

**PENGARUH EKSTRAK *Sargassum polycystum* TERHADAP AKTIFITAS
HIPERTROFI EPITEL DAN BADAN INKLUSI (*INCLUSION BODIES CELL*)
PADA INSANG UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) YANG
TERINFEKSI WSSV (*WHITE SPOT SYNDROME VIRUS*)**

**LAPORAN SKRIPSI
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN**

Oleh :

ARIES PRADANA PUTRA

NIM. 115080107111017



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2015

**PENGARUH EKSTRAK *Sargassum polycystum* TERHADAP AKTIFITAS
HIPERTROFI EPITEL DAN BADAN INKLUSI (*INCLUSION BODIES CELL*)
PADA INSANG UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) YANG
TERINFEKSI WSSV (*WHITE SPOT SYNDROME VIRUS*)**

**LAPORAN SKRIPSI
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERIKANAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Perikanan Pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

**Oleh :
ARIES PRADANA PUTRA
NIM. 115080107111017**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG
2015**

LAPORAN SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK *Sargassum polycystum* TERHADAP AKTIFITAS HIPERTROFI EPITEL DAN BADAN INKLUSI (*INLUSSION BODIES CELL*) PADA INSANG UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) YANG TERINFEKSI WSSV (*WHITE SPOT SYNDROME VIRUS*)

Oleh :

ARIES PRADANA PUTRA

NIM. 115080107111017

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 10 Agustus 2015
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No. :

Tanggal :

Menyetujui,

Dosen penguji I

Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS

NIP. 19591230 198503 2 002

Tanggal :

Dosen Penguji II

Nanik Retno Buwono, S.Pi., MP

NIP. 19840402 201404 2 002

Tanggal :

Dosen Pembimbing I

Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si

NIP.19730702 200502 2 004

Tanggal :

Dosen Pembimbing II

Prof. Ir. Yenny Risjani, DEA, Ph.D

NIP.19610523 198703 2 003

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 saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah 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 sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, Agustus 2015

Mahasiswa

ARIES PRADANA PUTRA
NIM. 115080107111017

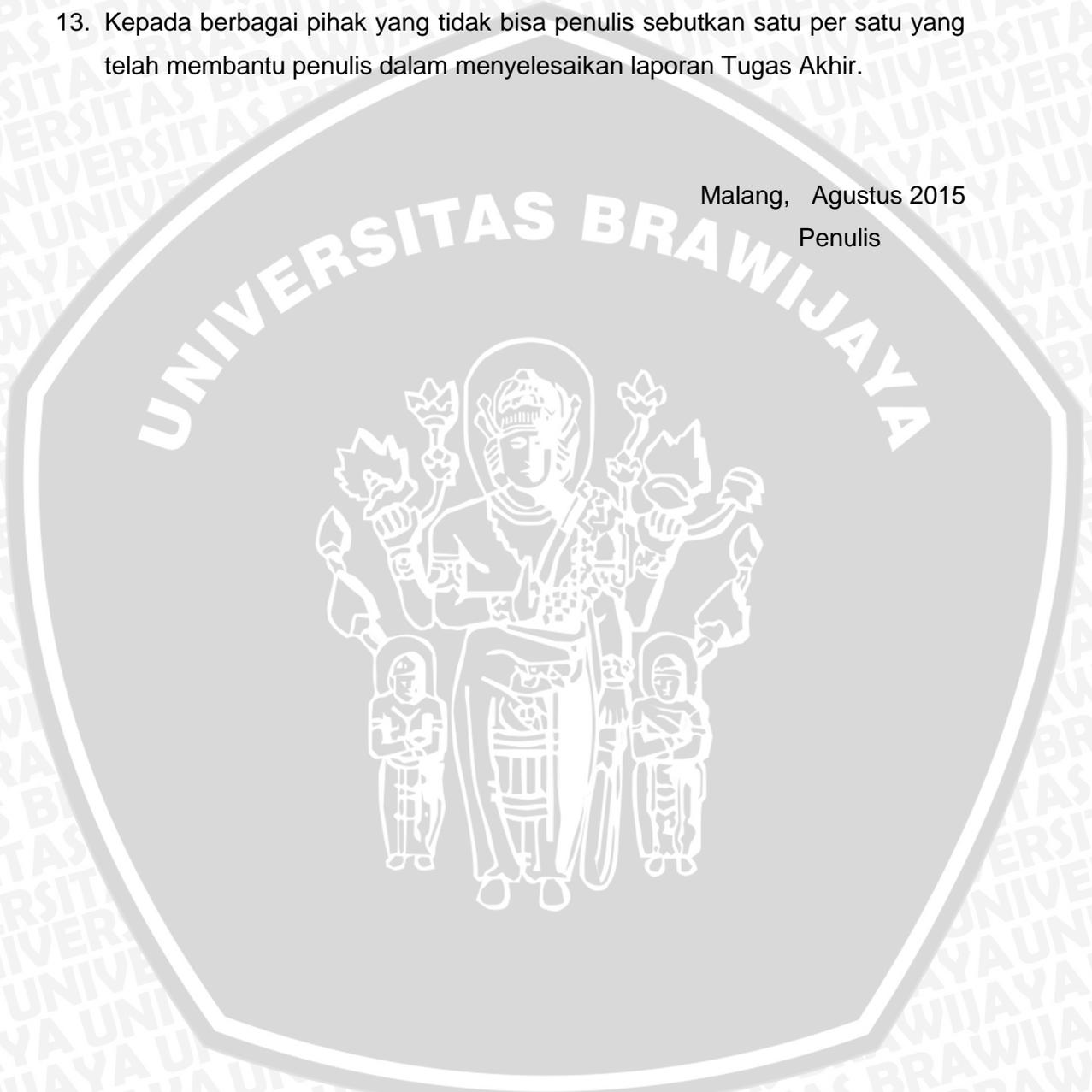
UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Sujud dan terima kasih yang dalam penulis persembahkan Kedua orang tua yaitu ayahanda **Sujono, S.Pd., M.M.Pd**, Ibunda **Sri Hartini** dan adik tersayang **Dean Cahyani Akira**, serta seluruh keluarga besar terima kasih atas do'a, semangat, kasih sayang dan dukungannya.
2. Ibu **Dr. Yuni Kilawati, S.Pi, M.Si** dan Ibu **Prof. Ir. Yenny Risjani, DEA, Ph.D** dan selaku dosen pembimbing yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan Tugas Akhir.
3. Ibu **Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS** dan Ibu **Nanik Retno Buwono, S.Pi., MP** selaku dosen Penguji selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan masukan yang bermanfaat dan membangun bagi penulis.
4. Terima kasih banyak-banyak kepada saudara dan saudari "**CEKETER**": Dimas, Angga, Bain, Zevan, Nana, Nuky, Candra dan Ajeng. Terima kasih atas bantuan, dukungan, semangat dan kegilaan serta doa kalian.
5. **Bapak. Ir. Dwi Rahardja, MM** selaku Kepala UPT PBAP Bangil yang telah bersedia memberikan tempat untuk melaksanakan penelitian ini.
6. **Bapak Wahyudi** yang telah membimbing saya selama penelitian di UPT PBAP, **Ibu Khusnah, Ibu Lely, Bpk Uman, Bpk Iwan, Bpk Sugeng, Mas Fauzi** beserta staf yg lain di PBAP Bangil yang sudah membantu dalam penelitian saya.
7. Kekasih tercinta "**Ajeng Erma Nita Sari**" yang telah memberi motivasi, mendukung, dan memberikan semangat kepada penulis.
8. **Sahabat ARM 2011!** Kating Resya, Aviorissa, Dian, Lueky, Yovan, Niko, Selfi, Aris, Cahyo, Ainul, Ainun, Damai, Dwi, Ihsan, Endri, Alin, Yesi, Agus, Aqilla, Rila, Arditha dan semua yang tidak bisa disebutkan satu per satu.
9. **Teman-teman TIM Skripsi**, Anggi, Dewi, Toto, Rizka, Shinta, Ajir dan Bunga Terimakasih atas kerjasama dan semangat kalian yang luar biasa.
10. **Laboran laboratorium Ilmu-ilmu Perairan** mbak Hawa dan mbak Mega; **Laboran Laboratorium LSIH**, mbak Fitri dan masukan-masukan mas Attabik, terima kasih sudah melayani tim kami dengan kesabaran dan baik hati.

11. Untuk **teman satu atap Srigading 58C** Babil, Cahyo dan Agus terimakasih telah saling berbagi keluh kesah dan semoga lancar skripsinya semuaaaa.
12. **Sosial Media**, terima kasih sudah menjadi *spam* tidak jelas untuk saya. Terima kasih instagram, tumblr, facebook, twitter dan yang lainnya yang turut menyumbang semangat dan kata-kata motifasi di saat lengah.
13. Kepada berbagai pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan laporan Tugas Akhir.

Malang, Agustus 2015
Penulis



RINGKASAN

ARIES PRADANA PUTRA. Pengaruh Ekstrak *Sargassum polycystum* Terhadap Aktifitas Hipertrofi Epitel Dan Badan Inklusi (*Inclusion Bodies Cell*) Pada Insang Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Yang Terinfeksi WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) (di bawah bimbingan **Dr. Yuni Kilawati, S.Pi., M.Si** dan **Prof. Ir. Yenny Risjani, DEA, Ph.D**)

Sargassum polycystum adalah rumput laut penghasil alginofit yang dapat dijadikan sumber industri alginat. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak rumput laut *Sargassum polycystum* terhadap aktivitas *hipertrofi epithelia* dan *inclusion bodies cell* pada insang udang vannamei yang terinfeksi WSSV. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas pemberian imunostimulan dari ekstrak rumput laut *Sargassum polycystum* terhadap aktivitas *hipertrofi epithelia* dan *inclusion bodies cell* pada insang udang vannamei yang terinfeksi oleh WSSV (*White Spot Syndrome Virus*).

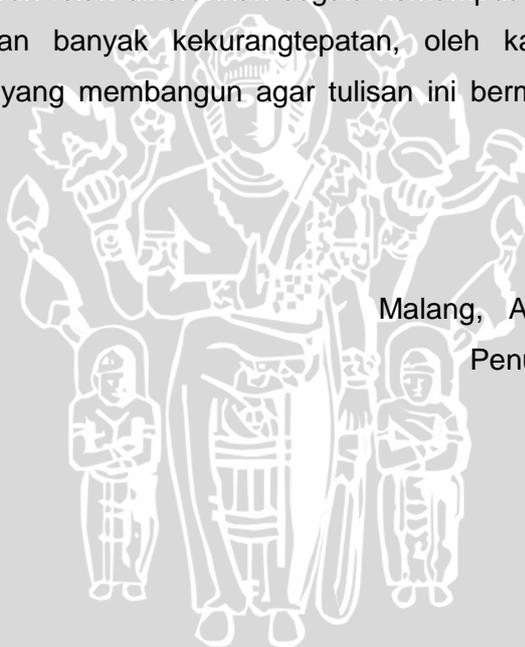
Metode isolasi virus menggunakan metode sentrifuse. Metode ekstraksi *Sargassum polycystum* menggunakan metode maserasi. Cara penginfeksi virus dengan cara perendaman pada dosis 0,22 mg/l. Untuk meningkatkan sistem imun diberikan ekstrak *Sargassum polycystum* dengan cara perendaman pada dosis 0,25 mg/l dan pencampuran ke dalam pakan pada dosis 10 g/kg. Penelitian ini terdiri atas empat perlakuan, yaitu : kontrol positif (+) berisi udang sehat, kontrol negatif (-) berisi udang yang diinfeksi WSSV namun tidak diberi perlakuan ekstrak *Sargassum polycystum*, P1 berisi udang yang diinfeksi WSSV dan diberi perlakuan *Sargassum polycystum* dengan cara perendaman pada dosis 250ppm (0,25 g/l) dan P2 yang merupakan udang yang diinfeksi WSSV dan diberi perlakuan *Sargassum polycystum* melalui pemberian pakan pada dosis 10 g/kg. Parameter yang diamati adalah kualitas air diantaranya adalah suhu, pH, oksigen terlarut dan salinitas, serta pengamatan morfologi udang yang diinfeksi WSSV sebelum diberi ekstrak *Sargassum polysystem* dan sesudah diberi ekstrak *Sargassum polycystum* dengan cara perendaman dan di campur ke dalam pakan, diakhir perlakuan dilakukan preparasi histologi terhadap 3 udang di tiap perlakuan untuk diamati *hipertrofi epithelia* dan *inclusion bodies cell* pada insang udang.

Hasil penghitungan kerusakan sel didapatkan pada perlakuan kontrol (K+) sebesar 9,65%, kontrol (K-) sebesar 84,61%, perlakuan (P1) sebesar 20,23% dan perlakuan (P2) sebesar 16,37%. Kemudian data hasil perhitungan kerusakan sel tersebut dianalisis menggunakan metode statistik uji hipotesis berpasangan. Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* berpengaruh terhadap aktivitas *hipertrofi epithelia* dan *inclusion bodies cell* pada insang udang vannamei yang terinfeksi WSSV. Pencampuran dengan pakan komersial pada dosis 10 g/kg lebih efektif dalam menurunkan kerusakan sel pada insang udang vannamei. Tingkat kerusakan pada udang kontrol positif (+) sebesar 9,65%, pada udang kontrol negatif (-) sebesar 84,61%. Sedangkan tingkat kerusakan pada udang P1 sebesar 20,23% dan pada udang P2 sebesar 16,37%. Hal ini berdasarkan hasil penghitungan sel pada jaringan udang yang telah diberi perlakuan.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur kehadiran Allah SWT karena atas berkat limpahan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan proposal skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak *Sargassum polycystum* Terhadap Aktifitas Hipertrofi Epitel Dan Badan Inklusi (*Inclusion Bodies Cell*) Pada Insang Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Yang Terinfeksi WSSV (*White Spot Syndrome Virus*)”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat meraih gelar sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangtepatan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.



Malang, Agustus 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan	8
1.4 Hipotesis	8
1.5 Kegunaan.....	8
1.6 Tempat dan Waktu	9
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Udang Vanamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	10
2.1.1 Klasifikasi	10
2.1.2 Morfologi Udang Vanamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	10
2.1.3 Fisiologi Udang Vanamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	11
2.1.3.1 Sistem Imun	11
2.1.3.2 Tingkah Laku.....	13
2.1.3.3 Pertumbuhan.....	13
2.1.3.4 Pakan dan Kebiasaan Makan.....	14
2.1.4 Penyebaran.....	14
2.1.5 Ciri-Ciri Udang yang Terserang Virus WSSV (White Spot Syndrome Virus).....	14
2.2 Virus WSSV (<i>White Spot Syndrome Virus</i>).....	16
2.2.1 Klasifikasi Virus WSSV (<i>White Spot Syndrome Virus</i>).....	17
2.2.2 Ciri Morfologi.....	18
2.2.3 Patogenitas.....	19
2.2.4 Penyebaran dan Agensia	21
2.2.5 Habitat dan Lingkungan Hidup	22
2.2.6 Gejala Klinis.....	22
2.3 <i>Sargassum polycystum</i>	24



2.3.1	Klasifikasi <i>Sargassum polycystum</i>	24
2.3.2	Morfologi <i>Sargassum polycystum</i>	24
2.3.3	Alginat <i>Sargassum polycystum</i>	25
2.4	Immunostimulan	27
2.5	Mekanisme Kerja Immunostimulan	29
2.6	Histopatologi Insang	31
2.6.1	Hipertrofi dan <i>Inclusion bodies cell</i> insang.....	31
2.7	Pengukuran Kualitas Air	33
2.7.1	Parameter Fisika	33
2.7.1.1	Suhu.....	33
2.7.2	Parameter Kimia	34
2.7.2.1	Derajat Keasaman (pH).....	34
2.7.2.2	Salinitas	34

