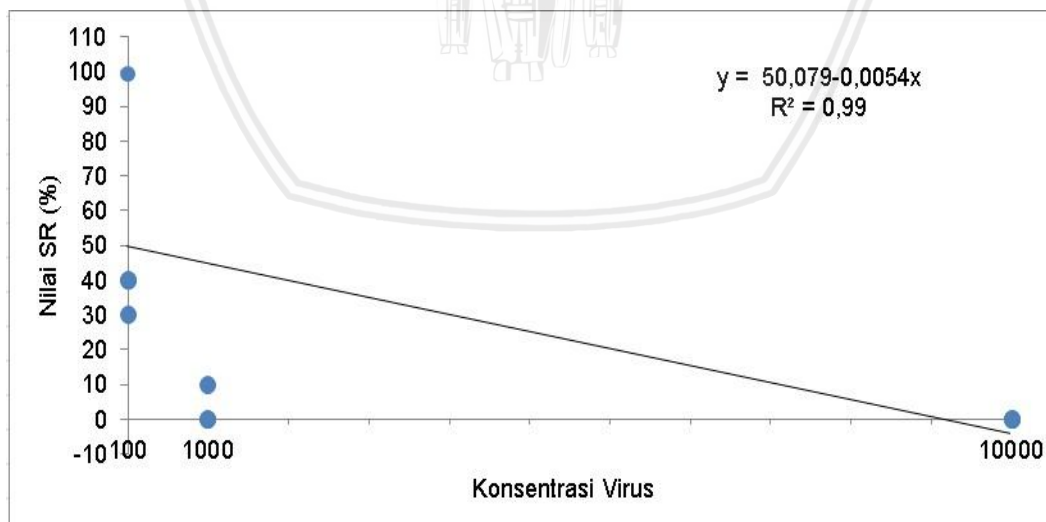
$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{2100 - \frac{(33300)(420)}{12}}{303030000 - \frac{(303030000)^2}{12}} = -0,005$$

$$b_0 = \bar{y} - ((b_1) (\bar{x}))$$

$$= 35 - ((-0,005) (2775)) = 50,079$$

$$R^2 = \frac{JK \text{ Total Regresi}}{JK \text{ Total Regresi} + JK \text{ Acak}} = \frac{19366,67}{19366,67 + 133,333} = 0,99$$

Berdasarkan pada hasil perhitungan persamaan diatas diperoleh persamaan regresi linier yaitu  $y = 50,079 - 0,005x$ . Adapun gambar kurva regresi dari nilai SR udang vaname sebagai berikut :



Lampiran 11. Data Hasil Pengamatan Kualitas Air

TGL	PERLAKUAN	PARAMETER											
		SUHU (°C)			PH			DO (ppm)			SALINITAS (ppt)		
		Pagi	Siang	Sore	Pagi	Siang	Sore	Pagi	Siang	Sore	Pagi	Siang	Sore
07/02/2019	K1	27.9	28.0	28.5	7.88	7.88	7.89	5.83	5.85	5.99	26	27	26
	K2	28.1	28.4	28.3	7.85	7.87	7.91	5.88	5.94	5.92	27	28	28
	K3	28.0	28.1	28.2	7.91	7.93	7.94	5.85	5.99	6.08	27	27	24
	A1	27.6	28.5	28.7	7.89	7.91	8.01	5.77	5.65	5.63	26	28	26
	A2	27.9	28.2	28.9	7.92	7.93	7.93	5.86	5.78	5.75	23	25	25
	A3	28.3	28.3	28.6	7.90	7.94	7.95	5.79	5.69	5.72	24	27	26
	B1	27.2	28.2	28.6	7.86	7.90	7.94	5.87	6.15	5.97	25	23	24
	B2	28.5	28.2	28.8	7.84	7.87	7.88	5.80	5.85	5.66	25	25	25
	B3	27.7	28.0	28.3	7.86	7.88	7.92	5.46	5.48	5.58	24	26	27
	C1	27.7	28.7	29.0	7.82	7.83	7.86	5.78	5.80	5.82	27	27	28
	C2	28.4	28.0	28.4	7.85	7.92	7.95	5.81	5.80	5.81	26	29	26
	C3	27.8	28.2	28.5	7.86	7.94	7.95	5.84	5.87	5.86	26	26	25
08/02/2019	K1	27.4	28.4	28.6	7.82	7.83	7.88	5.78	5.81	5.92	25	26	28
	K2	27.6	27.8	28.0	7.79	7.88	7.89	5.76	5.89	5.95	24	23	23
	K3	28.2	28.2	28.4	7.86	7.86	7.90	5.82	5.83	5.85	26	26	27
	A1	28.1	28.5	28.6	7.84	7.85	7.87	5.84	5.83	5.82	25	25	25
	A2	27.9	28.1	28.3	7.92	7.96	7.96	5.85	5.80	5.79	24	27	27
	A3	27.5	28.0	27.8	7.84	7.82	7.87	5.88	5.87	5.83	25	23	25
	B1	27.2	28.0	28.1	7.84	7.86	7.89	5.89	5.90	5.88	27	26	26
	B2	27.1	28.4	28.2	7.83	7.87	7.90	5.76	5.88	5.91	26	25	25
	B3	27.6	27.7	27.9	7.90	7.91	7.95	5.77	5.77	5.78	24	23	26
	C1	27.5	28.0	28.5	7.82	7.87	7.90	5.84	5.83	5.83	26	23	25

