

**EKSPRESI ENZIM RIBONUKLEOTIDA REDUKTASE (RR) PADA UDANG
VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*, Boone) DENGAN LAMA WAKTU
PENGINFEKSIAN WSSV (*WHITE SPOT SYNDROM VIRUS*)
YANG BERBEDA**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh:

**LILIS SOFAQOHIRIYAH
NIM. 115080113111013**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG
2015**



**EKSPRESI ENZIM RIBONUKLEOTIDA REDUKTASE (RR) PADA UDANG
VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*, Boone) DENGAN LAMA WAKTU
PENGINFEKSIAN WSSV (*WHITE SPOT SYNDROM VIRUS*)
YANG BERBEDA**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

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

Oleh:

**LILIS SOFAQHIRIYAH
115080113111013**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**



SKRIPSI

EKSPRESI ENZIM RIBONUKLEOTIDA REDUKTASE (RR) PADA UDANG
VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*, Boone) DENGAN LAMA WAKTU
PENGINFEKSIAN WSSV (*WHITE SPOT SYNDROM VIRUS*)
YANG BERBEDA

Oleh:

LILIS SOFAQOHIRIYAH
NIM. 115080113111013

Telah dipertahankan di depan penguji

Pada tanggal 29 Juni 2015

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I

Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si
NIP. 19730404 200212 2 001

Tanggal:

Dosen Peguji II

Prof. Yenny Risjani, DEA, PhD
NIP. 19610523 198703 2 003

Tanggal:

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

Dr. Yuni Kilawati, S.Pi., M.Si
NIP. 19730702 200501 2 001

Tanggal:

Dosen Pembimbing II

Dr. Ir. Mulyanto, M.Si
NIP. 19600317 198602 1 001

Tanggal:

Mengetahui,
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal:

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, dan sepanjang pengetahuansaya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 29 Juni 2015

Mahasiswa

Lilis Sofaqohiriyah



RINGKASAN

LILIS SOFAQOHIRIYAH. Ekspresi Enzim Ribonukleotida Reduktase (RR) pada Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*, Boone) Dengan Lama Waktu Penginfeksi WSSV (*White Spot Syndrom Virus*) yang Berbeda (di bawah bimbingan **Dr. Yuni Kilawati., S.Pi, M.Si dan Dr. Ir. Mulyanto, M. Si**)

Penelitian tentang Ekspresi Enzim Ribonukleotida Reduktase (RR) pada Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*, Boone) dengan lama waktu penginfeksi WSSV (*White Spot Syndrom Virus*) yang berbeda bertujuan untuk mengetahui morfologi, mortalitas serta ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada tubuh udang *vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) dengan lama perendaman WSSV yang berbeda. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan serta Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Desember-Maret 2015.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan rancangan percobaan rancangan acak lengkap. Perlakuan yang dilakukan adalah penginfeksi udang *vannamei* dengan WSSV selama 2 jam, 3 jam dan 4 jam perendaman dengan 3 kali ulangan. Pengamatan dilakukan terhadap perubahan tingkah laku, morfologi, mortalitas udang serta ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pasca infeksi. Hasil yang didapat kemudian dianalisis menggunakan analisis diskriptif serta analisis sidik ragam.

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan terhadap perubahan tingkah laku serta morfologi maka diketahui perlakuan yang diberikan menimbulkan gejala perubahan yang sama sehingga dikatakan tidak ada perbedaan perubahan tingkah laku dan morfologi. Pengamatan morfologi udang *vannamei* disajikan dalam bentuk skoring.

Analisis sidik ragam mortalitas udang *vannamei* pasca infeksi menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda dari perlakuan yang diberikan. Persentase kematian tertinggi berada pada perlakuan perendaman 4 jam yaitu berkisar antara 48%-52%. Sedangkan terendah pada perendaman WSSV selama 2 jam yaitu berkisar antara 14-19%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama perendaman, maka jumlah kematian udang *vannamei* juga semakin meningkat. Kematian udang *vannamei* ini dikarenakan adanya penurunan daya tahan tubuh udang. Secara keseluruhan dengan penambahan waktu perendaman baik pada udang *vannamei* dengan status hidup maupun mati mengalami peningkatan intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase dibandingkan dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa dengan perendaman WSSV yang berbeda juga membuat replikasi virus berbeda semakin lama perendaman, virus akan semakin banyak dalam tubuh udang *vannamei*.

Kata kunci : udang *vannamei*, morfologi, mortalitas, enzim ribonukleotida reduktase

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT, karena berkat rahmat dan ridho-Nya, Laporan Skripsi dengan judul **"EKSPRESI ENZIM RIBONUKLEOTIDA REDUKTASE (RR) PADA UDANG *VANNAMEI* (*Litopenaeus vannamei*, Boone) DENGAN LAMA WAKTU PENGINFEKSIAN WSSV (*WHITE SPOT SYNDROM VIRUS*) YANG BERBEDA"** ini dapat diselesaikan. Di dalam tulisan ini membahas tentang bagaimana perubahan morfologi, mortalitas serta ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada udang *vannamei* pasca infeksi virus dengan lama perendaman WSSV yang berbeda. Adapun ucapan terima kasih tidak lupa saya persembahkan kepada pihak-pihak yang telah ikut serta dalam penyelesaian Laporan Penelitian Skripsi ini, diantaranya:

1. Kepada Ibu dan keluarga yang tak pernah lelah memberikan dukungan serta doa tanpa pamrih .
2. Kepada Dr. Yuni Kilawati., S.Pi, M.Si dan Dr. Ir. Mulyanto M.Si selaku dosen pembimbing atas bimbingan, nasehat, serta pengetahuan yang telah diberikan.
3. Kepada Dr. Uun Yanuhar., S.Pi, M.Si dan Prof Yenny Risjani., DEA., PhD selaku dosen penguji atas saran, serta pengetahuan yang telah diberikan.
4. Dan semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan namanya satu per satu, terima kasih atas bantuan moril maupun materil hingga Laporan Skripsi ini dapat terselesaikan.

Semoga Laporan Skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak. Mohon maaf jika ada kata-kata yang tidak berkenan, kritik serta saran membangun sangat diberlukan untuk memperbaiki laporan ini. Terima kasih

Malang, 29 Juni 2015

Penulis

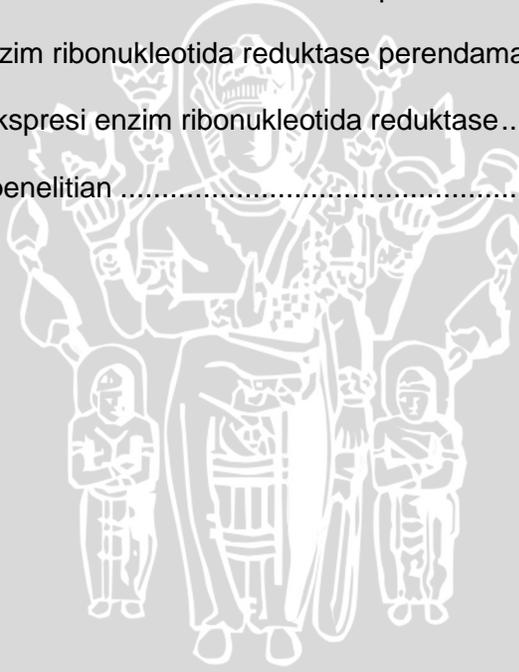
DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	
Error! Bookmark not defined.	
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Kegunaan	4
1.5 Hipotesis	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Biologi Udang <i>Vannamei</i> (<i>Litopenaeus vannamei</i> , Boone)	6
2.1.1 Morfologi Udang <i>Vannamei</i> (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	6
2.1.2 Siklus Hidup Udang <i>vannamei</i> (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	8
2.1.3 Penyakit Udang <i>Vannamei</i> (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	9
2.2 WSSV (<i>White Spot Syndrome Virus</i>)	10
2.3 Gejala Klinis WSSV	11
2.4 Mekanisme Serangan WSSV	12
2.5 Ribonuklotida Reduktase	14
2.6 Imunohistokimia	16
2.7 Kualitas Air	
166	
2.7.1 Suhu	166
2.7.2 Salinitas	177
2.7.3 pH	199
2.7.4 <i>Disolved Oxygen</i>	20

3. METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Tempat dan Waktu.....	21
3.2 Materi Penelitian.....	21
3.3 Alat – alat Penelitian.....	21
3.4 Metode Penelitian.....	22
3.4.1 Persiapan penelitian	22
3.4.1 Rancangan Eksperimen	23
3.5 Parameter Uji	24
3.5.1 Parameter Utama.....	24
3.5.2 Prosedur <i>Immunofluorescence</i> dengan <i>Confocal Laser Scanning Microscope</i> (CLSM).....	26
3.5.3 Parameter Penunjang	288
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Kondisi Udang <i>Vannamei</i> Selama Perlakuan	31
4.2 Tingkat Infeksi Udang <i>Vannamei</i> Pasca Infeksi WSSV dengan Skoring	32
4.3 Kerentanan Udang <i>Vannamei</i> Terhadap Infeksi WSSV	34
4.4 Pengamatan Ekspresi Enzim Ribonukleotida Reduktase	36
4.4.1 Ekspresi Ribonukleotida Reduktase pada Udang <i>Vannamei</i> Kontrol	37
4.4.3 Ekspresi RR Dengan Perlakuan Perendaman 2 Jam	39
4.4.3 Ekspresi RR Dengan Perlakuan Perendaman 3 Jam	43
4.4.4 Ekspresi RR Dengan Perlakuan Perendaman 4 Jam	48
4.5 Pengaruh Lama Perendaman WSSV yang Berbeda Terhadap Intensitas Ekspresi Enzim Ribonukleotida Reduktase	52
4.6 Parameter Kualitas Air.....	522
4.6.1 Suhu	533
4.6.2 Salinitas	54
4.6.3 Derajat Keasaman (pH).....	555
4.6.4 Oksigen Terlarut.....	567
5. KESIMPULAN DAN SARAN	58
5.1 Kesimpulan	58
5.2 Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat dan Bahan saat penelitian.....	21
2. Perubahan tingkah laku udang <i>vannamei</i> pasca infeksi WSSV	31
3. Hasil skoring	33
4. Persentase kematian udang <i>vannamei</i> pasca infeksi.....	34
5. Analisis sidik ragam mortalitas udang <i>vannamei</i>	34
6. Intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase perendaman 2 jam.....	42
7. Intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase perendaman 3 jam.....	46
8. Intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase perendaman 4 jam.....	50
9. Rata-rata intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase.....	52
10. Kisaran kualitas air penelitian	53



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi Udang <i>vannamei</i> (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	7
2. Daur hidup udang <i>vannamei</i>	9
3. Mekanisme serangan virus ke sel inang	13
4. Sintesis purin	15
5. Rancangan eksperimen	23
6. Hasil pengamatan ekspresi RR kontrol	38
7. Hasil pengamatan ekspresi RR perendaman 2 jam hidup.....	40
8. Hasil pengamatan ekspresi RR perendaman 2 jam mati.....	41
9. Grafik intensitas ekspresi enzim RR perendaman 2 jam	43
10. Hasil pengamatan ekspresi RR perendaman 3 jam hidup.....	44
11. Hasil pengamatan ekspresi RR perendaman 3 jam mati.....	45
12. Grafik intensitas ekspresi enzim RR perendaman 3 jam	47
13. Hasil pengamatan ekspresi RR perendaman 4 jam hidup.....	48
14. Hasil pengamatan ekspresi RR perendaman 4 jam mati.....	49
15. Grafik intensitas ekspresi enzim RR perendaman 4 jam	51
16. Nilai rata-rata suhu saat pemeliharaan udang <i>vannamei</i>	54
17. Nilai rata-rata salinitas saat pemeliharaan udang <i>vannamei</i>	55
18. Nilai rata-rata pH saat pemeliharaan udang <i>vannamei</i>	56
19. Nilai rata-rata DO saat pemeliharaan udang <i>vannamei</i>	57

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Udang *vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) secara resmi diperkenalkan pada masyarakat pembudidaya pada tahun 2001 setelah menurunnya produksi udang windu karena berbagai masalah yang dihadapi dalam proses produksi, baik masalah teknis maupun non teknis (Subyakto S, *et al.*, 2010). Peluang besar pasar ekspor udang *vannamei* untuk Uni Eropa dan Jepang cukup tinggi. Bahkan pasar international saat ini masih kekurangan sekitar 700.000 ton – 800.000 ton udang. Dilihat dari segi ekonomi, budidaya udang *vannamei* dinilai cukup menjanjikan (Khamdi, 2014).

Udang *vannamei* dinilai mampu menggantikan udang windu sebagai alternatif usaha budidaya yang positif. Beberapa keunggulan udang *vannamei* diantaranya: produktivitasnya tinggi karena mudah dibudidayakan, waktu pemeliharaannya lebih pendek dan relatif lebih tahan penyakit serta pertumbuhannya cepat, tahan hidup pada kisaran salinitas luas dan dapat tumbuh dengan baik pada salinitas yang rendah. Harga pakan udang *vannamei* lebih murah dan telah dihasilkan induk yang tahan terhadap penyakit (Kordi, 2007).

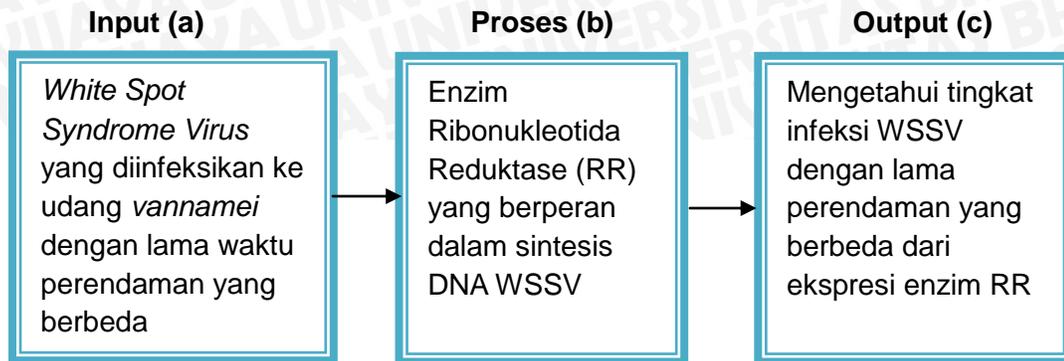
Udang *vannamei* yang dikenal mempunyai keunggulan daripada udang windu pada kenyataannya sampai saat ini budidaya udang *vannamei* sering terjadi kegagalan karena serangan virus. Salah satu penyakit yang disebabkan virus yang menyerang udang *vannamei* adalah *White Spot Syndrom Virus* (WSSV) atau yang biasa disebut bintik putih (*white spot*). Virus ini merupakan ancaman yang serius karena dapat menyebabkan kematian udang *vannamei* secara massal. Menurut Taslihan *et al* (2005), penyakit WSSV merupakan jenis penyakit yang paling populer

dan paling ganas dibandingkan dengan virus lainnya. Udang yang terserang biasanya berenang ke tepi pematang, lemah, kehilangan nafsu makan dan akhirnya mati. Sedangkan menurut Wahyono dalam Rukyani (2000), *white spot* merupakan penyakit yang paling banyak menimbulkan kerugian secara ekonomi, diperkirakan lebih dari 300 juta dollar AS per tahun.

Menurut Wang *et al.*, (2000) dalam Kilawati dan Win (2009), mekanisme penyerangan WSSV ke tubuh udang awalnya bersifat intrasitoplasmik, yaitu masuk ke dalam sel inang kemudian pada tingkat serangan yang lebih tinggi DNA virus masuk ke dalam DNA inang dan mengambil alih proses transkripsi dan translasi sesuai proses dalam DNA virus serta dapat terjadi pada beberapa bagian sel.

Setiap makhluk hidup memiliki enzim yang berperan untuk membantu sintesis DNA. Enzim ini disebut enzim Ribonukleotida Reduktase (RR) yang merupakan kunci dalam sintesis serta metabolisme DNA. Enzim ini berperan dalam sintesis purin yaitu menyediakan energi untuk sintesis DNA melalui jalur *de novo* (Pardede, 2012). Keberadaan enzim ini membantu berlangsungnya sintesis serta replikasi DNA. Dengan melihat ekspresi enzim RR dapat dijadikan sebagai Gambaran dari replikasi WSSV. Terdapat hubungan yang kuat antara aktivitas RR dan laju replikasi sel WSSV. Semakin tinggi aktivitas RR menunjukkan laju replikasi WSSV juga tinggi. Aktivitas enzim RR juga berhubungan dengan derajat transformasi keganasan WSSV (Finch *et al.*, 2000). Ekspresi dari enzim ini dapat dijadikan sebagai indikator tingkat infeksi WSSV dengan lama perendaman waktu yang berbeda.

1.2 Rumusan Masalah



Penjelasan dari bagan alir diatas sebagai berikut:

- Masalah yang sering dihadapi pembudidaya udang *vannamei* adalah penyakit yang menyebabkan produksi rendah. Dalam waktu yang singkat (2-7 hari sejak gejala awal muncul) *White Spot Syndrom Virus* dapat menyebabkan kematian udang sampai 100%. Kematian ini menandakan infeksi WSSV yang serius. Dengan adanya lama perendaman waktu yang berbeda, akan memberikan pengaruh terhadap tingkat infeksi virus ini pula.
- Virus ini menyerang sel inang. Sel virus akan masuk ke dalam sel inang dan bereplikasi. Hal ini akan menyebabkan kerusakan terhadap sel inang. Sel inang akan pecah dan virus akan menyebar. Selama proses replikasi WSSV berlangsung dibantu oleh enzim ribonukleotida reduktase. Ekspresi enzim RR dapat dijadikan sebagai indikator replikasi virus WSSV dalam tubuh udang *vannamei*.
- Mengetahui tingkat infeksi WSSV dengan lama perendaman yang berbeda melalui ekspresi enzim RR.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Untuk mengetahui perubahan tingkah laku serta morfologi udang *vannamei* pasca perlakuan penginfeksi WSSV.
2. Untuk mengetahui mortalitas udang *vannamei* pasca perlakuan penginfeksi WSSV.
3. Untuk mengetahui ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada tubuh udang *vannamei* pasca perlakuan penginfeksi WSSV.