3. METODE PENELITIAN

3.1	Materi Penelitian.....	36
3.2	Alat dan Bahan.....	36
3.3	Metode Pengambilan Data	37
3.4	Teknik Pengumpulan Data	38
3.4.1	Data Primer.....	38
3.4.2	Data Skunder.....	39
3.5	Metode Pengambilan Sampel.....	40
3.5.1	Pengambilan Sampel Air.....	40
3.5.2	Pengambilan Sampel Udang.....	40
3.6	Metode Penelitian.....	40
3.6.1	Persiapan dan Sterilisasi Wadah.....	40
3.6.2	Penyediaan bahan ekstrak <i>Sargassum polycystum</i>	40
3.6.3	Penyediaan larutan inokulum WSSV.....	41
3.6.4	Perlakuan Udang Uji	42
3.6.4.1	Bagan alur perlakuan udang uji.....	42
3.6.4.2	Infeksi Virus WSSV dan Pemberian Ekstrak <i>Sargassum polycyctum</i>	43
3.6.4.3	Pemeliharaan dan pengamatan harian udang uji	44
3.6.5	Preparasi pengamatan histologi	44
3.6.6	Analisis Histopatologi.....	46
3.7	Metode Pengukuran Kualitas Air	47
3.7.1	Suhu	47
3.7.2	Ph (Derajat Keasaman).....	48
3.7.3	Oksigen Terlarut (DO).....	48
3.7.4	Salinitas	49
3.8	Metode Analisis Penelitian.....	49

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Parameter Kualitas Air.....	51
4.1.1	Suhu	51
4.1.2	Salinitas	52
4.1.3	pH.....	53
4.1.4	DO	54
4.2	Pengamatan Morfologi dan Tingkah Laku Udang Vannamei	54
4.2.1	(K+) Udang Vannamei Sehat	54

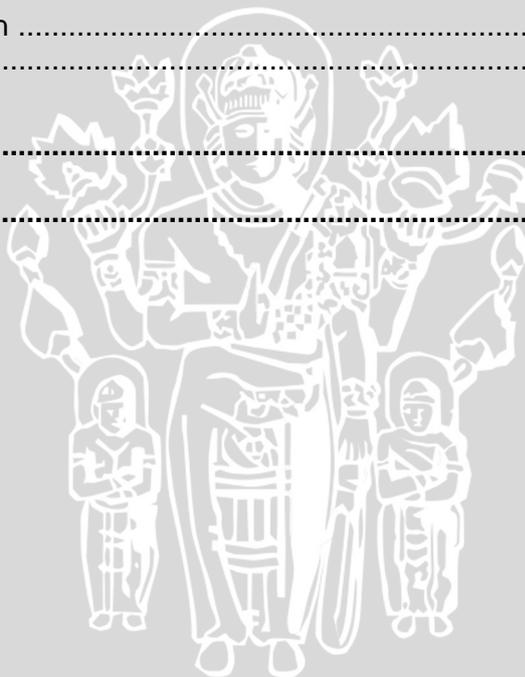
4.2.2	(K -) Udang Kontrol	56
4.2.3	(P1) Perlakuan dengan perendaman ekstrak <i>Sargassum polycycstum</i>	57
4.2.4	(P2) Perlakuan pakan yang dicampur dengan ekstrak <i>Sargassum polycycstum</i>	58
4.3	Tingkat infeksi virus WSSV berdasarkan skoring.....	59
4.4	Pengamatan Histopatologi Jaringan Insang Udang Vannamei	61
4.4.1	Struktur dan Kerusakan Jaringan Insang Udang Vannamei.....	61
4.4.2	Badan Inklusi (<i>Inclusion Bodies Cell</i>) dan <i>Hipertrofi epithelia</i>	63
4.5	Penghitungan Kerusakan Sel Pada Insang Udang Vannamei	67
4.6	Analisis Statistik Uji Hipotesis Berpasangan	72
4.6.1	P1 (Rendam).....	71
4.6.2	P2 (Pakan).....	73

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1	Kesimpulan	77
5.2	Saran.....	77

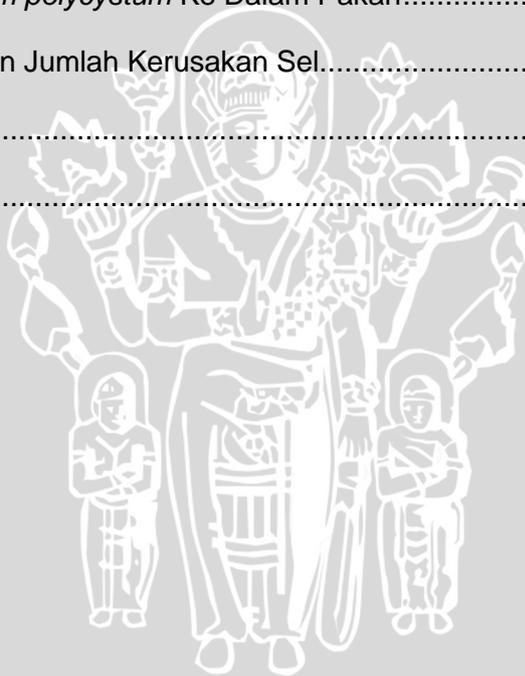
DAFTAR PUSTAKA.....	78
----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	87
----------------------	-----------



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat Dan Bahan Yang Digunakan Penelitian	36
2. Data Pengukuran Kualitas Air	51
3. Morfologi dan Tingkah Laku Perlakuan Udang Kontrol (K+).....	55
4. Morfologi dan Tingkah Laku Perlakuan Udang Kontrol (K-).....	56
5. Morfologi dan Tingkah Laku Udang Dengan Perlakuan Perendaman Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i>	57
6. Morfologi dan Tingkah Laku Udang Dengan Perlakuan Pencampuran Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i> Ke Dalam Pakan.....	58
7. Hasil Penghitungan Jumlah Kerusakan Sel.....	67
8. Uji statistik t (P1).....	72
9. Uji statistik t (P2).....	75



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagan Alir Rumusan Masalah.....	6
2. Morfologi Udang Vannamei.....	11
3. Virus penyebab penyakit bercak putih.....	18
4. Morfologi udang yang terinfeksi WSSV.....	23
5. <i>Sargassum polycystum</i>	25
6. Tingkat infeksi Udang menggunakan dengan skoring.....	60
7. Jaringan insang udang vannamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	62
8. Tahap – tahap WSSV menyerang sel insang.....	63
9. Kerusakan sel pada jaringan insang udang vannamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	65
10. Kerusakan sel tiap perlakuan.....	67
11. Daerah keputusan H0 diterima pada perlakuan P1	73
12. Daerah keputusan H0 diterima pada perlakuan P2	76



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Proses Ekstraksi <i>Sargassum polycystum</i>	87
2. Tingkat infeksi Udang Menggunakan Metode Skoring	88
3. Foto proses persiapan <i>Sargassum polycystum</i>	89
4. Foto proses ekstraksi alginat dari <i>Sargassum polycystum</i>	90
5. Foto proses isolasi virus WSSV	91
6. Foto penelitian	92
7. Foto proses preparasi jaringan insang udang vannamei	93
8. Tabel perhitungan jumlah sel udang vannamei	94
9. Bidang pandang pengamatan sel pada perlakuan kontrol (+) / Sampel ke 1	95
10. Bidang pandang pengamatan sel pada perlakuan kontrol (+) / Sampel ke 2.....	96
11. Bidang pandang pengamatan sel pada perlakuan kontrol (+) / Sampel ke 3.....	97
12. Bidang pandang pengamatan sel pada perlakuan kontrol (-) / Pengulangan ke 1	98
13. Bidang pandang pengamatan sel pada perlakuan kontrol (-) / Pengulangan ke 2.....	99
14. Bidang pandang pengamatan sel pada perlakuan kontrol (-) / Pengulangan ke 3.....	100
15. Bidang pandang pengamatan sel pada perlakuan P1(Rendam) / Pengulangan ke 1	101
16. Bidang pandang pengamatan sel pada perlakuan P1(Rendam) / Pengulangan ke 2.....	102
17. Bidang pandang pengamatan sel pada perlakuan P1(Rendam) / Pengulangan ke 3.....	103
18. Bidang pandang pengamatan sel pada perlakuan P2 (Pakan) / Pengulangan ke 1	104

19. Bidang pandang pengamatan sel pada perlakuan P2 (Pakan) / Pengulangan ke 2	105
20. Bidang pandang pengamatan sel pada perlakuan P2 (Pakan) / Pengulangan ke 3	106
21. Tabel Distribusi <i>t</i> -Student.....	107



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu sumber daya alam hayati yang bernilai ekonomi tinggi dan cukup diminati oleh masyarakat Indonesia adalah udang vannamei. Jenis udang ini memiliki ketahanan tubuh yang lebih tinggi dari pada jenis udang yang lainnya serta dapat beradaptasi pada lingkungan dengan suhu yang rendah dan memiliki toleransi tinggi terhadap kisaran salinitas yang luas. Karena pertumbuhannya yang relatif cepat, udang vannamei ini mulai di budidayakan di Indonesia pada tahun 2000-an yang hasilnya dapat memberikan kontribusi yang besar bagi produksi sektor perikanan di Indonesia. Menurut Felix *et al.*, (2011), Ekspor produksi udang Indonesia pernah mencapai 50% dari seluruh ekspor perikanan pada tahun 2002 dan menempati urutan lima besar dalam komoditas ekspor non migas.

Dalam budidaya udang vannamei, hal utama yang perlu diperhatikan adalah kualitas air dan kualitas pakan. Kedua faktor tersebut sangat mempengaruhi keberhasilan budidaya udang vannamei. Pada prinsipnya, jasad mikro seperti bakteri dan virus merupakan organisme alami yang terdapat pada perairan tambak. Kurangnya perhatian sehingga menyebabkan terjadinya penurunan kualitas perikanan meliputi perubahan temperatur, salinitas, kadar amoniak, serta bahan organik lainnya dan penurunan kualitas pakan dapat menyebabkan udang mengalami stress yang dilanjutkan dengan penurunan sistem imunitas udang sehingga memicu perkembangan berbagai organisme patogen oportunistik seperti bakteri, jamur dan virus terutama *White Spot Virus*.

White Spot Syndrome Virus (WSSV) merupakan suatu penyakit yang akhir-akhir ini menyerang tambak udang vannamei. WSSV merupakan virus yang berbentuk batang (Desrina *et al.*, 2011) menyerupai elips (Pulungan, 2002)

terbungkus dalam satu sampul dan berkembangbiak dalam inti sel target (Depita, 2007). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa perkembangan virus ini terjadi lebih cepat pada musim penghujan karena salinitas dan suhu yang lebih rendah dari pada musim kemarau. Tingkat salinitas terkait erat dengan daya tahan udang terhadap penyakit *White Spot*. Perubahan salinitas yang terjadi secara spontan dapat mengakibatkan stress pada udang sehingga mudah terinfeksi oleh penyakit. Kerusakan pada organ-organ udang yang terserang WSSV meliputi hipertrofi inti (eosinofilik hipertrofi) dan *inclusion bodies cell* atau badan inklusi.

Menurut Mahardika *et al.*, (2004), Virus WSSV merusak lambung, insang, sel epitel, subkutikula, organ lymphoid, *antennal gland* dan *hemocyte*. Kemudian bila diamati secara histopatologi akan tampak adanya degenerasi sel berupa pembesaran pada berbagai jaringan meso dan ektodermal seperti pada lapisan kulit, jaringan penghubung, organ lymphoid, kelenjar antenal, haematopitik, insang dan jaringan syaraf (Wang *et al.*, 1998). Prajitno (2008) menambahkan bahwa penyakit "*White Spot*" dapat menjangar baik secara vertikal dari induk maupun secara horizontal dari petak ke petak sebelahnya dan dapat mematikan udang di seluruh kawasan. Interaksi secara vertikal dan horizontal, yakni benih atau udang yang terinfeksi penyakit secara vertikal dapat menular ke udang lain, begitu sebaliknya.

Secara umum, penularan virus terjadi karena aktivitas replikasi (perbanyak) virus terjadi di dalam nukleus (inti sel). Menurut Pelczar dan Chan (1986), langkah-langkah infeksi virus yaitu pertama virus melakukan pelekatan atau adsorpsi, kemudian virus berpenetrasi untuk melepaskan selubung protein, setelah itu virus melakukan replikasi asam nukleat dan sintesis protein dalam inti sel inang, terakhir pembebasan virion dari suatu sel inang dan pada beberapa infeksi virus sel-sel inangnya melisis.

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 sesuai proses dalam DNA virus serta bisa terjadi pada beberapa bagian sel (Wang *et al.*, 2000 dalam Kilawati dan Win, 2009). Pertumbuhan dan kematangan partikel-partikel virus berada di dalam sitoplasma dari folikel (Lo *et al.*, 1997 dalam Kilawati dan Win, 2009).

Penyakit pada udang ini telah banyak dijelaskan melalui beberapa judul penelitian diantaranya “Differences in virulence between *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) isolates and testing of some control strategies in WSSV infected shrimppada” pada tahun 2007 oleh Muhammad Meezanur Rahmandan. Penelitian berikutnya yaitu “Ekspresi DNA udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang berkaitan dengan prevalensi WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) pada tambak intensif dan semi-intensif di Banyuwangi” pada tahun 2013 oleh Zhunia Anggun Purmawati serta “Kajian prevalensi “*White Spot Syndrome Virus*” (WSSV) pada tambak udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) di Desa Remen, Jenu, Tuban, Jawa Timur pada tahun 2014 oleh Anindyajati Mardika Apsari.

Menurut Saraswati (2013), Udang merupakan hewan yang tidak mempunyai sistem penguat kekebalan. Hal ini menyebabkan antigen maupun penyakit yang masuk kedalam tubuhnya dapat menyerang berkali-kali dan ditanggapi dengan sistem kekebalan yang sederhana. Sehingga pemberian imunostimulan merupakan salah satu solusi yang tepat untuk meningkatkan sistem ketahanan tubuh udang terhadap infeksi WSSV. Penelitian ini dilakukan guna mengeksplorasi rumput laut yang berpotensi sebagai imunostimulan terhadap virus WSSV. Dalam hal ini rumput laut yang digunakan adalah

Sargassum polycystum yang merupakan rumput laut yang mudah ditemui di pantai utara maupun selatan Pulau Jawa.

Sistem pertahanan tubuh udang akan berfungsi bila protein pengenal mengenali lipopolisakarida (LPS) atau peptidoglikan (PG) dari dinding sel mikroorganisme. Kehadiran LPS atau PG akan menstimulasi aktivitas enzim-enzim yang berperan penting dalam sistem pertahanan udang yaitu phenoloksidase (PO) dan prophenoloksidase (proPO). Meningkatnya aktivitas PO dan proPO akan menghasilkan protein faktor opsonin yang merangsang fagositosis hialosit. Oleh karena itu meningkatkan aktivitas enzim-enzim sistem pertahanan udang dapat distimulasi dengan pemberian bahan-bahan dari luar tubuh udang yang dikenal dengan imunostimulan (Saraswati, 2014).

