

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Analisis *Polymerase Chain Reaction (PCR)* Sampel Ikan yang *Ditreatment* VNN

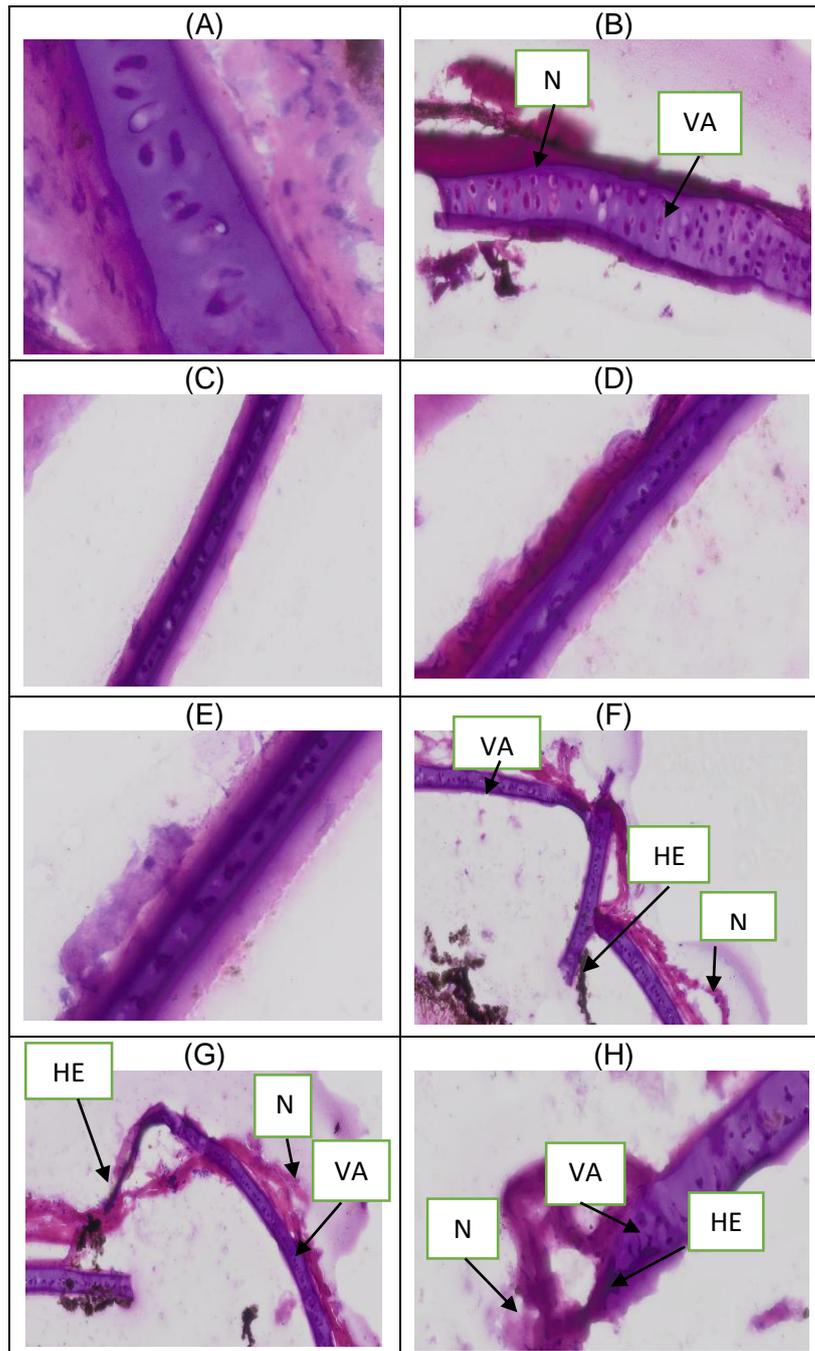
Uji lebih lanjut untuk mengetahui ikan kerapu cantang potitif VNN dilakukan dengan menggunakan analisis *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Metode PCR telah banyak digunakan dalam berbagai kepentingan di dalam ilmu pengetahuan yaitu diantaranya deteksi suatu gen, deteksi penyakit, kloning dan mutagenesis dalam suatu gen. Penggunaan metode PCR dalam bidang perikanan telah digunakan untuk deteksi berbagai macam penyakit yang menyerang ikan seperti *Channel Catfish Virus (CCV)*, *White Spot Syndrome Virus (WSSV)*, dan *Viral Nervous Necrosis (VNN)* (Murwantoko, 2006).

Sampel ikan kerapu cantang yang *ditreatment* infeksi VNN dibedah dan diambil organ dalam ikan tersebut untuk dilakukan uji PCR. Proses yang pertama kali yang dilakukan adalah isolasi jaringan organ. Organ yang digunakan untuk analisis PCR adalah mata, otak, usus, ginjal, insang, hati dan daging dari ikan sampel pada masing-masing *treatment*. Menurut Fitriatin dan Abdul (2015), Pengambilan organ mata dan otak disebabkan karena organ tersebut memiliki reseptor yang spesifik dengan VNN. Setelah dilakukan isolasi organ kemudian dilakukan analisis PCR pada organ tersebut. Tahapan prosedur analisis PCR untuk deteksi VNN dapat dilihat pada **Lampiran 2.** dengan tahapan reaksi *denaturation*, *annealing*, *extension* dan *final elongation*. Hasil analisis PCR kemudian dipotret dengan *UV trans illuminator*. Analisis PCR yang dilakukan pada organ ikan kerapu cantang diketahui bahwa semua organ ikan kerapu cantang yang diberi *treatment* infeksi VNN menunjukkan sampel negatif VNN. Lembar Hasil Uji PCR dapat dilihat pada **Lampiran 4.**

## **4.2 *Spirullina platensis***

### **4.2.1 Analisis Histopatologi Organ Mata dan Otak Ikan Kerapu Cantang**

Pengamatan histologi mata dan otak kerapu cantang dilakukan dengan cara membuat preparat tipis yang diwarnai dengan hematoksilin dan eosin, kemudian diamati menggunakan mikroskop binokuler merk Olympus BX41 dan difoto dengan menggunakan kamera digital. Analisis dilakukan untuk menemukan jumlah kerusakan pada sel dan membandingkan dengan kondisi jaringan pada ikan kontrol dan ikan yang hanya diberi *treatment S. platensis*.



**Gambar 11.** Struktur jaringan mata Ikan kerapu Cantang

Keterangan :

- (A) = Jaringan mata ikan kerapu bak kontrol (M = 100X)
- (B) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan dengan VNN (M = 40X)
- (C) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment S. platensis* dengan kepadatan  $10^2$  (M = 40X)
- (D) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^4$  (M = 40X)

- (E) = Jaringan mata ikan bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment S. platensis* dengan kepadatan  $10^6$  (M = 100X)
- (F) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan ikan kerapu *treatment S. platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$  (M = 40X)
- (G) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment S. platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$  (M = 40X)
- (H) = jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan *Treatment S. platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$  (M = 100X)

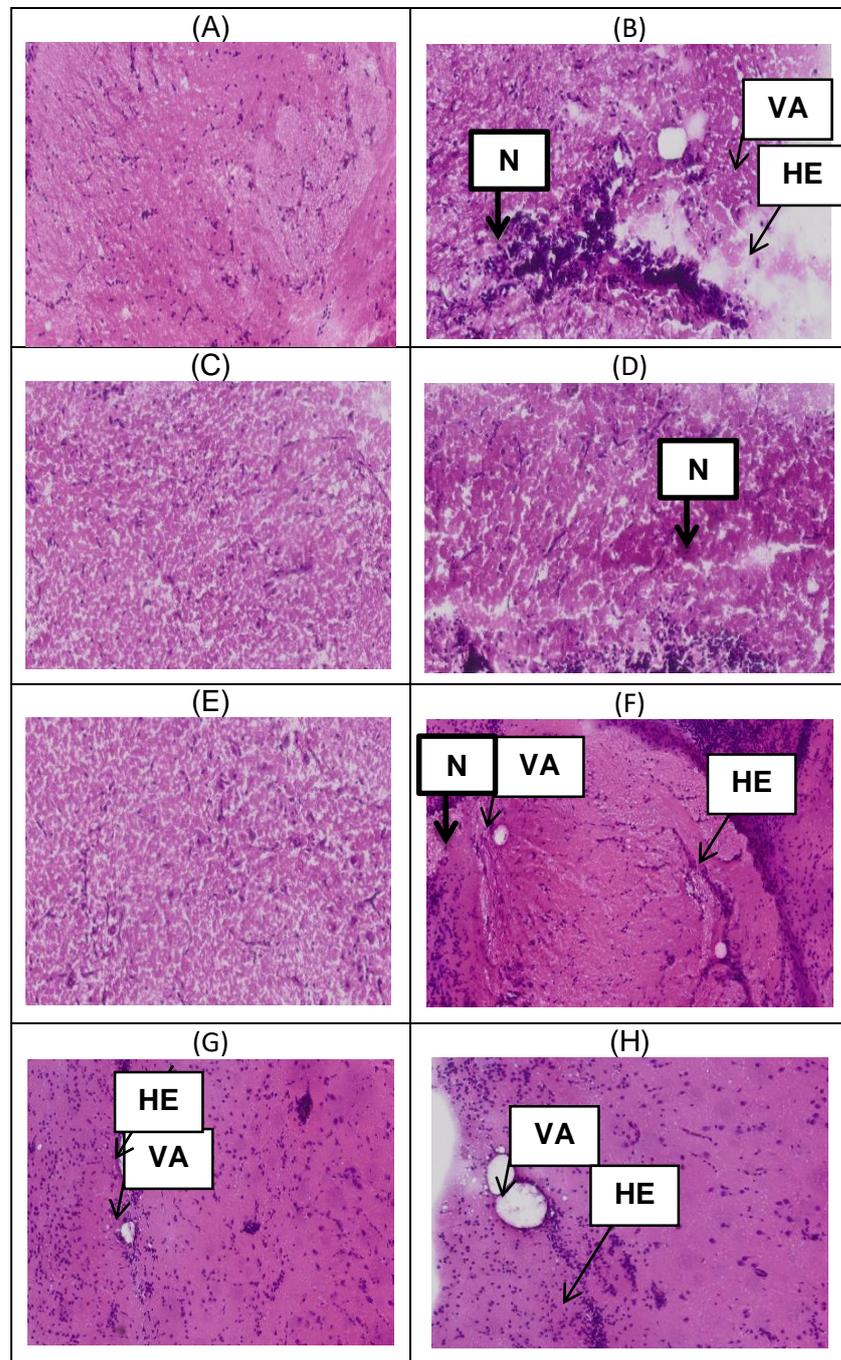
Pada mata ikan kerapu dengan perbesaran 40X dan 100x, mata ikan control dan mata ikan dengan perlakuan treatment *Spirulina* saja kerusakan yang terjadi hanya sedikit saja. Namun pada ikan dengan ekstraksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN), mengalami Nekrosis (N) serta pada ikan yang berada pada bak pemeliharaan dengan treatment *Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^2$ ,  $10^4$ , serta  $10^6$  dan penambahan infeksi paparan *Viral Nervous Necrosis* (VNN). Ruang kosong pada sel ini merupakan kerusakan sel berupa Vakuolisasi (VA). Vakuolisasi terjadi pada semua bak pemeliharaan dengan treatment *Spirulina platensis* dengan penambahan ekstraksi VNN pada bak pemeliharaan. Sedangkan kerusakan berupa hemorage hanya terjadi pada bak pemeliharaan dengan penambahan ekstraksi VNN dan treatment *Spirulina platensis* pada semua kepadatan yaitu  $10^2$ ,  $10^4$ , dan  $10^6$ . Kerusakan jaringan yang terjadi pada mata merupakan akibat dari infeksi ekstraksi VNN yang diberikan pada perlakuan bak pemeliharaan. VNN dapat merusak sel jaringan berupa kerusakan nekrosis, vakuolisasi, dan hemorage pada ikan yang terserang VNN. Hal ini sesuai dengan pernyataan Putri *et al.* (2013), bahwa Virus VNN menginfeksi ikan kerapu dengan mengeluarkan toksin yang menyebabkan aliran darah yang bertugas mengedarkan nutrisi terganggu sehingga suplai nutrisi berkurang dan menyebabkan pengecilan volume sel (atrofi). Hal itu mengakibatkan pelemahan pada syaraf mata ikan, selanjutnya mengakibatkan ikan menjadi buta dan berenang abnormal (menabrak dinding kolam).