1.4 Kegunaan

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat :

1. Bagi mahasiswa, diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan dan keterampilan dalam memahami permasalahan yang ada di lapang dengan memadukan teori yang diperoleh di bangku kuliah serta dapat dijadikan sebagai sumber informasi keilmuan untuk digunakan sebagai dasar penulisan dan penelitian lebih lanjut.
2. Bagi perguruan tinggi, sebagai informasi tentang tingkat infeksi WSSV yang dilihat dari ekspresi enzim RR yang dapat dijadikan sebagai dasar ilmu untuk pencegahan virus *white spot*.
3. Bagi peneliti yang akan datang, dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya, untuk mencari penanganan terhadap virus *white spot*.

1.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

H_0 : Diduga penginfeksian virus WSSV dengan lama waktu perendaman yang berbeda tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap ekspresi enzim RR.

H_1 : Diduga penginfeksian virus WSSV dengan lama waktu perendaman yang berbeda akan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap ekspresi enzim RR.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*)

2.2.1 Morfologi Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*)

Secara internasional, udang *vannamei* dikenal sebagai *white leg shrimp* atau *western white shrimp* atau *pacific white leg shrimp*. Di Indonesia dikenal sebagai udang *vannamei* atau udang kaki putih. Udang *vannamei* adalah udang introduksi yang berasal dari Hawaii dan Amerika Selatan (Gambar 1). Udang *vannamei* mempunyai nama ilmiah *Litopenaeus vannamei*. Udang ini termasuk dalam golongan *crustacea* (udang - udangan) dan dikelompokkan sebagai udang laut atau udang *penaeid* seperti jenis udang lainnya yaitu udang windu (*Panaeus monodon*), udang putih atau jebrung (*Panaeus merguensis*), udang werus atau dogol (*Metapanaeus* spp.), udang jari (*Panaeus indicus*) dan udang kembang (*Panaeus semisulcatus*) (Amri dan Kanna, 2008).

Udang *vannamei* memiliki ciri-ciri warna tubuh serta ukuran tubuh lebih kecil dibandingkan udang windu. Tubuh udang *vannamei* dibentuk oleh dua cabang (biramous), yaitu exopodite dan endopodite. Seluruh tubuhnya tertutup oleh eksoskeleton yang terbuat dari bahan kitin. Tubuhnya beruas-ruas dan mempunyai aktivitas berganti kulit luar (eksoskeleton) secara periodik (*molting*) (Cholik et al, 2005).

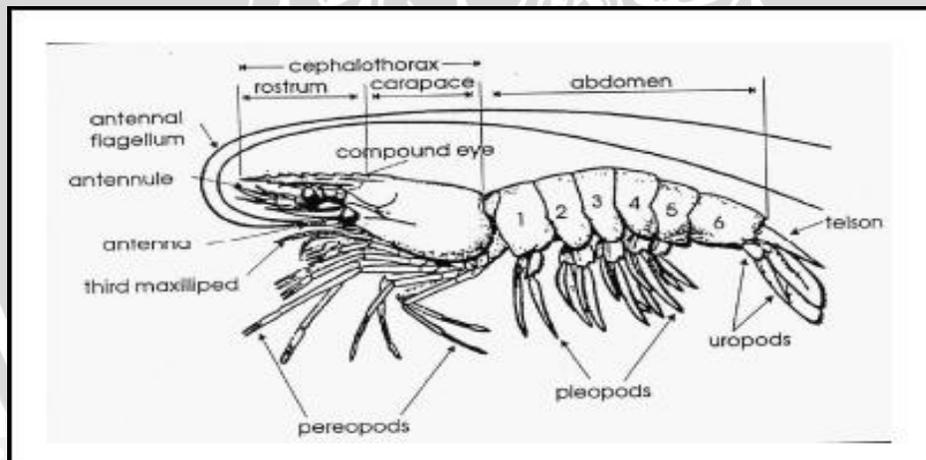
Menurut Haliman dan Dian (2006) dalam Yuniasari (2009), bagian tubuh udang *vannamei* terdiri dari kepala (cephalothorax) dan perut (abdomen) (Gambar 2). Kepala udang *vannamei* terdiri dari antenula, antena, dan maxillae. Kepala udang *vannamei* juga dilengkapi dengan 5 pasang kaki jalan (periopod), dimana kaki jalan

ini terdiri dari 2 pasang maxillae dan 3 pasang maxilliped. Perut udang *vannamei* terdiri dari 6 ruas dan juga terdapat 5 pasang kaki renang (pleopod) serta sepasang uropods yang membentuk kipas bersama-sama telson.

Klasifikasi udang *vannamei* menurut Isabel Perez dan Brian Kensley (1997)

dalam Kordi (2007), adalah :

- Kingdom : Animalia
- Filum : Arthropoda
- Kelas : Malacostraca
- Ordo : Decapoda
- Famili : Penaeidae
- Genus : Litopenaeus
- Spesies : *Litopenaeus vannamei*



Gambar 1. Morfologi Udang *Vannamei* (Primavera, 1994 dalam Risaldi, 2011).

Lima pasang kaki renang (pleopoda) berfungsi untuk berenang dan sepasang sirip ekor (uropoda) yang membantu gerakan melompat dan naik turun. Salah satu ujung sirip ekornya membentuk ujung ekor yang disebut dengan telson. Selain itu, di bawah pangkal ujung ekor terdapat anus untuk membuang kotoran (Amri, 2003).

2.2.2 Siklus Hidup Udang *vannamei* (*Litopenaeus vannamei*)

Dilihat dari siklus hidupnya udang *vannamei* digolongkan dalam spesies katadromus. Udang dewasa hidup di laut terbuka dan udang muda bermigrasi ke arah pantai. Di habitat aslinya, udang matang gonad, kawin dan bertelur berada pada perairan lepas pantai sampai dengan kedalaman sekitar 70 meter pada suhu 26 – 28°C dan salinitas sekitar 35 ppt (Wyban dan Sweeney, 1991).

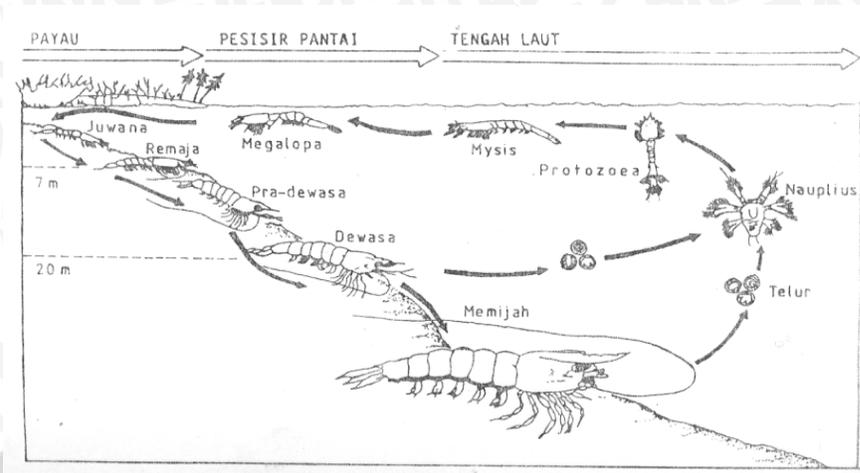
Menurut Susetiono (1987), secara umum siklus hidup udang *vannamei* dibedakan dalam fase di tengah laut dan fase di perairan payau:

a. Fase di tengah laut

Fase ini lebih dikenal dengan fase peneluran. Induk udang dewasa dapat menghasilkan telur sebanyak 248.000 – 811.000 butir dengan diameter 0,29 mm. Telur ini biasanya dilepas pada malam hari. Telur yang telah dibuahi akan menetas dalam waktu 12 jam setelah dilepaskan. Telur menetas menjadi anakan udang yang disebut *nauplius*. Setelah mengalami pergantian kulit berubah menjadi *zoea*. Anakan udang pada stadia *zoea* ini mulai menangkap makanan dari sekelilingnya. Stadia berikutnya adalah stadia *mysis*. Setelah *mysis* mengalami metamorfose maka berubah menjadi post larva. Pada stadia terakhir ini anakan udang yang masih planktonik mulai migrasi ke perairan pantai khususnya ke muara sungai.

b. Fase di perairan payau

Sesampainya post larva di perairan pantai, hidupnya mulai merayap atau menempel ke benda – benda di dasar perairan. Setelah mengalami pergantian kulit beberapa kali, post larva berubah menjadi juwana kemudian udang dewasa yang selanjutnya memijah ke laut. Habitat dan siklus hidup pada udang penaeid dapat dilihat pada Gambar 3 dibawah ini.



Gambar 2. Daur Hidup Udang *vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) (Susetiono, 1987).

Menurut Mudjiman dan Rachmatun (1989), pemilihan terhadap jenis makanan sangat bervariasi tergantung pada tingkatan umur udang yang bersangkutan. Banyak tingkat nauplius masih belum perlu makan, karena masih mempunyai cadangan makanan yang terdapat pada kantung kuning telur. Setelah menjadi zoea mereka mulai mencari makanan sebab persediaan makan telah habis. Makanan zoea terdiri atas plankton nabati seperti diatome dan dinoflagelata. Pada tingkatan mysis mereka mulai suka makan plankton hewani seperti protozoa, rotifera, copepoda. Setelah mencapai tingkat post larva dan juga udang muda (juvenile) mereka makan diatome dan cyanophyceae yang tumbuh di dasar perairan, anak tiram, anak udang-udangan, cacing anelida, dan juga detritus (sisa hewan dan tumbuhan yang membusuk).

2.1.3 Penyakit Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*)

Penyakit ialah segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan suatu fungsi atau struktur dari alat-alat tubuh atau sebagian alat tubuh, baik secara langsung maupun tidak langsung. Pada prinsipnya penyakit yang menyerang udang budidaya tidak datang begitu saja, melainkan melalui hubungan antara 3 faktor yaitu

kondisi lingkungan (kualitas air), kondisi inang (udang) dan adanya jasad pathogen (jasad penyakit), dengan demikian timbulnya serangan penyakit itu merupakan hasil interaksi yang tidak serasi antara lingkungan, inang (udang) dan jasad atau organisme penyakit. Interaksi yang tidak rasional ini menyebabkan stress pada udang, sehingga mekanisme pertahanan diri yang dimilikinya menjadi lemah dan akhirnya mudah diserang penyakit (Kordi, 2006).

2.2 WSSV (*White Spot Syndrome Virus*)

Sejak tahun 1995, penyakit bintik putih pada udang dikenal sebagai WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) telah mewabah dan menyebar meluas ke seluruh sentra-sentra budidaya udang windu di Indonesia. Penyakit ini memiliki tingkat patogenitas tinggi dengan mortalitas dapat mencapai 100% merupakan penghambat utama kegagalan budidaya udang windu di Asia dan Amerika (Mahardika *et al.*, 2004). Virus *White Spot* pertama kali ditemukan pada tahun 1992 pada *Penaeus japonicus* yang dibudidayakan di Taiwan (Chang *et al.* 1998). Virus *white spot* ini sangat patogenik pada *P. indicus* dan *P.monodon* sehingga dapat mengakibatkan mortalitas 100% dalam 2–7 hari bila udang terinfeksi virus tersebut (Buwono, 2012).

Serangan WSSV bersifat akut dan sangat cepat menular ke udang lainnya. Penularan dapat terjadi karena proses kanibalisme dimana udang yang mati dimakan udang yang sehat. Penyebaran WSSV dapat secara vertikal dari induk ke anak dan horizontal dari lingkungan yang tercemar. Oleh karena itu penanganan WSSV harus dilaksanakan secara terpadu dan menyeluruh pada setiap produksi udang, yaitu sejak benur di *hatchery* hingga pembesaran di tambak. Di *hatchery* dapat digunakan *nested-PCR* untuk *screening* induk. Hanya induk yang bebas WSSV saja yang digunakan. Semua induk maupun benur yang positif WSSV

sebaiknya dimusnakan. *Screening* dilakukan kembali pada induk setelah memijah untuk meningkatkan kemungkinan positif WSSV (Prajitno, 2008).

2.3 Gejala Klinis WSSV

Udang yang terserang *white spot syndrome* pada awalnya akan berenang dan berkumpul ke bagian permukaan tambak. Tanda-tanda klinis udang yang terserang WSSV antara lain ada bintik pada karapas, penurunan konsumsi makanan, lethargi, dan pada udang yang terinfeksi secara akut pada tubuhnya akan menunjukkan warna merah muda sampai coklat kemerahan karena perubahan kromatofor kutikula. Target infeksi WSSV dominan pada bagian epithelium kutikula dan sesudah itu menuju jaringan pengikat pada tubuh udang windu lainnya, virus tersebut juga merusak sebagian perut, insang, sel epitel otot, organ limfoid, kelenjar antennal dan *haemocyte*, dan cenderung menginfeksi tetapi dengan jumlah yang kecil pada bagian kelenjar epithelium antennal pada sebagian sel organ limfoid, jaringan syaraf, hepatopankreas dan otot. Organ limfoid merupakan salah satu target organ yang diserang oleh virus *white spot*, organ limfoid berfungsi dalam proses imunitas tubuh udang, hal inilah yang mengakibatkan terjadi penurunan daya tahan tubuh udang secara cepat jika terinfeksi virus *white spot* (Lighter, 1996 *dalam* Firmansyah, 2002).

Udang yang telah terinfeksi WSSV akan mengalami perubahan warna yang disebabkan oleh terjadinya pembesaran kromatofor kutikula. Kromatofor pada udang merupakan salah satu sistem pertahanan tubuh udang infeksi WSSV pada udang akan menyebabkan perubahan pada hepatopankreas dari coklat kemerahan menjadi kuning pucat dan membesar. Selain perubahan warna tubuh, sel udang yang terinfeksi WSSV mengalami kerusakan (nekrosis) pada antena, antenulla, rostum, periopod, pleiopod dan ekor yang kerusakannya mencapai 20% (Priati *et al.*,

2006). Bintik putih yang terlihat pada karapas tersebut merupakan lesi spesifik pada penyakit infeksi *white spot*. Bintik putih yang terjadi merupakan penyimpangan metabolisme kalsium yang mengumpul pada lapisan kutikula udang, umumnya diameter bintik putih berkisar antara 0,5-2,0 mm (Bower, 1996).

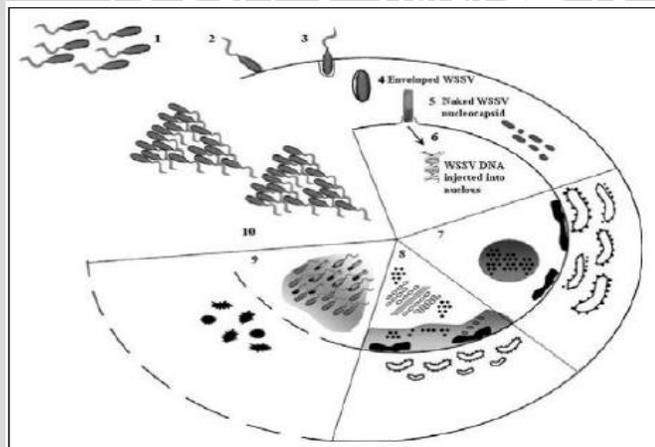
Gejala *white spot* berupa bintik putih pada kulit akan berkembang semakin banyak dan melebar menjadi bercak. Berdasarkan pengamatan secara mikroskopis sel lapisan epidermis dari kulit udang yang terjadi pembengkakan, warna putih tersebut terletak dibawah kulit maupun di dalam. Bila dilihat dengan bantuan mikroskop electron pada bagian inti sel, terjadi hipertrofi (pembengkakan) yang akan makin membesar pada fase perkembangan berikutnya (Lighter, 1996 dalam Firmansyah, 2002).

2.4 Mekanisme Serangan WSSV

Menurut Wang *et al.*, (2000) dalam Kilawati dan Win (2009), mekanisme penyerangan WSSV ke tubuh udang awalnya bersifat intrasitoplasmik, yaitu masuk ke dalam sel inang kemudian pada tingkat serangan yang lebih tinggi DNA virus masuk ke dalam DNA inang dan mengambil alih proses transkripsi dan translasi sesuai proses dalam DNA virus serta dapat terjadi pada beberapa bagian sel.

Virus merupakan ancaman yang serius karena dapat menyebabkan kematian udang *vannamei* secara massal dalam waktu singkat. Virus merupakan patogen obligat yang hanya dapat hidup dan berkembang dalam jaringan inang. Virus mengalami beberapa tahap perkembangan dalam sel inang sebagaimana digambarkan oleh Bonilla *et a.*, (2008) pada Gambar 4; (1) partikel penginfeksi WSSV. (2) Virion umumnya masuk ke dalam sel dengan cara menempel pada permukaan sel yang disebut dengan reseptor. Reseptor biasanya meliputi protein,

polisakarida, atau kompleks lipoprotein-polisakarida. (3) Selanjutnya komponen virus (genom) melakukan penetrasi ke dalam sel inang. (4) Envelop dari WSSV bergabung dengan endosom dan membuka nukleokapsid yang kemudian ditransformasikan ke nukleus. (5) nukleokapsid WSSV yang tanpa penutup menempel pada membrane inti kemudian genom WSSV dimasukkan kedalam nukleus. (6) Genom WSSV memulai replikasi di sitoplasma, mitokondria mulai didegenerasi. (7) Virus melakukan tahap perkembangan awal. Pada saat awal perkembangan virus, mesin biosintesis inang diubah oleh virus untuk kebutuhan biosintesisnya. (8) Pembentukan nukleokapsid. (9) Terjadi penggabungan antara genom dengan bahan pembungkus virus membentuk virus baru. Envelop yang kosong diisi dengan nukleokapsid (10) Tahap dimana virus lepas dari satu sel dengan cara lisis lalu menginfeksi sel – sel lainnya dalam tubuh inang.