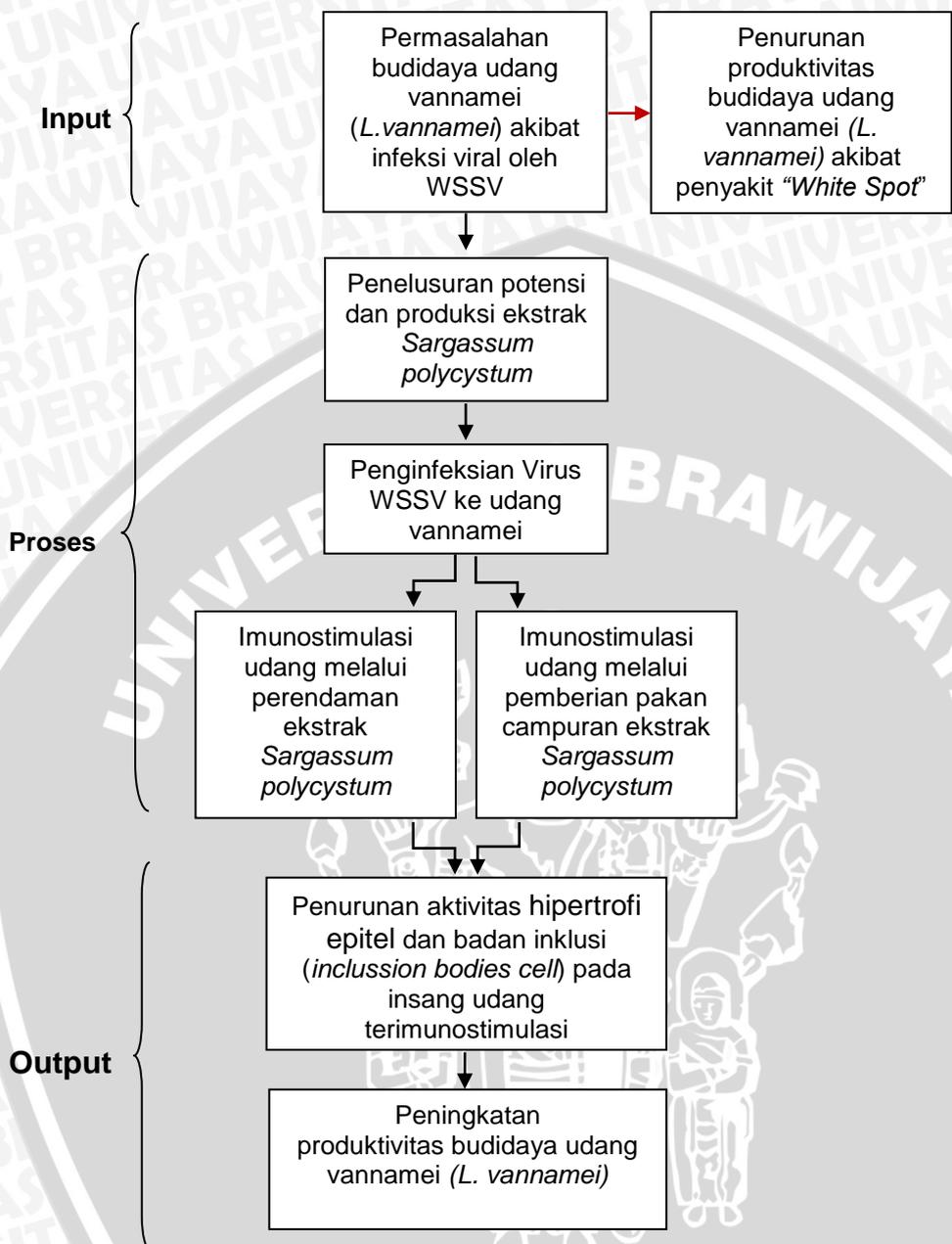
Pemberian imunostimulan terhadap udang dapat mengurangi resiko udang terinfeksi WSSV dengan meningkatkan respon imun non spesifik seperti makrofag. Dalam penelitian ini, imunostimulan dimasukkan ke dalam tubuh udang melalui sistem pencernaan yaitu bersamaan dengan masuknya pelet komersial dan melalui sistem pernafasan yaitu terlarut dalam air yang masuk melalui insang. Imunostimulan yang masuk ke dalam tubuh udang melalui sistem pencernaan akan dicerna oleh enzim-enzim pencernaan dan diserap oleh tubuh udang bersamaan dengan proses pencernaan dan penyerapan nutrisi pada pelet komersial. Sedangkan imunostimulan yang masuk ke dalam tubuh udang melalui sistem pernafasan akan diserap langsung oleh tubuh melalui sel-sel epitel pada lamela-lamela insang bersama dengan penyerapan oksigen terlarut dalam air. Sehingga penyerapan bahan aktif dalam ekstrak *Sargassum polycystum* akan lebih efektif karena langsung diserap oleh tubuh dan tidak melalui mekanisme degradasi oleh enzim-enzim pencernaan.

Kandungan utama dari ekstrak *Sargassum polycystum* adalah alginat yang tersusun atas asam guluronat dan manuronat, dengan ikatan 1,4 β -D-asam

manuronat dan α -L-guluronat (Draget *et al.*, 2005; Donati *et al.*, 2009; Ertesvag *et al.*, 2009). Alginat ini banyak dimanfaatkan dalam industri seperti pewarna tekstil dan juga pembuatan kapsul lunak untuk menurunkan kadar gula dalam darah. Selain itu juga dimanfaatkan sebagai penstabil campuran, dispersi dan emulsi yang berkaitan dengan sifatnya sebagai pembentuk gel dan meningkatkan viskositas seperti selai dan jeli (Sime, 1990; Toft *et al.*, 1986). Dalam penelitian ini akan dilakukan uji coba kemampuan ekstrak *Sargassum polycystum* untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh udang vannamei..

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak *Sargassum polycystum* berpengaruh terhadap aktifitas hipertrofi epitel dan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang terinfeksi WSSV ?
2. Apakah pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* melalui perendaman lebih efektif menurunkan aktifitas hipertrofi epitel dan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang terinfeksi WSSV dari pada melalui pakan ?
3. Senyawa apakah yang terkandung dalam ekstrak *Sargassum polycystum* yang berperan penting meningkatkan sistem kekebalan tubuh udang vannamei terhadap infeksi WSSV ?



Gambar 1. Bagan Alir Rumusan Masalah

- ➔ Dampak infeksi WSSV terhadap budidaya udang vannamei (*L.vannamei*)
- ➔ Alur perbaikan produktivitas budidaya udang vannamei (*L.vannamei*)

Keterangan :

- a. Input. Salah satu produk perikanan yang diminati masyarakat untuk budidaya adalah udang vannamei atau *Litopenaeus vannamei*. Namun, kurangnya perhatian terhadap kualitas air dan pakan dapat menyebabkan udang ini mengalami penurunan sistem imun sehingga mempermudah akses organisme patogen seperti WSSV untuk masuk dan menginfeksi udang tersebut. Infeksi virus ini berdampak buruk pada kualitas udang sehingga dapat menurunkan produktivitas budidaya udang vannamei.
- b. Proses. Penurunan produktivitas budidaya udang vannamei mendorong peneliti untuk mencoba memecahkan permasalahan WSSV dengan cara pemberian suatu imunostimulan dari bahan alami pada dosis tertentu melalui sistem pencernaan (pelet campuran ekstrak *Sargassum polycystum*) dan melalui sistem pernafasan (terlarut dalam air akuarium) untuk memperkuat ketahanan udang terhadap infeksi viral terutama WSSV. Imunostimulan yang digunakan diperoleh dari proses ekstraksi rumput laut *Sargassum polycystum* yang banyak ditemui di pantai utara dan Pulau Jawa khususnya Madura.
- c. Output. Pemberian imunostimulan alami ini diharapkan mampu meningkatkan ketahanan udang vannamei terhadap infeksi WSSV dengan indikator yaitu penurunan aktivitas hipertrofi epitel dan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang. Sehingga hasil penelitian ini dapat diaplikasikan untuk meningkatkan produktivitas budidaya udang vannamei.

1.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas pemberian imunostimulan dari ekstrak rumput laut *Sargassum polycystum* terhadap aktivitas hipertrofi epitel dan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang vannamei yang terinfeksi oleh WSSV (*White Spot Syndrome Virus*).

1.4 Hipotesis

H_0 : Pemberian ekstrak *Sargassum Polycystum* berpengaruh terhadap aktifitas hipertrofi epitel dan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang vannamei yang terinfeksi WSSV.

H_1 : Pemberian ekstrak *Sargassum Polycystum* tidak berpengaruh terhadap aktifitas hipertrofi epitel dan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang vannamei yang terinfeksi WSSV.

1.5 Kegunaan

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi pihak yang bersangkutan antara lain :

1. Pemerintah, dapat digunakan sebagai sumber informasi pendukung dan bahan pertimbangan perumusan kebijakan dalam rangka perbaikan komoditas udang vannamei.
2. Pembudidaya udang vannamei, dapat dijadikan sumber informasi ilmiah yang digunakan untuk dasar pertimbangan dalam manajemen kualitas air.
3. Mahasiswa atau kaum intelektual, sebagai sarana pembelajaran dalam memecahkan permasalahan yang terjadi di lingkungan masyarakat dengan menerapkan teori yang di dapat selama berada di bangku perkuliahan.

1.6 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret - Mei 2015. Lokasi pengambilan rumput laut *Sargassum polycystum* di perairan Sumenep, Pulau Madura. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya dan uji pengaruh ekstraksi rumput laut *Sargassum polycystum* terhadap udang *L. vannamei* dilakukan di UPT Pengembangan Budidaya Air Payau (PBAP) Bangil, Jawa Timur. Sedangkan preparasi histologi dan pemeriksaan jenis kerusakan jaringan dikerjakan di Laboratorium Anatomi dan Histopatologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*)

Udang vannamei merupakan udang introduksi. Habitat asli udang ini adalah di perairan pantai laut Amerika Latin. Kemudian diimpor oleh negara pembudidaya udang di Asia seperti Cina, India dan Thailand (Nuhman, 2009).

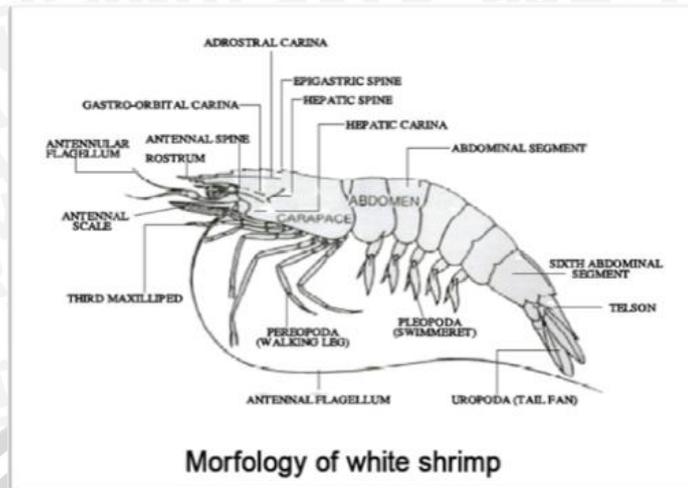
2.1.1 Klasifikasi

Menurut Amri dan Kanna (2008), penggolongan udang vannamei secara lengkap berdasarkan ilmu taksonomi hewan (sistem pengelompokan hewan berdasarkan bentuk tubuh dan sifat-sifatnya) dipaparkan sebagai berikut :

Filum	: Arthropoda
Kelas	: Crustacea
Ordo	: Decapoda
Famili	: Penaidae
Genus	: Litopenaeus
Species	: <i>Litopenaeus vannamei</i>
Nama Lokal	: Udang vannamei, udang kaki putih, udang putih Amerika

2.1.2 Morfologi Udang Vannamei

Menurut Sutrisno *et al.*, (2010), *Litopenaeus vannamei* merupakan krustasea yang tergolong dalam ordo decapoda seperti halnya lobster dan kepiting. Kata decapoda berasal dari kata deca = 10, poda = kaki, sehingga tak heran jika hewan yang tergabung dalam ordo ini memiliki 10 kaki. Hewan ini juga memiliki kerapas yang berkembang menutupi bagian kepala dan dada menjadi satu (*cephalothorax*). Berikut ini merupakan gambaran skematis morfologi udang vannamei.



Gambar 2. Morfologi Udang Vannamei (Ramxel, 2010)

Pada kelas krustasea terdapat istilah “*metamere*” dan “*body segment*” yang digunakan untuk menyatakan pembentukan tubuh. Krustasea memiliki kulit (cangkang) yang keras disebabkan adanya endapan kalsium karbonat (CaCO_3) pada kutikula (Destralina, 2004). Bagian tubuh udang vannamei terdiri dari kepala (thorax) dan perut (abdomen) (Yuniasari, 2009). Kepala terdiri dari antenula, antena, mandibula dan 2 pasang maxilla. Kepala udang vannamei juga dilengkapi dengan 3 pasang maxilliped dan 5 pasang kaki berjalan (periopoda) atau kaki sepuluh (dekapoda). Abdomen (perut) terdiri dari 6 ruas, terdapat 5 pasang kaki renang dan sepasang uropod (mirip ekor) yang membentuk kipas bersama-sama ekor (telson) (Pradikta, 2010).

2.1.3 Fisiologi Udang Vannamei

2.1.3.1 Sistem Imun

Imunitas adalah resistensi terhadap penyakit terutama penyakit infeksi. Sedangkan sistem imun merupakan gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi (Baratawidjaja, 2006 *dalam* Jasmanindar, 2008). Sistem imun udang vannamei sama seperti sistem imun pada krustasea (avertebrata) (Ratcliffe, 1985 *dalam* Jasmanindar, 2008). Sistem

kekebalan tubuh udang terdiri dari 2 komponen utama yaitu mekanisme kekebalan non-spesifik dan spesifik. Sistem imun non-spesifik merupakan sistem imun yang bertanggung jawab terhadap kekebalan alami yang dimiliki hewan terhadap sebagian mikroorganisme yang berasal dari lingkungan (Obart and Mc Connell, 1975 *dalam* Wahjuningrum *et al.*, 2006).

Lapisan kutikula merupakan organ pertahanan pertama dalam melawan patogen dan kerusakan fisik. Kutikula terdiri dari lipid, protein dan kalsium yang menutupi insang, esofagus, abdomen dan midgut, kecuali pada bagian midgut tidak memiliki lapisan pelindung kutikula (Alday-Sanz, 1995 *dalam* Depita, 2004). Udang mempunyai sistem kekebalan yang primitif dibandingkan dengan vertebrata lain. Mereka tidak mempunyai imunoglobulin dan T-limfosit yang dapat mendeteksi respon (Alday-Sanz, 1995 *dalam* Rahmawati, 2002) benda asing yang masuk, tetapi udang memiliki suatu respon imunitas yang merupakan upaya proyeksi terhadap infeksi maupun preservasi fisiologi homeostasis. Karenanya, memori spesifik dan pengenalan zat asing merupakan dasar mekanisme respon imunitas pada udang (Mori, 1990 *dalam* Priatni, 2003).

Respon imunitas dibentuk oleh jaringan limfoid yang menyatu dengan jaringan mieloid, sehingga dikenal sebagai jaringan limfomielioid (Corbel, 1975 dan Itami, 1994 *dalam* Priatni, 2003). Produk jaringan limfomielioid adalah sel-sel darah dan merupakan respon imunitas seluler maupun humoral. Selain respon humoral, respon seluler juga merupakan aktivitas pertahanan pertama udang (Priatni, 2003). Hemosit (sel darah) merupakan respon imun non-spesifik yang digunakan untuk menangkap patogen sedangkan fagositosis bertugas untuk mencerna patogen yang ditangkap oleh hemosit (sel darah) (Jasmanindar, 2008). Pada tubuh udang terdapat molekul-molekul yang dapat mengaglutinasi sel-sel tertentu yang terdapat pada bakteri, menghancurkan sel-sel asing dan lain-lain (Bang, 1974 *dalam* Angelica, 2004).

Udang vannamei tidak memiliki sistem penguat kekebalan, sehingga penyakit yang sama dapat menyerang berkali-kali dan dihadapi dengan sistem kekebalan sederhana atau tidak dilawan sama sekali. Kemungkinan udang tidak bisa membuang virus sehingga memiliki sistem penampungan virus (Flegel dan Pasharawipas, 1998 dalam Soetrisno, 2004). Udang membersihkan penyakit bakterial dan viral di kantung pembersihan ("Lymphoid Organ Spheroid"-LOS) yang hanya akan berkembang bila udang tersebut sebelumnya sudah terpapar bakteri maupun virus (Anggraeni dan Owens, 2002 dalam Soetrisno, 2004).

2.1.3.2 Tingkah Laku

Menurut Haliman dan Adijaya (2005) dalam Pradikta (2010), sifat-sifat penting udang vannamei yaitu, aktif pada kondisi gelap (nokturnal), dapat hidup pada kisaran salinitas lebar (*euryhaline*), suka memangsa sesama jenis (*kanibal*), tipe pemakan lambat tetapi terus-menerus (*continous feeder*), menyukai hidup di dasar tambak (bentik) dan mencari makan lewat organ sensor (*kemoreseptor*). Darmono (1993) dalam Nuhman (2009) menambahkan udang vannamei juga mempunyai sifat mencari makan pada siang hari (*diurnal*) dan sangat rakus. Udang vannamei digolongkan kedalam hewan pemakan segala macam bangkai (*omnivorous scavenger*) atau pemakan detritus. Penaeid di alam adalah karnivora yang memakan krustasea kecil, amfipoda dan polychaeta.

2.1.3.3 Pertumbuhan

Menurut Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan (2011), kecepatan tumbuh pada udang dipengaruhi 2 faktor, yaitu frekuensi *molting* (ganti kulit) dan kenaikan berat tubuh setelah setiap kali ganti kulit. Karena daging tubuh tertutup oleh kulit yang keras, secara periodik kulit keras itu akan lepas dan diganti dengan kulit baru yang semula lunak untuk beberapa jam, memberi kesempatan daging untuk bertambah besar, lalu kulit menjadi keras kembali.

2.1.3.4 Pakan dan Kebiasaan Makan

Menurut Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan (2011), semula udang *Penaeid* dikenal sebagai hewan bersifat *omnivorous-scavenger* artinya ia pemakan segala bahan makanan dan sekaligus juga pemakan bangkai. Namun penelitian selanjutnya dengan cara memeriksa isi usus, mengindikasikan bahwa udang *penaeid* bersifat karnivora yang memangsa berbagai krustasea renek amphipoda, dan polychaeta (cacing).