Menurut Plumb (1994), nekrosis adalah kematian sel atau suatu jaringan yang menyertai degenerasi sel pada setiap kehidupan hewan dan merupakan tahap akhir degenerasi yang irreversibel. Sel yang baru mengalami nekrosis akan mengalami pembengkakan. Nekrosis dapat disebabkan oleh trauma, agen-agen biologis (virus, bakteri, jamur dan parasit), agen-agen kimia atau terjadinya gangguan terhadap penyediaan darah pada suatu daerah pada organ tersebut. Hemoragi adalah suatu kondisi keluarnya darah akibat adanya kerusakan pada dinding vaskula pada suatu jaringan (Smith dan Jones, 1961). Sedangkan Vakuolisasi: merupakan sel yang mengalami kerusakan menyebabkan sel hancur sehingga tertinggal sebagai ruangan kosong pada jaringan (Putri *et al*, 2013).

Analisa histologi juga dilakukan pada jaringan otak. Analisa histologi jaringan otak ikan kerapu ini bertujuan untuk melihat kerusakan yang ditimbulkan oleh infeksi virus VNN, biasanya ikan yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* VNN akan mengalami kerusakan syaraf sehingga ikan berenang tidak beraturan. Otak merupakan organ yang sering terpapar oleh *Viral Nervous Necrosis* VNN dan organ penting dalam hubungannya dengan kondisi ikan. *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dapat masuk ke dalam otak melalui system sirkulasi darah. Apabila terjadi infeksi ikan akan menunjukkan gejala-gejala pada tubuh dan tingkah lakunya. Melalui pengamatan histopatologi akan didapatkan perubahan sel, jaringan dan organ yang terinfeksi suatu penyakit sehingga dapat diketahui perbedaan sel, jaringan maupun organ yang terinfeksi dan tidak terinfeksi. Struktur jaringan yang normal maupun tidak normal dapat dipelajari secara mikroskopik dalam bentuk preparat jaringan. Preparat ini dibuat melalui proses histopatologi (Panigoro *et al.*, 2007).

Adapun gambar histologi dari jaringan organ otak ikan kerapu yang diwarnai dengan hematoxilin dan eosin, diamati dibawah mikroskop binokuler merk Olympus BX41 dan difoto dengan menggunakan kamera digital untuk

menentukan kerusakan yang terjadi diakibatkan oleh paparan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dapat dilihat pada **Gambar 4** yang tertera dibawah ini:



**Gambar 12.** Histologi jaringan otak ikan kerapu

Keterangan :

- (A) = Jaringan otak ikan kerapu bak kontrol (M = 40X)
- (B) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan dengan VNN (M = 40X)
- (C) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment S. platensis* dengan kepadatan  $10^2$  (M = 40X)
- (D) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^4$  (M = 40X)
- (E) = Jaringan otak ikan bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment S. platensis* dengan kepadatan  $10^6$  (M = 40X)
- (F) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan ikan kerapu *treatment S. platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$  (M = 40X)
- (G) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment S. platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$  (M = 40X)
- (H) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan *Treatment S. platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$  (M = 40X)

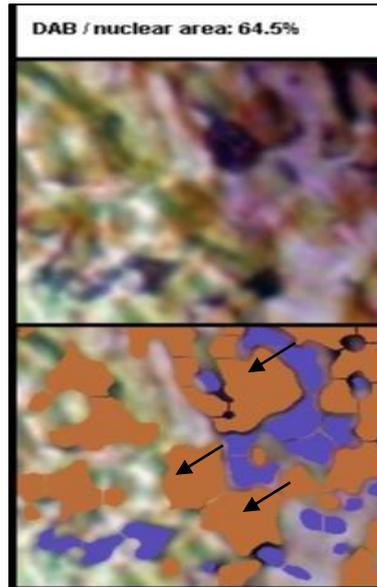
Data diatas menunjukkan perbedaan antara perlakuan pada bak yang terinfeksi virus VNN dan tidak terinfeksi virus VNN. pada organ yang di tunjukan ikan kontrol dan perlakuan *Spirulina* kerusakan tidak begitu nampak. Sedangkan pada bak yang diperlakukan dengan virus VNN mengalami kerusakan yang cukup parah. Sel dalam bak perlakuan VNN banyak mengalami Hemorage (H), Vakuolisasi (V), dan Nekrosis (N). jumlah kerusakan yang diakibatkan juga tidak sedikit. Hal ini menunjukkan bahwa kerusakan yang ditimbulkan oleh virus VNN merupakan kerusakan yang sangat parah.

Menurut Tanaka *et al.* (1998), infeksi alami yang disebabkan oleh VNN termasuk dalam tingkat akut/parah, dan terjangkitnya penyakit ini sangat hebat ketika virus menyerang pada ikan yang stres akibat kepadatan yang tinggi dan temperatur air yang tinggi dalam sistem budidaya. Apabila kerusakan terjadi pada syaraf motorik dapat mengakibatkan terganggunya syaraf yang mengontrol pergerakan dan keseimbangan ikan dalam berenang, sehingga terjadi perubahan perilaku gerakan renang ikan menjadi berputar-putar (whirling). Vakuolisasi juga ditemukan pada otak ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) yang mengalami whirling akibat infeksi bakteri *Vibrio alginolyticus* (Murdjani, 2002).

#### 4.2.3 Konfirmasi Respon HSP pada Jaringan Otak

Abnormalitas pada kinerja dari bagian-bagian tubuh ikan yang terjadi karena serangan penyakit dapat mempengaruhi struktur sel atau jaringan. Perubahan bentuk atau struktur pada bagian tubuh ikan ini secara makroskopik atau kasat mata biasanya sulit untuk dilihat. Perubahan struktur ini hanya dapat dilihat bila jaringan tubuh ikan tersebut diamati secara detail dengan menggunakan mikroskop atau diamati secara mikroskopik. Pengamatan potongan jaringan otak ikan kerapu yang terinfeksi VNN yang telah dipreparasi dan diwarnai dilakukan pengamatan dengan mikroskop pada perbesaran 400x dan menggunakan alat komputer. Ikan kerapu yang stress menyebabkan munculnya ekspresi *Heat Shock Protein* (HSP). Ekspresi HSP pada ikan kerapu dapat dideteksi melalui pewarnaan imunohistokimia (IHK), yaitu suatu teknik deteksi antigen pada jaringan berdasarkan pada reaksi antigen dan antibodi. Hasil reaksi antigen antibodi dapat diidentifikasi pada jaringan karena antibodi diikat oleh suatu penanda yang dapat divisualisasikan (Boenisch, 2001).

Pengamatan organ otak ikan kerapu yang positif terinfeksi VNN diberi pewarnaan imunohistokimia dan diamati menggunakan mikroskop. Berikut adalah gambar organ otak ikan kerapu yang telah diberi pewarnaan imunohistokimia dapat dilihat pada **Gambar 13:**



**Gambar 1.** Hasil pewarnaan IHK terdeteksi HSP70 pada jaringan otak *treatment Spirulina* 10<sup>4</sup> (Pembesaran 400x)

Hasil pewarnaan imunohistokimia menandakan adanya ekspresi HSP70 pada jaringan otak ikan kerapu yang positif terinfeksi VNN. Ekspresi HSP70 pada jaringan otak ikan kerapu ditandai dengan adanya warna coklat pada jaringan dan dapat menunjukkan tingkat stress ikan. Hal tersebut juga sesuai dengan pernyataan Santoso (2010), analisis imunohistokimia HSP70 pada jaringan otak menunjukkan bahwa ekspresi HSP70 dalam jaringan otak ditemukan pada kontrol dan perlakuan yang ditandai dengan adanya sel yang berwarna coklat.

Berdasarkan pewarnaan imunohistokimia menunjukkan bahwa ekspresi HSP70 positif. Reaksi positif pada ikan menghasilkan reaksi spesifik antibodi-antigen yang terwarnai oleh kromogen, menunjukkan warna coklat-keemasan. Sedangkan, kontrol negatif tidak menunjukkan adanya warna coklat keemasan akibat tidak adanya reaksi antibodiantigen yang dikehendaki. Hasil ekspresi HSP70 pada jaringan otak ikan kerapu dengan pada *treatment Spirulina platensis* ekspresi *heatshock* sebesar 58,0%, Pada otak ekspresi HSP lebih banyak karena merupakan sistem syaraf yang akan mengirimkan sinyal ke sistem saraf pusat melalui Hipotalamus ke seluruh tubuh.

#### 4.2.4 Manfaat *Spirulina* dalam Mencegah Penyakit dan Virus

Berdasarkan hasil yang ditampilkan respon HSP pada organ kerapu mata dan otak pada perlakuan ikan kerapu diberi *treatment Spirulina platensis* efek kerusakan yang ditimbulkan oleh virus VNN (Viral Nervous Necrosis) masih rendah, sehingga gejala klinis yang ditimbulkan tidak tampak secara sempurna atau seluruhnya.

*Spirulina* mengandung bermacam-macam vitamin seperti vitamin B1, B3, B6, B12, pro vitamin A dan vitamin E (Venkataraman, 1983). *Spirulina platensis* merupakan alga hijau berfilamen yang sudah banyak digunakan sebagai sumber *Treatment* alami untuk pembenihan larva udang, ikan dan krustase karena memiliki nilai nutrisi yang tinggi. Kandungan protein *Spirulina platensis* adalah 60-70%, sekitar 85-95% dari protein tersebut dapat dicerna dengan baik, memiliki karbohidrat yaitu 15-25, sedangkan lemaknya cukup rendah yaitu 1,5-12% (Ciferri, 1983).

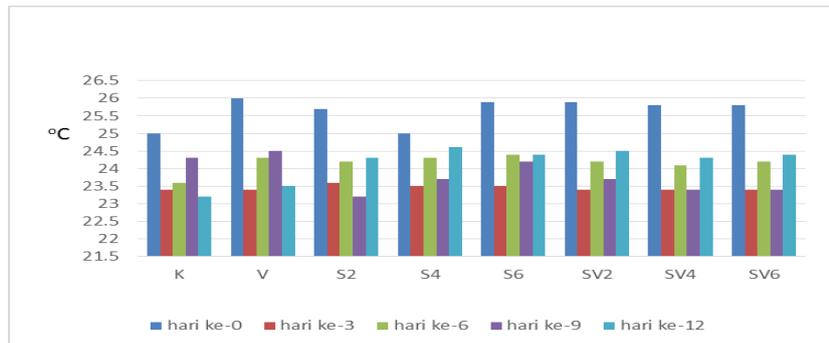
Berdasarkan kandungan proteinnya yang tinggi *Spirulina platensis* dapat meningkatkan gizi ikan, sehingga sistem metabolisme tubuh ikan akan meningkat, dengan meningkatnya sistem metabolisme tubuh ikan maka akan mempercepat proses perbaikan sel yang rusak akan lebih baik. Potensi seperti itu menyebabkan *Spirulina* dapat mencegah bahkan menyembuhkan beberapa penyakit salah satunya yaitu *Viral Nervous Necrosis (VNN)*.

#### 4.2.5 Parameter Kualitas Air

Kualitas air dalam budidaya ikan adalah setiap perubahan yang mempengaruhi pengelolaan dan sintasan, perkembangbiakan, pertumbuhan, atau produksi ikan. Air yang baik adalah yang mampu menunjang kehidupan ikan dengan baik. Dalam penelitian ini, parameter pendukung pada kualitas perairan yang diukur adalah sebagai berikut:

## A. Suhu

Suhu air menjadi faktor pembatas utama yang menentukan pertumbuhan dan kehidupan ikan. suhu merupakan salah satu faktor penting untuk kelangsungan kehidupan ikan di suatu perairan. Pada penelitian ini dilakukan pengukuran suhu sebanyak tiga kali.



**Gambar 14.** Grafik hasil pengukuran suhu

Keterangan :

K = bak Kontrol

V = bak pemeliharaan dengan Virus VNN

S2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^2$

S4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^4$

S6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^6$

SV2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment S. platensis* + ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$

SV4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment S. platensis* + ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$

SV6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment S. platensis* + ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$

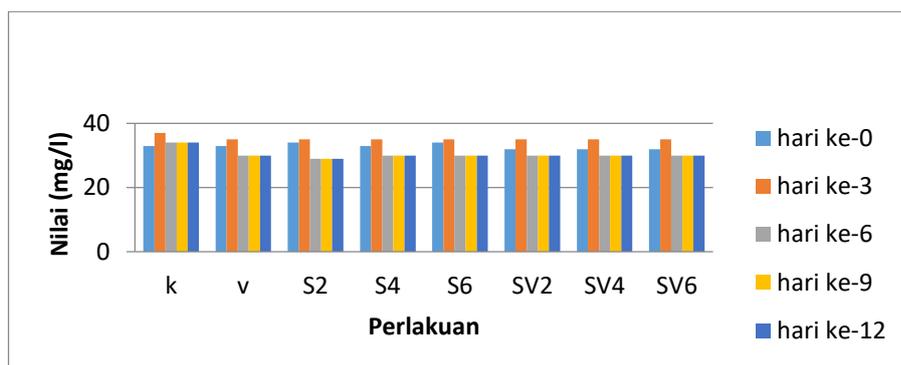
Data diatas menunjukkan hasil pengukuran suhu yang berkisar antara 23–26 °C. Suhu terendah didapat pada pengukuran hari ke 9 perlakuan *Spirulina* dengan kepadatan  $10^2$  dan hari ke 12 pada media kontrol yaitu  $23,2^{\circ}\text{C}$ , sedangkan suhu tertinggi didapat pada pengukuran hari ke 0 pada media perlakuan VNN yaitu  $26^{\circ}\text{C}$ . Rata rata suhu pada penelitian yang dilakukan pada hari ke 0 sampai akhir

yaitu 24,2°C. Fluktuasi suhu yang terjadi selama penelitian masih dianggap normal.