TGL	PERLAKUAN	PARAMETER											
		SUHU (°C)			PH			DO (ppm)			SALINITAS (ppt)		
		Pagi	Siang	Sore	Pagi	Siang	Sore	Pagi	Siang	Sore	Pagi	Siang	Sore
09/02/2019	C2	27.8	28.0	28.3	7.85	7.87	7.88	5.88	5.89	5.86	26	27	24
	C3	27.9	28.6	27.7	7.90	7.93	7.96	5.82	8.84	5.92	25	26	26
	K1	27.7	28.4	29.0	7.85	7.89	7.81	5.79	6.03	5.76	28	30	25
	K2	27.3	28.1	29.0	7.89	7.86	7.87	5.85	5.94	5.80	26	24	24
	K3	27.8	28.3	29.0	7.89	7.86	7.87	5.82	5.98	5.96	26	29	25
	A1	27.7	27.9	28.6	7.87	7.85	7.81	5.78	5.80	5.85	25	24	26
	A2	27.9	28.1	28.5	7.84	7.80	7.74	5.81	5.84	5.82	27	26	26
	A3	28.1	28.7	28.2	7.89	7.82	7.77	5.83	5.86	5.86	26	27	27
	B1	27.9	29.0	28.5	7.85	7.87	7.86	5.79	5.83	5.87	25	27	25
	B2	27.8	28.6	28.4	7.92	7.89	7.91	5.88	5.91	5.89	28	26	27
	B3	27.6	28.0	27.8	7.88	7.83	7.95	5.85	5.88	5.91	27	27	28
	C1	28.2	28.9	27.6	7.93	7.94	7.89	5.84	5.86	5.93	28	25	27
	C2	27.9	28.0	27.9	7.95	7.96	7.91	5.86	5.89	5.89	27	26	27
	C3	27.8	29.1	27.5	7.89	7.90	7.89	5.89	5.91	5.87	26	25	28
	10/02/2019	K1	28.4	28.7	29.1	7.92	7.92	7.97	5.99	5.90	5.96	24	28
K2		27.7	28.3	28.9	7.97	7.96	8.01	6.00	5.86	5.84	25	27	25
K3		28.2	28.5	28.9	7.95	7.95	7.99	5.84	5.93	5.85	24	27	28
A1		28.3	28.8	28.2	7.92	7.92	7.96	5.83	5.94	5.82	25	26	27
A2		27.6	28.7	28.5	7.89	7.89	7.98	5.82	5.87	5.88	26	25	28
A3		27.9	28.1	28.6	7.88	7.86	7.95	5.87	5.86	5.83	26	26	26
B1		28.0	29.2	28.1	7.85	7.89	7.91	5.85	5.92	5.85	25	24	27
B2		28.3	29.0	27.9	7.93	7.94	7.94	5.88	5.94	5.82	27	26	26
B3		28.8	28.9	27.6	7.95	7.92	7.96	5.79	5.96	5.89	26	24	28
C1	27.6	28.0	27.9	7.93	7.97	7.98	5.85	5.88	5.87	26	23	25	