Udang vannamei bersifat nokturnal. Sering ditemukan udang vannamei memendamkan diri dalam lumpur/pasir dalam dasar kolam bila siang hari, dan tidak mencari makanan. Akan tetapi pada kolam budidaya jika siang hari diberi pakan maka udang vannamei akan bergerak untuk mencarinya, ini berarti sifat nokturnal tidak mutlak.

2.1.4 Penyebaran

Menurut Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan (2011), daerah penyebaran alami udang vannamei ialah Pantai lautan Pasifik sebelah barat Meksiko, Amerika Tengah dan Amerika Selatan dimana suhu air laut sekitar 20°C sepanjang tahun. Sekarang udang vannamei telah menyebar, karena diperkenalkan diberbagai belahan dunia karena sifatnya yang relatif mudah dibudidayakan, termasuk Indonesia.

2.1.5 Ciri-Ciri Udang Yang Terserang Virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*)

Menurut Triwahyudi (2012), berikut ini adalah ciri-ciri udang sehat :

- Pergerakan udang aktif : pengamatan kita lakukan pada pagi ataupun malam hari, pada kondisi normal udang vannamei hidup di kolam air. Apabila ditemukan udang menempel di dinding tambak, berenang tanpa arah atau ada gejala-gejala lain di luar

kondisi normalnya, besar kemungkinan udang bermasalah. Pemberian pakan pada malam hari menggunakan lampu senter (lampu sorot) untuk melihat kondisi udang. Udang yang sehat bila terkena lampu senter akan segera menjauh dari sumber cahaya dan matanya akan memantulkan sinar merah. Udang yang sakit memerlukan waktu lebih lama untuk menghindari dari sumber cahaya dan matanya memantulkan cahaya yang redup. Udang sakit akan naik dan berenang dekat permukaan air pada pinggiran tambak.

- Anggota tubuh lengkap dan utuh : Pengamatan dilakukan melalui anco atau jala meliputi kelengkapan antena, rostrum, kaki maupun ekor.
- Bentuk tubuh proporsional : Udang yang sehat mempunyai bentuk yang proporsional, pada udang yang tidak normal biasanya kepala melebihi standart dibanding kepala udang pada umumnya.
- Warna kulit cerah dan bersih : Udang yang sehat mempunyai kulit yang berwarna cerah dan bersih.
- Insang berwarna cerah dan bersih : Udang yang sehat mempunyai insang yang cerah dan bersih.
- Isi usus penuh tidak terputus-putus : Udang dipegang dan diterawang kemudian diamati kondisi usus udang 1-2 jam setelah pemberian pakan. Udang yang sehat, ususnya terlihat penuh dan berwarna kecoklatan.
- Ekor utuh : Udang yang sehat jika dipegang mudah membuka dan mengibas ekornya.

- Kotoran udang panjang-panjang : Udang yang sehat akan mengeluarkan kotoran berwarna kecoklatan, padat dan panjang-panjang.

Sudha *et al.*, (1998) dalam Yanto (2006), menyatakan bahwa udang yang terinfeksi WSSV akan mengalami perubahan tingkah laku yaitu menurunnya aktivitas berenang, berenang tidak terarah, dan sering kali berenang pada salah satu sisinya saja. Selain itu udang cenderung bergerombol di tepi tambak dan berenang ke permukaan. Pada fase akut terdapat bercak-bercak putih pada karapas dengan diameter 0,5-3,0 mm (Mahardika *et al.*, 2004 dalam Yanto, 2006), dan bercak putih ini pertama kali muncul pada cephalothorax, segmen ke 5 dan ke 5 dari abdominal dan terakhir menyebar ke seluruh kutikula tubuhnya (Wang *et al.*, 2004 dalam Yanto, 2006). Pada induk udang warna tubuh menjadi merah (Mahardika *et al.*, 2004 dalam Yanto, 2006). Udang terserang penyakit WSSV dalam waktu singkat udang dapat mengalami kematian (Departemen Kelautan dan Perikanan, 2004 dalam Yanto, 2006).

2.2 Virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*)

White Spot Syndrome Virus (WSSV) adalah salah satu jenis penyakit yang menyerang spesies udang yang dibudidayakan dan jenis crustacea yang lainnya. Pada tambak udang, virus ini dapat mengakibatkan total kematian 100% pada 2 sampai 10 hari penyerangan (Wang *et al.*, 2007 dalam Kilawati dan Darmanto, 2009).

Penyakit bercak putih, atau yang lebih sering dikenal sebagai penyakit *White Spot* merupakan virus yang paling ditakuti petambak udang, karena virus inilah diduga sebagai penyebab hancurnya budidaya udang. Selain menyerang berbagai spesies udang, penyakit ini juga menyerang semua stadium/ukuran udang, sehingga tidak mengherankan bila angka kematian yang diakibatkan

sangat tinggi yaitu bisa mencapai 100%. Penyakit *White Spot Syndrome* disebabkan oleh *White Spot Syndrome Virus* yang merupakan virus golongan DNA (dsDNA) berbentuk silindris besar berukuran 275x83 nm yang termasuk dalam, famili Nimaviridae (Prajitno, 2008).

Penyakit white spot merupakan penyakit yang menyebabkan kegagalan panen dengan morbiditas dan mortalitas tinggi mencapai 100%. Penyakit ini dapat berjangkit baik di pembenihan maupun di tambak pembesaran. Di Indonesia, penelitian mengenai penyakit white spot ini belum banyak dilakukan baik dalam aspek biologi maupun penularan, perkembangan infeksi serta sifat virus white spot. Informasi yang diperoleh ini merupakan dasar untuk aspek diagnostik klinik dan pengendalian infeksi (Alifuddin *et al.*, 2003). Menurut Kou *et al.*, (1996), bintik putih adalah salah satu penyakit yang menyerang udang. Penyakit ini mempengaruhi sebagian besar komersil udang. Tanda-tanda bintik putih di bagian eksoskeleton dan epidermis, warna kemerahan di tubuh, pergerakan udang di tepi kolam dan berkurang nafsu makan udang.

2.2.1 Klasifikasi WSSV

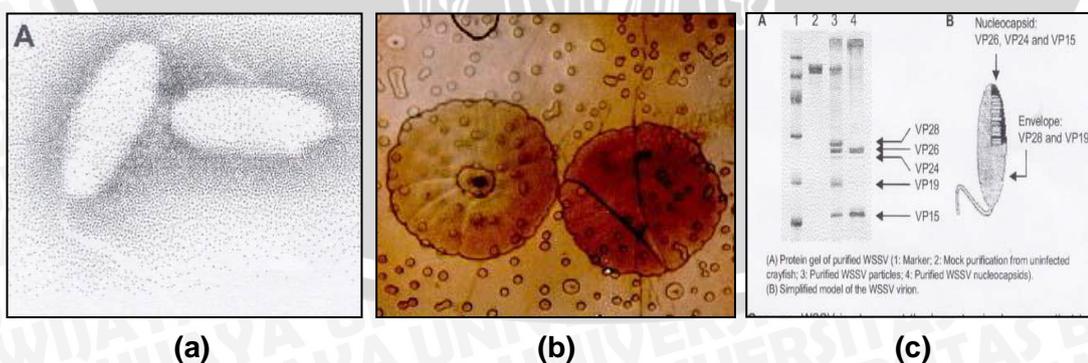
White Spot Syndrome Virus (WSSV) ini disebut juga dengan nama "Systemic Ectodermal and Mesodermal Baculovirus" (SEMBV) (Wang *et al.*, 1995 dalam Firmansyah, 2002). Dari empat keluarga virus yang bersampul (Poxviridae, Herpesviridae, Baculoviridae dan Plasmaviridae), hanya Baculoviridae yang menginfeksi Krustasea (Mathews, 1917 dalam Pulungan, 2002). WSSV termasuk dalam keluarga Baculoviridae dan virus DNA beruntai ganda, terbagi dalam tiga subgroup yaitu virus polihedral, virus granulosis dan virus yang tidak mengandung badan inklusi (Lightner, 1996 dalam Depita, 2004)

Subgroup A, merupakan virus polihedral yang berkembang baik di dalam inti sel dan membentuk badan inklusi, yang didalamnya banyak mengandung

partikel virus. Subgroup B mengandung satu partikel virus pada tiap-tiap badan inklusinya sedangkan subgroup C tidak mengandung badan inklusi. Berdasarkan morfologi, ukuran, perkembangbiakan dan patologi, WSSV digolongkan di dalam genus Baculovirus C (Wang *et al.*, 1995 dalam Angelica, 2004).

2.2.2 Ciri Morfologi

WSSV termasuk virus berbahan genetik DNA dan non-occluded virus (Arifin *et al.*, 2007) yang berbentuk batang besar (Desrina *et al.*, 2011) bulat (Priatin, 2003), menyerupai elips (Rod-Shapes) (Wang *et al.*, 1995 dalam Pulungan, 2002), terbungkus dalam satu sampul dan berkembang biak dalam inti sel target (Wang *et al.*, 1995 dalam Depita, 2004). Memiliki badan inklusi (Wang *et al.*, 1995 dalam Pulungan, 2002) dan merupakan virus DNA bersekat rangkap dengan partikel virus mengandung polypeptida. Salah satu atau lebih nukleokapsid (Depita, 2004) berbentuk silindris yang memiliki cincin-cincin melingkar pada suatu poros (Wang *et al.*, 1995 dalam Pulungan, 2002) dan berbadan inklusi. Kapsid virus ini terdiri dari sub unit cincin yang tersusun bertumpuk, cincin tegak lurus dan membujur pada bagian kapsid (Wang *et al.*, 1995 dalam Firmansyah, 2002).



Gambar 3. Virus penyebab penyakit bercak putih (a) ciri morfologis virus pemotretan dengan scanning mikroskopi, (b) gambar mikroskopi bercak dan (c) komponen virus (Arifin *et al.*, 2007).

Komponen penyusun WSSV terdiri dari 2 jenis protein yang mempunyai berat molekul masing-masing 19 kDA, 23,5 kDA dan 27,5 kDA (Cesar *et al.*, 1998 *dalam* Firmansyah, 2002). WSSV berukuran 100 nm x 200 nm (Sunarto *et al.*, 2003 *dalam* Destralina, 2004). Partikel utuh dari virion dapat mencapai panjang 275 nm dan lebar mencapai 120 nm (Vlak *et al.*, 2002 *dalam* Angelica, 2004). Terdiri dari minimal 2 polipeptida dan mempunyai tiga lapis selaput (envelope) yang melindungi inti (nucleocapsid) (Sunarto *et al.*, 2003 *dalam* Destralina, 2004). Bentuk seperti tongkat dengan kapsid yang diselubungi oleh sampul (Vlak *et al.*, 2002 *dalam* Angelica, 2004) Trilaminar (Priatni, 2003). Karena virus ini memiliki tiga selaput maka virus ini mampu bertahan selama enam hari di dalam tubuh udang dan mampu bertahan dua hari di luar tubuh inangnya, misalnya di air tambak (Sunarto *et al.*, 2003 *dalam* Destralina, 2004).

2.2.3 Patogenitas

WSSV adalah penyakit viral yang sangat virulen dengan menyerang berbagai jenis udang (Lightner, 1996 *dalam* haliman, 2004) dan dapat dengan mudah menular dari sebuah tambak ke tambak lain yang bersisian, berbatasan pematang dan memiliki saluran pembuangan atau pemasukan yang sama (Arifin *et al.*, 2007). WSSV menyerang udang yang besar lebih dahulu sedangkan yang kecil atau sedang lebih tahan (Hendrajat *et al.*, 2010). Kematian akibat WSSV hampir selalu terjadi setelah udang dipelihara 30 hari, hal ini diakibatkan oleh penyakit yang semakin banyak, kekebalan udang menurun dengan membesarnya ukuran, kanibalisme yang semakin tinggi serta stress abiotik dan biotik yang semakin kerap atau intensif. Semakin bertambahnya usia pemeliharaan akan semakin banyak sisa pakan dan akan semakin memperburuk kualitas air dan membuat stress udang yang dipelihara (Soetrisno, 2004).

Virus bereplikasi untuk memperbanyak dirinya di dalam nukleus (inti sel) (Lightner, 1996 *dalam* Priatni, 2003). Langkah-langkah infeksi virus yaitu pertama virus melakukan pelekatan atau adsorpsi, kemudian virus berpenetrasi untuk melepaskan selubung protein, setelah itu virus melakukan replikasi asam nukleat dan sintesis protein dalam inti sel inang, terakhir pembebasan virion dari suatu sel inang dan pada beberapa infeksi virus sel-sel inangnya melisis (Pelczar dan Chan, 1986 *dalam* Pulungan, 2002).

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 sesuai proses dalam DNA virus serta bisa terjadi pada beberapa bagian sel (Wang *et al.*, 2000 *dalam* Kilawati dan Win, 2009). Pertumbuhan dan kematangan partikel-partikel virus, berada di dalam sitoplasma dari folikel (Lo *et al.*, 1997 *dalam* Kilawati dan Win, 2009).

Organ target utama WSSV adalah epitel kulit (kutikula) dan jaringan ikat. Virus paling berat menginfeksi perut, insang, sel epitel subkutikula, organ limfoid, kelenjar antenna dan hemosit. Cenderung menginfeksi dengan frekuensi yang kecil pada hepatopankreas, kelenjar epitel antenna, sel organ limfoid, syaraf, sel hematopoitik dan fagosit pada hati (Lightner, 1996 *dalam* Priatni, 2003). Organ yang juga diserang oleh virus "*white spot*" ini adalah sel-sel epidermal dan mesodermal seperti usus (pencernaan), sel epitel insang, sel mata udang, sel epidermis pada alat gerak (kaki), sel epidermis kulit atau kutikula dan sel hepatopankreas (Madeali *et al.*, 1998 *dalam* Angelica, 2004). Selain itu, WSSV juga menyerang bagian hemolim (sel darah) (Techner, 1995 *dalam* Angelica, 2004) serta menyerang bagian dalam nukleus sel (Bower, 1996 *dalam* Angelica, 2004).

WSSV dapat menginfeksi insang yang mengakibatkan pembengkakan inti sel epitel insang sehingga fungsinya terganggu dan mengalami kesulitan dalam penyerapan oksigen (Kang, 1995 *dalam* Angelica, 2004). Pada inti sel epitel terlihat jajaran WSSV berwarna hitam (Priatni, 2003) dan inti sel akan membengkak sehingga menekan cairan sel sampai melebihi elastisitas dinding sel yang akhirnya sel pecah. Udang yang terinfeksi, terjadi perubahan seluler sehingga terjadi pembengkakan inti sel (hipertrofi) yang disebabkan oleh perkembangan dan penumpukan virion WSSV dalam inti sel (Moore and Poss, 1999 *dalam* Angelica, 2004).

2.2.4 Penyebaran dan Agenia

WSSV dapat menjangkit di kolam pembenihan maupun di tambak pembesaran (Arifin *et al.*, 2007). Penularan secara vertikal (Arifin *et al.*, 2007) melalui induk menularkan ke larvanya (Kasornchandra *et al.*, 2002 *dalam* Nurhidayah *et al.*, 2013). Transmisi secara horizontal terjadi apabila udang terinfeksi virus bukan disebabkan oleh faktor keturunan melainkan pengaruh lingkungan (Sukenda, 2009). Organisme penular (*carrier*) secara horizontal dapat berupa rebon ("*Mysid shrimp*"), udang putih, kepiting, wideng, udang windu (Arifin *et al.*, 2007). Selain itu, dapat pula melalui air yang tidak disucihamakan ("*waterborne transmission*"), kotoran udang yang terinfeksi, pemangsaan udang terinfeksi dan makanan alami atau segar sejenis Krustasea. Kanibalisme mempercepat penularan penyakit ini karena udang yang lemah dan sakit akan dimakan udang lain, udang tersebut kemudian akan terinfeksi WSSV, akhirnya terjadi kontaminasi virus secara beruntun (Techner, 1995 *dalam* Priatni, 2003).

Krustasea bentik serta fauna lainnya dapat mentransmisikan virus melalui jalan pakan yang berbeda seperti melalui "*filter feeding*", "*detritus feeding*" dan pemangsaan. Virus-virus juga dapat melalui saluran pencernaan dari

Invertebrata lainnya dan menetap di saluran alimentari, yang secara potensial membuat hewan tersebut menjadi *carrier* pasif atau vektor dari virus. Ketika *carrier* pasif ini dikonsumsi oleh udang, maka mereka secara potensial dapat menginfeksi udang, karenanya jalan masuk dari patogen WSSV menuju ke induk udang di hatchery melalui pemberian pakan (Prastowo *et al.*, 2009).