Perubahan temperatur yang terjadi selama penelitian masih dalam batas layak bagi pertumbuhan *Spirulina platensis*. Temperatur yang dapat ditoleransi oleh *Spirulina platensis* adalah 20-40°C dengan temperatur optimum antara 25-35 °C. Temperatur mempengaruhi semua aktifitas metabolisme, keberadaan dan pengambilan nutrient (Vonshak, 1997). Ikan kerapu termasuk kedalam warmwater fish dengan suhu pemeliharaan optimum 20–30°C, dapat hidup pada perairan payau dan laut (Mackie, 2000).

## B. Salinitas

Salinitas adalah konsentrasi seluruh larutan garam yang diperoleh dalam air laut. Salinitas air berpengaruh terhadap tekanan osmotik air. Semakin tinggi salinitas, akan semakin besar pula tekanan osmotiknya. Biota yang hidup di air asin harus mampu menyesuaikan dirinya terhadap tekanan osmotik dari lingkungannya. Pada penelitian yang dilakukan pengukuran salinitas menggunakan alat refraktometer. Berikut adalah hasil dari pengukuran salinitas yang didapatkan.



**Gambar 15.** Grafik hasil pengukuran Salinitas

Keterangan :

K = bak Kontrol

V = bak pemeliharaan dengan Virus VNN

S2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^2$

S4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^4$

S6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^6$

SV2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment S. platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$

SV4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment S. platensis* + ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$

SV6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment S. platensis* + ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$

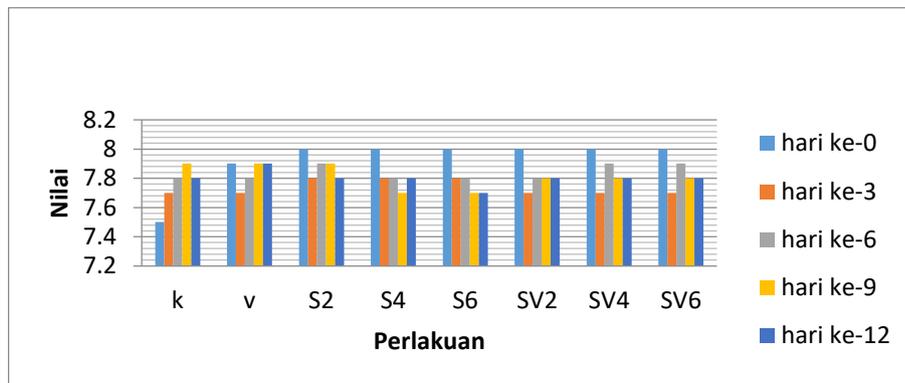
Data diatas menunjukkan hasil pengukuran salinitas pada media pemeliharaan ikan keparu cantang yang berkisar antara 29-37 ppt. hasil terendah pengukuran salinitas didapatkan pada hari ke 6, 9, 12 perlakuan *Spirulina* dengan kepadatan  $10^2$  yaitu 29ppt. Sedangkan hasil pengukuran tertinggi terdapat pada hari ke 3 perlakuan ikan kontrol yaitu 37ppt. dan rata rata yang didapatkan dari pengukuran salinitas yaitu 31ppt. Salinitas berpengaruh terhadap organisme dalam mempertahankan tekanan osmotik dengan lingkungannya.

*Spirulina platensis* bersifat euryhaline dengan kisaran salinitas antara 15-31ppt (Hastuti dan Djunaidah, 1993). Akbar dan Sudaryanto (2001) menyatakan bahwa persyaratan kualitas air seperti suhu berkisar antara 27 dan 29 °C, salinitas antara 30 dan 33 ‰, oksigen terlarut > 5 ppm, dan pH antara 8,0 dan 8,2.

### **C. Derajat Keasaman (pH)**

Derajat keasamaan lebih dikenal dengan istilah pH. pH yaitu logaritma dari kepekatan ion-ion H (hydrogen) yang terlepas dalam suatu cairan. Nilai pH juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi produktifitas perairan. Biasanya nilai pH dalam suatu perairan dapat dijadikan indikator dari adanya keseimbangan unsur-unsur kimia dan dapat mempengaruhi ketersediaan unsur-unsur kimia dan

unsur-unsur hara yang sangat bermanfaat bagi kehidupan vegetasi akuatik. Adapun hasil yang didapat dalam pengukuran pH yaitu



**Gambar 16.** Grafik Pengukuran nilai pH

Keterangan :

K = bak Kontrol

V = bak pemeliharaan dengan Virus VNN

S2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^2$

S4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^4$

S6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^6$

SV2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment S. platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$

SV4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment S. platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$

SV6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment S. platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$

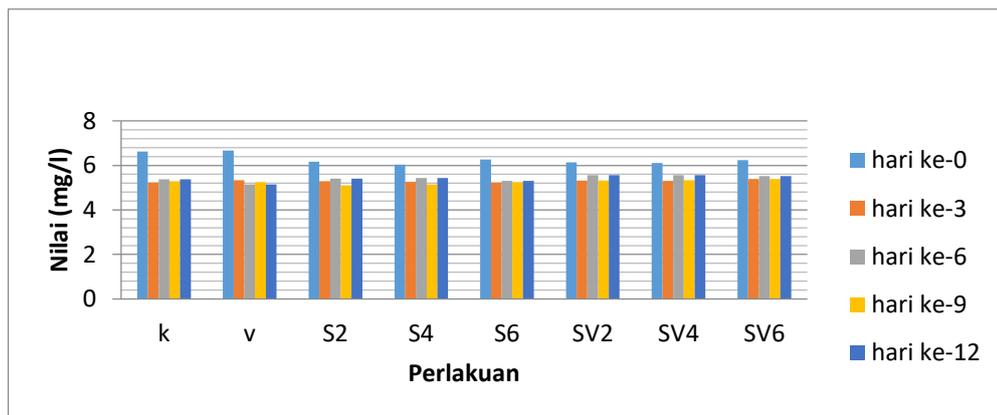
Data diatas menunjukkan hasil nilai pH yang didapat selama penelitian, nilai pH pada penelitian yang dilakukan berkisar antara 7,5–8,0. Nilai pH terendah didapat pada hari ke 0 media kontrol dengan nilai pH 7,5. Sedangkan pH tertinggi pada hari ke 0 perlakuan *Spirulina*  $10^2$ ,  $10^4$ ,  $10^6$ . Nilai rata rata pH yaitu 7,8.

Hal ini sesuai dengan Amiruddin *et al.* (2011), pernyataan pH yang optimum untuk pertumbuhan ikan keparu antara 7,0-7,8 sehingga dapat derajat keasaman yang ada di dalam akuarium termasuk kategori yang normal untuk

kehidupan ikan kerapu cantang. Namun berbeda dengan pertumbuhan *Spirulina*, dalam pernyataan Habib *et al.* (2008), *S. platensis* dapat tumbuh pada medium cair dengan kondisi basa dengan rentang pH antara 8,5–11,0, sedangkan pH optimum untuk pertumbuhan *S. platensis* berkisar antara 9,0-10,0.

#### D. Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen adalah satu jenis gas terlarut dalam air dengan jumlah yang sangat banyak, yaitu menempati urutan kedua setelah nitrogen. Namun jika dilihat dari segi kepentingan untuk budidaya perairan, oksigen menempati urutan teratas. Oksigen yang diperlukan biota air untuk pernapasannya harus terlarut dalam air. Oksigen merupakan salah satu faktor pembatas sehingga bila ketersediannya di dalam air tidak mencukupi kebutuhan biota budidaya, maka segala aktivitas biota akan terhambat.



**Gambar 17.** Grafik Hasil Pengukuran nilai DO

Keterangan :

K = bak Kontrol

V = bak pemeliharaan dengan Virus VNN

S2 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^2$

S4 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^4$

S6 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^6$

SV2 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment S. platensis +* Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$

SV4 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment S. platensis* +  
Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$

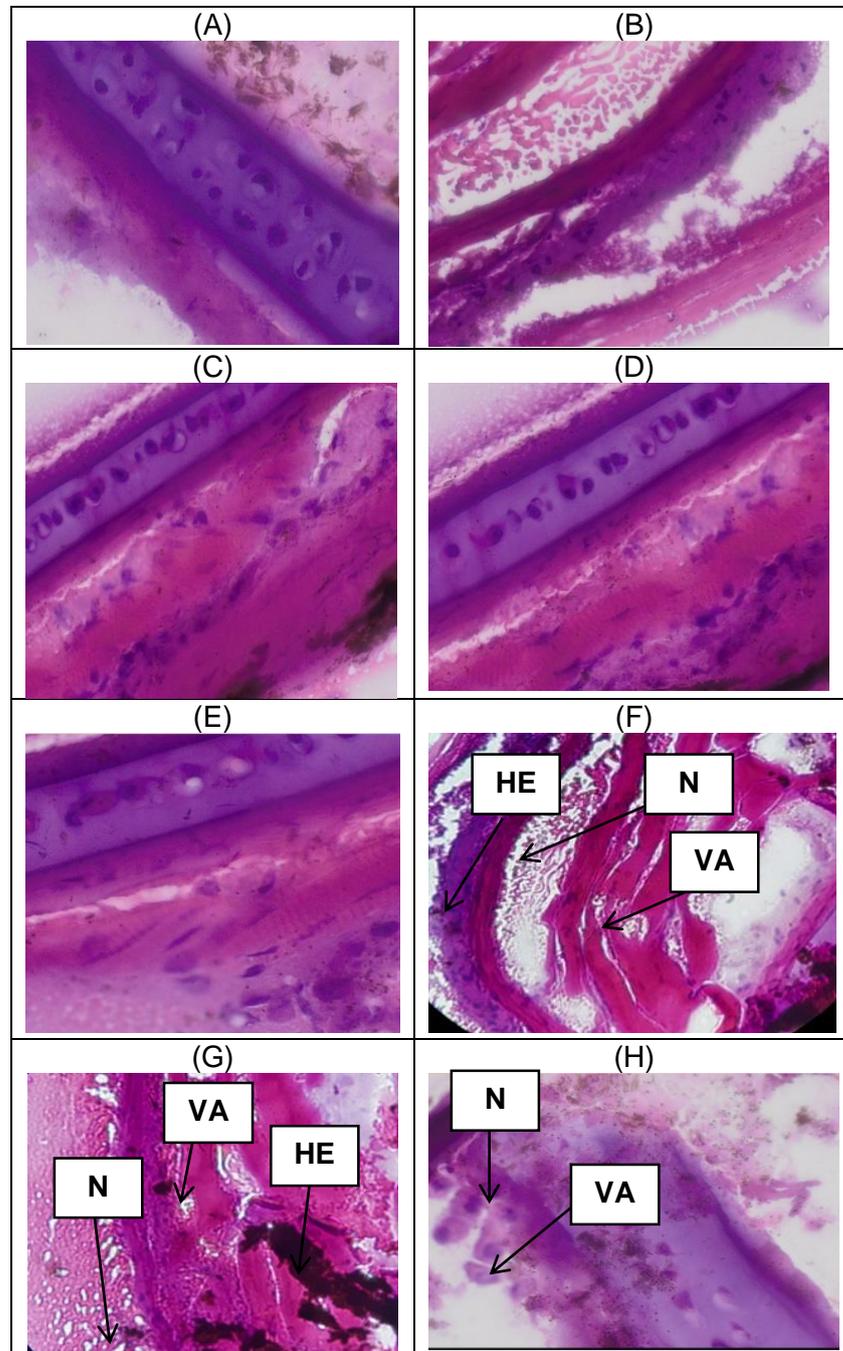
SV6 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment S. platensis* +  
Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$

Data diatas menunjukkan nilai dari DO yang didapat selama penelitian. Nilai DO terendah yaitu 5,1 mg/l, sedangkan nilai DO tertinggi yaitu 6,72 mg/l. sehingga dapat dikatakan bahwa oksigen terlarut yang terdapat pada bak bak pemeliharaan ikan kerapu masih tergolong normal hal ini sesuai dengan pernyataan Ahmad *et al.*, (1991) dalam Affan (2012), kisaran oksigen terlarut optimal untuk pemeliharaan ikan kerapu tikus berkisar 5 – 8 mg/l.