Gambar 3. Mekanisme serangan virus ke sel inang (Bonilla *et al.*, 2008)

Replikasi WSSV dapat terjadi pada beberapa bagian sel dengan nukleus sebagai letak utama virus bereplikasi (Wang *et al.*, 2000 dalam Kilawati dan Win, 2009). Akan tetapi pertumbuhan dan kematangan partikel-partikel virus setelah diamati berkali-kali, berada di dalam sitoplasma dari folikel sel. Salah satu organ yang merupakan sasaran dari WSSV adalah usus. Pada sel-sel lapisan usus bagian

lingkar dalam mudah sekali rusak dan ikut aliran pakan dan feces keluar tubuh udang. Dengan demikian feses akan menjadi perantara penularan *white spot* pada udang-udang lain dan menyebabkan infeksi cepat dan akut karena mampu menginfeksi lewat mulut (Priati *et al.*, 2006).

2.5 Ribonuklotida Reduktase

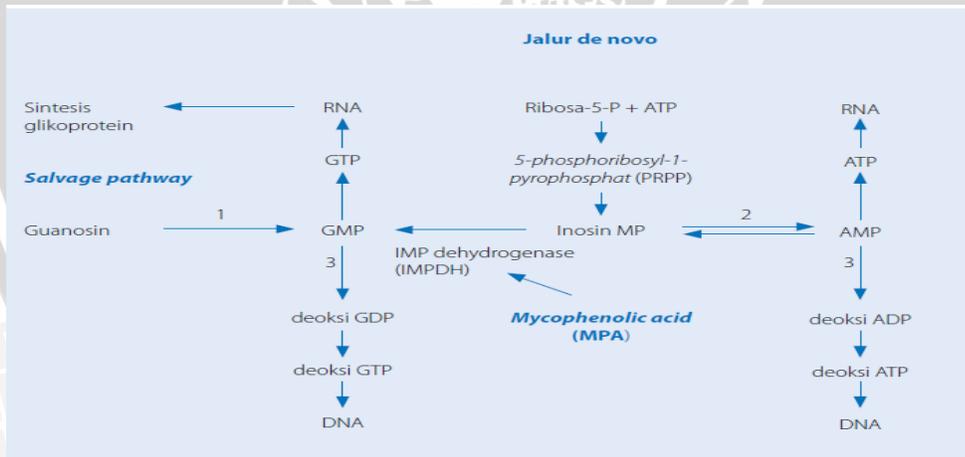
Ribonukleotida Reduktase (RR) adalah enzim yang bertanggung jawab pada metabolisme nukleotida dan mengubah ribonukleotida menjadi deoksiribonukleotida yang esensial untuk replikasi DNA (Jordan dan Reichard, 1998 *dalam* van Hulten *et al.*, 2000). Deoksiribonukleotida merupakan dasar untuk membangun DNA, dan sangat berperan dalam sintesis dan perbaikan DNA. Enzim ini dapat ditemukan pada semua sel yang tumbuh pada semua makhluk hidup (Bergan, 2008).

Genom WSSV mengandung beberapa gen yang menjandakan homolog selular enzim yang terlibat dalam metabolisme asam nukleat. Sampai saat ini enzim yang dikenal adalah Ribonukleotida Reduktase (RR) (Tsuen Lin *et al.*, 2002). viral RR memberikan keuntungan virus dengan memungkinkan mereka untuk bereplikasi pada *non deviding* sel (Chang *et al.*, 1996). Keberadaan dari ribonukleotida reduktase menjelaskan bahwa WSSV menggunakan enzim miliknya sendiri untuk mereduksi 4 ribonukleosida diphospat pada jalur *de novo* dari deoksiribonukleotida. Dalam sintesis DNA diperlukan energi ATP yang diperoleh dari sintesis purin. Enzim ini berperan dalam mengubah ribo-A,-U,-G,-C difosfat untuk memberi deoksinukleotida (van Hulten *et al.*, 2000).

Infeksi dari sel udang dengan WSSV menghasilkan produksi beberapa enzim viral yang berperan pada sintesis DNA dan proses metabolisme. Enzim RR berperan penting dalam infeksi virus pada sel pada kemampuan untuk bereplikasi. Sintesis

DNA tergantung pada pasokan dari deoksiribonukleosida trifosfat (dNTP) yang hanya disediakan dari reduksi ribonukleosid difosfat (NDPs) yang dibantu oleh enzim ribonukleotida reduktase melalui jalur *de novo* (Mohammad, 2014).

Ribonukleotida reduktase berperan penting pada sintesis purin. Sebagaimana diketahui (seperti Gambar 5 dibawah), sintesis purin dalam sel atau jaringan dapat terjadi melalui dua jalur utama, yaitu jalur *denovo* (*de novo pathways*) dan jalur “penyelamatan” (*salvage pathways*). Jalur *de novo* dimulai dengan pembentukan nukleotida purin ribosa fosfat yaitu PRPP yang berasal dari sintesis ribosa-5P dan adenosine trifosfat (*adenosine triphosphate*, ATP). PRPP akan diubah menjadi inosin monofosfat (*inosine monophosphate*, IMP). Enzim ribonukleotida difosfat reduktase akan mengubah ribonukleotida difosfat (ADP dan GDP) menjadi deoksiribonukleotida difosfat (dADP dan dGDP), yang selanjutnya difosforilasi menjadi dATP dan dGTP (Pardede, 2012).



Gambar 4. Sintesis purin (Pardede, 2012).

Keterangan:

1. HGRPTase – PRPP
2. Adenosin deaminase (ADA)
3. Ribonucleotida reduktase

2.6 Imunohistokimia (IHK)

Imunohistokimia adalah suatu teknik untuk mendeteksi keberadaan berbagai macam komponen yang terdapat di dalam sel atau jaringan dengan menggunakan prinsip reaksi ikatan antigen (Ag) dan antibodi (Ab). Teknik imunohistokimia dapat digunakan untuk mempelajari distribusi enzim spesifik serta mendeteksi keberadaan berbagai komponen aktif yang terdapat di dalam sel atau jaringan seperti protein dan karbohidrat (Furuya *et al.*, 2004).

Terdapat dua metode pewarnaan imunohistokimia, yaitu metode langsung (*direct*) dan metode tidak langsung (*indirect*). Metode langsung hanya menggunakan satu antibodi, yaitu antibodi primer yang telah dilabel. Metode tidak langsung menggunakan dua antibodi, yaitu antibodi primer tanpa dilabel dan antibodi sekunder yang telah dilabel (Polak dan Van Noorden, 2003). Metode tidak langsung pun ada beberapa jenis, di antaranya *avidin-biotin methode*, *peroxidase methode*, dan *tyramin amplification methode*. Namun metode yang sering digunakan di laboratorium adalah *peroxidase methode*, karena 100-1000 kali lebih sensitif dibandingkan metode lainnya (Ramos dan Vara, 2005).

2.7 Kualitas Air

2.7.1 Suhu

Suhu air merupakan salah satu faktor pembatas yang mempengaruhi kehidupan udang ditambak. Seringkali didapatkan udang mengalami stres dan bahkan mati disebabkan oleh perubahan suhu yang fluktuatif. Keadaan seperti ini sering terjadi pada tambak dengan kedalaman kurang dari satu meter atau kondisi cuaca yang tidak menentu. Berdasarkan hasil penelitian, terbukti bahwa pada suhu

rendah metabolisme udang menjadi rendah dan secara nyata berpengaruh terhadap penurunan nafsu makan udang (Boyd, 1989 dalam Adiwijaya *et al.*, 2008).

Hampir semua penyakit WSSV di Taiwan meledak pada musim penghujan, musim pancaroba dan musim dingin. Di benua Amerika kematian *P. vannamei* akibat WSSV paling banyak terjadi pada musim dingin. Hal ini dikarenakan faktor suhu dan salinitas. Salinitas dan suhu menurun secara tiba-tiba dan menyebabkan stress pada udang, sehingga udang mudah terserang penyakit seperti WSSV (Lantu, 2010).

Suhu mempengaruhi aktivitas metabolisme organisme, karena penyebaran organisme baik di lautan maupun di perairan tawar di batasi oleh suhu perairan tersebut. Suhu sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan biota air. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu, dapat menekan kehidupan hewan budidaya bahkan menyebabkan kematian bila peningkatan suhu secara ekstrim (Kordi dan Tancung, 2005).

Suhu yang baik bagi pertumbuhan udang *vannamei* adalah 23 – 30 °C. Pengaruh suhu pada *vannamei* tergantung pada ukuran udang. Udang muda (bobot 1 gr) dapat tumbuh dengan baik dalam air dengan suhu hangat (30°C) dan untuk udang yang lebih besar (12 – 18 gr) dapat tumbuh dengan baik pada suhu 27°C. Udang *vannamei* dapat mentolerir suhu antara 15 °C – 33 °C tetapi pada tingkat pertumbuhannya mengalami masalah (Briggs *et al.*, 2004).

2.7.2 Salinitas

Salinitas adalah konsentrasi seluruh larutan garam yang diperoleh dalam air laut. Konsentrasi garam-garam jumlahnya relatif sama dengan dalam setiap contoh air atau air laut, sekalipun pengambilannya dilakukan ditempat yang berbeda.

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. Penyesuaian ini memerlukan banyak energi yang diperoleh dari makanan dan digunakan untuk keperluan tersebut (Kordi dan Tancung, 2005).

Pada salinitas tinggi, hewan air termasuk udang dalam adaptasinya akan kehilangan air melalui difusi keluar dari badannya. Dalam hal ini udang akan banyak minum air dan akan menghindari kelebihan garam dengan mekanisme tertentu. Keseluruhan mekanisme tersebut membutuhkan energi yang sangat banyak sehingga kandungan oksigen di dalam air akan menurun. Dalam usahanya menghindari kelebihan garam di dalam tubuhnya akan terjadi pengerasan eksoskeleton yang dapat mengakibatkan gagal ganti kulit (*moulting*) (Sri dan Anna, 1992). Menurut Adiwijaya *et al.* (2008), salinitas di atas kisaran optimal dapat menyebabkan penambahan berat udang *vannamei* akan terhambat yaitu akan terjadi proses metabolisme yang kurang seimbang dan banyak energi yang hilang untuk mempertahankan hidup akibat penyesuaian terhadap salinitas air media.

Pada salinitas tinggi pertumbuhan udang menjadi lambat karena proses terganggu. Osmoregulasi merupakan proses pengaturan penyeimbang osmosis antara di dalam dan di luar tubuh udang. Apabila salinitas meningkat maka pertumbuhan udang akan melambat karena energi lebih banyak terserap untuk proses osmoregulasi dibandingkan pertumbuhan (Haliman dan Dian, 2006).

Menurut Briggs *et al.* (2004), udang *vannamei* dapat mentolerir kandungan salinitas di perairan antara 0,5 - 45 ppt. Udang *vannamei* tumbuh dengan baik pada salinitas 7 – 34 ppt, namun untuk pertumbuhan secara optimal berkisar antara 10–15 ppt.

2.7.3 pH

Derajat keasaman atau lebih dikenal dengan istilah pH merupakan logaritma dari kepekatan ion – ion H (hidrogen) di dalam suatu cairan. Derajat keasaman atau pH air mempengaruhi tingkat kesuburan perairan karena mempengaruhi kehidupan jasad renik. Pada pH rendah kandungan oksigen terlarut akan berkurang akibatnya konsumsi oksigen menurun sehingga aktivitas pernapasan menjadi naik dan selera makan akan berkurang. Pengaruh langsung dari pH rendah pada udang adalah karapas udang menjadi lembek sehingga tidak dapat membentuk kulit baru. Sedangkan pada pH yang tinggi menyebabkan peningkatan kadar amonia sehingga secara tidak langsung dapat membahayakan udang (Kordi, 2010). Hal tersebut juga disampaikan oleh Ahmad (1991) dalam Adiwijaya *et al.* (2008), pada pH dibawah 4,5 atau diatas 9,0 ikan atau udang akan mudah sakit dan lemah serta nafsu makan menurun bahkan karapas udang cenderung keropos dan berlumut. Apabila nilai pH lebih besar dari 10 akan bersifat lethal bagi ikan maupun udang.

Pedoman derajat keasaman air ditentukan oleh konsentrasi ion H^+ yang digambarkan dengan angka 1 sampai 14. Angka kurang dari 7 menunjukkan bahwa air bersuasana alkalis atau basa. Jika pH kurang dari 5 maka akan menyebabkan terjadinya penggumpalan insang sehingga udang akan mati lemas. Apabila pH lebih besar dari 9 akan mengganggu kehidupan udang dan pertumbuhan makanan alami, bahkan nafsu makan udang menjadi menurun yang berarti pertumbuhan udang menjadi lambat (Soetomo, 2000). pH yang ideal untuk pertumbuhan udang *vannamei* antara 7,5- 8,5 (Haliman dan Adijaya, 2006).

2.7.4 *Disolved Oxygen*

Konsentrasi oksigen terlarut merupakan parameter yang sangat penting dalam menentukan kualitas perairan tambak. Konsentrasi oksigen ditentukan oleh keseimbangan antara produksi dan konsumsi oksigen dalam ekosistem. Oksigen diproduksi oleh komunitas autotrof melalui proses fotosintesis dan dikonsumsi oleh semua organisme melalui pernafasan. Disamping itu, oksigen juga diperlukan untuk perombakan bahan organik dalam ekosistem (Izzati, 2008).

Oksigen dibutuhkan udang untuk bernapas, ketersediaan oksigen di dalam air sangat menentukan kelangsungan hidup dan pertumbuhan udang. Oksigen dapat dimanfaatkan udang adalah oksigen terlarut dalam air. Kandungan oksigen terlarut yang baik untuk kehidupan udang *vannamei* adalah > 3 ppm dan optimal pada kisaran 4 – 8 ppm (mg/l) (Amri dan Kanna, 2008).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2014 sampai dengan bulan Maret 2015, di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan serta Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang.

3.2 Materi Penelitian

Materi penelitian ini adalah mengenai tingkat infeksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada udang *vannamei* dengan lama waktu perendaman virus yang berbeda dilihat dari perubahan morfologi (gejala klinis), mortalitas serta ekspresi enzim RR pada udang *vannamei*. Sedangkan parameter kualitas air yang diukur diantaranya meliputi suhu, salinitas, pH, oksigen terlarut (DO).

3.3 Alat – alat Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Alat dan Bahan saat penelitian

No	Parameter	Alat dan Bahan
1.	Suhu (°C)	Thermometer Hg
2.	Salinitas	Refraktometer, tissue, aquades
3.	DO	DO meter, aquades
4.	pH	pH meter, tissue, aquades
5.	Pemeliharaan udang	Toples, aerator, seser
6.	Pengenceran virus	Sentrifuse, tube, cuvet, WSSV
7.	Ekspresi enzim	CLSM, jar, timbangan analitik, tube, stopwatch, autoclave, botol bensin, pinset, mikropipet, white tip, blue tip Formalin, PBS, BSA, xylol, Etanol absolute, aquades, antibody sekunder (anti-rabbit IgG FITC), antibody primer (RRM2 policlonal antibody), kertas label,

3.4 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen merupakan suatu metode percobaan dengan pemberian berbagai perlakuan tertentu untuk diketahui pengaruhnya. Teknik pengambilan data dilakukan dengan eksperimen langsung dengan pengamatan secara langsung (Hasan, 2002). Perlakuan dari penelitian ini adalah pemberian *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) dengan lama waktu perendaman yang berbeda pada udang *vannamei* (*Litopenaeus vannamei*). Pengaruh yang ingin diketahui adalah tingkat infeksi virus WSSV dilihat dari morfologi, mortalitas serta ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada udang *vannamei*.

Prosedur penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi dua tahap yaitu:

3.4.1 Persiapan penelitian

Air laut yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Pantai Sendang Biru, Malang sebanyak 100 liter. Sebelum digunakan air laut disterilisasi menggunakan kaporit 1ml/l, Natrium tiosulfat 1ml/l dan klorin 2 tetes dan diberi aerasi.

Wadah yang digunakan didesinfeksi dengan menggunakan kalium pemanganat (KMnO_4) 10 ppm selama 24 jam, kemudian semua peralatan yang telah didesinfeksi tersebut dibilas dengan air steril.

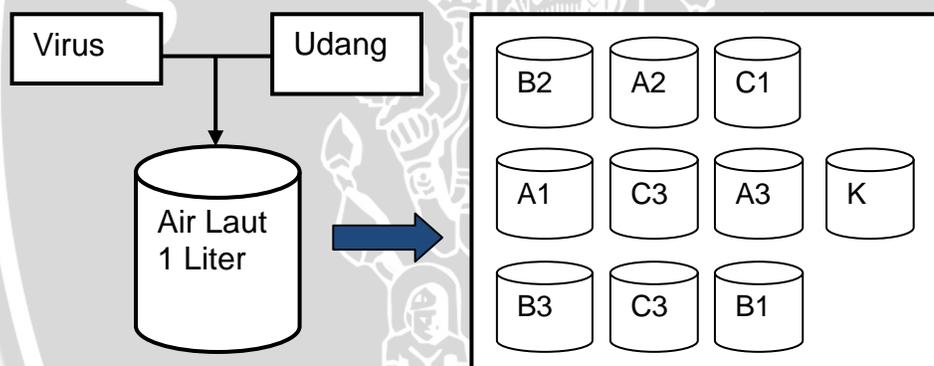
Virus dibuat berdasarkan metode Hameed *et al.*, (1998) dalam Supriatna (2004), pertama sebanyak 1 gram udang yang terinfeksi WSSV digerus dengan mortar sampai halus kemudian disuspensikan dalam 9 ml air laut steril. Selanjutnya hasil suspensi disentrifuse dengan kecepatan 3.000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C , kemudian disentrifuse lagi pada kecepatan 8.000 rpm selama 30 menit pada

suhu 4°C. Supernatan yang dihasilkan kemudian disaring dengan menggunakan kertas filter 0,45 µm dan didapatkan suspensi virus.

Pengenceran virus dilakukan untuk mendapatkan virus dengan konsentrasi 20µg/ml. Larutan virus yang didapatkan diambil 1 ml dan ditambahkan dengan 9ml air laut kemudian dihomogenasikan. Ambil 10 ml larutan virus 2 mg/ml dan ditambahkan 90ml air laut. Ambil 100 ml larutan virus 0,2 mg/ml ditambahkan 900 ml air laut.