2.2.5 Habitat dan Lingkungan Hidup

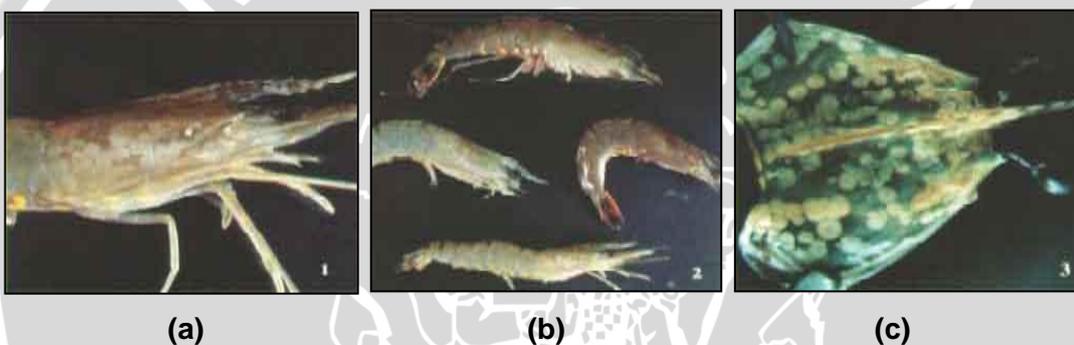
Munculnya penyakit udang pada umumnya merupakan hasil interaksi yang kompleks antara 3 (tiga) komponen dalam ekosistem perairan yaitu inang (udang) yang lemah, patogen yang ganas dan kualitas lingkungan yang memburuk. Timbulnya penyakit pada organisme perairan akibat interaksi yang tidak sesuai antar organisme, kondisi lingkungan (abiotik) dan patogen. Interaksi yang tidak serasi ini menyebabkan stress pada organisme sehingga mekanisme pertahanan dirinya menjadi lemah dan akhirnya mudah terserang penyakit. Jika kesehatan udang menurun atau kondisi lingkungan kurang mendukung, maka udang mengalami stress, sehingga patogen dapat menginfeksi udang tersebut (Flagel dan Fegan, 1995 *dalam* Priatni 2003). WSSV menginfeksi udang yang dipelihara pada berbagai tingkat budidaya. Biasanya virus ini menginfeksi post larva yang menjadi target utamanya (Chanratchakool, 1998 *dalam* Priatni, 2003).

2.2.6 Gejala Klinis

Udang yang terserang WSSV menunjukkan tanda bercak putih di seluruh tubuhnya, dari karapas hingga pangkal ekor. Terlihat lemah, berenang ke tepi, mati dan udang juga berlumut (Arifin *et al.*, 2007). Nafsu makan kurang, bagian abdomen berwarna kemerahan (akibat dari perkembangan kromatofor pada kutikula), warna hepatopankreas berubah dari warna merah muda menjadi merah kecoklatan dan lepasnya kutikula dari tubuh. Bintik putih mulai terlihat di bagian dalam karapas pada akhir fase infeksi dengan diameter 0,5 s/d 2 nm

yang disebabkan oleh tidak normalnya deposit garam kalsium oleh kutikula. Bila dilihat dengan mikroskop, sel pada lapisan epidermis kulit udang membengkak (Lightner, 1996 *dalam* Angelica, 2004) terlihat titik-titik warna hitam pekat.

Pada gejala yang lebih parah akan membengkak dan menekan cairan inti sel. Karena kelebihan muatan dalam inti sel maka toleransi elastisitas dinding inti sel akan hilang dan pecah. Selain terlihat di dalam kulit dapat pula menginfeksi insang, usus, mata dan bagian tubuh lainnya (Kang, 1995 *dalam* pulungan, 2002). Gejala klinis udang yang terserang WSSV dapat dilihat di gambar 3 dibawah ini.



Gambar 4. Morfologi udang yang terinfeksi "White Spot Syndrome Virus" (WSSV) (Lightner dalam Soetrisno, 2004)

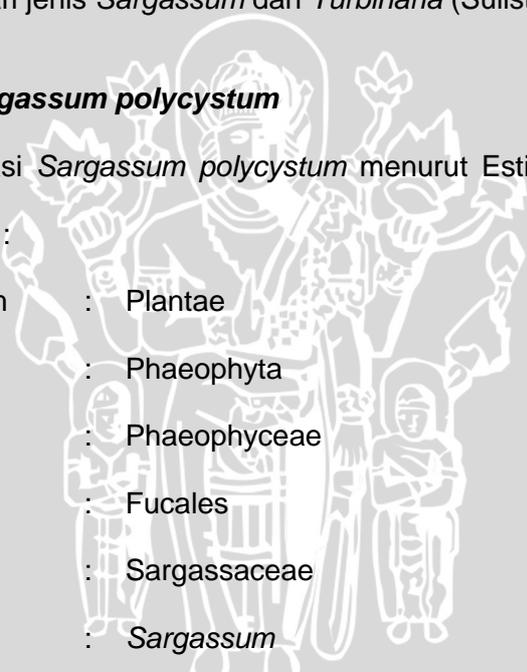
Terdapat kerusakan pada antena dan antenula (organ pendeteksi makanan) (Jory, 1999 *dalam* Angelica, 2004), terlihat perubahan warna menjadi agak kemerahan pada uropod, telson, pereopod dan pleopod (Bower, 1996 *dalam* Angelica, 2004). Soetrisno (2004) menambahkan udang akan berwarna merah sakit dan bertubuh lunak namun ada beberapa yang tubuhnya masih keras. Pada hari-hari terakhir banyak bintik putih pada bagian dalam kulit dengan permukaan kulit yang tetap halus.

2.3 *Sargassum polycystum*

Salah satu sumber daya hayati yang cukup potensial dari perairan laut Indonesia adalah rumput laut dengan berbagai macam jenisnya. Rumput laut merupakan bagian dari tanaman perairan yang termasuk dalam kelas makroalga (Costa 2003). Rumput laut *Sargassum polycystum* merupakan tumbuhan kosmopolitan yang dijumpai tumbuh di perairan karang dan pantai. *Sargassum* adalah rumput laut penghasil alginofit yang dapat dijadikan sumber industri alginat. Di pasar dunia, rumput laut alginofit diperoleh dari kelp yang merupakan rumput laut dari daerah subtropis, sedangkan di perairan Indonesia hanya mempunyai alginofit dari jenis *Sargassum* dan *Turbinaria* (Sulistijo 2002).

2.3.1 Klasifikasi *Sargassum polycystum*

Klasifikasi *Sargassum polycystum* menurut Estiati (1995) adalah sebagai berikut :



Kingdom	: Plantae
Divisio	: Phaeophyta
Classis	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Family	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum polycystum</i>

2.3.2 Morfologi *Sargassum polycystum*

Menurut Tjondro Ciri-ciri umum dari marga ini adalah bentuk *thallus* umumnya silindris atau gepeng, cabangnya rimbun menyerupai pohon di darat, bentuk daun melebar, lonjong, atau seperti pedang, mempunyai gelembung udara (*bladder*) yang umumnya soliter, panjang umumnya mencapai 7 meter (di Indonesia terdapat 3 spesies yang panjangnya 3 meter), warna *thallus* umumnya

coklat (Aslan, 1999). *Sargassum polycystum* biasanya dicirikan oleh tiga sifat yaitu adanya pigmen coklat yang menutupi warna hijau, hasil fotosintesis terhimpun dalam bentuk laminaran dan algin serta adanya *flagel* (Tjondronegoro *et al.*, 1989).



Gambar 5. *Sargassum polycystum* (Google image, 2015)

2.3.3 Alginat *Sargassum polycystum*

Sargassum tersebar luas di Indonesia, tumbuh di perairan yang terlindung maupun yang berombak besar pada habitat batu. Di Kepulauan Seribu (Jakarta) alga ini biasa disebut oseng. Zat yang dapat diekstraksi dari alga ini berupa alginat yaitu suatu garam dari asam alginik yang mengandung ion sodium, kalsium dan barium (Aslan, 1999).

Pada umumnya *Sargassum* tumbuh di daerah terumbu karang (*coral reef*) seperti di Kepulauan Seribu, terutama di daerah ratahan pasir (*sand flat*). Daerah ini akan kering pada saat surut rendah, mempunyai dasar berpasir, secara sporadis terdapat pula pada karang hidup atau mati. Pada batu-batu ini tumbuh dan melekat rumput laut coklat (Atmadja dan Soelistijo, 1988).

Alginat merupakan kandungan utama dari dinding sel alginofit yang tersusun atas asam guluronat dan manuronat, dengan ikatan 1,4 β -D-asam

manuronat dan α -L-gulononat (Draget *et al.*, 2005: Donati *et al.*, 2009: Ertesvag *et al.*, 2009). Kandungan alginat dari rumput laut coklat bervariasi tergantung dari jenis, kondisi lingkungan, musim saat panen, metode ekstraksi yang digunakan, serta dipengaruhi oleh bagian tanaman dari rumput laut coklat yang di ekstraksi (Draget *et al.*, 2005: Mirshafiey *et al.*, 2009). Alginat digunakan untuk menstabilkan campuran, dispersi dan emulsi yang berkaitan dengan sifatnya sebagai pembentuk gel dan meningkatkan viskositas seperti selai dan jeli (Sime, 1990: Toft *et al.*, 1986). Dalam industri tekstil, alginat digunakan sebagai zat tambahan pewarna tekstil. Alginat juga digunakan dalam pembuatan kapsul lunak dan dikonsumsi sebagai minuman untuk menurunkan kadar gula dalam darah (Mc Cormick, 2001). Penelitian ini dilakukan untuk menggali potensi polisakarida yang terkandung dalam alginat dari rumput laut jenis *Sargassum polycystum* sebagai imunostimulan untuk meningkatkan sistem imun udang terhadap penyakit "white spot".

Analisa sifat kimia, fisika dan fungsional alginat yang umumnya meliputi analisa kadar air, kadar abu, kemurnian alginat, kadar Pb dan Hg, rendemen, viskositas, kecerahan serta uji gugus fungsi. Menurut Mushollaeni (2011), jenis rumput laut yang mempunyai habitat terikat pada cekungan yang selalu tergenang air laut mempunyai kadar air yang lebih tinggi daripada yang berada di daerah pasang surut. Selain itu luas permukaan yang semakin besar mengakibatkan mudahnya tepung natrium alginat untuk menyerap air. Sehingga dalam penyimpanannya harus diberi bahan penyerap air. Kadar abu yang ada dalam natrium alginat yang diekstrak menunjukkan adanya garam-garam mineral. Menurut Salasa (2002), komposisi garam-garam mineral dari rumput laut tergantung dari jenis, umur serta kondisi hidrologi dan hidro-kimiawi tempat hidup rumput laut tersebut. Jenis rumput laut coklat yang lebih banyak tidak bersentuhan dengan dasar pantai memiliki kadar abu yang lebih rendah. Kadar

abu ini merupakan garam-garam anorganik yang tidak larut dalam air berkisar antara 15-85%, sedangkan yang larut dalam air berkisar 75-85%. Menurut Truss *et al.*, (2001), komposisi terbanyak dari garam-garam mineral tersebut adalah senyawa halogen (Br dan I), juga senyawa sodium dan klorin dalam jumlah yang relatif rendah. Taylor (1979) menambahkan bahwa pada permukaan rumput laut banyak terdapat garam kalsium yang dapat meningkatkan jumlah mineral dan kadar abu alginat.

Sifat lain dari rumput laut adalah kemurnian alginat. Alginofit seperti *Sargassum* yang habitatnya lebih banyak terkena ombak dan hidup dengan akar yang melekat kuat dengan substrat serta rumpun yang memiliki ukuran lebih tinggi cenderung mengandung kadar alginat yang lebih banyak. Menurut Winarno (1996), syarat kemurnian alginat adalah 17-33%. Menurut Ertesvag *et al.*, (2009), jenis *Sargassum* memiliki kadar poliguluronat dan viskositas yang lebih tinggi dari pada jenis lain. Natrium alginat yang diekstrak seringkali mengandung bahan-bahan anorganik dan logam berat seperti Pb dan Hg. Menurut Truss *et al.*, (2001), rumput laut coklat mengandung logam Hg dalam jumlah *trace*. Kadar Pb dan Hg yang ditetapkan menurut FCC adalah <10 dan <40 ppm. Jumlah daun menentukan kadar alginat yang ada, karena di dalam daun terdapat alginat yang lebih banyak dari pada batang dan akar. Kondisi ini memungkinkan kandungan alginat lebih banyak (Atmadja, 1996).

2.4 Imunostimulan

imunostimulasi merupakan suatu strategi untuk menyiagakan atau menyiapkan sistem pertahanan (imun) udang sehingga meningkatkan resistensinya dalam melawan patogen, seperti bakteri, virus, parasit, ataupun organisme berbahaya lainnya. Smith *et al.*, (2003) menggunakan kata imunostimulan sebagai setiap zat yang digunakan dalam budidaya dengan

maksud untuk meningkatkan reaktifitas kekebalan tubuh dan meningkatkan resistensi terhadap atau kelangsungan hidup setelah infeksi oleh mikroorganisme berbahaya.

Imunostimulan merupakan senyawa biologis, sintesis atau bahan lainnya yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh non spesifik (Anderson, 2004). Kekebalan non spesifik memegang peranan yang lebih banyak pada hewan tingkat rendah seperti ikan dan hewan air (Bellanti *et al.*, 1993). Imunostimulan meningkatkan sistem kekebalan tubuh dengan meningkatkan sel-sel fagositosis. Sel-sel fagositosis berfungsi melakukan fagositosis terhadap benda-benda asing yang masuk ke tubuh inang.

Berdasarkan sifat kimia dan aktivitasnya, imunostimulan dikelompokkan menjadi 7 kelompok menurut Raa (2000) yaitu :

1. Elemen struktural dari bakteri (lippopolisakarida/LPS), lippopeptida, *capsular glycoproteins* dan *muramylpeptids*.
2. Produk 1,3- β glucans dari bakteri (*curdian*) dan jamur (*crestin*, *lentinan*, *schizopyllan*, *scleroglucan*, SSG, vitastim).
3. Produk 1,3 atau 1,6- β glucans dari dinding sel *baker's yeast* (macrogard, betavektin).
4. Struktur karbohidrat kompleks (glucan) dari beberapa sumber alami termasuk rumput laut.
5. Peptida yang berada dalam ekstrak hewan atau yang berasal dari hidrolisis.
6. Nukleotida
7. Produk sintesis (hestatin, muramylpeptida, FK 156, FK 565, *levamisole*).

Menurut Rodriguez dan Lee moullac, (2000) imunostimulasi pada udang dapat dilakukan oleh peptidoglikan, lippopolisakarida, dan β -glucans dimana

perlakuan dengan bahan-bahan ini menyebabkan opsonin mengikat molekul protein dan pertahanan lainnya yang dilepaskan ke dalam sirkulasi kemudian molekul ini tersedia dengan segera untuk melawan oportunistik atau serangan patogen. Menurut Kwang (1996) pemberian imunostimulan tidak mempunyai efek samping dan sangat baik untuk diterapkan pada organisme yang tidak mempunyai sel memori dalam sistem kekebalannya seperti golongan krustasea dengan merangsang atau memaksimalkan respon ketahanan non spesifiknya.

Senyawa polisakarida atau turunannya dapat dihasilkan dari proses ekstraksi dengan menggunakan air dan dapat meningkatkan ketahanan ikan dan udang terhadap infeksi patogen.