### 4.3 *Nannochloropsis oculata*

#### 4.3.1 Analisis Histopatologi Organ Mata dan Otak Ikan Kerapu Cantang

Analisis histopatologi jaringan mata ikan kerapu cantang pada masing-masing *treatment* dapat dilihat pada **Gambar 18**.



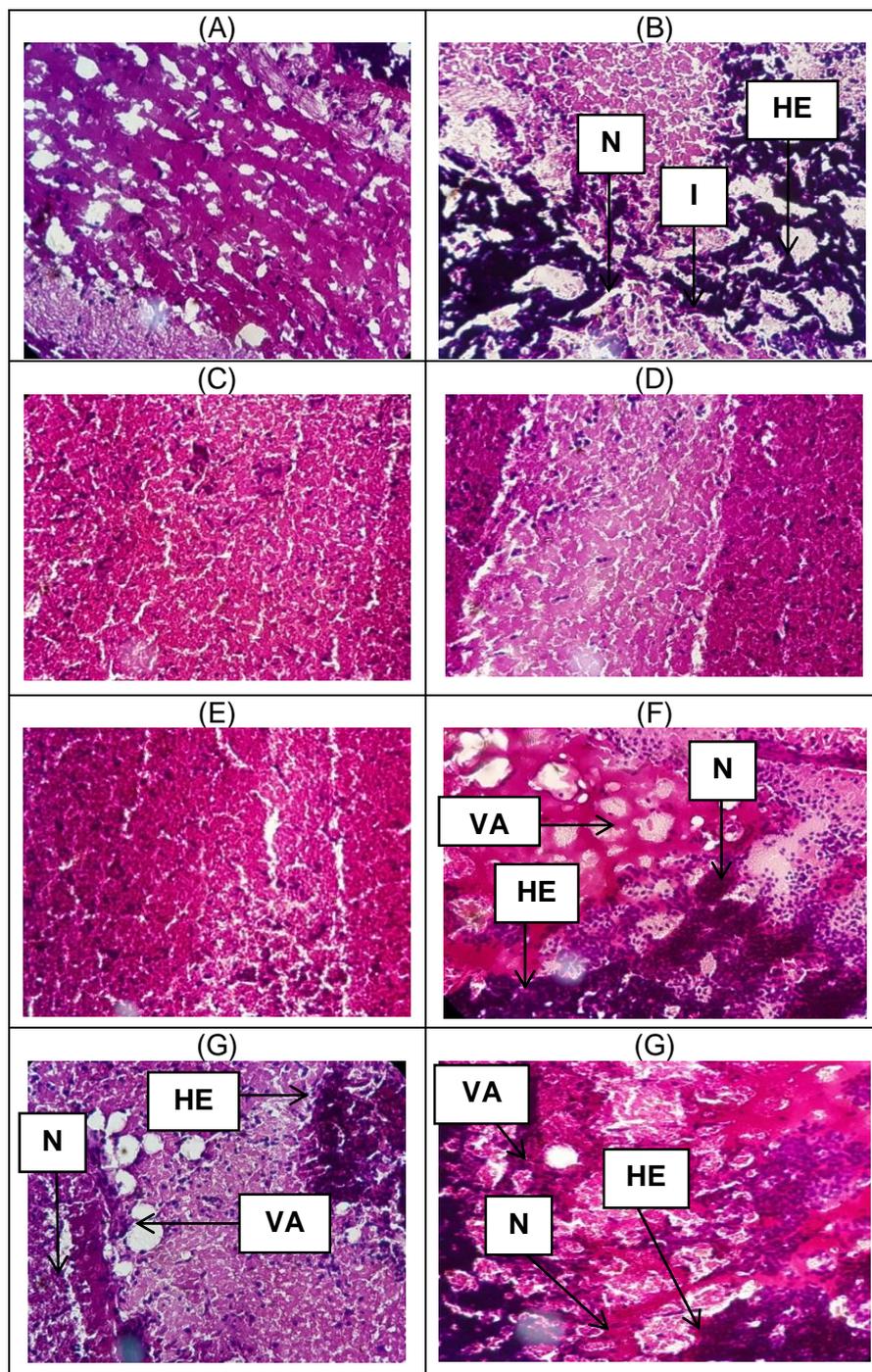
**Gambar 17.** Struktur Jaringan mata pada masing-masing *treatment* dalam pewarnaan H& E Keterangan: H (Hemorrhage); N (Nekrosis) dan VA (Vakuolisasi) dan I (Inclusion body)(Dokumen pribadi, 2017)

Keterangan :

- (A) = Jaringan mata ikan kerapu bak kontrol (M = 100X)
- (B) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan dengan VNN (M = 40X)
- (C) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^2$  (M = 40X)
- (D) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^4$  (M = 40X)
- (E) = Jaringan mata ikan bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^6$  (M = 100X)
- (F) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan ikan kerapu *treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$  (M = 40X)
- (G) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$  (M = 40X)
- (H) = jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan *Treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$  (M = 100X)

Analisis histopatologi jaringan mata pada masing-masing *treatment* menunjukkan bahwa *treatment* N1; N2 dan N3 mengalami kerusakan jaringan lebih sedikit dibandingkan pada *treatment* NV1; NV2; NV3 dan V yang mengalami kerusakan jaringan seperti nekrosis dan vakuolasi, *hemorrhage* dan *Inclusion body*.

Selain mata, analisis histopatologi juga dilakukan pada jaringan otak. Analisis histopatologi jaringan Otak ikan kerapu cantang pada masing-masing *treatment* dapat dilihat pada **Gambar 18**.



**Gambar 18.** Struktur Jaringan otak pada masing- masing treatment dalam pewarnaan H& E. Keterangan: HE (Hemorrhage); N (Nekrosis) dan VA (Vakuolisasi), I (Inclusion body)(Dokumen pribadi, 2017)

Keterangan :

- (A) = Jaringan otak ikan kerapu bak kontrol (M = 40X)
- (B) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan dengan VNN (M = 40X)
- (C) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment S. platensis* dengan kepadatan  $10^2$  (M = 40X)
- (D) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment Spirulina platensis* dengan kepadatan  $10^4$  (M = 40X)
- (E) = Jaringan otak ikan bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment S. platensis* dengan kepadatan  $10^6$  (M = 40X)
- (F) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan ikan kerapu *treatment S. platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$  (M = 40X)
- (G) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment S. platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$  (M = 40X)
- (H) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan *Treatment S. platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$  (M = 40X)

Pengamatan jaringan ikan kerapu terdapat *hemorrhage* ditandai dengan panah berlabel HE. Organ yang diamati mengalami *hemorrhage* pada jaringan biasanya akan terjadi pembengkakan pada organ dalam dan keluaranya cairan darah. Hemoragi juga bisa disebabkan infeksi bakteri patogen (Asnita, 2011).

Kerusakan berupa nekrosis ditemukan pada jaringan mata dan otak. Kerusakan berupa nekrosis dijumpai pada seluruh *treatment* yang diinfeksi VNN yang ditandai dengan anak panah berlabel N. Rangsangan atau stimulus patologis yang terjadi pada sel, secara fisiologis dan morfologis akan beradaptasi dengan sel sebagai reaksi terhadap stimulus dan sel masih dapat bertahan hidup serta mengatur fungsinya. Namun apabila stimulus patologis diperbesar sampai melewati batas adaptasi sel terhadap stimulus, maka akan timbul cedera sel yang biasanya bersifat sementara (reversible). Sel akan mati atau nekrosis Jika stimulus menetap atau bertambah besar, dan kemudian sel akan mengalami lesi yang menetap (irreversible). Sel yang mengalami nekrosis merupakan hasil akhir yang disebabkan oleh iskemia, infeksi, dan reaksi imun (Sudiono *et al.*, 2003). Nekrosis merupakan kematian sel yang dapat disebabkan oleh adanya bakteri dan protozoa (Hoole *et al.*, 2001)

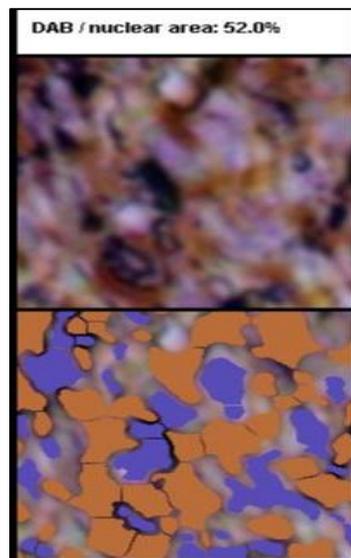
Infeksi VNN pada ikan kerapu juga menimbulkan kerusakan berupa vakuolisasi. Pada pengamatan jaringan mata dan otak ditemukan adanya vakuolisasi pada *treatment* NV1, NV2, NV3 yang pada masing-masing *treatment* kerusakan vakuolisasi ditandai dengan panah berlabel VA. Virus yang ada dalam tubuh ikan dapat mengakibatkan peningkatan volume sel dan dapat mengubah susunan kelimpahan vakuola sitoplasmik pada sel yang terinfeksi serta dapat mengubah bentuk sel menjadi bulat sebelum virus meninggalkan inangnya (Pikarsky *et al*, 2004). Sel dalam suatu jaringan yang terinfeksi menunjukkan karakteristik penurunan patologi yang meliputi kerusakan inti, vakuolisasi, dan penurunan daya permukaan sitoplasmik (Pokorova *et al*, 2005). Vakuolisasi terjadi karena degenerasi pada sel yang membuat bentuk sel menjadi kurang aktif (Sari *et al*, 2014).

Pengamatan jaringan mata dan otak pada *treatment* menunjukkan adanya badan inklusi (*inclusion body*) dalam jaringannya. Badan inklusi dalam jaringan mata dan otak terdapat pada *treatment* V dengan tanda panah berlabel I. Agregasi pada virus bulat sederhana atau *procapsids* kosong dapat membentuk *array paracrystalline* yang terkadang dapat dilihat dengan mikroskop cahaya sebagai salah satu bentuk badan inklusi (Robert, 2012). Badan inklusi yang terdapat pada jaringan otak dan mata dapat menunjukkan aktivitas atau adanya kegiatan dari virus. Suatu badan inklusi dapat berupa benda asing atau berupa titik hitam yang tidak dikenal yang terdapat pada jaringan. Menurut Lightner (1996), benda asing yang terdapat pada jaringan tersebut dikenal dengan nama badan inklusi dan dapat terbentuk akibat serangan virus. Semakin tinggi infeksi virus pada suatu jaringan maka badan inklusi yang terdapat pada jaringan tersebut juga berwarna pekat dan besar.

Analisis histopatologi menunjukan bahwa *treatment* N1; N2; N3 dan K memiliki kerusakan jaringan lebih sedikit dibandingkan dengan *treatment* NV1; NV2; NV3 dan V. Pada jaringan yang diberi *treatment* infeksi VNN (NV1; NV2; NV3 dan V) memiliki kerusakan seperti vakuolisasi (VA); nekrosis (N); *hemorrhage* (HE) dan *Inclusion body* (I). Akan tetapi, jika dibandingkan lagi, *treatment* infeksi VNN + *N. oculata* memiliki kerusakan jaringan yang lebih sedikit dari *treatment* infeksi VNN (V) saja.

#### 4.3.2 Konfirmasi Respon HSP pada Jaringan Otak

Perubahan struktur ini hanya dapat dilihat bila jaringan tubuh ikan tersebut diamati secara detail dengan menggunakan mikroskop atau diamati secara mikroskopik. Pengamatan potongan jaringan otak ikan kerapu yang terinfeksi VNN yang telah dipreparasi dan diwarnai dilakukan pengamatan dengan mikroskop pada perbesaran 400x serta menggunakan alat komputer.



**Gambar 19.** Hasil pewarnaan IHK terdeteksi HSP70 pada jaringan otak *treatment Nannochloropsis oculata* 10<sup>4</sup> (Pembesaran 400x)

Berdasarkan pewarnaan imunohistokimia menunjukkan bahwa ekspresi HSP70 positif. Reaksi positif pada ikan menghasilkan reaksi spesifik antibodi-antigen yang terwarnai oleh kromogen, menunjukkan warna coklat-keemasan. Sedangkan, kontrol negatif tidak menunjukkan adanya warna coklat keemasan akibat tidak adanya reaksi antibodiantigen yang dikehendaki. Hasil ekspresi HSP70 pada jaringan otak ikan kerapu dengan *treatment N. oculata* menunjukkan prosentasi *heatshock* sebesar 52,0%. Menurut Hastuti dan Lubis (2011), Imunohistokimia (IHC) adalah proses untuk menetapkan lokasi dan jenis protein (antigen) tersebut di dalam sel-sel jaringan. Sel-sel yang terwarnai dinilai intensitas warnanya dan banyak atau luasnya sel-sel yang terwarnai, banyaknya sel yang terwarnai dinyatakan sebagai persentase. Peningkatan tersebut ditujukan untuk mengorganisir dan meningkatkan sistem imun pada tubuh ikan.