3.4.2 Rancangan Eksperimen

Rancangan eksperimen dari penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 5. Rancangan eksperimen

Keterangan :

- K : kontrol
- A : perlakuan perendaman 2 jam
- B : perlakuan perendaman 3 jam
- C : perlakuan perendaman 4 jam
- 1,2,3 : ulangan setiap perlakuan

Langkah-langkah dalam melakukan preparasi persiapan bak percobaan dan media hidup udang *vannamei* adalah sebagai berikut:

- 1) Udang *vannamei* sebanyak 210 ekor dimasukkan ke bak utama yang telah diberi virus WSSV dengan konsentrasi 0,20 mg/L

- 2) Pada bak utama dilakukan perendaman udang terhadap virus WSSV selama 2 jam, 3 jam dan 4 jam
- 3) Setelah perendaman selama 2 jam, udang dari bak utama di ambil sebanyak 63 ekor, kemudian tiap 21 ekor di pindahkan ke kelompok bak percobaan 1 yang berisi 1 liter air laut (terdapat 3 buah bak)
- 4) Setelah tiga jam perendaman, udang dari bak utama di ambil sebanyak 63 ekor kemudian tiap 21 ekor di pindahkan ke kelompok bak percobaan 2 yang berisi 1 liter air laut (terdapat 3 buah bak)
- 5) Setelah 4 jam perendaman, udang dari bak utama di ambil sebanyak 63 ekor kemudian tiap 21 ekor di pindahkan ke kelompok bak percobaan 3 yang berisi 1 liter air laut (terdapat 3 buah bak)
- 6) Penempatan bak dilakukan secara acak dengan menggunakan Tabel random.

Dilakukan pengamatan morfologi udang dan kualitas air (suhu, DO, pH, salinitas) setiap hari yang di lakukan sebanyak 3 kali pada jam 09.00, 14.00, dan 19.00 WIB selama 7 hari

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Penelitian ini terdiri dari parameter utama dan parameter pendukung. Parameter utama dari penelitian ini adalah morfologi, mortalitas serta ekspresi enzim ribonukleotida reduktase. Penentuan perubahan morfologi pada udang *vannamei* dilakukan dengancaraskoring tingkat infeksi WSSV menggunakan kategori sebagai berikut:

Skor 1 = infeksi ringan yang terjadi pada morfologi udang *vannamei* dicirikan belum adanya perubahan morfologi yang nampak selain perubahan tingkah laku

yang tidak normal pada udang serta perubahan warna pada tubuh udang *vannamei*. Menurut Sudha *et al.* dalam Yanto (2006), menyebutkan bahwa bila udang yang terserang WSSV tetapi belum terdapat tanda bintik putih, dikategorikan infeksi ringan (kronis) dimana infeksi yang dialami oleh jaringan rendah sehingga bintik putih dan kemerahan pada udang tidak tampak.

Skor 2 = infeksi sedang yang terjadi yaitu perubahan warna pada bagian tubuh dan ekor menjadi kemerahan serta timbulnya bintik putih antara 1-3 buah pada karapas dan ekor gerimpis. Menurut Wang *et al.* dalam Yanto (2006), pada kasus WSSV adanya bintik atau spot putih pada bagian karapas sudah menjadi tanda umum, dan Mahardika *et al.*, dalam Yanto (2006), menjelaskan pada induk udang warnanya menjadi merah.

Skor 3 = infeksi bersifat berat yang dicirikan bintik putih sudah menyebar ke bagian tubuh udang serta adanya perubahan warna menjadi kemerahan pada ekor dan tubuh udang, selain itu ekor gerimpis, antenna patah dan mata rusak. Ditjen Perikanan Budidaya (2006), menjelaskan infeksi berat (akut), udang mengalami perubahan warna tubuh kemerahan yang lebih tegas warna merah dapat dilihat pada ekor, serta Departemen Kelautan dan Perikanan (2003), memaparkan bila sudah parah bercak putih menyebar sampai ke seluruh bagian tubuh.

Skor 1 (+) untuk infeksi ringan, skor 2 (++) infeksi sedang dan skor 3 (+++) untuk infeksi berat. Kemudian diambil udang yang memiliki tingkat infeksi yang paling berat dari masing-masing perlakuan dan diamati dengan metode imunohistokimia.

3.5.2 Prosedur *Immunofluorescence* dengan *Confocal Laser Scanning Microscope* (CLSM)

a. Preparasi Histologi

Setelah sampel siap kemudian diberi perlakuan lebih lanjut di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya. Metode yang digunakan merupakan modifikasi dari beberapa jurnal penelitian yang dijadikan sebagai acuan.

Prosedur preparasi histologi sebelum pengamatan, berturut-turut sebagai berikut:

1) Fiksasi

- Sampel dimasukkan ke dalam larutan formalin 10%.
- Kemudian didiamkan 24 jam. Setelah itu dipotong membujur dan dimasukkan ke dalam tissu tex.

2) Clearing

- Sampel dimasukkan ke dalam larutan xylol murni I, II, dan III masing-masing selama 45 menit.

3) Dehidrasi

- Sampel dimasukkan berturut-turut ke dalam larutan alkohol 70% I, alkohol 70% II, alkohol 90% I, alkohol 90% II, alkohol absolut I dan II masing-masing selama 45 menit.

4) Infiltrasi

- Sampel dimasukkan ke dalam larutan xylol : parafin (1:1) cair selama 20 menit. Kemudian dimasukkan ke dalam larutan parafin cair I, II, dan III masing-masing selama 20 menit di dalam oven dengan suhu 60°C.

5) *Embedding* (penanaman sampel) dan *Blocking* (pembuatan blok)

- Sampel dimasukkan ke dalam larutan parafin I, parafin II masing-masing selama 45 menit. Kemudian diambil dan diletakkan di atas cetakan *stainlesssteel* yang sudah dipanaskan di atas *hot plate*. Setelah sampel ditata di atas cetakan, parafin cair dituangkan di atas cetakan sampai membenamkan seluruh potongan sampel.

6) *Sectioning* (pengirisan) dan peletakan pada gelas objek

- Blok dipasang di dalam *microtom* yang sudah disetel dengan ketebalan 5-6 mikron. Pemotongan dilakukan secara pelan dan konstan, bila irisan sudah mencapai sampel. Kemudian dipindahkan irisan ke dalam baskom yang berisi air dingin dan ditempelkan pada *object glass* yang telah diberi kode. Lalu dicelupkan ke dalam *water bath* agar sampel mengembang. Setelah itu dikeringkan di atas *hot plate* dengan suhu 28°C.

7) *Affixing*

- Direkatkan dengan menggunakan albumin dan gliserin dengan perbandingan 1:1 dan disimpan dalam kotak sediaan selama 1 hari.

b. Imunohistokimia

Perlakuan ini meliputi penghilangan parafin dan pewarnaan dengan imunofluoresen. Adapun urutan kerjanya sebagai berikut:

1) *Deparafinisasi*

- Preparat dimasukkan berturut-turut ke dalam larutan xylol 1, xylol 2, etanol absolute 1, etanol absolute 2, etanol 90%, etanol 70% masing-masing selama 5 menit untuk menghilangkan parafin.

2) *Staining* (pewarnaan antibodi)

- Preparat histologi yang sudah hilang parafinnya diproses untuk pewarnaan imunofluoresensi dengan dicuci 3x dalam PBST (*Phosphate Buffer Saline +Twin*). Kemudian direndam dalam bufer sitrat (pH 6) pada suhu tinggi selama 15 menit dan dioven pada suhu 120⁰C. Setelah itu preparat dikeluarkan dari oven dan ditunggu beberapa saat. Lalu dicuci 3x dalam PBST (masing-masing 5 menit). Setelah itu preparat diblok dengan BSA 2% dalam PBS (pH 7,4) selama 60 menit. Dicuci kembali 3x dalam PBS (masing-masing 8 menit). Lalu diinkubasi dalam rabbit anti-RRM2 polyclonal antibodi dengan konsentrasi (1:2000) sebagai antibodi primer selama 60 menit. Preparat dicuci 3x dalam PBS (masing-masing 8 menit) dan diinkubasi dalam antibodi sekunder anti-rabbit IgG FITC dengan konsentrasi (1:1500) dalam BSA (*Bovine Serum Albumin*) 2% selama 60 menit pada suhu ruang dalam keadaan gelap. Setelah itu preparat dicuci kembali dengan PBS (3x8 menit) dan dikeringkan (Jelks *et al.*, 2007; Giddabasappa *et al.*, 2010; Barouk *et al.*, 2011).

c. Pencitraan dengan Mikroskop Confocal

Preparat kemudian diamati dengan menggunakan perbesaran 400x. Gambar diambil dalam bentuk *fluorescein isothiocyanate* (FITC) berupa pendaran berwarna hijau

3.5.3 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang digunakan adalah pengukuran kualitas air yang meliputi salinitas, suhu, oksigen terlarut (DO), pH (derajat keasaman). Prosedur pengukuran kualitas air dapat dilihat sebagai berikut :

a. Suhu (Subarijanti, 1990)

Prosedur pengukuran suhu perairan dengan menggunakan thermometer adalah sebagai berikut:

- 1) Menyiapkan thermometer Hg
- 2) Memasukkan thermometer ke dalam perairan dengan membelakangi matahari dan thermometer tidak menyentuh tangan
- 3) Menunggu selama ± 2 menit
- 4) Membaca skala thermometer pada saat thermometer masih berada di perairan
- 5) Mencatat hasil pengukuran dalam skala $^{\circ}\text{C}$

b. pH (Balai Penelitian Tanah, 2006)

Nilai pH perairan dapat diukur secara langsung dengan pH meter menggunakan electrode gelas kombinasi. Cara kerjanya yaitu sebagai berikut:

- 1) Mengatur tombol suhu pada alat dan disesuaikan dengan suhu larutan yang diperiksa
- 2) Mengkalibrasi pH-meter dengan larutan penyangga pH 7 dan pH 4,01.
- 3) Membilas electrode dengan air bebas ion kemudian keringkan dengan tissue sebelum pengukuran setiap sampel
- 4) Memasukkan electrode ke dalam sampel (kira-kira 25 ml)
- 5) Tunggu hingga angka pada pH-meter berhenti kemudian catat hasilnya

c. Oksigen Terlarut (DO) (Suprpto, 2011)

Pengukuran oksigen terlarut (DO) di perairan menggunakan DO meter.

Berikut ini adalah prosedur pengukuran oksigen terlarut yaitu:

- 1) Menekan tombol power dan dibiarkan $\pm 3 - 5$ menit sampai dalam keadaan stabil. Menekan tombol bertanda panah ke atas dan ke bawah secara bersamaan kemudian dilepaskan.
- 2) Menekan mode sampai terbaca % oksigen
- 3) Menaikkan atau menurunkan nilai altitude dengan menggunakan tombol tanda panah ke atas dan ke bawah sampai sesuai dengan nilai altitude dan tekan enter
- 4) DO meter siap digunakan, memasukkan probe ke perairan
- 5) Menyalakan DO meter, ditunggu sampai angka stabil dimana angka atas menunjukkan nilai DO (oksigen terlarut) dalam mg/l dan angka dibawah menunjukkan suhu dalam $^{\circ}\text{C}$
- 6) Mencatat hasilnya

d. Salinitas (Hariyadi *et al*, 1992)

Pengukuran salinitas perairan dilakukan dengan menggunakan refraktometer dengan cara sebagai berikut:

- 1) Menyiapkan refraktometer
- 2) Mengangkat penutup kaca prisma yg ada di refraktometer
- 3) Mengkalibrasi dengan aquadest
- 4) Membersihkan dengan tissue kering secara searah.
- 5) Meneteskan 1 sampai 2 tetes air sampel yang akan diukur salinitasnya.
- 6) Menutup kembali dengan hati-hati agar tidak terjadi gelembung udara.
- 7) Mengarahkannya ke sumber cahaya.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kondisi Udang *Vannamei* Selama Perlakuan

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan, diperoleh perbedaan tingkah laku pasca infeksi virus dengan perlakuan perbedaan lama perendaman WSSV yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Perubahan tingkah laku udang *vannamei* pasca infeksi virus *white spot*

No	Waktu Perendaman	Tingkah Laku
1	0 jam (Kontrol)	<ul style="list-style-type: none"> • Udang aktif bergerak pada malam hari • Cepat merespon gangguan bergerak aktif • Nafsu makan normal • Terlihat segar dan utuh
2	2 Jam	<ul style="list-style-type: none"> • Tidak aktif bergerak (lambat) berdiam diri didasar kolam dan respon sangat rendah • Pakan yang diberikan masih utuh • Tubuh, ekor, kaki jalan, kaki renang berwarna kemerahan • Udang berenang ke permukaan dan sangat lemah kemudian tergelepar ke dasar kolam • Udang dalam keadaan lemas
3	3 Jam	<ul style="list-style-type: none"> • Gerakan lambat • Tidak aktif bergerak (lambat) berdiam diri didasar kolam dan respon sangat rendah • Pakan yang diberikan masih utuh • Tubuh, ekor, kaki jalan, kaki renang berwarna kemerahan
4	4 Jam	<ul style="list-style-type: none"> • Gerakan lambat • Tidak aktif bergerak (lambat) berdiam diri didasar kolam dan respon sangat rendah • Pakan yang diberikan masih utuh • Tubuh, ekor, kaki jalan, kaki renang berwarna kemerahan

Berdasarkan pengamatan tingkah laku diperoleh perubahan pasca infeksi WSSV yaitu udang yang terinfeksi WSSV gerakannya lambat, respon terhadap pakan kecil, sering berdiam diri di dasar, lemah. Hal ini seperti yang disebutkan oleh

Wahyuningrum *et al.* (2006), bahwa gejala klinis yang timbul pada udang yang terinfeksi WSSV antara lain penurunan konsumsi pakan, lemah, kutikula lepas, berenang dalam kondisi tidak stabil, warna tubuh kemerahan dan bintik putih di karapas.

Infeksi dari WSSV menyebabkan perubahan metabolisme tubuh serta penurunan fungsi dari antenna dan antenula. Hal ini menyebabkan respon udang terhadap makanan menurun sehingga energi yang masuk ke dalam tubuh menjadi kurang, dan hal tersebut mempengaruhi aktivitas renang udang yang menjadi pasif. Tubuh udang membutuhkan banyak energi untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dalam melawan serangan infeksi WSSV, akibatnya udang semakin rentan terhadap penyakit (Priatni *et al.*, 2006).

Perubahan gejala klinis dengan lama perendaman yang berbeda menimbulkan gejala perubahan yang sama sehingga dikatakan tidak ada perubahan tingkah laku dan morfologi dari perlakuan perendaman yang dilakukan.

4.2 Tingkat Infeksi Udang *Vannamei* Pasca Infeksi WSSV Dengan Skoring

Pengamatan morfologi udang *vannamei* dilakukan selama penelitian berjalan, namun untuk memperoleh data yang kuantitatif perlu dilakukan pemberian skor terhadap data yang telah terkumpul yang biasa disebut dengan teknik skoring. Penentuan perubahan morfologi pada udang *vannamei* dilakukan dengan cara skoring tingkat infeksi WSSV menggunakan kategori sebagai berikut:

Skor 1 = infeksi ringan yang terjadi pada morfologi udang *vannamei* dicirikan belum adanya perubahan morfologi yang nampak selain perubahan tingkah laku yang tidak normal pada udang serta perubahan warna pada tubuh udang *vannamei*

Skor 2 = infeksi sedang yang terjadi yaitu perubahan warna pada bagian tubuh dan ekor menjadi kemerahan serta timbulnya bintik putih antara 1-3 buah pada karapas dan ekor gerimpis.

Skor 3 = infeksi bersifat berat yang dicirikan bintik putih sudah menyebar ke bagian tubuh udang serta adanya perubahan warna menjadi kemerahan pada ekor dan tubuh udang, selain itu ekor gerimpis, antenna patah dan mata rusak.

Hasil dari pengamatan morfologi udang *vannamei* selama penelitian disajikan dalam Tabel 3 berikut ini:

Tabel 3. Hasil skoring berdasarkan pengamatan morfologi paska infeksi

No	Perlakuan	Ulangan	Jumlah udang yang terinfeksi WSSV		
			1	2	3
1	2 jam	1	10	6	5
		2	8	8	5
		3	10	7	4
	Rata-rata		9	7	5
2	3 jam	1	7	8	6
		2	7	7	7
		3	8	9	4
	Rata-rata		7	8	6
3	4 jam	1	8	3	10
		2	4	8	9
		3	3	9	9
	Rata-rata		5	7	9

Rata-rata jumlah udang terbanyak dengan infeksi ringan (skoring 1) terjadi pada udang *vannamei* dengan perendaman selama 2 jam sebanyak 9. infeksi sedang (skoring 2) rata-rata terbanyak pada udang *vannamei* dengan lama perendaman 3 jam yaitu sebanyak 9 ekor dan infeksi berat (skoring 3) rata-rata terbanyak pada lama perendaman 4 jam dengan jumlah 9 ekor.

4.3 Kerentanan Udang *Vannamei* Terhadap Infeksi WSSV

Pengamatan kematian udang *vannamei* dilakukan pada hari ke-7 setelah pemberian infeksi WSSV. Persentase kematian udang *vannamei* didapatkan dari jumlah kematian dibagi dengan total awal udang kemudian dikali dengan 100%. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, diperoleh jumlah kematian udang *vannamei* pasca infeksi WSSV sebagai berikut:

Tabel 4. Persentase kematian udang *vannamei* pasca infeksi

No	Perlakuan	Ulangan	Total individu	ε kematian	Persentase kematian (%)
1	AP (2 jam)	1	21	4	19%
		2	21	3	14%
		3	21	4	19%
2	BP (3 jam)	1	21	7	33%
		2	21	8	38%
		3	21	6	29%
3	CP (4 jam)	1	21	11	52%
		2	21	10	48%
		3	21	12	57%

Berdasarkan Tabel 4 dapat diketahui bahwa persentase kematian tertinggi berada pada perlakuan perendaman 4 jam yaitu dengan rata-rata mortalitas sebesar 52%. Sedangkan terendah pada perendaman WSSV selama 2 jam yaitu berkisar antara 14-19%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama perendaman, maka jumlah kematian udang *vannamei* juga semakin meningkat.