2.5 Mekanisme Kerja Imunostimulan

Udang memiliki mekanisme untuk mendeteksi dan mengenali bahan asing yang dapat mengaktifasi fungsi pertahanan seluler. Itu menunjukkan bahwa sel yang bertanggungjawab terhadap pembuangan bahan asing termasuk sirkulasi hemosit dan fixed fagosit (Johnson, 1987). Sistem pertahanan tubuh udang akan berfungsi bila protein pengenal mengenali masuknya lipopolisakarida (LPS) atau peptidoglikan (PG) dari dinding sel mikroorganisme. Kehadiran LPS atau PD akan menstimulasi aktivitas enzim-enzim yang berperan penting dalam sistem pertahanan udang, yaitu phenolosidase (PO) dan prophenoloksidase (proPO). Meningkatnya aktivitas PO dan proPO akan menghasilkan protein faktor opsonin yang merangsang fagositosis hialosit. Oleh karena itu untuk meningkatkan aktivitas enzim-enzim sistem pertahanan udang dapat disimulasi dengan pemberian bahan-bahan dari luar tubuh udang yang dikenal sebagai imunostimulan. Kinerja sistem pertahanan tubuh udang terpusat pada sistem proPO, yang akan berfungsi bila distimulasi oleh enzim tertentu. Bahan untuk mengaktifkan enzim tersebut berasal dari luar tubuh (Sakai, 1999)

yang berupa bahan asing termasuk patogen dan imunostimulan. Menurut Soderhall *et al.*, (1998) imunostimulan yang masuk ke dalam tubuh udang akan dikenali oleh protein reseptor yaitu LPS binding protein yang berperan sebagai opsonin untuk meningkatkan indeks fagositosis dan *β -glucans binding protein* yang dapat merangsang degranulasi dan aktivasi enzim proPO. Mekanisme lain eliminasi patogen adalah proses melanisasi. Hidrolisis prekursor proPO meliputi PO aktif, enzim PO akan mengkatalisis oksidasi bertahap phenol menjadi quinon dalam pembentukan melanin, yaitu pengekapan patogen untuk mencegah infeksi.

Dalam penelitian ini, senyawa asing berupa imunostimulan dimasukkan ke tubuh udang melalui sistem pencernaan yaitu bersamaan dengan masuknya makanan dan melalui sistem pernafasan yaitu terlarut dalam air yang masuk ke insang udang. Menurut Martini (2001), respon imun non spesifik diperantarai oleh adanya barrier fisik, sel-sel fagositosis, sel NK (*Natural Killer Cells*), interferon, komplemen, respon inflamasi, dan demam. Barrier fisik melindungi tubuh dari masuknya infektor. Untuk menyebabkan infeksi, senyawa infektor atau patogen masuk ke jaringan melewati sel-sel epitel tubuh terlebih dahulu. Sel epitel ini memberikan perlindungan yang efektif untuk jaringan di bawahnya. Sel epitel terdapat pada kulit, saluran pernafasan, saluran pencernaan dan saluran urinari.

Antigen jika masuk didalam sel inang atau tubuh ikan maka antigen tersebut akan dipresentasikan oleh MHC, antigen akan ditangkap oleh reseptor pada sel T helper (2), dan sel T helper (2) akan mensekresikan sitokin yaitu IL-2, IL-4, dan IL-6 yang bertujuan untuk diferensiasi dan proliferasi sel B, diferensiasi sel B akan menghasilkan sel plasma dan sel memori. Selanjutnya sel plasma akan mensintesis antibodi yang spesifik yang akan mengikat antigen sehingga mencegah pergerakan antigen, dan memudahkan proses fagositosis (Baratawidjaja, 1996 *dalam* Yanuhar, 2011).

2.6 Histopatologi Insang

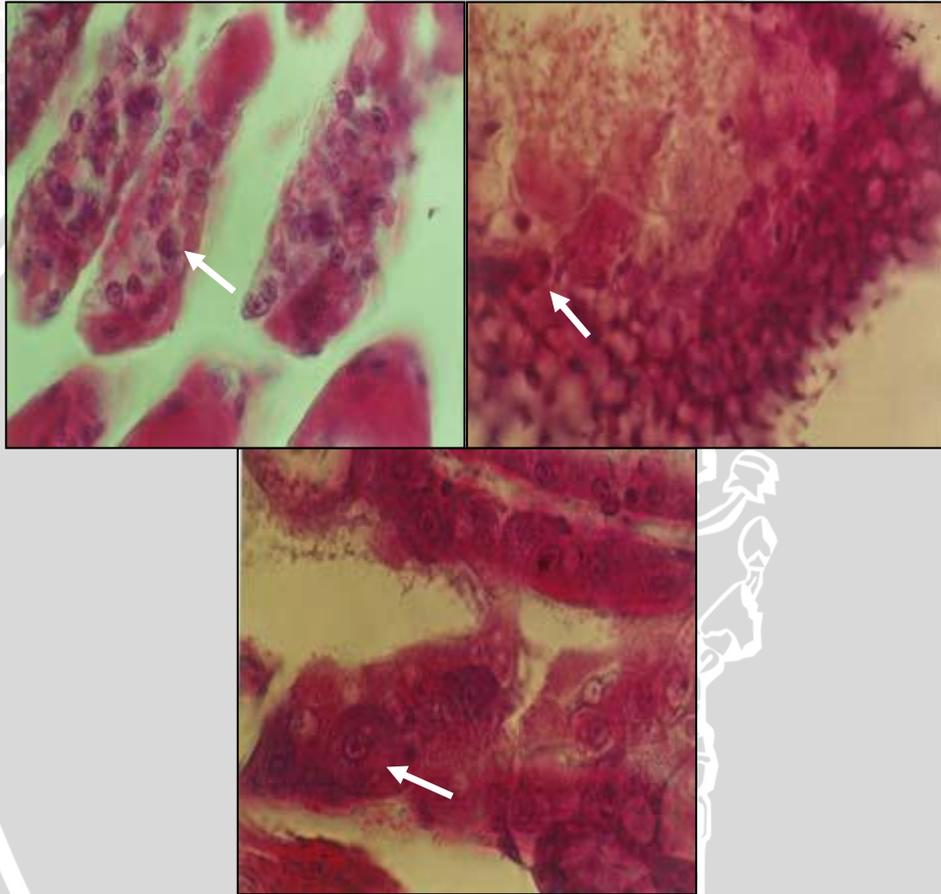
Gambaran histologi insang pada udang vannamei dapat dijadikan indikasi untuk melihat kerusakan biota tersebut. Hal ini disebabkan analisa histopatologi dapat menunjukkan kerusakan akibat infeksi WSSV. Menurut Wijayanti (2004) dalam Destiany (2007), pengertian histopatologi adalah ilmu yang mempelajari perubahan struktur dan fungsi di dalam jaringan dan organ tubuh yang menyebabkan atau disebabkan oleh penyakit yang diproses secara histologi.

Insang merupakan organ dari ikan yang berhubungan langsung dengan lingkungan luar dan memiliki peran yang sangat penting dalam pertukaran gas serta pertukaran ion antara organisme dengan lingkungan. Insang adalah organ yang penting untuk mendeteksi adanya polutan pada ikan. Insang merupakan organ pertama pada ikan yang mengalami kerusakan karena polutan tersebut menghalangi pertukaran gas dan ion (Erlangga, 2007).

2.6.1 Hipertrofi Epitel dan Badan Inklusi (*Inclusion Bodies Cell*) Insang

Hipertrofi epitel dan badan inklusi atau *inclusion bodies cell* merupakan suatu bentuk adaptasi jaringan atau yang biasa disebut histopatologi pada insang udang yang terinfeksi "*white spot*". Hipertrofi epitel adalah peningkatan ukuran sel dan metabolisme sel sebagai bentuk adaptasi jaringan terhadap lingkungan yang ekstrem seperti peningkatan kinerja fisiologik dan infeksi organisme patogen. Hipertrofi sel epitel yang berlebih dapat memicu peningkatan ukuran organ yang bersangkutan. Sedangkan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) merupakan benda-benda asing yang tertimbun di dalam sel yang berwarna kemerahan. Menurut Madeali *et al.*, (1998) benda asing ini terdapat di dalam nukleus/intranuklear dan badan ini merupakan timbunan benda asing yang bentuk dan ukurannya bervariasi, berwarna merah keunguan, eosinofilik, basofilik ataupun amfofilik. Lightner (1996) menambahkan, bahwa benda asing

tersebut dikenal dengan nama badan inklusi dan terbentuk akibat serangan virus. Badan inklusi intranuklear ini dapat pula ditemukan pada tumor atau keracunan bahan toksik tertentu. Infeksi virus dalam jaringan tersebut membentuk area-area yang kosong tempat sel-sel virus pernah ada, akan tetapi telah ditinggalkan oleh virus dan inti sel mengalami hipertrofi basofilik.



Gambar 6. Eosinofilik Hipertropi dan Inclusion Bodies pada organ insang (Yanto, 2006)

Menurut Nazaruddin (2014), badan inklusi yang mengalami hipertrofi basofilik ditandai dengan inti nukleus berwarna biru karena dominan menyerap basofil dan ukurannya mengalami pembesaran. Hal ini menjelaskan bahwa semakin tinggi tahap infeksi maka semakin pekat warna dan semakin besar diameter badan inklusinya. Bentuk infeksi berupa nukleus yang bersifat basofilik ini hanya dapat dilihat dengan pemeriksaan histopatologis dan tidak dapat

ditemukan melalui pengujian menggunakan teknik multipleks PCR (*Polimerase Chain Reaction*) (Lightner *et al.*, 1983) dan menurut Kasornchandra *et al.*, (1998) hipertrofi intranuklear yang dilihat pada jaringan sel menjadi berbeda dari stadia sejak infeksi virus ini dimulai.

2.7 Pengukuran Kualitas Air

Kualitas air harus memenuhi 3 persyaratan yaitu fisika, kimia dan biologis. Kualitas fisika berdasarkan pada suhu. Kualitas kimia adanya senyawa senyawa kimia beracun, perubahan rupa serta reaksi reaksi yang tidak diharapkan. Standart kualitas air memberikan batas konsentrasi maksimum yang dianjurkan dan yang diperkenankan bagi berbagai parameter kimia, karena pada konsentrasi yang berlebihan kehadiran unsur unsur tersebut dalam air akan memberi pengaruh negatif. Kualitas biologis didasarkan pada kehadiran kelompok kelompok mikroba tertentu seperti mikroba patogen (Hamdiyati, 2012).

2.7.1 Parameter fisika

2.7.1.1 Suhu

Menurut Effendi (2003), suhu dari suatu badan air dipengaruhi oleh musim, lintang (latitude), ketinggian dari permukaan laut, waktu dalam hari, sirkulasi udara, penutupan awan, dan aliran serta kedalaman badan air.

Suhu mempengaruhi aktifitas metabolisme organisme. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu, dapat menekan kehidupan hewan budidaya bahkan menyebabkan kematian bila peningkatan suhu sampai ekstrim (drastis) (Kordi, 2005).

Suhu air merupakan salah satu faktor pembatas dan nyata dalam kehidupan udang ditambak. Seringkali didapatkan udang mengalami stres dan bahkan mati disebabkan oleh perubahan suhu yang fruktatif. Keadaan seperti ini sering terjadi pada tambak dengan kedalaman tambak kurang dari satu meter

atau kondisi cuaca yang tidak menentu. Sebagai contoh musim kemarau dan perbedaan suhu yang sangat mencolok antara siang dan malam hari. Pada suhu rendah metabolisme udang menjadi rendah dan secara nyata berpengaruh terhadap nafsu makan udang menurun (Boyd, 1989 *dalam* Adiwidjaya *et al.*, 2008). Nilai suhu optimal bagi pertumbuhan dan perkembangan udang berkisar antara 28,0-31,5°C (Adiwidjaya *et al.*, 2008).

2.7.2 Parameter kimia

2.7.2.1 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman merupakan suatu ekspresi dari ion hidrogen (H⁺) di dalam air. Biasanya dinyatakan dalam minus logaritma dan konsentrasi ion H, pH sangat penting sebagai parameter kualitas air, karena mengontrol tipe dan laju kecepatan reaksi beberapa bahan didalam air. Selain itu ikan dan hewan akuatik lainnya hidup pada selang pH tertentu, sehingga dengan diketahuinya nilai pH maka kita akan tahu apakah air tersebut sesuai atau tidak untuk menunjang kehidupan organisme air (Rifai dan Nasution, 1993).

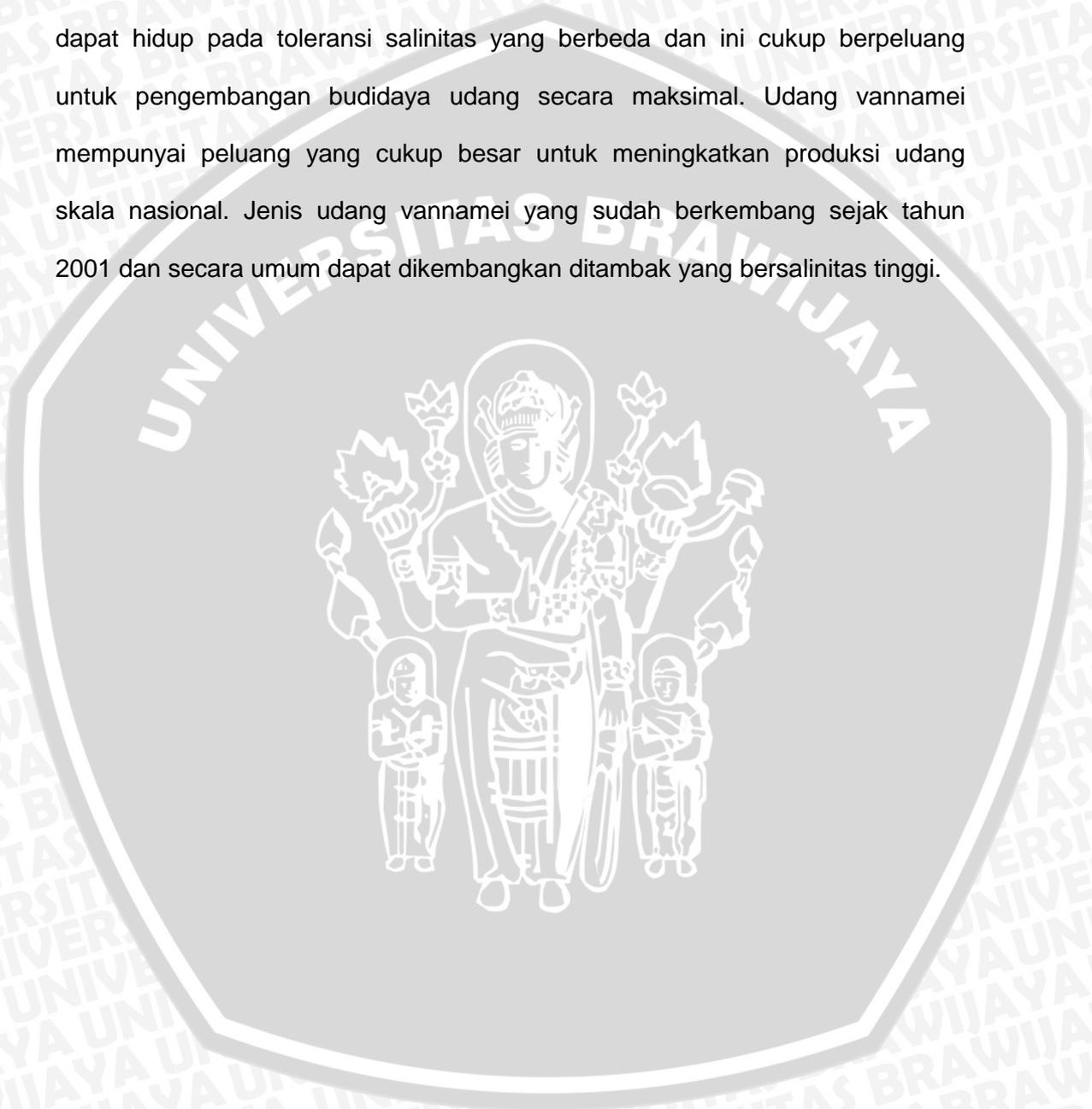
Menurut Adiwijaya *et al.*, (2008), nilai pH perairan dengan variasi terkecil memiliki pengaruh yang besar terhadap ekosistem perairan, karena nilai pH perairan sangat berperan dalam mempengaruhi proses dan kecepatan reaksi kimia didalam air maupun reaksi biokimia didalam tubuh organisme air. Nilai pH air media pemeliharaan berkisar antara 7,7-8,5 termasuk dalam kategori kisaran yang optimal untuk pemeliharaan udang vannamei.

2.7.2.2 Salinitas

Menurut Kordi dan Andi (2007), salinitas adalah konsentrasi seluruh larutan garam yang diperoleh dalam air laut. Salinitas air berpengaruh terhadap tekanan osmotik air. Semakin tinggi salinitas, akan semakin besar pula tekanan osmotiknya. Biota yang hidup di air asin harus mampu menyesuaikan dirinya

terhadap tekanan osmotik dari lingkungannya. penyesuaian ini memerlukan banyak energi yang diperoleh dari makanan dan digunakan untuk keperluan tersebut.