#### **4.3.3 Manfaat *Nannochloropsis oculata* Mencegah Penyakit Dan Virus**

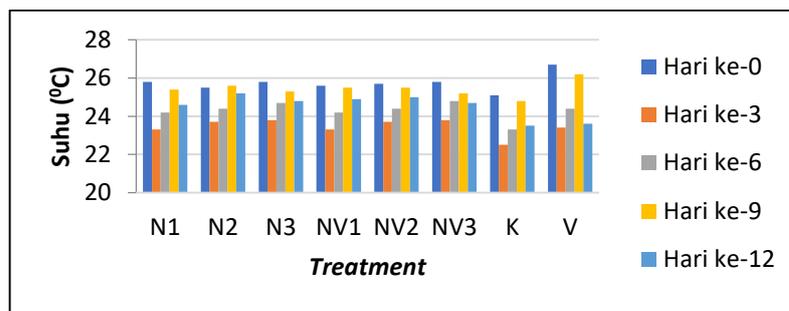
*Nannochloropsis oculata* memiliki sejumlah kandungan gizi dan pigmen seperti protein (52,11 %), karbohidrat (16 %), lemak (27,64 %), vitamin C (0,85 %) dan klorofil A (0,89 %) (Anon dkk., 2009). Laven dan 14 Sorgeloos (1996), melaporkan bahwa kandungan protein *Nannochloropsis oculata* sebesar 37 %, karbohidrat 18% dan lemak sebesar 7,8% berat kering. *Nannochloropsis oculata* memiliki kandungan minyak mentah yang cukup tinggi yaitu maksimal mencapai 68% (Susilaningsih dkk, 2009). *Nannochloropsis oculata* mengandung vitamin B12 dan Eicosapentaenoic acid (EPA) masing–masing 30,5% dan total kandungan omega 3 Higly unsaturated Fatty acids (HUFAs) sebesar 42,7%. Komposisi asam lemak pada *Nannochloropsis oculata* lebih tinggi dibandingkan jenis mikroalga yang lain (Fulks dan Main 1991). *Nannochloropsis oculata* juga mengandung komponen antioksidan yang tinggi seperti karotenoid, astaxanthin, kantaxanthin, flavoxanthin, loraxanthin, neoxanthin dan sebagian fenolik (Hasegawa dkk., 1990).

#### 4.3.4 Parameter Kualitas Air

Kualitas air merupakan faktor penting dalam pemeliharaan ikan. Kualitas air ini menentukan kelangsungan hidup dari suatu organisme. Dalam penelitian ini kualitas air ikan kerapu cantang yang dianalisis yaitu suhu, pH, salinitas, dan DO, dengan hasil :

##### A. Suhu

Suhu merupakan salah satu parameter fisika yang mempengaruhi pertumbuhan organisme dan kualitas perairan dalam budidaya. Dalam penelitian ini dilakukan pengukuran suhu sebanyak tiga kali. Adapun data hasil pengukuran suhu dapat dilihat pada **Gambar 20**.



**Gambar 20.** Data hasil pengukuran suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )

Keterangan :

K = bak Kontrol

V = bak pemeliharaan dengan Virus VNN

N2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^2$

N4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^4$

N6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^6$

NV2 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$

NV4 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$

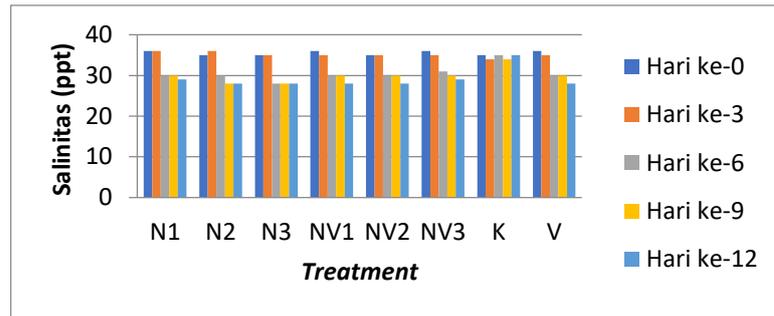
NV6 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$

Data diatas menunjukkan hasil pengukuran suhu yang berkisar antara 22,5–26°C. Suhu terendah didapat pada pengukuran hari ke 9 perlakuan *Nannochloropsis* pada hari ke 3 pada media kontrol yaitu 22,5°C, sedangkan suhu tertinggi didapat pada pengukuran hari ke 0 pada media perlakuan VNN yaitu 26°C. Rata rata suhu pada penelitian yang dilakukan pada hari ke 0 sampai akhir yaitu 24,2°C. Fluktuasi suhu yang terjadi selama penelitian masih dianggap normal.

Menurut Kurniawan (2012), suhu optimal bagi kehidupan organisme perairan tropis berkisar antara 28-32°C. Pada kisaran suhu tersebut, konsumsi oksigen mencapai 2.2 mg/g berat tubuh/jam. Sedangkan di bawah suhu 25°C, konsumsi oksigen hanya mencapai 1.2 mg/g berat tubuh/jam dan terjadi penurunan nafsu makan ikan. Suhu yang rendah dapat menyebabkan aktivitas ikan menjadi kurang aktif, bergerombol, serta tidak mau berenang dan makan. Hal ini berpengaruh pada menurunnya kemampuan ikan untuk merespon penyakit yang muncul atau kemampuan imunitasnya menurun. Berdasarkan hasil penelitian dan pemaparan literatur, nilai suhu tidak berada pada kisaran optimal untuk ikan.

## **B. Salinitas**

Salinitas merupakan aspek kualitas air yang penting karena mempengaruhi proses penyerapan oksigen dari air media ke dalam tubuh dan proses osmoregulasi untuk metabolisme tubuh organisme. Dalam penelitian ini, dilakukan pengukuran salinitas sebanyak tiga kali. Adapun hasil pengukuran salinitas dapat dilihat pada **Gambar 21**.



**Gambar 21.** Hasil Pengukuran Salinitas (ppt)

Keterangan :

K = bak Kontrol

V = bak pemeliharaan dengan Virus VNN

N2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^2$

N4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^4$

N6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^6$

NV2 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$

NV4 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$

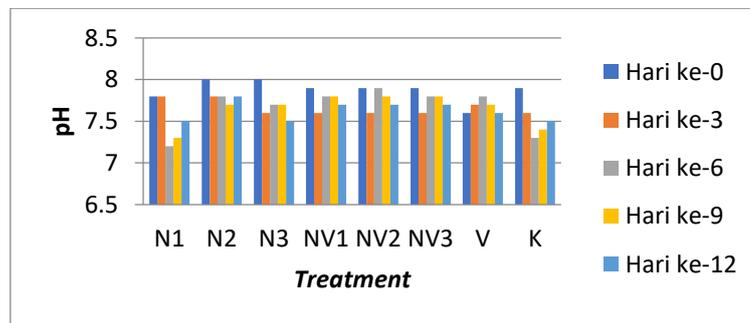
NV6 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$

Hasil pengukuran salinitas pada media pemeliharaan ikan kerapu cantang yang berkisar antara 28-36 ppt. hasil terendah pengukuran salinitas didapatkan pada hari ke 6, 9, 12 yaitu 28 ppt. Sedangkan hasil pengukuran tertinggi terdapat pada hari ke 3 perlakuan ikan kontrol yaitu 36 ppt. dan rata rata yang didapatkan dari pengukuran salinitas yaitu 31 ppt. Salinitas berpengaruh terhadap organisme dalam mempertahankan tekanan osmotik dengan lingkungannya.

Menurut Amiruddin *et al.*(2011), salinitas yang cocok untuk ikan kerapu berkisar antara 30-33 ppt. Berdasarkan hasil penelitian dan pemaparan literatur dapat disimpulkan bahwa nilai salinitas cenderung fluktuatif, akan tetapi masih dapat ditolerir oleh ikan.

### C. Derajat Keasaman (pH)

Derajat Keasaman (pH) air mempengaruhi tingkat kesuburan perairan karena dapat mempengaruhi kehidupan jasad renik. Nilai pH dapat digunakan sebagai indeks kualitas lingkungan atau tolak ukur untuk menunjukkan tinggi rendahnya konsumsi ion hydrogen dalam suatu perairan. Dalam penelitian ini dilakukan pengukuran pH sebanyak tiga kali. Adapun data hasil pengukuran pH dapat dilihat pada **Gambar 22**.



**Gambar 22.** Hasil pengukuran Ph

Keterangan :

K = bak Kontrol

V = bak pemeliharaan dengan Virus VNN

N2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^2$

N4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^4$

N6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^6$

NV2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$

NV4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$

NV6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$

Data diatas menunjukkan hasil nilai pH yang didapat selama penelitian, nilai pH pada penelitian yang dilakukan berkisar antara 7,3–8. Nilai pH terendah didapat pada hari ke 6 perlakuan *Nannochloropsis* dengan nilai pH 7,3. Sedangkan

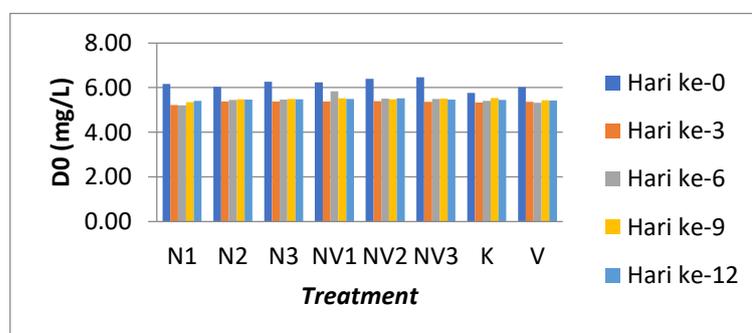
pH tertinggi pada hari ke 0 perlakuan *Nannochloropsis*  $10^2$ ,  $10^4$ ,  $10^6$ . Nilai rata rata pH yaitu 8.

Menurut Kurniawan (2012), Organisme perairan dapat hidup ideal dalam kisaran pH asam lemah sampai basa lemah. Kondisi perairan yang bersifat asam kuat ataupun basa kuat akan membahayakan kelangsungan hidup biota karena akan mengganggu proses metabolisme. Perubahan pH yang mendadak akan mengakibatkan ikan meloncat-loncat, berenang sangat cepat, tampak seperti kekurangan oksigen, dan bahkan mengalami kematian. Sedangkan perubahan pH perlahan akan menyebabkan lendir keluar berlebihan, kulit menjadi putih, dan mudah terinfeksi oleh mikroorganisme infeksi.

Berdasarkan hasil penelitian dan pemaparan literatur, nilai pH pada bak percobaan tergolong basa lemah yang mengalami naik turun secara perlahan. Tidak stabilnya pH memicu terjadinya stress pada ikan. Hal ini ditunjukkan dengan keluarnya lendir pada tubuh ikan secara berlebihan.

#### D. Oksigen Terlarut (DO)

Keberadaan oksigen terlarut (DO) di perairan budidaya merupakan salah satu faktor pembatas dimana ketersediaannya di dalam perairan dapat mempengaruhi kehidupan organisme di perairan tersebut. Dalam penelitian ini dilakukan pengukuran DO sebanyak tiga kali. Adapun hasil pengukuran DO dapat dilihat pada **Gambar 23**.



**Gambar 20.** Hasil Pengukuran DO (mg/L)

Keterangan :

K = bak Kontrol

V = bak pemeliharaan dengan Virus VNN

N2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^2$

N4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^4$

N6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* dengan kepadatan  $10^6$

NV2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$

NV4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$

NV6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment N. oculata* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$

Data diatas menunjukkan nilai dari DO yang didapat selama penelitian. Nilai DO terendah yaitu 5,21 mg/l, sedangkan nilai DO tertinggi yaitu 6,47 mg/l. Secara umum, ikan membutuhkan konsentrasi oksigen di atas 5 mg/L, walaupun ada beberapa jenis ikan yang mampu hidup pada kondisi oksigen di bawah 3 mg/L. Pada perairan dengan konsentrasi oksigen di bawah mg/L, beberapa jenis ikan masih mampu bertahan hidup, akan tetapi nafsu makannya mulai menurun. Beberapa penelitian menyatakan bahwa konsentrasi oksigen yang baik dalam budidaya perairan adalah antara 5-7 mg/L (Kurniawan, 2012).

Berdasarkan hasil penelitian dan pemaparan literatur, nilai DO pada penelitian ini berada pada kondisi optimum untuk tumbuh kembang organisme, hal ini dikarenakan adanya alat bantu suplay oksigen berupa aerator set.