TGL	PERLAKUAN	PARAMETER											
		SUHU (°C)			PH			DO (ppm)			SALINITAS (ppt)		
		Pagi	Siang	Sore	Pagi	Siang	Sore	Pagi	Siang	Sore	Pagi	Siang	Sore
11/02/2019	C2	27.6	28.1	27.8	7.91	7.92	7.94	5.83	5.87	5.85	26	24	26
	C3	28.1	28.5	27.7	7.87	7.89	7.92	5.85	5.86	5.89	26	26	27
	K1	28.0	28.5	27.4	7.96	7.87	8.01	5.97	6.15	6.11	27	29	27
	K2	27.6	28.3	27.1	7.99	7.93	8.03	6.06	5.88	5.85	23	25	23
	K3	28.3	28.6	27.4	7.96	7.91	8.00	5.64	5.48	5.60	26	30	27
	A1	27.4	28.5	27.9	7.92	7.90	7.89	5.72	5.44	5.67	25	24	25
	A2	27.6	28.3	27.8	7.91	7.86	7.92	5.74	5.68	5.69	27	25	24
	A3	27.9	28.4	27.5	7.87	7.85	7.94	5.72	5.70	5.66	26	24	26
	B1	26.8	28.6	27.8	7.86	7.90	7.96	5.82	5.72	5.65	25	27	24
	B2	27.2	28.6	28.2	7.83	7.96	8.02	5.73	5.80	5.68	24	26	27
	B3	27.8	28.7	28.1	7.88	8.01	7.93	5.68	5.93	5.72	26	24	26
	C1	27.6	28.4	28.2	7.85	7.89	7.95	5.67	5.76	5.74	24	27	25
	C2	27.3	28.2	27.9	7.87	7.88	7.86	5.81	5.72	5.72	25	28	24
	C3	27.5	28.2	27.6	7.92	7.83	7.84	5.83	5.67	5.69	26	28	26
	12/02/2019	K1	27.7	29.4	28.7	7.98	7.96	7.90	5.86	5.80	5.81	25	27
K2		26.9	29.3	28.3	8.03	8.01	8.00	5.88	5.73	5.94	23	24	25
K3		27.4	29.0	28.7	8.00	7.99	7.96	5.81	5.93	6.06	27	24	26
A1		27.2	28.7	28.2	8.03	8.01	7.92	5.79	5.81	5.98	25	28	25
A2		27.6	28.7	28.5	7.89	8.01	7.94	5.76	5.73	5.89	26	29	27
A3		27.8	28.9	28.6	7.92	7.90	7.96	5.82	5.75	5.93	25	29	26
B1		27.5	28.3	28.2	7.94	7.88	7.98	5.85	5.89	5.95	24	29	25
B2		27.9	28.1	27.9	7.89	8.06	8.02	5.88	5.89	5.96	27	24	26
B3		27.5	28.0	27.7	7.86	8.05	7.92	5.82	5.64	5.88	26	26	25
C1	27.7	28.5	28.2	7.88	7.94	7.93	5.83	5.73	6.02	25	26	24	

TGL	PERLAKUAN	PARAMETER											
		SUHU (°C)			PH			DO (ppm)			SALINITAS (ppt)		
		Pagi	Siang	Sore	Pagi	Siang	Sore	Pagi	Siang	Sore	Pagi	Siang	Sore
	C2	27.5	28.1	28.1	7.92	7.91	7.89	5.87	5.81	5.93	23	26	26
	C3	27.8	28.8	28.3	7.95	8.03	7.87	5.78	5.82	5.87	26	27	25
	K1	26.5	27.6	27.9	7.94	7.89	7.84	6.15	5.76	5.82	27	29	25
	K2	26.3	27.6	27.7	8.02	8.00	7.88	6.00	5.80	5.75	24	25	24
	K3	26.4	27.5	27.8	7.99	7.96	7.84	6.07	5.89	5.73	27	28	26
	A1	26.9	28.1	28.2	7.87	7.88	7.79	6.03	5.98	5.76	26	27	23
	A2	26.7	27.6	27.9	7.92	7.87	7.83	5.99	5.27	5.82	25	29	25
13/02/2019	A3	27.2	27.9	27.5	7.94	7.79	7.89	6.01	5.79	5.85	26	29	24
	B1	27.5	27.8	27.9	7.93	7.83	7.85	5.89	5.68	5.79	25	30	27
	B2	26.8	27.0	27.5	7.95	7.76	7.83	5.96	5.86	5.83	26	28	23
	B3	26.5	27.1	27.4	7.89	7.79	7.78	5.93	5.81	5.77	24	28	25
	C1	27.2	28.3	28.6	7.87	7.76	7.81	5.95	5.87	5.82	26	26	24
	C2	27.5	28.7	28.3	7.86	7.73	7.78	5.98	5.87	5.79	25	26	23
	C3	26.9	28.9	28.6	7.88	7.74	7.83	5.96	5.80	5.81	26	27	25