Menurut Adiwidjaya *et al.*, (2008), komoditas umum udang secara umum dapat hidup pada toleransi salinitas yang berbeda dan ini cukup berpeluang untuk pengembangan budidaya udang secara maksimal. Udang vannamei mempunyai peluang yang cukup besar untuk meningkatkan produksi udang skala nasional. Jenis udang vannamei yang sudah berkembang sejak tahun 2001 dan secara umum dapat dikembangkan ditambah yang bersalinitas tinggi.



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah menganalisis jenis kerusakan jaringan (histopatologi) pada udang *L. vannamei* yang terinfeksi virus WSSV dan pengaruh pemberian imunostimulan dari bahan alami pada dosis yang tepat dengan parameter pengukuran yaitu aktivitas hipertrofi epitel dan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang *L. vannamei* serta pengamatan kualitas air yang berpengaruh langsung terhadap habitat dan kehidupan udang *L. Vannamei*. Pengamatan kualitas air terdiri dari parameter fisika yang meliputi suhu serta parameter kimia yang meliputi pH ("Poisoning Hydrogen") dan salinitas.

3.2 Alat dan Bahan

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

Tabel 1. Alat Dan Bahan Yang Digunakan Penelitian

No.	Parameter	Alat	Bahan
1	Suhu	- DO meter	- Aquadest
2	DO		- Tissue
			- Air sampel
3	Salinitas	- Refraktometer - Pipet tetes	- Air sampel - Aquadest - Tissue
4	pH	- pH meter	- Air sampel
5	Pengambilan sampel udang	- Anco - Bak kecil	- Air sampel
6	Pengambilan air sampel	- Jurigen - Gayung - Selang	
7	Morfologi udang	- Pulpen	- Udang sampel - Form penilaian
8	Pembuatan ekstrak <i>Sargassum polycystum</i>	- Shaker - Rotary Evaporator	- Methanol - Kertas Whatman

8	Udang Uji	<ul style="list-style-type: none"> - Aquarium - Aerator - Selang aerator - Batu aerasi 	- Air tambak
9	Pengujian Histologi	<ul style="list-style-type: none"> - Coolbox - Dissecting set - Pinset - Cawan Petri - Botol sampel - Automatic Tissue Processor - Lempeng blok - Microtom - Nampan - Waterbath - Pipet tetes - Cover glass - Object glass 	<ul style="list-style-type: none"> - Udang Vannamei - Alkohol 70%, 80%, 96% - Aquadest - Haematoxylin dan Eosin - Xylene - Xylol - Larutan Bouin's - Parafin - Tissue

3.3 Metode Pengambilan Data

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan menggunakan analisis statistik uji hipotesis berpasangan (uji *t*) dengan 4 perlakuan. terhadap udang *L. Vannamei*. Menurut Zuriah (2006), penelitian eksperimen merupakan penelitian yang sistematis, logis, dan teliti di dalam melakukan kontrol terhadap kondisi. Sugiyono (2012), menambahkan bahwa penelitian eksperimen dapat diartikan sebagai metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendalikan. Dalam penelitian ini, metode eksperimental mencakup perlakuan pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap infeksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada udang *L. vannamei* dengan indikator hipertrofi epitel dan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang uji. Selain itu dijabaran pula kondisi lingkungan tambak dan kualitas air pada tambak.

3.4 Teknik Pengumpulan Data

Menurut Sati (2003), teknik pengumpulan data dibagi menjadi dua yaitu data primer dan data sekunder. Data primer merupakan data yang diperoleh dan dikumpulkan sendiri oleh peneliti yang dianggap relevan dengan penelitian, seperti wawancara dan observasi terhadap responden yang dinilai memberikan jawaban yang relevan bagi peneliti. Sedangkan, data sekunder merupakan data yang diperoleh peneliti yang bersumber dari buku-buku pedoman, referensi atau literatur yang disusun oleh para ahli, dan berbagai artikel yang berhubungan dengan masalah yang diteliti (Nofiawaty, 2012).

3.4.1 Data Primer

Dalam penelitian ini data primer yang diamati meliputi teknik pengolahan tambak, morfologi udang, analisis kerusakan histologi udang yang disebabkan oleh infeksi virus WSSV, pengaruh pemberian imunostimulan dari bahan alami dengan parameter pengukuran yaitu tingkat kerusakan jaringan (histopatologi) pada insang dan parameter kualitas air pada tambak air tawar maupun tambak air laut yang meliputi parameter fisika dan kimia. Pengambilan data primer menggunakan teknik pengumpulan data, yaitu:

- **Observasi**

Dalam kegiatan observasi, peneliti secara langsung mengamati subjek atau hal yang akan diteliti dengan terjun langsung ke lokasi penelitian untuk melihat, merasakan, berpikir tentang subjek atau hal yang diteliti, lalu mencatat apa yang sedang diamatinya. Observasi merupakan suatu cara atau metode menghimpun keterangan atau data yang dilakukan dengan mengadakan pengamatan dan pencatatan secara sistematis terhadap fenomena

yang sedang dijadikan sasaran pengamatan. Observasi sangat diperlukan jika observer belum memiliki banyak keterangan tentang masalah yang diselidiki. Teknik pengumpulan data secara observasi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dengan melakukan sampling secara langsung ke lapangan, pengukuran parameter kualitas air baik fisika maupun kimia, pengamatan morfologi udang *L. vannamei*, analisis kerusakan histologi pada insang udang yang terinfeksi virus WSSV di laboratorium.

- **Wawancara**

Metode wawancara ini dilaksanakan dengan melakukan cara tanya jawab oleh pewawancara secara pribadi bersama sumber yang ditanya. Dalam metode wawancara ini penulis berperan sebagai pewawancara, sedangkan sumbernya adalah pihak terkait yang berwenang (Setiawan, 2010). Pengumpulan data secara wawancara dalam penelitian ini digunakan untuk mengetahui kegiatan yang dilakukan dalam pembudidayaan udang *vannamei* yang meliputi penggunaan sumber air, teknik pengolahan tambak, penyakit yang sering muncul, padat tebar dan waktu pemanenan udang.

3.4.2 Data Sekunder

Dalam penelitian ini, data sekunder diperoleh melalui laporan – laporan terdahulu, pustaka serta data dari para peneliti yang terkait dengan pengelolaan tambak udang *L. vannamei*, kualitas air yang menunjang untuk budidaya udang *vannamei* serta kondisi udang *vannamei* pada tambak intensif air tawar maupun air laut.

3.5 Metode Pengambilan Sampel

3.5.1 Pengambilan Sampel Air

Pengambilan sampel air dilakukan di UPT Pengembangan Budidaya Air Payau (PBAP) Bangil Jawa Timur, air sampel diambil pada bulan April 2015 kemudian dilakukan pengukuran parameter fisika dan kimia.

3.5.2 Pengambilan Sampel Udang

Sampel udang sehat yang akan digunakan dalam penelitian di dapatkan dari UPT Pengembangan Budidaya Air Payau (PBAP) Bangil Jawa Timur sebanyak 60 ekor udang sehat pada stadium PL50. Menurut Kamiso *et al.*, (2005), pengambilan sampel udang dewasa tidak kurang dari 5 ekor per unit.

Pengambilan sampel udang dilakukan sekali pengambilan. Pengambilan udang ini menggunakan metode random sampling. Menurut Sugiyono (2003), pengambilan sampel dengan cara random sederhana hanya dapat dilakukan pada populasi yang homogen. Udang yang telah disampling tidak boleh dikembalikan ke dalam tambak, karena dapat menjadi *carrier* ataupun dapat menularkan penyakit pada udang lainnya.

3.6 Metode penelitian

3.6.1 Persiapan dan Sterilisasi Wadah

Alat dan wadah yang akan digunakan dicuci menggunakan air bersih kemudian di keringkan.

3.6.2 Penyediaan Bahan Ekstrak *Sargassum polycystum*

Ekstraksi adalah proses pemisahan dari bahan padat ataupun cair senyawa organik dari campurannya dengan yang memanfaatkan perbedaan sifat kelarutan dari masing-masing komponen dengan bantuan pelarut tertentu. Proses ekstraksi rumput laut menggunakan metode maserasi selama 24 jam.

Maserasi merupakan proses penyaringan dengan cara serbuk direndam dalam pelarut sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Lamanya waktu maserasi berbeda-beda tergantung pada sifat atau ciri campuran serbuk dan pelarut.

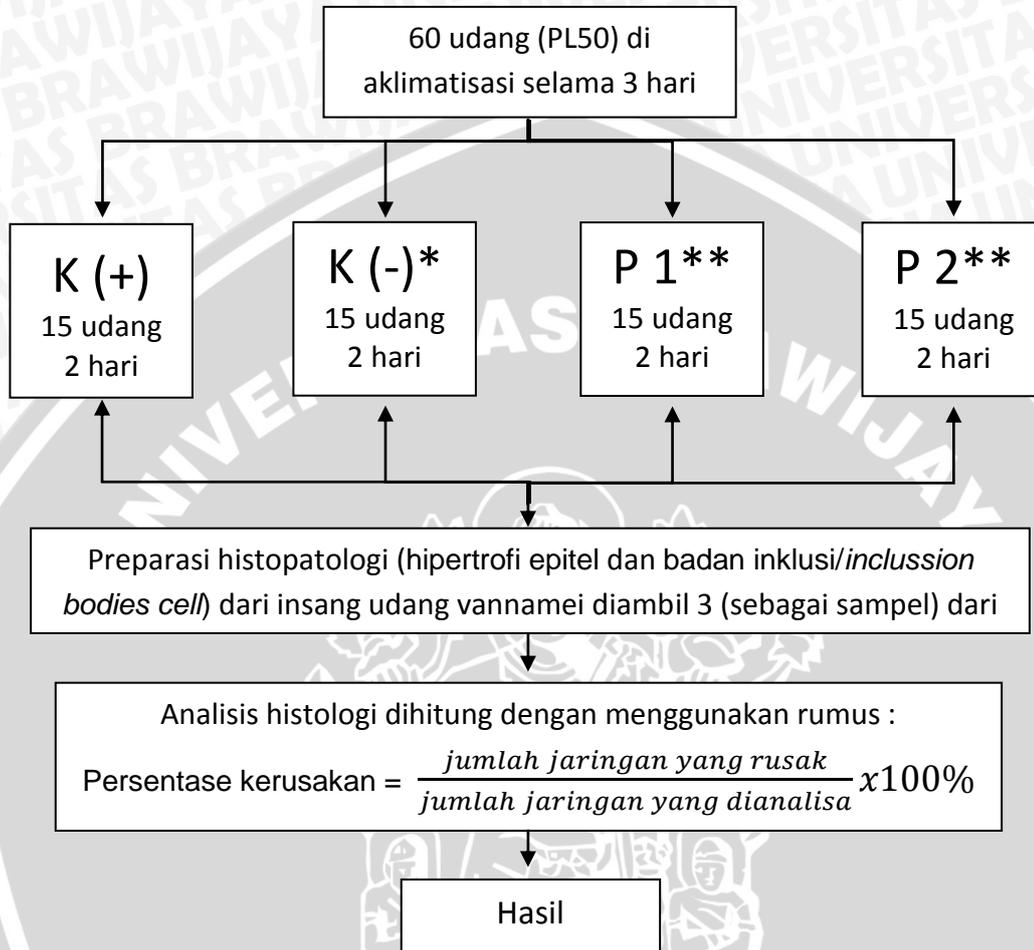
Sebanyak 10 g bubuk *Sargassum sp.* dilarutkan dalam 150 mL methanol. Kemudian dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 160 rpm selama 24 jam dan disaring dengan kertas saring sehingga akan didapatkan filtrat dan ampas. Ekstrak yang dihasilkan disaring lagi dengan kertas Whatman No. 41 dan dipisahkan dengan pelarutnya dengan cara penguapan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 60°. Sisa pelarut dihilangkan dengan gas nitrogen sehingga didapat ekstrak pekat.

3.6.3 Penyediaan Larutan Inokulum WSSV

Inokulum virus *White Spot* menggunakan virus yang berasal dari udang vannamei sakit yang diambil tambak udang di Desa Delegan Gresik. Inokulum virus dibuat sesuai dengan metode Hameed *et al.*, (1998) dalam Rahma *et al.*, (2014) yaitu mengambil insang dari *P. monodon* Fabr. yang terinfeksi WSSV sebanyak 1 g dan digerus sampai halus, kemudian disuspensikan dalam 9 ml air laut steril, lalu disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit pada suhu 40°C dan kecepatan 8000 rpm selama 30 menit pada suhu 40°C. Semua supernatan yang dihasilkan dimasukkan dalam valcon agar homogen. Sehingga siap diinfeksi pada udang uji.

3.6.4 Perlakuan Udang Uji

3.6.4.1 Bagan Alur Perlakuan Udang Uji



Keterangan :

K (+) = Udang sehat

K (-) = Udang tidak diberi ekstrak *Sargassum polycystum*

P 1 = Perlakuan udang diberi ekstrak *Sargassum polycystum* dengan perendaman dosis 250 ppm (0,25 g/L). (Wahjuningrum *et al.*, 2006)

P 2 = Perlakuan udang diberi ekstrak *Sargassum polycystum* dengan dicampur ke pakan dosis 10 g/Kg. (Ridho dan Rini, 2009)

*) Diinfeksi Virus WSSV dengan dosis 0,22 mg/l

***) Diinfeksi Virus WSSV dengan dosis 0,22 mg/l dan diberi ekstrak *Sargassum polycystum*

3.6.4.2 Infeksi Virus WSSV dan Pemberian Ekstrak *Sargassum polycystum*

Infeksi virus WSSV terhadap udang vannamei dilakukan pada hari ke 4 penelitian selama 2 jam dengan cara merendam udang pada 0,22 mg/l larutan

inokulum virus WSSV. Menurut (Hartono, 2014) rata-rata kematian pada skoring 3 (infeksi berat) tertinggi pada perlakuan 2 jam perendaman sebesar 9 ekor. Sedangkan pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* dilakukan pada hari ke 4-6 penelitian. Udang pada akuarium pertama (K+) yang digunakan untuk menunjukkan gambaran histologi insang udang normal tidak diinfeksi WSSV maupun ekstrak *Sargassum polycystum*. Sedangkan udang pada akuarium kedua yang merupakan perlakuan kontrol (K-) diinfeksi dengan virus WSSV tetapi tidak diberi ekstrak *Sargassum polycystum*. Akuarium ketiga (P1) dan akuarium keempat (P2) diinfeksi virus WSSV dengan dosis yang sama kemudian diberi ekstrak *Sargassum polycystum* dengan cara perendaman pada (P1) dan pencampuran pada pakan (P2). Pemeliharaan dilakukan selama 2 hari. Menurut Taslihan *et al.*, (2004), Penyakit WSSV merupakan jenis penyakit yang paling populer dan paling ganas dibandingkan dengan virus lainnya. Penyakit ini ditandai dengan adanya bintik putih pada bagian karapak dan bagian tubuh lainnya dan dapat mengakibatkan kematian massal mencapai 100% dalam waktu yang sangat singkat yaitu 2 hari sejak gejala pertama tampak. Udang yang terserang biasanya berenang ke tepi pematang, lemah, dan kehilangan nafsu makan dan akhirnya mati.

3.6.4.3 Pemeliharaan dan Pengamatan Harian Udang Uji

Pemeliharaan dan pengamatan harian dilakukan baik pada udang uji yang diberi perlakuan perendaman, udang uji dengan perlakuan pencampuran pakan dengan ekstrak *Sargassum polycystum* maupun udang pada perlakuan kontrol dan udang sehat. Pemberian pakan selama perlakuan dilakukan 4 kali sehari, yaitu pagi (05.30), siang (11.30), sore (17.30), dan malam hari (23.00) sebanyak 5% dari berat badan udang (Esteban *et al.*, 2001; Rodryguez *et al.*, 2003; Haliman, 2005). Pemeliharaan meliputi pengecekan kualitas air

diantaranya penyiponan, pergantian air 30-50 %/hari (Murtidjo, 1989), suhu, salinitas dan pH. Sedangkan pengamatan harian meliputi: Perkembangan kondisi udang dan penghitungan udang yang mati selama pemeliharaan serta pengamatan fisiologi antara lain respon makan, cara berenang, kemerahan pada tubuh (perubahan warna tubuh), bintik putih pada karapas serta (Wang *et al.*, 1998; Lightner, 1996; Hameed *et al.*,1997).