#### **4.4 Chlorella vulgaris**

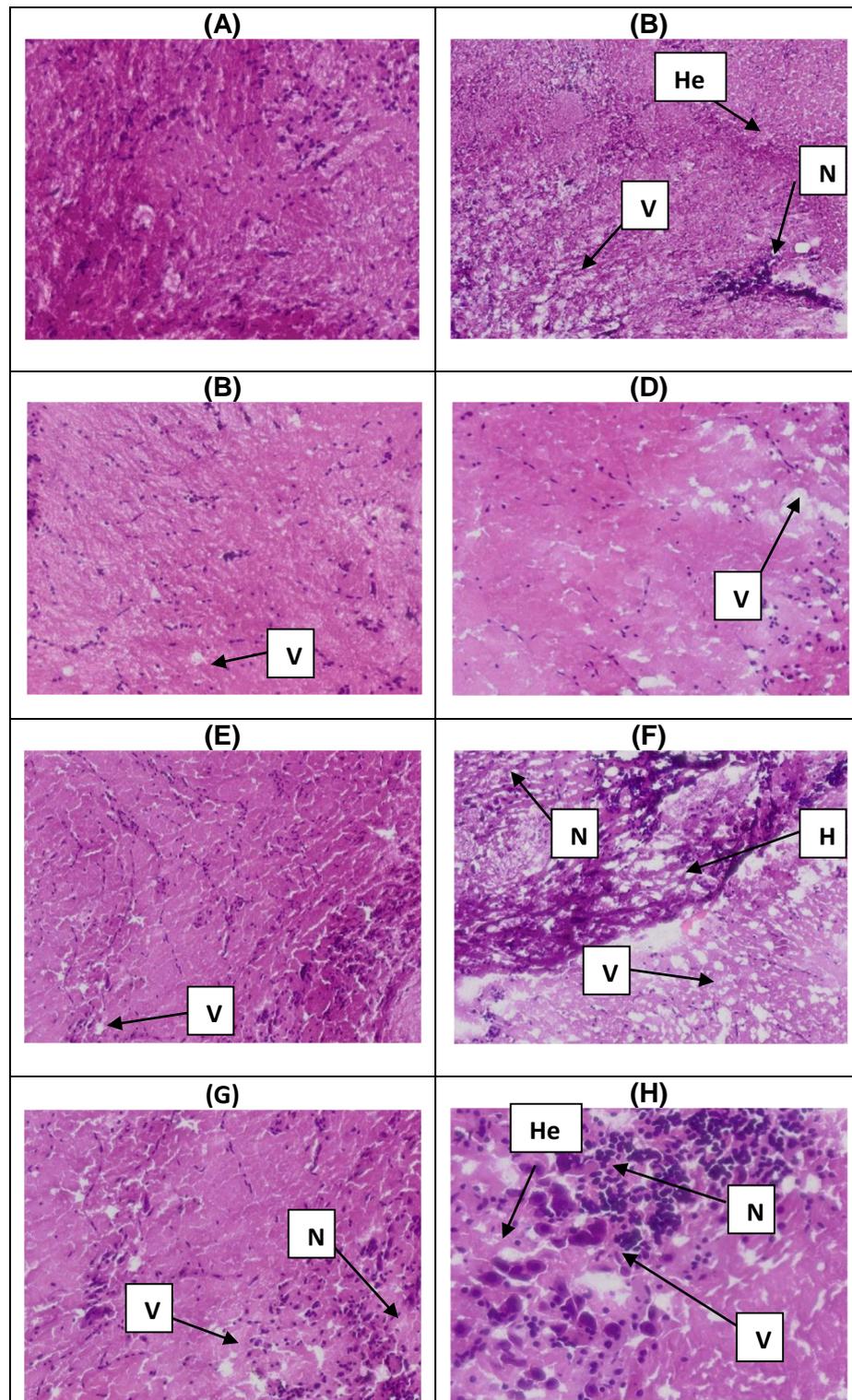
##### **4.4.1 Analisis Histopatologi Organ Mata dan Otak Ikan Kerapu Cantang**

Menurut Azad, *et al.* (2005) histopatologi adalah indikator yang paling penting dalam infeksi *Nodaviridae*. Organ mata dan otak yang mengalami kerusakan, karena adanya virus *Nodaviridae* yang merusak jaringan syaraf dengan ciri khas abnormalitas dengan tahapan adanya *includi body* dalam

sitoplasma, lalu terjadinya *hipertropy* kemudian akan membentuk *vacuola*. Jaringan dalam tahapan *intracytoplasmic vacuolation* akan dibarengi dengan degenerasi sel-sel. *Vacuola* yang telah terbentuk akan mengganggu sistem kerja otak.

VNN menginfeksi organ otak ikan kerapu terjadi secara seketika/secara langsung menyerang reseptor ikan karena VNN adalah virus yang tidak mempunyai envelope, kemudian virus menyebar ke otak melalui sirkulasi darah (Putri *et al.*, 2013). Menurut Chi (2006) *dalam* Putri *et al.* (2013), VNN menyerang otak melalui via sirkulasi darah. Murphy *et al.* (2008) *dalam* Yanuhar (2011) menjelaskan bahwa VNN secara langsung menempel pada reseptor dimana penempelan pada inang, virus memasukkan materi genetik dalam sel inang atau infeksi intraseluler dengan meninggalkan mantel protein di luar sel. Mantel protein adalah protein konstituen struktur virion VNN, sehingga mantel protein adalah struktur penting. Mantel protein tidak hanya berperan dalam asam nukleat virus VNN tetapi pada waktu yang sama, protein memiliki status utama dalam proses infeksi pada sel sasaran.

Hasil pengamatan jaringan otak ikan kerapu selama penelitian dengan perlakuan alga dan infeksi VNN yang dapat dilihat pada **Gambar 21**.



**Gambar 21.** Pengamatan Jaringan Otak Ikan Kerapu

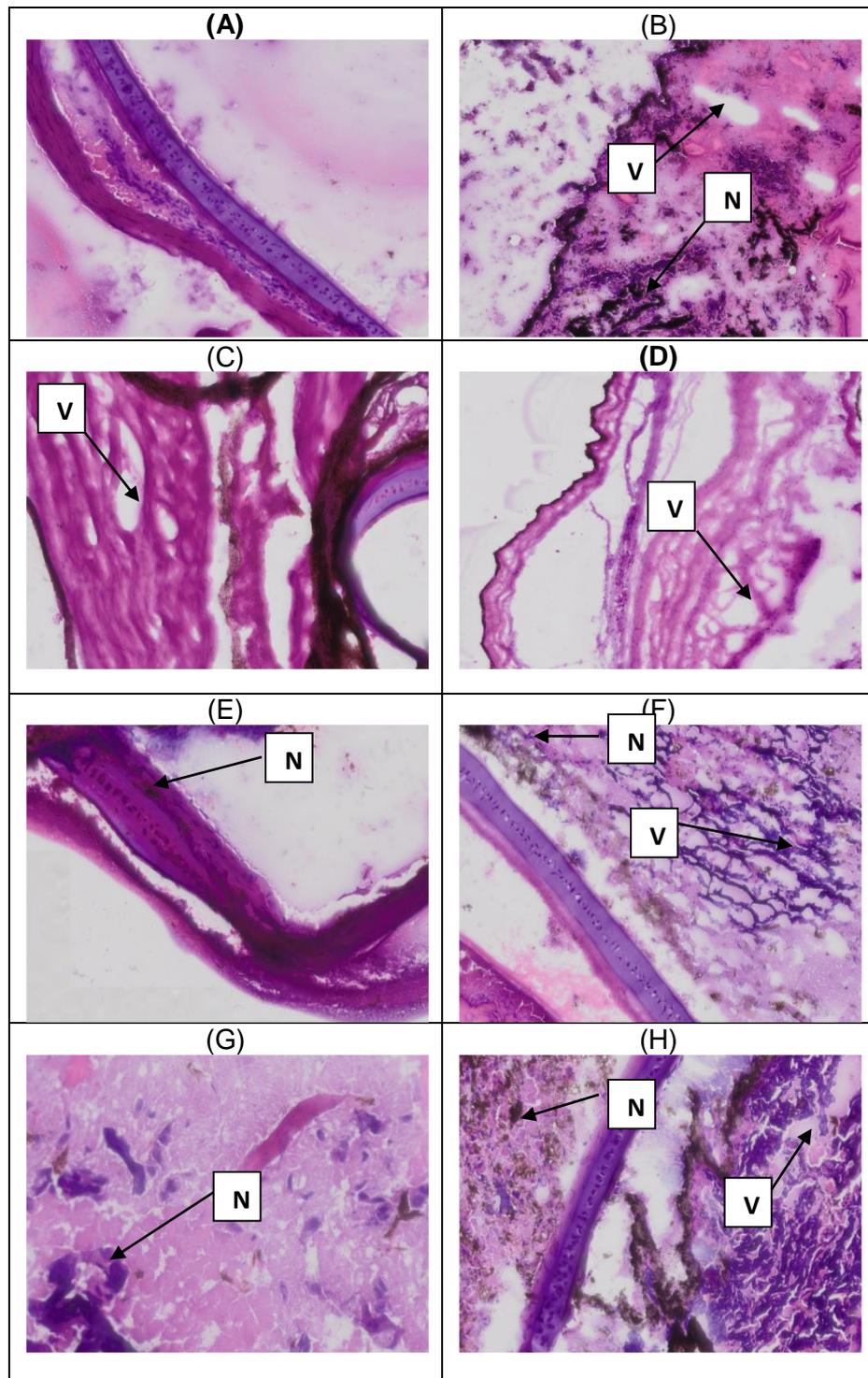
Keterangan :

- (A) = Jaringan otak ikan kerapu bak kontrol (M = 40X)
- (B) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan dengan VNN (M = 40X)
- (C) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment C. vulgaris* dengan kepadatan  $10^2$  (M = 40X)
- (D) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment C. vulgaris platensis* dengan kepadatan  $10^4$  (M = 40X)
- (E) = Jaringan otak ikan bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment C. vulgaris* dengan kepadatan  $10^6$  (M = 40X)
- (F) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan ikan kerapu *treatment C. vulgaris* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$  (M = 40X)
- (G) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment C. vulgaris* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$  (M = 40X)
- (H) = Jaringan otak ikan kerapu bak pemeliharaan *Treatment C. vulgaris* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$  (M = 40X)

Berdasarkan hasil pengamatan pada jaringan otak ikan kerapu dengan treatment alga terdapat sedikit kerusakan dari pada ikan kerapu dengan treatment alga dan infeksi virus VNN. Hal ini diduga bahwa penambahan alga *C. vulgaris* mempengaruhi jaringan otak ikan.

VNN menginfeksi organ mata ikan kerapu terjadi secara seketika/secara langsung menyerang reseptor ikan karena VNN adalah virus yang tidak mempunyai envelope (Putri *et al.*, 2013). Murphy *et al.* (2008) dalam Yanuhar (2011) menjelaskan bahwa VNN secara langsung menempel pada reseptor dimana penempelan pada inang, virus memasukkan materi genetik dalam sel inang atau infeksi intraseluler dengan meninggalkan mantel protein di luar sel. Mantel protein adalah protein konstituen struktur virion VNN, sehingga mantel protein adalah struktur penting. Mantel protein tidak hanya berperan dalam asam nukleat virus VNN tetapi pada waktu yang sama, protein memiliki status utama dalam proses infeksi pada sel sasaran.

Hasil pengamatan jaringan mata ikan kerapu selama penelitian dengan perlakuan alga dan infeksi VNN yang dapat dilihat pada **Gambar 22**.



**Gambar 22.** Pengamatan Jaringan Mata Ikan Kerapu

Keterangan :

- (A) = Jaringan mata ikan kerapu bak kontrol (M = 40X)
- (B) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan dengan VNN (M = 40X)
- (C) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment C. vulgaris* dengan kepadatan  $10^2$  (M = 100X)
- (D) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment C. vulgaris* dengan kepadatan  $10^4$  (M = 40X)
- (E) = Jaringan mata ikan bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment C. vulgaris* dengan kepadatan  $10^6$  (M = 100X)
- (F) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan ikan kerapu *treatment C. vulgaris* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$  (M = 40X)
- (G) = Jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment C. vulgaris* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$  (M = 40X)
- (H) = jaringan mata ikan kerapu bak pemeliharaan *Treatment C. vulgaris* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$  (M = 100X)

Dari hasil pengamatan histopatologi jaringan mata dapat dilihat mata ikan kerapu kontrol struktur jaringan masih dapat dilihat sedangkan pada jaringan mata ikan kerapu dengan infeksi VNN struktur jaringan mulai mengalami kerusakan dan pada treatment alga dan infeksi VNN ditemukan kerusakan berupa vakuolasi.

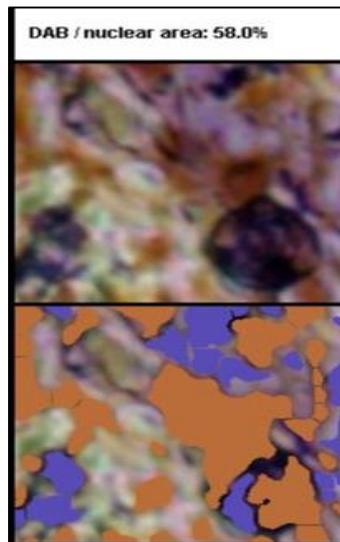
Pada Jaringan otak ikan kerapu cantang terdapat kerusakan berupa haemorrhage **Gambar 21** yang ditunjukkan dengan panah **He**. Hemorrhage terjadi akibat adanya kerusakan pada sel darah merah akibat infeksi VNN. Roberts (2001) menjelaskan bahwa bagian sel yang mengalami vakuolasi yang terjadi karena haemorrhage (pendarahan) yang ditandai dengan vakuolasi sel darah merah (*erithrocyte*).