Tabel 5. Hasil analisis sidik ragam mortalitas udang *vannamei* pasca infeksi

SK	db	JK	KT	F hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	198.25	66.08	113.29	4,07	7,39
Galat	8	4.67	0.58			
Total	11	202.92				

Hasil analisis sidik ragam pada mortalitas udang vananmei pasca infeksi WSSV menunjukkan bahwa F hitung $>$ F Tabel sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan lama perendaman yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat mortalitas udang *vannamei*.

Rahmawati (2002), menyebutkan bahwa semakin lama perendaman, kontak virus dengan udang semakin lama sehingga kemungkinan udang terinfeksi lebih besar dan WSSV menjadi lebih mengenal organ target yang akan diserang. Penginfeksi virus pada udang menyebabkan adanya penurunan daya tahan tubuh udang. Menurut Firmansyah (2002), salah satu target yang diserang *white spot* adalah organ limfoid yang berfungsi dalam proses imunitas tubuh udang. Hal ini yang menyebabkan terjadi penurunan daya tahan tubuh udang secara cepat. Selain itu menurut Bower (1996), jaringan insang juga merupakan salah satu target *white spot* yang menyebabkan fungsi insang terganggu dan mengalami kesulitan dalam pengambilan oksigen.

Menurut Wang *et al.* (1997), serangan penyakit WSSV ini menyerang sel-sel pada organ-organ vital seperti hepatopankreas, insang, usus, lambung dan juga sistem syaraf. Adanya kerusakan sel pada sistem syaraf tersebut menyebabkan adanya gangguan sistem syaraf udang yang mempengaruhi kinerja dari syaraf itu, sehingga udang yang terserang penyakit WSSV ini akan mengalami perubahan tingkah laku diantaranya respon udang *vannamei* terhadap rangsangan yang ada disekitarnya sangat rendah, jika ada cahaya, sentuhan atau bayangan sistem syaraf pada udang tidak segera merespon rangsangan tersebut untuk kemudian memerintahkan anggota tubuhnya menanggapi rangsangan yang ada.

Hal ini diperjelas oleh Departemen Kelautan dan Perikanan (2004), bahwa penyakit WSSV adalah virus SEMBV (*Systemic Ectodermal and Mesodermal Baculo Virus*). Virus ini merupakan virus berbahan genetic DNA (*Dioxyribonucleic Acid*), berbentuk batang (*bacilliform*). Organ yang terinfeksi virus adalah kaki renang, kaki jalan, insang, lambung, otot abdomen, gonad, intestinum, karapas, dan jantung sehingga menimbulkan infeksi yang sistematik (menyeluruh).

Pada akhir pengamatan, jumlah udang yang mati tidak mencapai 100%. Hal ini berbeda dengan yang dikemukakan Lightner (1996), di atas dimana kematian mencapai 100% dalam 3-7 hari setelah penularan. Dengan cara perendaman, virus lebih lama masuk ke dalam tubuh udang untuk mencapai target organ. Selain itu, kondisi lingkungan yang terkontrol membuat daya tahan tubuh udang tidak cepat melemah. Kualitas air (suhu, pH, DO, dan salinitas) yang terukur selama perlakuan berada pada kisaran yang sesuai dengan pertumbuhan udang yaitu suhu berkisar antara 23,1°C -27 °C, salinitas 19-25 ppt, pH 7,1-8,2, dan DO sebesar 4,56-8,6 mg/l.

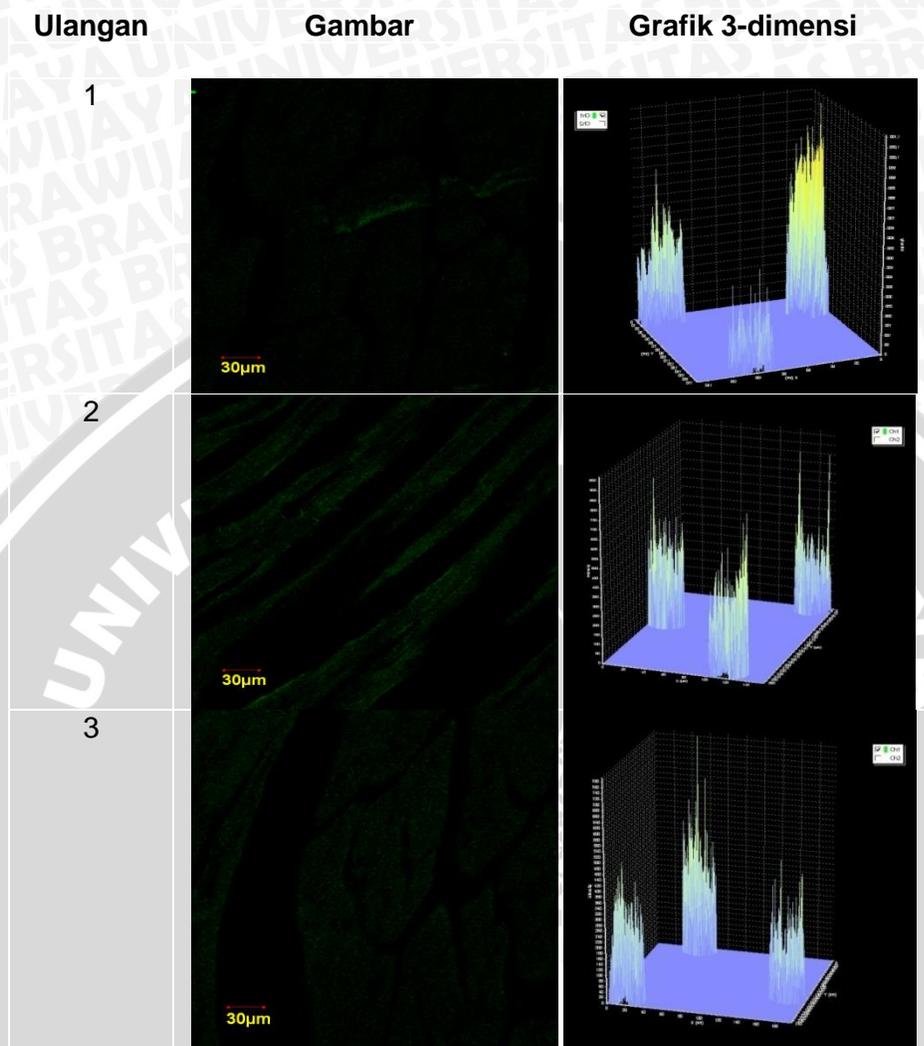
4.4 Pengamatan Ekspresi Enzim Ribonukleotida Reduktase

Pengamatan terhadap ekspresi enzim ribonukleotida reduktase ini dilakukan dengan metode imunohistokimia (IHK) yang diamati dengan bantuan *Confocal Laser Scanning Mikroskop* (CLSM). Imunohistokimia (IHK) merupakan teknik untuk mengidentifikasi komponen jaringan dengan interaksi (pengikatan) antigen target dengan antibodi yang spesifik. Antibodi merupakan suatu imunoglobulin yang dihasilkan oleh sistem imun dalam merespon kehadiran suatu antigen tertentu. Sedangkan antigen merupakan suatu zat atau substansi yang dapat merangsang sistem imun dan dapat bereaksi secara spesifik dengan antibodi (Imunohistokimia, 2012).

Sampel yang dianalisa pada penelitian ini adalah sampel yang berupa otot (dari daging) udang *vannamei* dari udang uji yang memiliki status infeksi tertinggi pada perlakuan. Diambil masing-masing satu sampel dari setiap kelompok perlakuan yang kemudian dijadikan sebagai preparat histologi. Proses staining dilakukan setelah preparatnya dideparafinasi. Antibodi yang digunakan pada pengamatan ini adalah antibodi primer rabet anti-RRM2 policlonal dan antibodi sekunder anti-rabbit IgG FITC dengan warna pendaran hijau. Antibodi primer bertugas mengenali antigen yang diidentifikasi pada jaringan, sedangkan antibodi sekunder akan berkaitan dengan antibodi primer. Pelabelan antibodi sekunder diikuti dengan penambahan substrat berupa kromogen yang dapat membentuk senyawa berwarna bila bereaksi dengan senyawa tertentu. Pelabelan adalah pemberian bahan-bahan untuk dapat mewarnai preparat. Pewarnaan ini bertujuan agar dapat diamati pada CLSM. Prinsip kerja alat ini pada dasarnya menggunakan sumber cahaya sinar laser untuk memindai spesimen yang telah diwarnai kemudian dipantulkan menuju satu celah sehingga pencitraan lebih fokus, kemudian pengamatan dilakukan menggunakan Mikroskop *Confocal*.

4.4.1 Ekspresi Ribonukleotida Reduktase pada Udang *Vannamei* Kontrol

Pengamatan enzim ribonukleotida reduktase ini diambil dari organ daging (otot) udang *vannamei* pada bagian abdomen yang diambil secara melintang. Udang *vannamei* kontrol merupakan udang *vannamei* tanpa pemberian penginfeksi WSSV. Pengamatan ekspresi enzim ribonukleotida reduktase dilakukan secara *in vitro*. Hasil yang didapat dari pengamatan ekspresi enzim pada udang *vannamei* kontrol berupa Gambar ekspresi enzim serta grafik 3 dimensi dari intensitas ekspresi enzimnya (Gambar 6).



Gambar 6. Hasil pengamatan ekspresi enzim RR pada otot udang *vannamei* dengan *Confocal Laser Scanning Microscope* (CLSM) dengan pewarna FITC perbesaran 400x dengan skala 30 µm. Grafik 3-dimensi diambil dari 3 titik pada Gambarfluorosensi FITC dengan software Olympus Fluoview versi 1,7 A.

Keterangan: 1,2,3 merupakan ulangan (series) yang diambil dari udang *vannamei* yang sama

Pendaran warna hijau menunjukkan adanya enzim ribonukleotida reduktase pada sampel. Pada bagian yang gelap atau tidak menunjukkan pendaran warna berarti bagian tersebut tidak ada enzim ribonukleotida reduktase yang tereksresi. Gambar diatas terlihat bahwa enzim ribonukleotida reduktase yang tereksresi

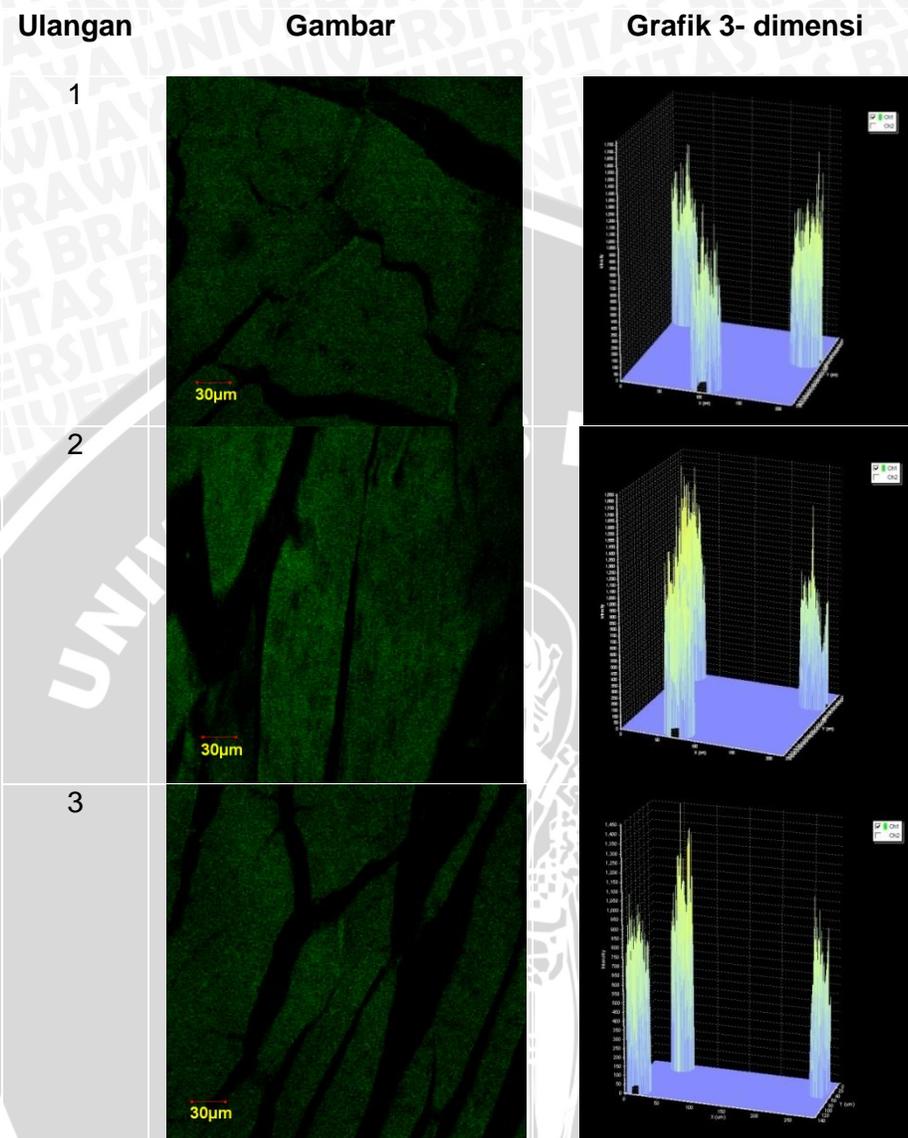
sedikit sehingga dapat dikatakan pada otot udang *vannamei* kontrol replikasi dari WSSV rendah.

Pada grafik 3 dimensi tersebut terdapat 3 warna yang menunjukkan intensitas, yaitu warna biru menunjukkan intensitas yang rendah, warna hijau menunjukkan intensitas sedang dan warna kuning menunjukkan intensitas tinggi. Pada grafik 3-dimensi didapatkan grafik berwarna hijau yang berarti ekspresi enzim RR terekspresi dengan intensitas sedang.

Masing-masing preparat diambil 3 area yang mewakili pendaran warna *fluoresensi* berbeda yang kemudian dimasukkan ke dalam program “*Region Measurement*” berdasarkan intensitas warnanya, akan menghasilkan intensitas berupa angka dalam file excel. Intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase kontrol didapatkan sebesar 148,41 unit/ μm pada series 1, 148,561 unit/ μm pada series 2 dan 117,686 unit/ μm pada series 3.

4.4.2 Ekspresi Ribonukleotida Reduktase dengan Perlakuan Perendaman 2 Jam

Selama pemeliharaan didapatkan ada udang yang mati dan ada udang yang masih hidup. Udang *vannamei* yang mati dan yang hidup kemudian diambil yang memiliki tingkat infeksi yang paling berat. Diambil bagian otot abdomen secara melintang untuk diamati ekspresi enzim ribonukleotida reduktasenya secara *in vitro*. Perlakuan pertama yang diberikan yaitu lama perendaman selama 2 jam. Hasil pengamatan ekspresi enzim ribonukleotida reduktase dengan lama perendaman 2 jam pada otot abdomen udang *vannamei* yang hidup disajikan pada Gambar 7.

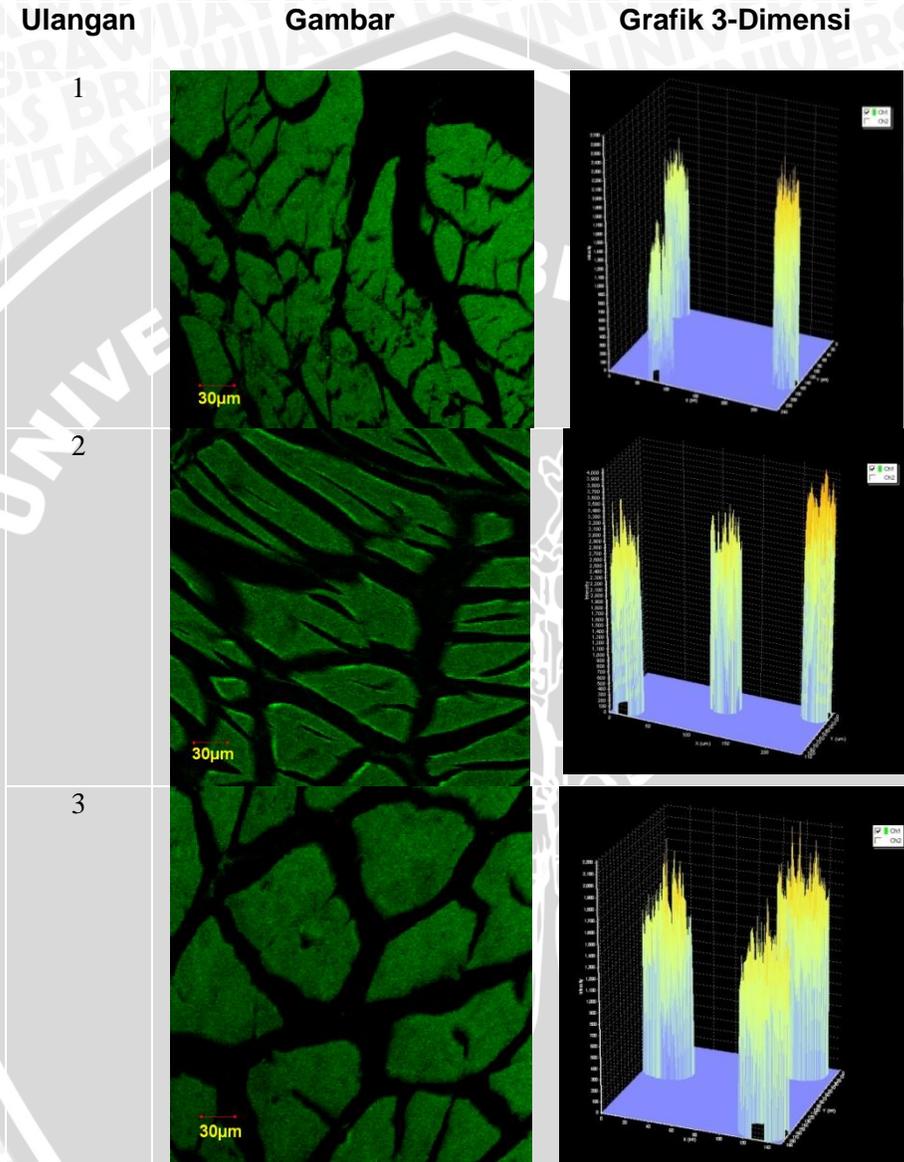


Gambar 7. Hasil pengamatan ekspresi enzim RR pada otot udang *vannamei* dengan *Confocal Laser Scanning Microscope* (CLSM) dengan pewarna FITC perbesaran 400x dengan skala 30 μm . Grafik 3-dimensi diambil dari 3 titik pada Gambarfluorosensi FITC dengan software Olympus Fluoview versi 1,7 A.