Pada Jaringan otak dan mata ikan kerapu cantang terdapat kerusakan berupa nekrosis **Gambar 21** dan **Gambar 22** yang ditunjukkan dengan panah **N**. Sel normal memiliki kemampuan untuk merawat dan memperbaiki kerusakan. Jika kerusakan yang terjadi melebihi kemampuan sel tersebut, maka terjadi nekrosis atau bisa juga apoptosis yaitu kemampuan menghancurkan sendiri. Selain itu terjadi juga hipertrofi dan regenerasi sel (Larsen dan Perkins, 2001).

Pada Jaringan otak dan mata ikan kerapu cantang terdapat kerusakan berupa vakuolasi **Gambar 21** dan **Gambar 22** yang ditunjukkan dengan panah **V**. Sel dalam suatu jaringan yang terinfeksi menunjukkan karakteristik penurunan patologi yang meliputi kerusakan inti, vakuolisasi, dan penurunan daya permukaan sitoplasmik (Pokorova *et al*, 2005). Vakuolisasi terjadi karena degenerasi pada sel yang membuat bentuk sel menjadi kurang aktif (Sari *et al.*, 2014).

#### 4.4.2 Konfirmasi Respon HSP Pada Jaringan Otak dan Mata

Perubahan struktur ini hanya dapat dilihat bila jaringan tubuh ikan tersebut diamati secara detail dengan menggunakan mikroskop atau diamati secara mikroskopik. Pengamatan potongan jaringan otak ikan kerapu yang terinfeksi VNN yang telah dipreparasi dan diwarnai dilakukan pengamatan dengan mikroskop pada perbesaran 400x.



**Gambar 23.** Hasil pewarnaan IHK terdeteksi HSP70 pada jaringan otak treatment *Chlorella platensis* 10<sup>4</sup> (Pembesaran 400x)

Pada organ otak yang diberi VNN tampak adanya kerusakan sel dan jaringan. Kerusakan tersebut meliputi vakuolisasi dan necrosis. Hasil analisa ikan kontrol menggunakan immunoratio menunjukkan prosentasi *heatshock* sebesar *heatshock* sebesar 58,0%. Hal tersebut menunjukkan bahwa, tubuh ikan merespon

adanya VNN. Peningkatan tersebut ditujukan untuk mengorganisir dan meningkatkan sistem imun pada tubuh ikan.

#### **4.4.3 Manfaat *Chlorella vulgaris* Mencegah Penyakit Dan Virus**

*Chlorella sp.* Mengandung gizi yang cukup tinggi, yaitu protein 42,2%, lemak kasar 15,3%, nitrogen dalam bentuk ekstrak, kadar air 5,7% dan serat 0,4%. Mikroalga *Chlorella sp.* memiliki potensi sebagai pakan alami, pakan ternak, suplemen, penghasil komponen bioaktif, bahan farmasi dan kedokteran. (Kawaroe *et al.*, 2010). *Chlorella sp.* juga menghasilkan suatu antibiotic yang disebut Chlorellin, yaitu suatu zat yang dapat melawan penyakit-penyakit yang disebabkan oleh bakteri (Vashista, 1979 *dalam* Fachrullah, 2011).

*Chlorella vulgaris* juga memiliki beberapa jenis pigmen antara lain seperti  $\beta$ - karoten, astaxanthin, cantaxanthin, lutein, chlorophyll-  $\alpha$ , chlorophyll  $\beta$ , pheophytin-  $\alpha$  serta violaxantin (Safi *et al.*, 2014). Hasil uji fitokimia dari biomassa mikroalga *Chlorella sp.* mengandung senyawa tanin, flavonoid, steroid, glikosida alkaloid dan saponin (Fithriani *et al.*, 2015). Tanin berfungsi sebagai antioksidan sekunder, karena tanin memiliki kemampuan mengkelat ion besi dan memperlambat oksidasi (Amarowicz, 2007 *dalam* Fithriani *et al.*, 2015). Flavonoid saat ini menjadi fokus perhatian karena potensinya yang menguntungkan terhadap kesehatan dan flavonoid dilaporkan mengandung anti virus, anti alergi, anti platelet, anti inflamasi, anti tumor, dan aktivitas antioksidan (Heim *et al.*, 2002 *dalam* Fithriani *et al.*, 2015). Saponin memiliki efek terhadap level kolesterol, kanker, kesehatan tulang, dan menstimulasi sistem imun (Fithriani *et al.*, 2015).

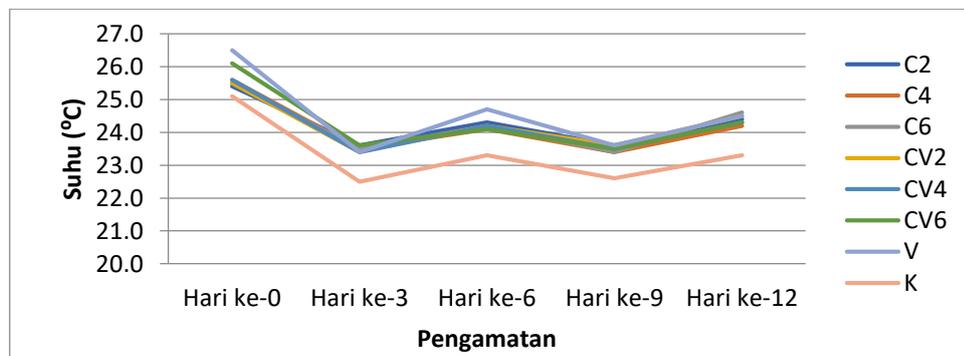
#### 4.4.4 Parameter Kualitas Air

Kualitas air merupakan faktor penting dalam pemeliharaan ikan. Kualitas air ini menentukan kelangsungan hidup dari suatu organisme. Dalam penelitian ini kualitas air ikan kerapu cantang yang dianalisis yaitu suhu, pH, salinitas, dan DO, dengan hasil:

##### A. Suhu

Suhu adalah parameter fisika yang dapat mempengaruhi pertumbuhan organisme (Hutabarat dan Evans, 1986). Metabolisme tubuh ikan akan berjalan optimal pada suhu yang optimal sesuai dengan batas toleran ikan yang berbeda beda. Perubahan suhu air secara drastis dapat mempengaruhi perubahan homeostatis pada ikan. Ikan menggunakan energi yang berlebihan sehingga mengganggu pertumbuhannya. Dalam rentang waktu yang lama perubahan suhu dapat menyebabkan stress pada ikan (Ross dan Ross, 1999).

Hasil pengukuran kualitas air tentang suhu selama penelitian dapat dilihat pada **Gambar 24**.



**Gambar 24.** Grafik Hasil Pengukuran Suhu

Keterangan :

K = bak Kontrol

V = bak pemeliharaan dengan Virus VNN

C2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* dengan kepadatan  $10^2$

C4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* dengan kepadatan  $10^4$

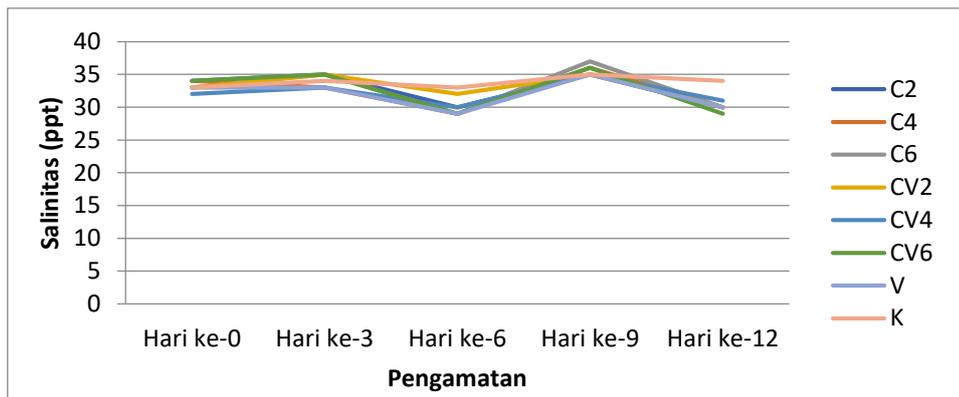
- C6 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment Chlorella platensis* dengan kepadatan  $10^6$   
CV2 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment Chlorella platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$   
CV4 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment Chlorella platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$   
CV6 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment Chlorella platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$

Data diatas menunjukkan hasil pengukuran suhu yang berkisar antara 22,5–26°C. Suhu terendah didapat pada pengukuran hari ke 9 perlakuan *Nannochloropsis* pada hari ke 3 pada media kontrol yaitu 22,5°C, sedangkan suhu tertinggi didapat pada pengukuran hari ke 0 pada media perlakuan VNN yaitu 26°C. Rata rata suhu pada penelitian yang dilakukan pada hari ke 0 sampai akhir yaitu 24,2°C. Fluktuasi suhu yang terjadi selama penelitian masih dianggap normal.

Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air pada parameter suhu didapat rata-rata 24,2°C tidak sesuai dengan pendapat APEC/SEAAFDEC (2001) yaitu kisaran suhu yang baik untuk pertumbuhan ikan kerapu berkisar 25-32 °C. Perairan laut cenderung memiliki suhu yang konstan karena mengandung panas jenis yang tinggi. Ikan kerapu menunjukkan pertumbuhan yang baik pada kisaran suhu 27 – 28 °C. Perubahan suhu yang cukup ekstrim akan berpengaruh terhadap proses metabolisme atau nafsu makan ikan ini (Sudjiharno dan Winanto, 1998). Suhu yang tidak optimal dapat mengakibatkan ikan mengalami gangguan metabolisme serta berkurangnya nafsu makan ikan. Hal ini juga dapat menyebabkan sistem kekebalan tubuh ikan lemah sehingga mudah terserang penyakit seperti VNN.

## B. Salinitas

Salinitas merupakan jumlah gram garam yang terlarut dalam satu kilogram air laut (Millero dan Sons, 1991). Dalam literatur oseanologi dikenal istilah salinitas yang maksudnya ialah jumlah berat semua garam yang terlarut dalam satu liter air, biasanya dinyatakan dengan satuan ‰ (Nontji, 2007). Hasil pengukuran kualitas air tentang salinitas selama penelitian dapat dilihat pada **Gambar 25**.



**Gambar 25.** Grafik Hasil Pengukuran Salinitas

Keterangan :

K = bak Kontrol

V = bak pemeliharaan dengan Virus VNN

C2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* dengan kepadatan  $10^2$

C4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* dengan kepadatan  $10^4$

C6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* dengan kepadatan  $10^6$

CV2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$

CV4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$

CV6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$

Berdasarkan grafik diatas hasil kualitas air yang didapat selama penelitian berlangsung pada pengukuran kualitas air khususnya parameter salinitas pada perlakuan ikan kontrol didapatkan hasil rata-rata yaitu sebesar 33,8 ppt. Kemudian pada perlakuan ikan yang diinfeksi VNN rata-rata hasil pengukuran salinitas yang

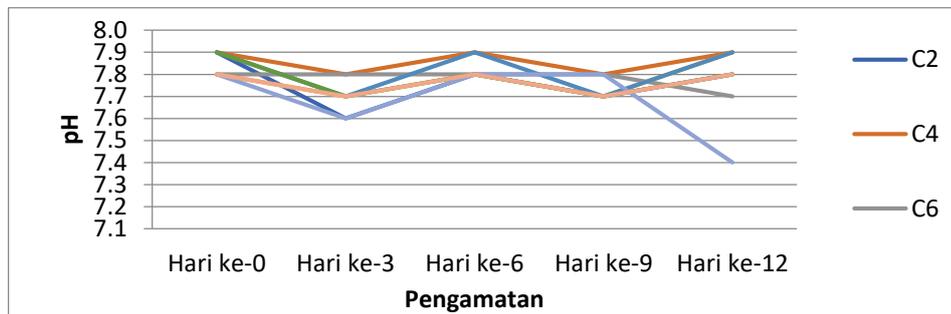
didapat yaitu 32,0 ppt. Sedangkan pengukuran salinitas pada perlakuan ikan dengan alga mulai dari  $10^2$ ,  $10^4$ , dan  $10^6$  didapatkan hasil rata-rata yaitu 32,8, 32,4, dan 32,8 ppt. Selanjutnya pada perlakuan ikan yang diinfeksi VNN dengan alga mulai dari  $10^2$ ,  $10^4$ , dan  $10^6$  rata-rata hasil pengukuran salinitas yang didapat yaitu 33, 32,2, dan 32,6 ppt.

Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air pada parameter salinitas dapat dikatakan masih mendukung kelangsungan hidup ikan kerapu hal ini sesuai dengan pendapat Muslimin *et al.*, (2004) dalam Suwoyo (2011) melaporkan bahwa kisaran kadar garam 35 – 40 ppt masih dapat memberikan pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan kerapu di bak terkontrol. Sedangkan APEC/SEAAFDEC (2001) yaitu kisaran salinitas yang baik untuk pertumbuhan ikan kerapu berkisar 20-32 ppt.

### **C. Derajat Keasaman (pH)**

Derajat keasaman (pH) adalah salah satu faktor dalam budidaya ikan mas yang harus diperhatikan. Pengukuran pH dalam perairan sangat diperlukan karena pH merupakan indikator untuk mengetahui konsentrasi ion hidrogen yang ada di perairan. Kondisi suatu perairan asam atau basa dapat dilihat dari hasil pengukuran pH tersebut. Nilai pH yang terlalu tinggi dapat menghambat proses fotosintesis karena kandungan  $\text{CO}_2$  berkurang sementara itu jika nilai pH terlalu rendah dapat menyebabkan ikan lemas bahkan dapat menyebabkan kematian (Mahyuddin, 2010).

Hasil pengukuran derajat keasaman (pH) selama penelitian dapat dilihat pada **Gambar 26**.



**Gambar 26.** Grafik Hasil Pengukuran pH

Keterangan :

K = bak Kontrol

V = bak pemeliharaan dengan Virus VNN

C2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* dengan kepadatan  $10^2$

C4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* dengan kepadatan  $10^4$

C6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* dengan kepadatan  $10^6$

CV2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$

CV4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$

CV6 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$

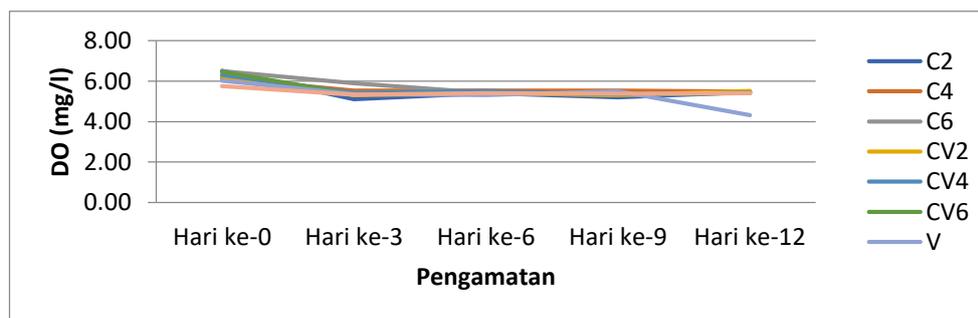
Berdasarkan grafik diatas hasil kualitas air yang didapat selama penelitian berlangsung pada perlakuan ikan kontrol didapatkan hasil rata-rata yaitu sebesar 7,8. Kemudian pada perlakuan ikan yang diinfeksi VNN rata-rata hasil pengukuran pH yang didapat yaitu 7,7. Selanjutnya pengukuran pH pada perlakuan ikan dengan alga mulai dari  $10^2$ ,  $10^4$ , dan  $10^6$  didapatkan hasil rata-rata yaitu 7,8, 7,9 dan 7,8. Sedangkan pada perlakuan ikan yang diinfeksi VNN dengan alga mulai dari  $10^2$ ,  $10^4$ , dan  $10^6$  rata-rata hasil pengukuran pH yang didapat yaitu 7,8 sama pada setiap kepadatan.

Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air pada parameter pH dapat dikatakan masih mendukung kelangsungan hidup ikan kerapu hal ini sesuai dengan pendapat Kordi dan Tancung (2007) bahwa air laut cenderung basa dengan nilai pH berkisar antara 7,5 sampai 8,4. Sedangkan menurut Boyd (1982) dalam Suwoyo (2011), ikan kerapu dapat mentolerir kisaran pH air antara 6,5 – 9,0.

#### D. Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut (DO) merupakan faktor kualitas air yang sangat penting dalam proses metabolisme ikan terutama dalam proses pernafasan karena oksigen terlarut berhubungan dengan tersedianya oksigen di dalam perairan. Jasad-jasad renik dalam perairan dan ikan sangat bergantung pada tersedianya oksigen untuk bernafas dan proses metabolismenya. Kandungan oksigen yang tidak mencukupi dapat menyebabkan penurunan daya tahan tubuh ikan (Cahyono, 2010).

Hasil pengukuran oksigen terlarut (DO) selama penelitian dapat dilihat pada **Gambar 26**.



**Gambar 27.** Grafik Hasil Pengukuran Oksigen Terlarut (DO)

Keterangan :

K = bak Kontrol

V = bak pemeliharaan dengan Virus VNN

C2 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* dengan kepadatan  $10^2$

C4 = bak pemeliharaan ikan keparu *Treatment Chlorella platensis* dengan kepadatan  $10^4$

- C6 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment Chlorella platensis* dengan kepadatan  $10^6$   
CV2 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment Chlorella platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^2$   
CV4 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment Chlorella platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^4$   
CV6 = bak pemeliharaan ikan kerapu *Treatment Chlorella platensis* + Ekstraksi VNN dengan kepadatan  $10^6$

Berdasarkan grafik diatas hasil kualitas air yang didapat selama penelitian berlangsung pada pengukuran kualitas air khususnya parameter suhu pada perlakuan ikan kontrol didapatkan hasil rata-rata yaitu sebesar 5,45 mg/l. Selanjutnya pada perlakuan ikan yang diinfeksi VNN rata-rata hasil pengukuran suhu yang didapat yaitu 5,30 mg/l. Kemudian pengukuran suhu pada perlakuan ikan dengan alga mulai dari  $10^2$ ,  $10^4$ , dan  $10^6$  didapatkan hasil rata-rata yaitu 5,54, 5,65, dan 5,72 mg/l. Sedangkan pada perlakuan ikan yang diinfeksi VNN dengan alga mulai dari  $10^2$ ,  $10^4$ , dan  $10^6$  rata-rata hasil pengukuran suhu yang didapat yaitu 5,56, 5,61, dan 5,60 mg/l.

Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air pada parameter oksigen terlarut dapat dikatakan masih mendukung kelangsungan hidup ikan kerapu hal ini sesuai dengan pendapat Chua dan Teng (1978) dalam Langkosono (2007), bahwa kualitas perairan yang optimal untuk pertumbuhan ikan kerapu, seperti oksigen terlarut > 3,5 ppm. Kemudian APEC/SEAAFDEC (2001) menyatakan bahwa kandungan oksigen terlarut yang baik untuk pertumbuhan ikan kerapu berkisar 4 - 8 mg/L.

#### 4.5 Analisis Data

*Analysis of varians* (ANOVA) perlu dilakukan untuk melihat ada atau tidaknya pengaruh perlakuan yang berbeda pada *treatment S. platensis*, *N. oculata*, dan *C. Vulgaris* dengan tiap alga memiliki 8 perlakuan (Ikan Kontrol, Virus VNN, Alga  $10^2$ ;  $10^4$ ;  $10^6$ , Virus VNN+Alga  $10^2$ ;  $10^4$ ;  $10^6$ ) pada ikan kerapu. Hasil Rancangan Faktorial (SPPS) pada **Tabel 2**. Sedangkan perhitungan dapat dilihat pada lampiran.

**Tabel 2.** Hasil ANOVA

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Histopatologi

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1900.319 <sup>a</sup>	23	82.623	11.757	.000
Intercept	9637.347	1	9637.347	1371.322	.000
KLP	1333.431	7	190.490	27.105	.000
ALG	357.861	2	178.931	25.460	.000
KLP * ALG	209.028	14	14.931	2.125	.027
Error	337.333	48	7.028		
Total	11875.000	72			
Corrected Total	2237.653	71			

a. R Squared = .849 (Adjusted R Squared = .777)

Keterangan:

KLP = Kelompok Perlakuan alga ( $10^2$ ,  $10^4$ ,  $10^6$ ) dan Alga+Virus VNN ( $10^2$ ,  $10^4$ ,  $10^6$ )

ALG = *Treatment* alga (*Spirullina platensis*, *Nannochloropsis ocullata*, dan *Chlorella vulgaris*)

Berdasarkan analisa tabel diatas didapatkan nilai Sig. sebesar 0,027 dimana nilai tersebut berada dibawah nilai 0,05 yang menunjukkan bahwa *treatment S. platensis*, *N. oculata*, dan *C. Vulgaris* berbeda nyata atau terdapat perbedaan. Maka dilakukan uji lanjut untuk mengetahui bagaimana pengaruh dari perlakuan yang berbeda. Berikut ini hasil uji BNT dapat dilihat pada **Tabel 03**. Sedangkan perhitungan ANOVA dapat dilihat pada **Lampiran**.

**Tabel 03.** Hasil Uji BNT

**a. Homogeneous subsets**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Histopatologi

Tukey HSD

(I) Alga	(J) Alga	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NO	CV	-.04	.765	.998	-1.89	1.81
	SP	4.71*	.765	.000	2.86	6.56
CV	NO	.04	.765	.998	-1.81	1.89
	SP	4.75*	.765	.000	2.90	6.60
SP	NO	-4.71*	.765	.000	-6.56	-2.86
	CV	-4.75*	.765	.000	-6.60	-2.90

Based on observed means.

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

**b. Alga**

**Histopatologi**

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Kelompok	N	Subset		
		1	2	3
S4	9	7.00		
K	9	7.44		
S2	9	7.89		
S6	9	8.56		
SV4	9		12.56	
SV2	9		14.44	
SV6	9		14.89	
V	9			19.78
Sig.		.914	.579	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 7.028.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b. Alpha = .05.

Keterangan :

S2 = Treatment mikroalga\*10<sup>2</sup>

S4 = Treatment mikroalga\*10<sup>4</sup>

S6 = Treatment mikroalga\*10<sup>6</sup>

SV2 = Treatment mikroalga\*10<sup>2</sup> dan Virus VNN

SV4 = Treatment mikroalga\*10<sup>4</sup> dan Virus VNN

SV6 = Treatment mikroalga\*10<sup>6</sup> dan Virus VNN

c. Histopatologi

**Histopatologi**

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

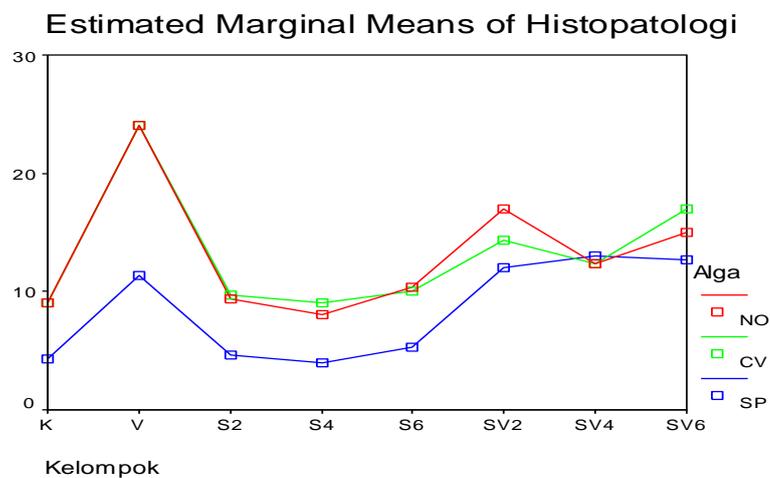
Alga	N	Subset	
		1	2
SP	24	8.42	
NO	24		13.13
CV	24		13.17
Sig.		1.000	.998

Means for groups in homogeneous subsets are displayed  
Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 7.028.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 24.000.

b. Alpha = .05.



**Gambar 27.** Hasil uji BNT

Hasil uji BNT dan grafik diatas diketahui bahwa setiap perlakuan memiliki hasil yang berbeda. Perbedaan tiap perlakuan diketahui dengan melakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf nyata 0,05 (selang kepercayaan 95%). Perlakuan yang terbaik adalah *treatment Spirulina platensis* 10<sup>4</sup> karena memiliki jumlah rata-rata terendah diikuti dengan pemberian *N. oculata* dan *C. vulgaris*. maka perlakuan yang paling berpengaruh dengan signifikasi 0,05 adalah *treatment S. platensis*. Pada *treatment* tersebut memiliki jumlah mikronuklei yang rendah. Pada perlakuan V memiliki jumlah mikronuklei yang paling tinggi, dikarenakan adanya infeksi virulen VNN yang menyebabkan ikan menjadi stress sehingga

jumlah mikronuklei menjadi meningkat. Sedangkan perlakuan yang paling baik adalah pemberian *S. platensis* pada kepadatan  $10^4$ .