Keterangan: 1,2,3 merupakan ulangan (series) yang diambil dari udang *vannamei* yang sama

Hasil pengamatan ekspresi enzim ribonukleotida reduktase dengan lama perendaman 2 jam pada otot abdomen udang *vannamei* yang mati secara in vitro dengan penampang melintang (Gambar 8). Ada pendaran berwarna hijau pada hasil pengamatan otot dengan perlakuan perendaman selama 2 jam yang telah

diberi antibodi primer dan antibodi sekunder (berlabel). Pendaran warna hijau menunjukkan enzim ribonukleotida reduktasenya terekspresi



Gambar 8. Hasil pengamatan ekspresi enzim RR pada otot udang *vannamei* dengan *Confocal Laser Scanning Microscope* (CLSM) dengan pewarna FITC perbesaran 400x dengan skala 30 µm. Grafik 3-dimensi diambil dari 3 titik pada Gambarfluorosensi FITC dengan software Olympus Fluoview versi 1,7 A

Keterangan: 1,2,3 merupakan ulangan (series) yang diambil dari udang *vannamei* yang sama

Gambar 7 dan 8 merupakan gambar hasil pengamatan ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada udang *vannamei* dengan lama perendaman WSSV 2 jam. Gambar 7 adalah udang *vannamei* dengan status hidup sedangkan Gambar 8 merupakan udang *vannamei* dengan status mati. Pada udang *vannamei* dengan status hidup (Gambar 8) pendaran hijau dalam gambar tidak begitu terang artinya sedikit ekspresi enzim ribonukleotida reduktase yang terekspresi. Sedangkan pada udang *vannamei* dengan status mati (Gambar 8) memiliki warna hijau yang terang dalam semua ulangan, artinya enzim ribonukleotida reduktase yang terekspresi tinggi.

Pada grafik 3 dimensi tersebut terdapat 3 warna yang menunjukkan intensitas, yaitu warna biru (intensitas yang rendah), warna hijau (intensitas sedang) dan warna kuning (intensitas tinggi). Pada Gambar 7 grafik 3-dimensi menunjukkan warna kuning dan hijau. Intensitas enzim RR yang terekspresi sedang menuju ke tinggi. Pada Gambar 8 menunjukkan warna kuning dari semua ulangan sehingga dapat dikatakan enzim ribonukleotida reduktase yang terekspresi tinggi.

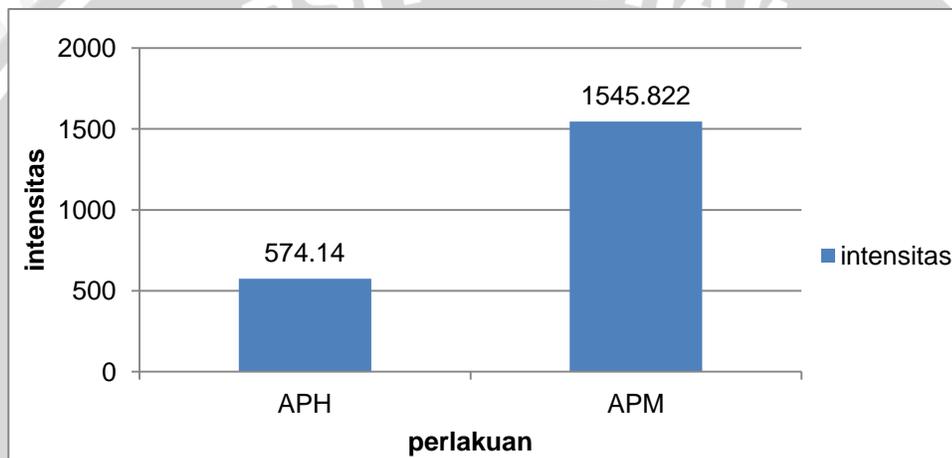
Intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada udang *vannamei* dengan lama perendaman 2 jam ditabulasikan pada Tabel 6 berikut:

Tabel 6. Intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase

No	Perlakuan	Intensitas (unit/ μm)	Rata-rata (unit/ μm)	Standar deviasi
1	APH 1	556,171	574,14	102,4503
2	APH 2	684,386		
3	APH 3	481,863		
4	APM 1	1206,223	1545,822	595,971
5	APM 2	2233,971		
6	APM 3	1197,273		

Keterangan: AP = Perlakuan perendaman 2 jam
 H = Hidup
 B = Mati
 1,2,3 merupakan ulangan

Rata-rata intensitas yang lebih tinggi didapatkan pada perlakuan perendaman 2 jam pada udang *vannamei* dengan status mati yaitu sebesar $1545,822 \pm 595,971$ unit/ μm dan yang lebih rendah pada perlakuan perendaman 2 jam dengan status udang *vannamei* hidup dengan intensitas sebesar $574,14 \pm 102,4503$ unit/ μm . Grafik rata-rata intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada perlakuan perendaman 2 jam pada udang *vannamei* disajikan pada Gambar 10.

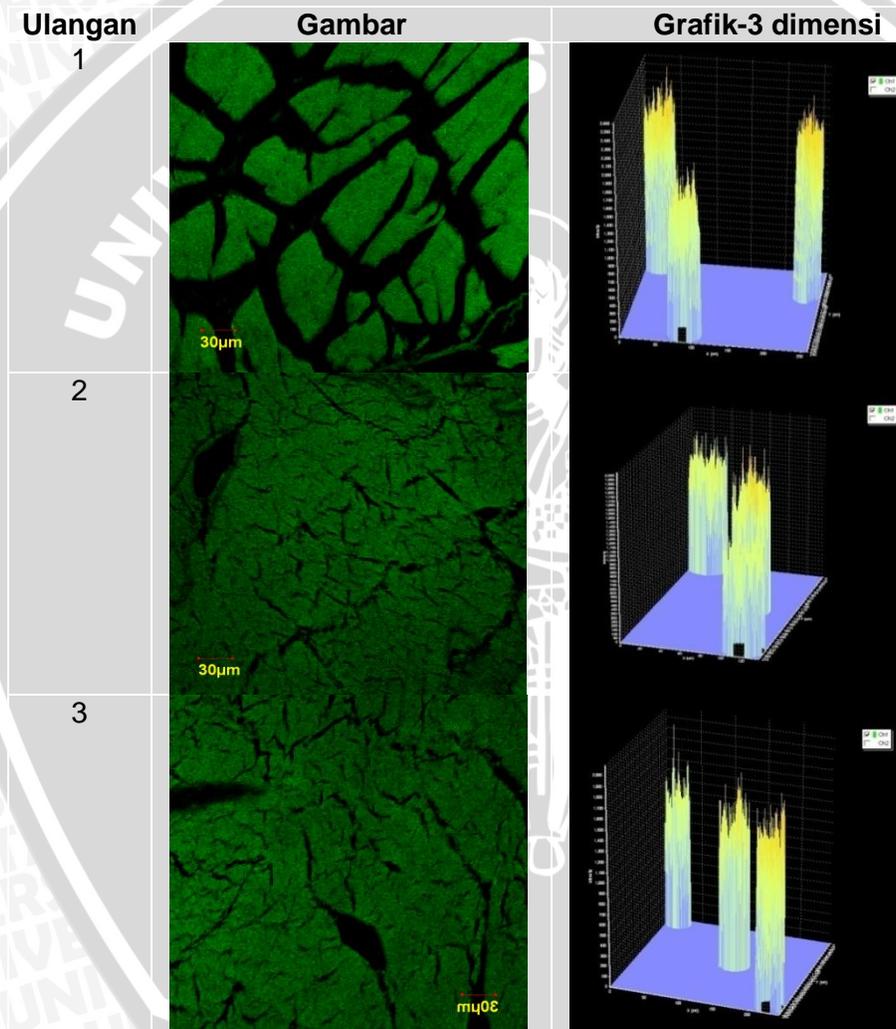


Gambar 9. Rata-rata intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada udang *vannamei* dengan perlakuan lama perendaman 2 jam

Dari Gambar grafik diatas terlihat jelas bahwa pada perlakuan lama perendaman 2 jam, udang *vannamei* dengan status mati memiliki nilai intensitas ekspresi enzim yang lebih tinggi dibandingkan dengan udang *vannamei* dengan status hidup. Hal ini menunjukkan bahwa pada udang *vannamei* yang mati memiliki tingkat infeksi yang lebih berat daripada pada udang *vannamei* yang hidup.

4.4.3 Ekspresi Ribonukleotida Reduktase dengan Perlakuan Perendaman 3 Jam

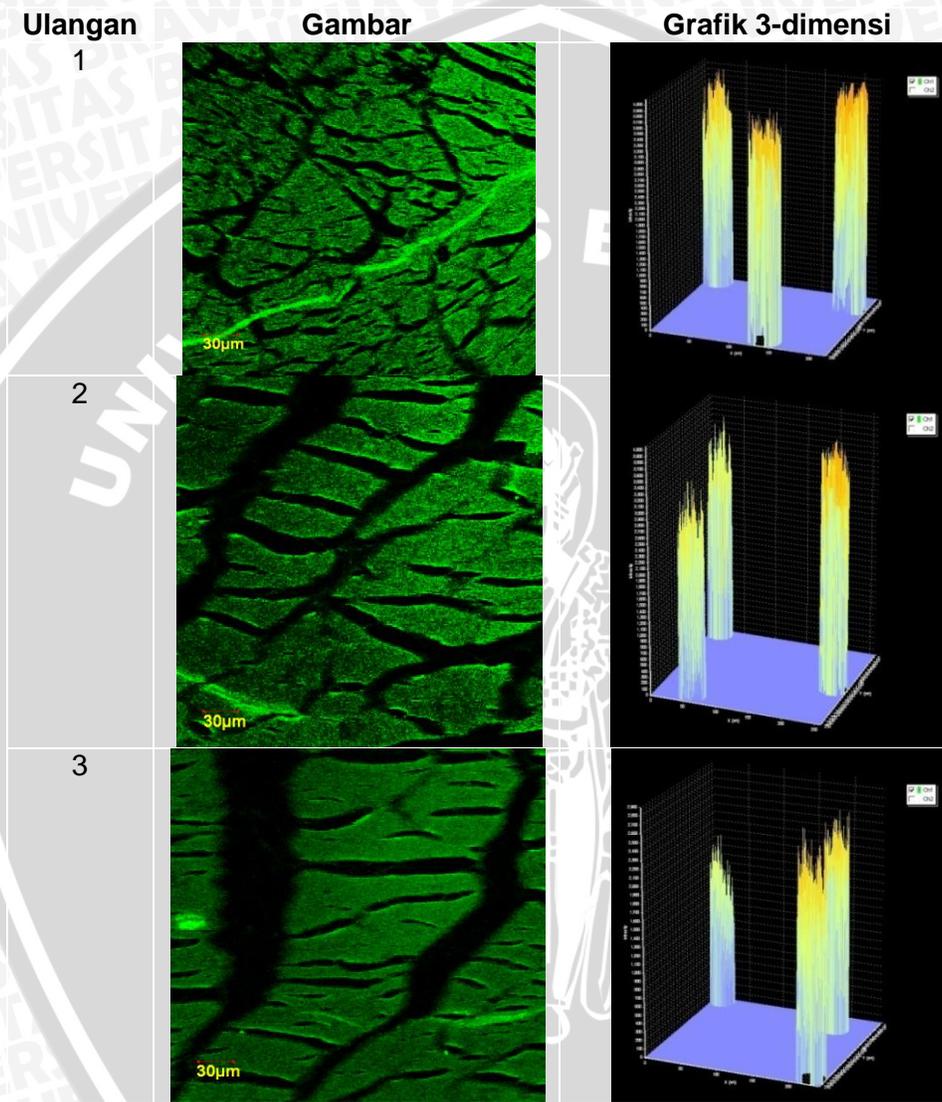
Hasil pengamatan ekspresi enzim ribonukleotida reduktase dengan lama perendaman 3 jam pada otot abdomen udang *vannamei* yang hidup secara in vitro dengan penampang melintang (Gambar 10). Pendaran warna hijau menunjukkan enzim riboneklotida reduktasenya terekspresi.



Gambar 10. Hasil pengamatan ekspresi enzim RR pada otot udang *vannamei* dengan *Confocal Laser Scanning Microscope* (CLSM) dengan pewarna FITC perbesaran 400x dengan skala 30 µm. Grafik 3-dimensi diambil dari 3 titik pada Gambarfluorosensi FITC dengan software Olympus Fluoview versi 1,7 A

Keterangan: 1,2,3 merupakan ulangan (series) yang diambil dari udang *vannamei* yang sama

Hasil pengamatan ekspresi enzim ribonukleotida reduktase dengan lama perendaman 3 jam pada otot abdomen udang *vannamei* yang mati secara in vitro dengan penampang melintang (Gambar 11).



Gambar 11. Hasil pengamatan ekspresi enzim RR pada otot udang *vannamei* dengan *Confocal Laser Scanning Microscope* (CLSM) dengan pewarna FITC perbesaran 400x dengan skala 30 µm. Grafik 3-dimensi diambil dari 3 titik pada Gambarfluorosensi FITC dengan software Olympus Fluoview versi 1,7 A

Keterangan: 1,2,3 merupakan ulangan (series) yang diambil dari udang *vannamei* yang sama

Gambar 10 dan 11 merupakan gambar hasil pengamatan ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada udang *vannamei* dengan lama perendaman WSSV 3 jam. Gambar 10 adalah udang *vannamei* dengan status hidup sedangkan Gambar 11 merupakan udang *vannamei* dengan status mati. Berdasarkan gambar tersebut tampak adanya pendaran berwarna hijau pada hasil pengamatan otot dengan perlakuan perendaman selama 2 jam yang telah diberi antibodi primer dan antibodi sekunder (berlabel). Jika dibandingkan kedua gambar tersebut memiliki pendaran warna hijau hampir seluruh bagian pada semua ulangan. Sehingga dapat dikatakan bahwa intensitas ekspresi dari enzim ribonukleotida reduktase dengan lama perendaman 3 jam baik pada udang *vannamei* yang hidup maupun mati memiliki ekspresi enzim yang tinggi.

Pada grafik 3 dimensi tersebut terdapat 3 warna yang menunjukkan intensitas. Gambar 10 dan 11 sama-sama menunjukkan intensitas yang tinggi ditunjukkan dari grafik yang berwarna kuning. Namun jika dibandingkan grafik pada udang *vannamei* yang mati (Gambar 11) memiliki intensitas yang lebih tinggi karena grafiknya menunjukkan warna kuning yang lebih jelas pada semua ulangan.

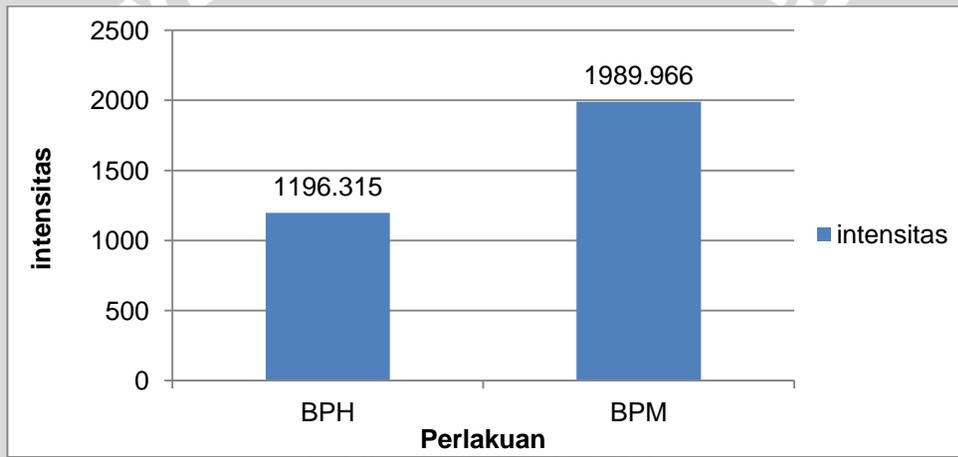
Tabel 7. Intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase

No	Perlakuan	Intensitas (unit/ μ m)	Rata-rata (unit/ μ m)	Standar deviasi
1	BPH 1	1551,24	1196,315	308,4176
2	BPH 2	993,503		
3	BPH 3	1044,202		
4	BPM 1	2295,125	1989,966	399,872
5	BPM 2	2137,48		
6	BPM 3	1537,293		

Keterangan: BP = Perlakuan perendaman 3 jam
 H = Hidup
 B = Mati

Keterangan: 1,2,3 merupakan ulangan (series) yang diambil dari udang *vannamei* yang sama

Tabel 8 menunjukkan hasil kuantifikasi intensitas rata-rata dari otot udang *vannamei* dengan perlakuan perendaman WSSV selama 3 jam. Intensitas pada perlakuan perendaman 3 jam pada udang *vannamei* dengan status mati memiliki nilai intensitas lebih tinggi dibandingkan dengan udang *vannamei* yang memiliki status hidup. Rata-rata intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada udang *vannamei* dengan status mati yaitu sebesar $1989,966 \pm 399,872$. Sedangkan intensitas rata-rata udang *vannamei* yang hidup pada perlakuan ini didapatkan nilai sebesar $1196,315 \pm 308,4176$.

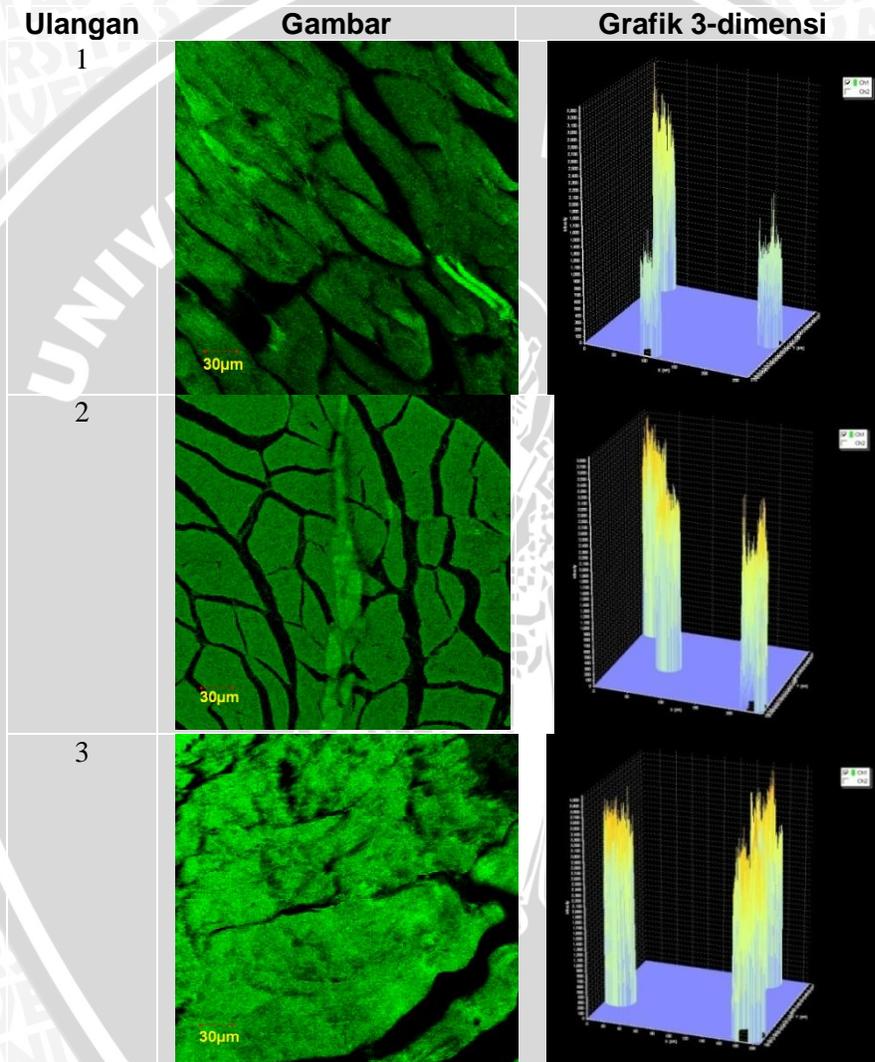


Gambar 12. Grafik intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada udang *vannamei* dengan perendaman 3 jam

Dari Gambar grafik 12 terlihat jelas bahwa pada perlakuan lama perendaman 3 jam, udang *vannamei* dengan status mati memiliki nilai intensitas ekspresi enzim yang lebih tinggi dibandingkan dengan udang *vannamei* dengan status hidup. Hal ini menunjukkan bahwa pada udang *vannamei* yang mati memiliki tingkat infeksi yang lebih berat daripada pada udang *vannamei* yang hidup.

4.4.4 Ekspresi Ribonukleotida Reduktase dengan Perlakuan Perendaman 4 Jam

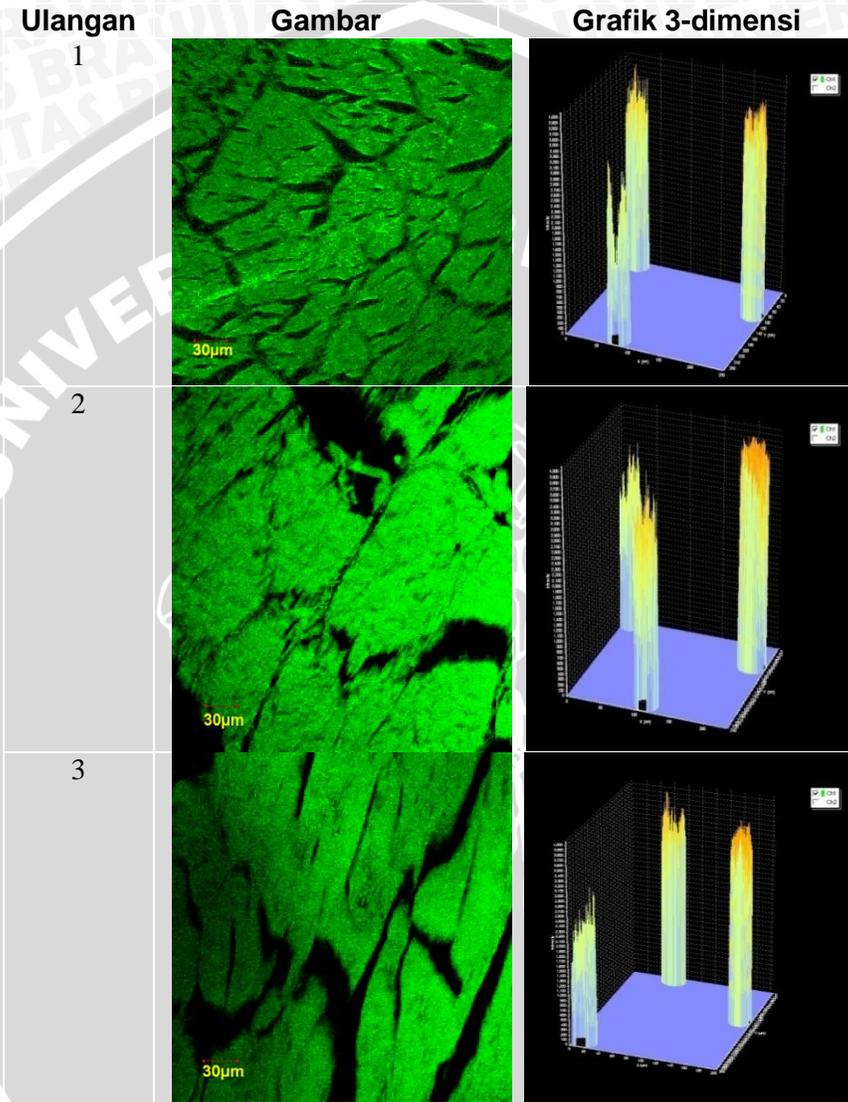
Hasil pengamatan ekspresi enzim ribonukleotida reduktase dengan lama perendaman 4 jam pada otot abdomen udang *vannamei* yang hidup secara in vitro dengan penampang melintang (Gambar 13).



Gambar 13. Hasil pengamatan ekspresi enzim RR pada otot udang *vannamei* dengan *Confocal Laser Scanning Microscope* (CLSM) dengan pewarna FITC perbesaran 400x dengan skala 30 µm. Grafik 3-dimensi diambil dengan software Olympus Fluoview versi 1,7 A

Keterangan: 1,2,3 merupakan ulangan (series) yang diambil dari udang *vannamei* yang sama

Hasil pengamatan ekspresi enzim ribonukleotida reduktase dengan lama perendaman 4 jam pada otot abdomen udang *vannamei* yang mati secara in vitro dengan penampang melintang (Gambar 14).



Gambar 14. Hasil pengamatan ekspresi enzim RR pada otot udang *vannamei* dengan *Confocal Laser Scanning Microscope* (CLSM) dengan pewarna FITC perbesaran 400x dengan skala 30 µm. Grafik 3-dimensi diambil dengan software Olympus Fluoview versi 1,7 A
Keterangan: 1,2,3 merupakan ulangan (series) yang diambil dari udang *vannamei* yang sama

Gambar 13 dan 14 merupakan gambar hasil pengamatan ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada udang *vannamei* dengan lama perendaman WSSV 4 jam. Gambar 13 adalah udang *vannamei* dengan status hidup sedangkan Gambar 14 merupakan udang *vannamei* dengan status mati. Berdasarkan Gambar diatas tampak adanya pendaran berwarna hijau pada hasil pengamatan otot dengan perlakuan perendaman selama 4 jam. Jika dibandingkan kedua gambar tersebut memiliki pendaran warna hijau hampir seluruh bagian pada semua ulangan. Sehingga dapat dikatakan bahwa intensitas ekspresi dari enzim ribonukleotida reduktase dengan lama perendaman 4 jam baik pada udang *vannamei* yang hidup maupun mati memiliki ekspresi enzim yang tinggi.

Pada grafik 3 dimensi tersebut terdapat 3 warna yang menunjukkan intensitas, yaitu warna biru menunjukkan intensitas yang rendah, warna hijau menunjukkan intensitas sedang dan warna kuning menunjukkan intensitas tinggi. Gambar 13 dan 14 sama-sama menunjukkan intensitas yang tinggi karena grafiknya menunjukkan warna kuning. Namun jika dibandingkan grafik pada udang *vannamei* yang mati (Gambar 14) memiliki intensitas yang lebih tinggi karena grafiknya menunjukkan warna kuning yang lebih jelas pada semua ulangan.

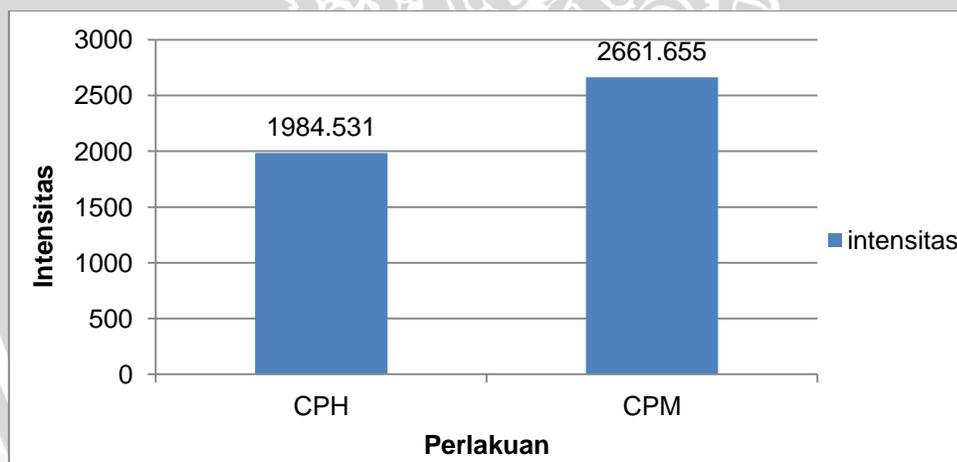
Tabel 8. Intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase

No	Perlakuan	Intensitas Unit(μ m)	Rata-rata Unit(μ m)	Standar deviasi
1	CPH 1	1243,651	1984,531	677.5156
2	CPH 2	2137,369		
3	CPH 3	2572,574		
4	CPM 1	2544,235	2661,655	102.209
5	CPM 2	2709,287		
6	CPM 3	2731,442		

Keterangan: CP = Perlakuan perendaman 4 jam
 H = Hidup
 B = Mati
 1,2,3 = ulangan masing-masing perlakuan

. Intensitas pada perlakuan perendaman 4 jam pada udang *vannamei* dengan status mati memiliki nilai intensitas lebih tinggi dibandingkan dengan udang *vannamei* yang memiliki status rendah. Rata-rata intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada udang *vannamei* dengan status mati yaitu sebesar $1984,531 \pm 677,5156$. Sedangkan intensitas rata-rata udang *vannamei* yang hidup pada perlakuan ini didapatkan nilai sebesar $2661,655 \pm 102,209$.

Intensitas rata-rata pada udang *vannamei* yang mati lebih tinggi daripada pada udang *vannamei* yang hidup. Hal ini menunjukkan bahwa pada udang *vannamei* mati memiliki intensitas WSSV yang lebih banyak daripada pada udang *vannamei* yang hidup. Grafik intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada perlakuan perendaman 4 jam pada udang *vannamei* disajikan pada Gambar 15 berikut ini:



Gambar 15. Rata-rata intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase pada udang *vannamei* dengan perlakuan lama perendaman 4 jam

Dari Gambar grafik 15 terlihat jelas bahwa pada perlakuan lama perendaman 4 jam, udang *vannamei* dengan status mati memiliki nilai intensitas ekspresi enzim yang lebih tinggi dibandingkan dengan udang *vannamei* dengan status hidup. Hal ini menunjukkan bahwa pada udang *vannamei* yang mati memiliki tingkat infeksi yang lebih berat daripada pada udang *vannamei* yang hidup.

4.5 Pengaruh Lama Perendaman WSSV yang Berbeda Terhadap Intensitas Ekspresi Enzim Ribonukleotida Reduktase

Tabel 9. Rata-rata intensitas ekspresi RR pada seluruh perlakuan

No	Perlakuan	Rata-rata Intensitas
1	KP	138,219
2	APH	574,14
3	APM	1545,882
4	BPH	1196,315
5	BPM	1989,966
6	CPH	1984,531
7	CPM	2661,655

Tabel 9 menunjukkan bahwa rata-rata nilai intensitas pada udang *vannamei* perlakuan dan kontrol memiliki nilai yang jauh berbeda. Pada udang *vannamei* kontrol, nilai intensitas WSSV rendah yaitu rata-rata sebesar 138,219. Sedangkan pada udang *vannamei* perlakuan, memiliki rata-rata intensitas paling rendah pada perlakuan perendaman 3 jam pada udang yang hidup yaitu dengan intensitas rata-rata sebesar 1196,315. Sedangkan intensitas rata-rata tertinggi berada pada perlakuan perendaman WSSV 4 jam pada udang yang mati yaitu sebesar 2661,655.

Secara keseluruhan dengan penambahan waktu perendaman baik pada udang *vannamei* dengan status hidup maupun mati mengalami peningkatan intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase dibandingkan dengan kontrol.

4.6 Parameter Kualitas Air

Keberadaan suatu penyakit pada hewan adalah suatu proses dinamik dan merupakan akibat dari interaksi inang, agen dan faktor lingkungan (Brock, 1986 dalam Firmansyah 2002). Bila interaksi dari ketiga faktor tersebut ada yang salah, maka akan berpengaruh terhadap kehidupan dan kelangsungan hidup udang. Jika kondisi lingkungan terkontrol maka daya tahan tubuh udang tidak cepat melemah dan dapat melawan virus yang menyerangnya. Sebaliknya, jika kondisi udang stress

dan lemah karena perubahan lingkungan serta kualitas air yang jelek akan mempermudah serangan penyakit pada udang.

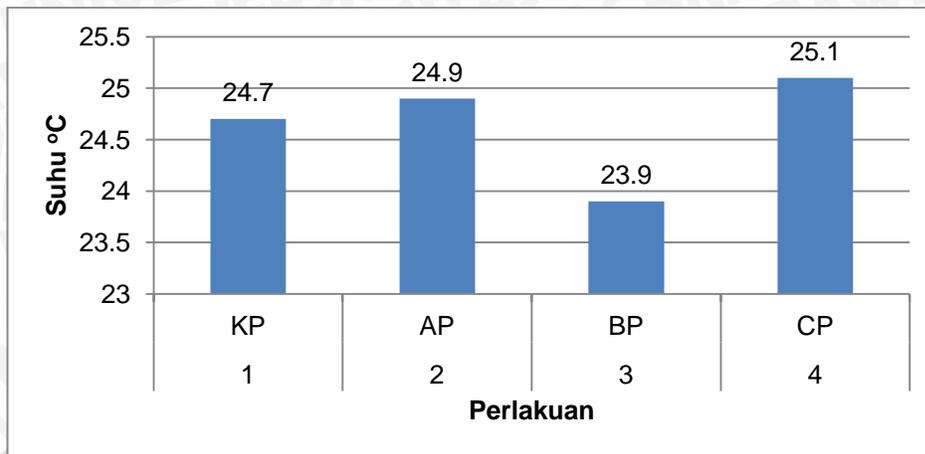
Tabel 10. Hasil Pengamatan Kualitas Air selama pemeliharaan

No	Perlakuan	Kisaran suhu (°C)	Kisaran salinitas (ppt)	Kisaran pH	Kisaran nilai DO (mg/L)
1	KP	24,1-25,8	18-23	7,1-7,89	4,56-8,12
2	AP-1	24,7-25,1	21-24	7,35-7,78	5,45-7,78
3	AP-2	23,9-25,9	20-25	7,23-7,92	4,58-7,68
4	AP-3	23,8-25,9	21-25	7,29-7,77	5,49-7,86
5	BP-1	24,2-26	20-25	7,18-7,9	5,36-8,56
6	BP-2	23,9-25,9	21-24	7,41-7,81	5,48-8,54
7	BP-3	23,1-25,7	21-24	7,27-7,84	5,2-8,77
8	CP-1	24-25,8	19-21	7,3-7,8	5-8,6
9	CP-2	23,1-24	20-23	7,7-8	6,6-8
10	CP-3	23,8-27	20-22	7,6-8,2	4,8-7,68

Ahmad (1991) dalam Suwoyo (2009), menyatakan pengukuran kualitas air selama pemeliharaan udang penting dilakukan untuk mengetahui perubahan parameter kualitas air, dengan mengetahui perubahan yang terjadi maka dapat diambil suatu tindakan untuk mengatasi perubahan-perubahan yang kurang baik terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan pemeliharaan udang. Hasil kualitas air yang didapat adalah sebagai berikut :

4.6.1 Suhu

Dari penelitian yang dilakukan hasil pengamatan suhu yang didapatkan (Gambar 17), suhu rata-rata terendah didapatkan sebesar 23,9°C dan rata-rata suhu tertinggi sebesar 25,1°C. Suhu ini merupakan nilai suhu yang memenuhi syarat bagi kehidupan udang *vannamei*. Taslihan *et al.*, (2005) menjelaskan bahwa nilai suhu yang memenuhi syarat bagi kehidupan udang berkisar 23-32°C.

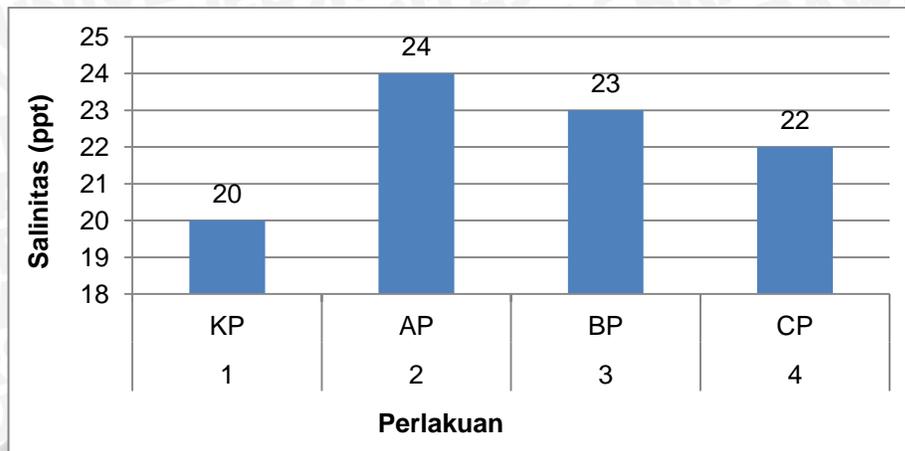


Gambar 16. Nilai rata-rata suhu saat pemeliharaan udang *vannamei*

Suhu dapat dianggap sebagai faktor paling utama yang mempengaruhi produksi budidaya. Suhu air menentukan produktivitas alami dari ekosistem perairan, dan secara langsung atau tidak mempengaruhi seluruh variabel kualitas air lainnya. Menurut Effendi (2003), peningkatan suhu menyebabkan kecepatan metabolisme dan respirasi organisme air juga meningkat dan selanjutnya meningkatkan peningkatan konsumsi oksigen.

4.6.2 Salinitas

Salinitas memiliki kaitan erat dengan sistem osmoregulasi pada hewan air. Pada ikan dan udang pelarut (air) atau larutan yang lebih encer akan bergerak masuk kedalam larutan yang lebih pekat atau kental, sampai terjadi keseimbangan. Demikian pula spesies tawar memiliki cairan tubuh lebih kental dari lingkungannya, mereka bersifat hypersaline atau hypertonic terhadap lingkungannya, sehingga air cenderung masuk kedalam tubuh udang (Komarudin, 2004).

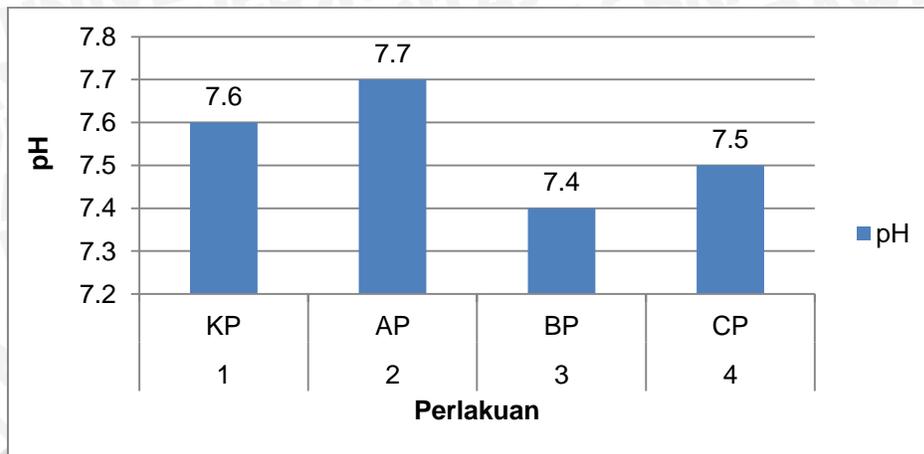


Gambar 17. Nilai rata-rata salinitas saat pemeliharaan udang *vannamei*

Salinitas berhubungan erat dengan osmoregulasi hewan air, apabila terjadi penurunan salinitas secara mendadak dan dalam kisaran yang cukup besar, maka akan menyulitkan hewan dalam pengaturan osmoregulasi tubuhnya sehingga dapat menyebabkan kematian (Anggoro, 2000). Pada penelitian yang dilakukan, hasil salinitas yang didapatkan (Gambar 17) yaitu nilai rata-rata salinitas terendah sebesar 20 ppt dan rata-rata salinitas terbesar yaitu 24 ppt. Salinitas yang terukur dalam kisaran yang tidak terlalu jauh yaitu antara 19-25 ppt. Sehingga dapat dikatakan kisaran salinitas yang terukur tidak membahayakan bagi kehidupan udang *vannamei* yang dipelihara. Sedangkan berdasar Standar Nasional Indonesia (2006), salinitas yang harus dipenuhi untuk pemeliharaan udang *vannamei* berada pada kisaran 15-25 ppt.

4.6.3 Derajat Keasaman(pH)

Hasil pengukuran pH (Gambar 19) saat pemeliharaan udang *vannamei* didapatkan nilai pH rata-rata tertinggi 7,7 dan nilai rata-rata pH terendah sebesar 7,4.

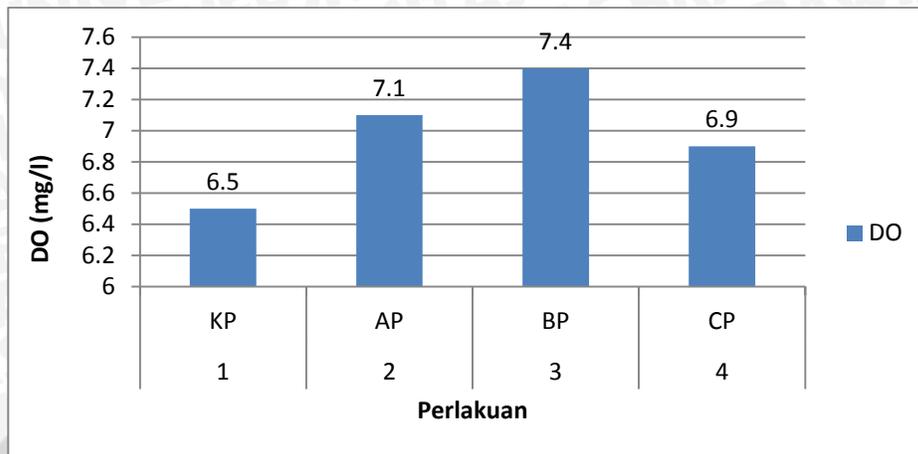


Gambar 18. Nilai rata-rata pH saat pemeliharaan udang *vannamei*

Dalam Standar Nasional Indonesia (2006), persyaratan kisaran pH bagi pemeliharaan udang *vannamei* berada pada kisaran 7,5-8,5. Kisaran ini merupakan kisaran optimum bagi pertumbuhan udang. Sedangkan menurut Amri (2003), kisaran yang terukur masih dalam kondisi normal untuk kehidupan udang *vannamei*. Pada nilai pH diatas 10 dapat membunuh udang, sementara nilai pH dibawah 5 mengakibatkan pertumbuhan udang terhambat. Menurut Law (1988) dalam Budiardi (2008), perairan dengan pH yang ekstrim dapat membuat udang tertekan, pelunakan karapas serta kelangsungan hidup rendah.

4.6.4 Oksigen Terlarut

Hasil pengukuran oksigen terlarut pada media pemeliharaan selama penelitian (Gambar 20) didapatkan hasil nilai DO terendah sebesar 4,56 dan nilai DO terbesar yaitu 8,6. Kisaran oksigen tersebut masuk dalam kisaran yang bagus dan baik untuk pertumbuhan udang. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kordi dan Ghufuran (2007), kisaran oksigen terlarut yang baik untuk pertumbuhan yaitu 3-7 ppm, optimumnya yaitu >4 ppm. Kelarutan oksigen dalam air khususnya untuk pemeliharaan udang *vannamei* harus diperhatikan.



Gambar 19. Nilai rata-rata DO saat pemeliharaan udang *vannamei*

Menurut Standar Nasional Indonesia, kandungan oksigen terlarut yang harus dipenuhi dalam pemeliharaan udang *vannamei* yaitu minimal 3,5 mg/l. Sedangkan menurut Komarudin (2004), tingkat oksigen memetakan pada udang berkisar antara 0,5-1,0 mg/l bergantung pada spesies, ukuran, dan faktor lingkungan lainnya. Kondisi oksigen rendah dalam waktu yang berkepanjangan dapat menyebabkan pertumbuhan terhambat, menurunnya efisiensi pakan, serta berkurangnya frekuensi moulting.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Berdasarkan pengamatan terhadap tingkah laku serta morfologi udang *vannamei* pasca penginfeksian WSSV dengan lama perendaman yang berbeda memberikan pengaruh yang sama sehingga dikatakan tidak ada perbedaan dari perlakuan yang diberikan.
2. Analisa sidik ragam terhadap mortalitas udang *vannamei* pasca perlakuan memberikan pengaruh terhadap jumlah udang yang mati. Semakin lama perendaman, jumlah kematian udang *vannamei* juga semakin meningkat.
3. Berdasarkan pengamatan dengan imunohistokimia, intensitas ekspresi enzim ribonukleotida reduktase perlakuan semakin lama perendaman semakin meningkat. Intensitas tertinggi terjadi pada perlakuan perendaman 4 jam sebesar 2661,655

5.2 Saran

Ribonukleotida reduktase merupakan enzim yang penting dalam replikasi DNA. Laju replikasi WSSV dapat digambarkan pada ekspresi enzim ini. Oleh karena itu diperlukan adanya penelitian lebih lanjut tentang bagaimana menggunakan ekspresi enzim ribonukleotida reduktase ini sebagai pendeteksian WSSV dengan metode yang lebih efisien dan murah.

DAFTAR PUSTAKA

- Amri dan Kanna, 2008. Budi Daya Udang *Vannamei* Secara Intensif, Semi Intensif dan Tradisional. Gramedia. Jakarta.
- Amri, K. 2003. Kiat Mengatasi Permasalahan Budi Daya Udang Windu Secara Intensif. Cet. 6. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Balai Penelitian Tanah. 2005. *Petunjuk Teknis. Analisis Kimia Tanah, Tanaman, Air dan Pupuk*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian.
- Bonilla, C M Escobedo, V Alday-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* 2008,31,1–18.
- Bower, S.M. 1996. White Spot Syndrome Baculovirus Complex of Panaeid Shrimp. Synopsis of Infectious Disease and Parasites of Commercially Exploited Shellfish. Fisheries and Ocean Canada. Canada, <http://www-sci.pac.dfo-mpo.go.ca/sealane/aquac/pages/wssbcsp.htm>.
- Chim Ling. 2009. Single Raw *Vannamei* Prawn Isolated On White Background. "http://www.123rf.com/photo_5145677_single-raw-vanna-mei-prawn-isolated-on-white-background.html". Diakses pada 7 Desember 2014, pukul 21.06 WIB
- Cholik, F., A. G. Jagatraya, R. P. Poernomo, dan A. Jauzi. 2005. *Akuakultur Tumpuan Harapan Masa Depan Bangsa*. Masyarakat Nusantara Perikanan (MPN). Jakarta
- Departemen Kelautan dan Perikanan. 2004. *Penyakit Utama Penyebab Kematian Udang di Tambak dan Cara Penanggulangannya*.
- Finch RA, Liu M-C, Grill SP, Rose WC, Loomis R, Vasquez KM, Cheng Y-C, Sartorelli AC, 2009. Triapine (3-Aminopyridine-2-carboxaldehydethiosemicarbazone): A Potent Inhibitor of Ribonucleotide Reductase Activity with Broad Spectrum Antitumor Activity. *Biochemical Pharmacology* 59 : 983–991.
- Firmansyah, Adi. 2002. Uji Patogenitas White Spot Syndrome Virus WSSV Pada Udang Windu (*Penaeus monodon*). FPIK. IPB

Gunarto dan Nurbaya. 2010. Upaya peningkatan produksi pada budidaya udang *vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) pola tradisional plus dengan penambahan tepung tapioka. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau. Sulawesi Selatan.

Haliman, R. W. dan Dian A. 2005. *Udang Vannamei*. Penebar Swadaya. Jakarta.

Haliman. R.W, Dian A.S. 2006. *Budidaya Udang Vannamei*. Swadaya . Jakarta

Izzati M, 2008. Kejernihan dan Salinitas Perairan Tambak setelah Penambahan Rumpuk Laut *Sargassum plagyophyllum* dan Ekstraknya. BIOMA. Vol. 10, No..2, Hal. 41-45. ISSN : 1410-8801.

Khamdi, Mohammad. 2014. Budidaya Udang: KKP Yakin Indonesia Bisa Kuasai Pasar Dunia. E-Paper. *Indonesia Business Daily*.

Kilawati, Y dan D. Win. 2009. *Karakter Protein ICP11 pada DNA Udang Vannamei (Penaeus vannamei) yang Terinfeksi White Spot Syndrome Virus (WSSV)*. Berk. Penelitian Hayati 15 (21-24).

Kilawati, Y. 2011. *Pengaruh Serangan WSSV Terhadap Morfologi, Tingkah Laku dan Kelulushidupan SPF Udang Vannamei Indonesia Yang Dipelihara Dalam Lingkungan Terkontrol*. Journal of Biological Researchers. ISSN : 0852 – 6834 No. 7F, hlm. 105 – 109.

Kordi K, M.Ghufran H dan A.B.Tancung. 2007. *Pengelolaan Kualitas Air Dalam Budidaya Perairan*. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta.

Kordi, M.G.H. 2007. *Pemeliharaan Udang Vannamei*. Penerbit Indah. Surabaya.

Kordi.G .2006. *Pemeliharaan Udang Vannamei*. Indah. Surabaya.

Lantu, S. 2010. Osmoregulasi pada Hewan Akuatik. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 6(1): 46-50.

Mahardika, K., Zafran dan I. Koesharyani. 2004. *Deteksi White Spot Syndrome Virus (WSSV) Pada Udang Windu (Penaeus monodon) di Bali dan Jawa Timur Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR)*. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 10 (1): 55-60

Mohammad Attabik A. 2014. *Pengaruh salinitas terhadap kerentanan udang vannamei (Litopenaeus vannamei) yang diinfeksi White Spot Syndrom Virus (WSSV)*. Tesis. Universitas Brawijaya. Malang.

- Pardede, S. 2012. Mikrofenolat Mofetil sebagai Terapi Sindrom Nefrotik Bermasalah pada Anak. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. CDK-191. Vol 39. No 3.
- Prajitno, A. 2008. *Penyakit Ikan-Udang Virus*. Penerbit Universitas Negeri Malang : Malang.
- Priatni, D., M. Alifuddin dan D. Djokosetyanto. 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.
- Rahmawati, Rini. 2002. Uji Patogenitas White Spot Syndrom Virus (WSSV) pada Udang Windu (*Panaeus monodon* Fabr.) melalui Metode Perendaman Dengan Konsentrasi 200 µg/ml Selama 30, 60, dan 90 Menit. Institut Pertanian Bogor.
- Risaldi, Ahmad. 2011. Teknik Pembesaran Udang *Vannamei*. Badan Pengembangan Sumber Daya Perikanan dan Kelautan. Kementerian Kelautan Dan Perikanan. Bone. Sulawesi Selatan
- Rukyani, A. 2000. Masalah penyakit udang dan harapan solusinya. Makalah. Disampaikan pada Sarasehan Akuakultur Nasional, 5-6 Oktober 2000. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta.
- S Claxton, N., T.J Faller dan Davidson, M.W. 2007. Laser Scanning Confocal Microscopy The Florida State University. Florida
- Soetomo, M. H. A. 2000. *Teknik Budidaya Udang Windu*. Sinar Baru Algensindo. Bandung.
- Subarijanti, H.U. 1990. *Diktat Kuliah Limnology*. NUFFIC/ UNIBRAW/ LUW/ FISH. Universitas Brawijaya. Malang.
- Suprpto. 2011. *Metode Analisis Parameter Kualitas Air Untuk Budidaya Udang*. Shrimp Club Indonesia.
- Susetiono. 1987. Kehidupan Udang Windu *Panaeus monodon* Fabricius. Majalah Semi Populer Lonawarta. ISSN 0126 – 068 No. 3. Lembaga Ilmu Penelitian Indonesia (LIPI). Balai Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Laut. Ambon.
- Taslihan, Supito, Erik, Richard. 2005. *Teknik Budidaya Udang Secara Benar*. Departemen Kelautan dan Perikanan : Jepara

- Tsuen Lin, Shinn, Yun-Shiang Chang, Han-Ching Wang, Huey-Fen Tzeng, Zee-Fen Chang, Jung-Yaw Lin, Chung-Hsiung Wang, Chu-Fang Lo, and Guang-Hsiung Kou. 2002. Ribonucleotide Reductase of Shrimp White Spot Syndrome Virus (WSSV): Expression and Enzymatic Activity in a Baculovirus/Insect Cell System and WSSV-Infected Shrimp. *Virology* 304,282–290 (2002).
- van Hulsten, M. C. W., Tsai, M. F., Schipper, C. A., Lo, C. F., Kou, G. H., and Vlak, J. M. (2000). Analysis Of A Genomic Segment Of White Spot Syndrome Virus Of Shrimp Containing Ribonucleotide Reductase Genes, And Repeat Regions. *J. Gen. Virol.*
- Wyban, J.A., dan Sweeney, J.N., 1991. *Intensive Shrimp Production Technology*. Hawaii: The Oceanic Institute
- Yanto. 2006. Diagnosa dan Identifikasi Penyakit Udang Asal Tambak. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, Vol 7, No 1. Hal 17-23 (http://eprints.ums.a.id/545/1/3_HENDRY_YANTO.pdf- Diakses tanggal 10 April 2014.
- Yuniasari, D. 2009. Pengaruh pemberian bakteri nitrifikasi dan denitrifikasi serta molase dengan C/N rasio berbeda terhadap profil kualitas air, kelangsungan hidup, dan pertumbuhan udang *vannamei* *Litopenaeus vannamei*. Skripsi. Departemen Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.