3.6.5 Preparasi Pengamatan Histologi

Langkah awal untuk preparasi pengamatan histologi adalah memisahkan antara udang yang hidup dan udang yang mati selama proses pemeliharaan. Udang yang mati difiksasi dalam wadah tersendiri. Sedangkan untuk udang yang masih hidup difiksasi dalam larutan Davidson selama 24 jam dan diganti dengan alkohol setiap 24 jam (Wahjuningrum, 2006). Preparasi meliputi proses fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, pemotongan serta pewarnaan berdasarkan metode Lightner (1996). Preparat histologi diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 x, 600x dan 1000x. Adapun prosedur preparasi histologi adalah sebagai berikut :

a. Persiapan dan pemotongan jaringan berupa makross

- Gross hasil bedah dimasukan ke larutan formalin 10 % untuk dilakukan fiksasi selama semalam.
- Jaringan dipilih yang terbaik sesuai dengan yang akan di teliti.
- Jaringan di potong kurang lebih ketebalan 2-3 mili meter.
- Di masukan ke kaset dan di beri kode sesuai dengan kode gross.
- Dimasukan ke larutan formalin 10 % sebelum di proses/ dimasukan ke alat *Automatic Tissue Processor*.
- Di proses menggunakan alat/mesin Automatis Tissue Tex Prosesor selama 90 Menit

- Jika alarm bunyi, berarti persiapan jaringan tanda selesai.

b. Proses pengeblokan dan pemotongan jaringan

- Jaringan di angkat dari mesin Tissue Tex Prosesor
- Jaringan di blok dengan paraffin sesuai kode jaringan
- Jaringan di potong dengan alat microtom ketebalan 3-5 mikron

c. Proses deparafinisasi

- Setelah di sayat atau di potong dengan ketebalan 3-5 mikron , di taruh dalam oven selama 30 Menit dengan suhu panas 70-80 °C , kemudian di masukan ke dalam 2 tabung larutan xylol masing-masing 20 menit, setelah itu di masukan ke 4 tabung alkohol masing-masing tempat 3 menit (Hidrasi), dan yang terakhir dimasukan air mengalir selama 15 menit.

d. Pewarnaan histopatologi

Pembuatan preparat menggunakan teknik pewarnaan HE (*Hematoxyline-Eosin*) dengan urutan:

- Cat utama menggunakan Harris Hematoksilin selama 10-15 menit
- Cuci dengan air mengalir selama 15menit
- Dichelupkan ke dalam alkohol asam 1 % sebanyak 2-5 celup
- Dichelupkan lagi ke dalam amonia air sebanyak 3-5 celup
- Pemberian cat pembanding menggunakan Eosin 1% selama 10-15 menit



Proses Dehidrasi :

Dehidrasi adalah proses penarikan air dalam jaringan dengan menggunakan alkohol. Proses ini melalui empat kali pengulangan menggunakan presentase alkohol yang berbeda diantaranya:

- Alkohol 70% selama 3 menit
- Alkohol 80% selama 3 menit
- Alkohol 96% selama 3 menit
- Alkohol Absolut selama 3 menit

Proses Penjernihan (Clearring) :

- Dichelup dengan Xylol (I) selama 60 menit
- Dichelup dengan Xylol (II) selama 60 menit

Proses Mounting dengan entelan dan Coverglass :

- Biarkan slide kering pada suhu ruangan
- Setelah slide kering siap untuk diamati

3.6.6 Analisis Histopatologi

Setelah melakukan preparasi pada sampel udang perlakuan kontrol, perendaman dan pemberian pakan yang telah dicampur dengan ekstrak *Sargassum polycystum*, langkah selanjutnya yaitu pengamatan untuk melihat tingkat kerusakan jaringan dan melakukan skoring atau perhitungan jumlah kerusakan jaringan sehingga dapat diketahui pengaruh pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap WSSV yang menyerang insang udang sampel tersebut.

Presentase kerusakan organ dihitung berdasarkan metode yang digunakan yaitu :

$$\text{Persentase kerusakan} = \frac{\text{jumlah sel yang rusak}}{\text{jumlah sel yang diamati}} \times 100\%$$

Rumus tersebut diperoleh dari pengamatan jaringan insang kepiting bakau dengan menggunakan perbesaran 100x dalam satu bidang pandang dan mengamati sejumlah empat bidang pandang menggunakan aplikasi master OlyVIA sebagai pengganti mikroskop. Dalam satu bidang pandang tersebut dibagi menjadi seratus kotak dan dihitung tiap kotak yang mengalami kerusakan kemudian dicatat sebagai jumlah jaringan yang rusak. Sehingga total kotak dalam empat bidang pandang ada empat ratus dan dicatat sebagai jumlah jaringan yang dianalisis.

Setiap preparat diamati sebanyak empat lapang pandang dan dipilih secara acak. Data yang dimasukkan ke dalam tabel adalah data hasil skoring perubahan histologis insang.

3.7 Metode Pengukuran Kualitas Air

Parameter kualitas air fisika dan kimia yang diukur sebagai pendukung yaitu sebagai berikut :

3.7.1 Suhu

Menurut Mspuh (2009) dalam Karubaba (2012), cara mengukur suhu perairan adalah sebagai berikut:

- Memegang ujung tali yang diikat pada thermometer Hg
- Membelakangi arah matahari agar suhu perairan tidak terpengaruh
- Mencelupkan thermometer Hg kedalam perairan sampai batas skala baca
- Membiarkan 2-5 menit sampai skala suhu pada thermometer Hg menunjukkan angka yang stabil
- Membaca skala suhu sebelum thermometer Hg diangkat dari perairan

- Mencatat nilai suhu

3.7.2 pH (Derajat Keasaman)

Prosedur pengukuran pH dengan menggunakan pH meter adalah sebagai berikut:

- Melakukan kalibrasi pH meter dengan menggunakan larutan buffer atau aquadest
- Memasukan pH meter kedalam air sampel selama 2 menit
- Menekan tombol "HOLD" pada pH meter untuk menghentikan angka yang muncul pada pH meter

3.7.3 Oksigen Terlarut (DO)

Prosedur pengukuran oksigen terlarut menggunakan DO meter adalah sebagai berikut:

- Menekan tombol power dan dibiarkan \pm 3-5 menit sampai dalam keadaan stabil
- Menekan tombol bertanda panah keatas dan kebawah secara bersamaan kemudian dilepaskan
- Menekan mode sampai terbaca ‰ oksigen
- Menaikkan atau menurunkan nilai altitude dengan menggunakan tombol tanda panah keatas dan kebawah sampai sesuai dengan nilai altitude dan menekan enter
- DO meter siap digunakan , memasukkan probe ke perairan, menyalakan DO meter, ditunggu sampai angka stabil dimana angka atas menunjukkan nilai DO (oksigen terlarut) dan dicatat hasilnya.

3.7.4 Salinitas

Menurut SNI (1990), prosedur pengukuran salinitas dengan menggunakan Refraktometer adalah sebagai berikut :

- Menyiapkan refraktometer
- Membuka penutup kaca prisma dan mengkalibrasi dengan aquadest
- Membersihkan dengan tissue secara searah
- Meneteskan 1-2 tetes air yang akan diukur salinitasnya
- Menutup kembali dengan hati-hati agar tidak terjadi gelembung udara dipermukaan kaca prisma
- Mengarahkan ke sumber cahaya
- Melihat nilai salinitasnya dari air yang diukur melalui kaca prisma

3.8 Metode Analisis Penelitian

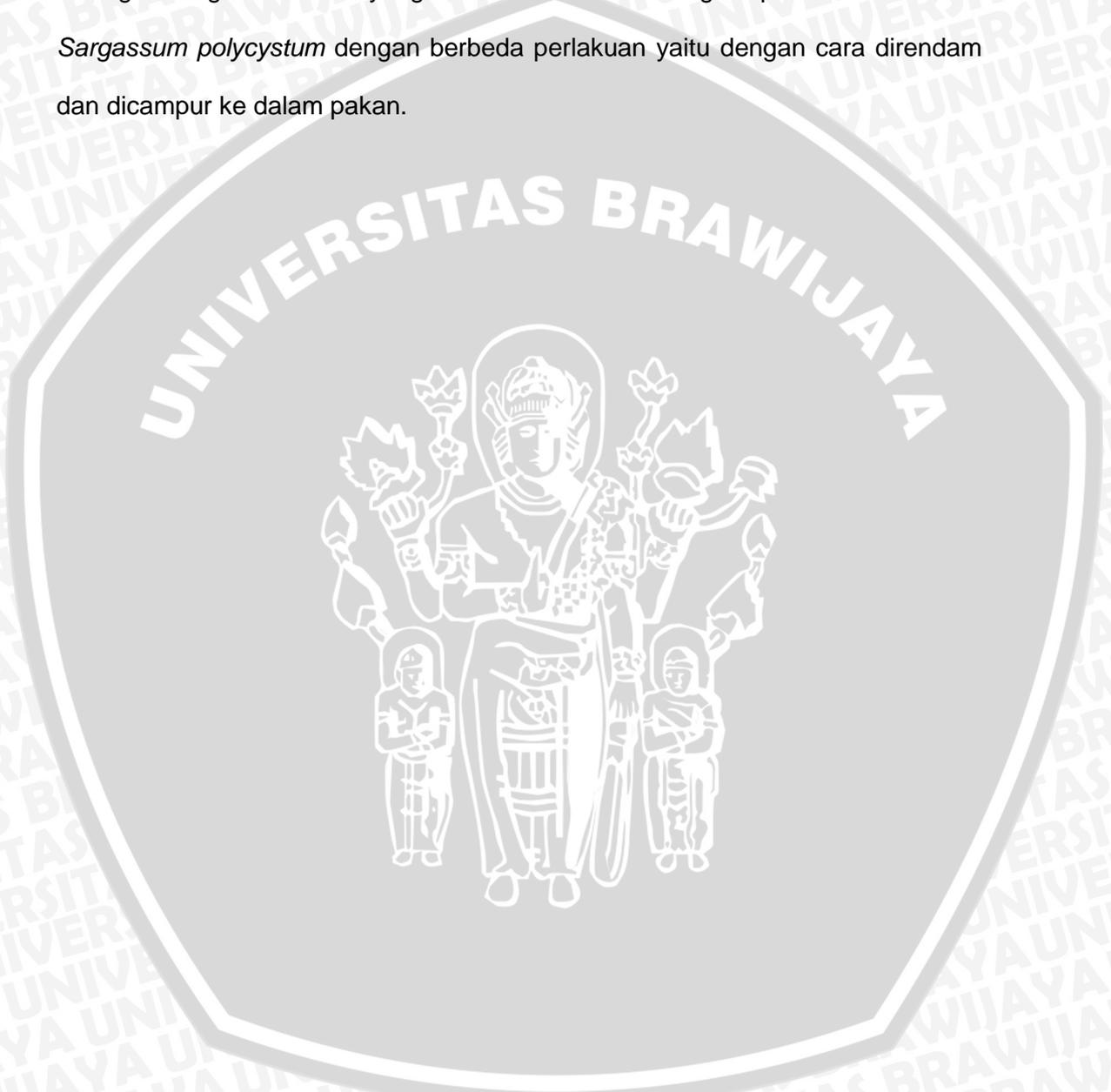
Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan analisis statistik uji hipotesis berpasangan (uji t). Jumlah perlakuan pada penelitian ini sebanyak 4 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang tiga kali. Ekstrak *Sargassum polycystum* yang pertama dicampurkan kedalam air dengan cara di rendam dan kedua dicampurkan pakan fungsional (pelet) udang *L. vannamei*.

Perlakuannya adalah sebagai berikut :

- a) K (+) Udang sehat yang tidak diinfeksi WSSV dan tidak diberi ekstrak *Sargassum polycystum*
- b) K (-) Udang tidak diberi ekstrak *Sargassum polycystum*
- c) P 1 Perlakuan udang diberi ekstrak *Sargassum polycystum* dengan perendaman dosis 250 ppm (0,25 g/L) berdasarkan Wahjuningrum *et al.*, 2006.

- d) P 2 Perlakuan udang diberi ekstrak *Sargassum polycystum* dengan dicampur ke pakan dosis 10 g/kg berdasarkan Ridho dan Rini, 2009.

Parameter yang diuji secara statistik adalah jumlah kerusakan pada insang udang vannamei yang terinfeksi WSSV dengan pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* dengan berbeda perlakuan yaitu dengan cara direndam dan dicampur ke dalam pakan.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian diperoleh hasil data antara lain : kualitas air, pengamatan morfologi dan tingkah laku udang vannamei, tingkat infeksi WSSV berdasarkan skoring, pengamatan histopatologi insang udang vannamei, perhitungan kerusakan sel pada insang udang vannamei dan analisis statistik.

4.1 Parameter Kualitas Air

Hasil pengukuran terhadap parameter kualitas air meliputi parameter fisika dan kimia yang mencakup suhu, salinitas, pH dan DO dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Data Pengukuran Kualitas Air

No.	Hari ke	Suhu (°C)	Salinitas (‰)	pH	DO (mg/l)
1.	1	29,8 – 29,9	5	8,5 – 8,6	6,41 – 6,49
2.	2	28,3 – 28,5	5	8,4 – 8,6	6,21 – 6,93
3.	3	28,1 – 28,2	5	8,5 – 8,6	6,55 – 6,81
	Standart Baku Mutu*	28-32	0 s/d 34	7-8.5	>5

Keterangan : *Standart baku mutu yang digunakan berdasarkan Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No. 51 Tahun 2004 tentang Baku Mutu Air Laut untuk Biota Laut.

4.1.1 Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor fisika perairan yang sangat penting bagi kehidupan organisme atau biota perairan, karena tiap organisme perairan mempunyai batas toleransi yang berbeda terhadap perubahan suhu. Data hasil pengamatan suhu (disajikan pada Tabel 2) didapatkan suhu terendah sebesar

28,1 °C dan suhu tertinggi sebesar 29,9 °C. 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 sampai ekstrim (drastis) (Kordi, 2005). Selain itu Taslihan *et al.*, (2004) menjelaskan bahwa nilai suhu yang memenuhi syarat bagi kehidupan udang berkisar 23-32°C. 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.

4.1.2 Salinitas

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 ini didapatkan nilai salinitas konstan yaitu 5 ppt (disajikan pada Tabel 2).

Menurut Trobos (2011), udang merupakan hewan euryhaline, yaitu mampu beradaptasi pada kisaran salinitas/kadar garam yang besar, mulai hampir 0,5 promil sampai 50 promil. Karena itu udang vannamei bisa dibudidayakan pada salinitas sangat rendah, bahkan mendekati tawar. Tetapi bukan berarti udang vannamei bisa dipelihara ditanah pedalaman. Selama ini udang tersebut dipelihara dikolam pesisir dengan air tawar atau bersalinitas rendah.

Setiap spesies biota air memiliki kisaran nilai salinitas yang optimum untuk hidup, bila kondisinya berada diluar kisaran tersebut dapat berakibat stress, mengganggu pertumbuhan dan reproduksi, bahkan mengakibatkan kematian. Salinitas yang tinggi juga dapat mempengaruhi kelarutan-kelarutan gas, dengan meningkatnya salinitas maka kelarutan oksigen dan ammonia akan menurun.

Salinitas memiliki kaitan erat dengan sistem osmoregulasi pada hewan air. Pada ikan dan udang dapat kita ibaratkan bahwa cairan tubuh merupakan suatu larutan, sementara air disekelilingnya adalah larutan lain. Secara alami 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.

4.1.3 pH (Derajat Keasaman)

Hasil pengukuran pH pada penelitian ini didapatkan nilai pH tertinggi sebesar 8,6 dan nilai pH terendah sebesar 8,4 (disajikan pada Tabel 2). Nilai ini masih dalam kondisi normal dan optimum untuk kehidupan udang vannamei. Amri (2006), menyatakan pada nilai pH diatas 10 dapat membunuh udang, sementara nilai ph dibawah 5 mengakibatkan pertumbuhan udang terhambat. Dan pada prinsipnya perguncangan pH akan membuat udang stress. Oleh karena itu, kisaran pH pada media pemeliharaan harus dipertahankan agar pertumbuhan udang tetap optimal.

pH merupakan faktor yang sangat penting dalam perairan karena dapat berpengaruh langsung terhadap produksi udang, pengaruh langsungnya yaitu bahwa ion H^+ dapat menghambat absorpsi oksigen dari air. Kestabilan pH perlu dipertahankan karena pH dapat mempengaruhi pertumbuhan organisme air, mempengaruhi ketersediaan unsur P dalam air dan mempengaruhi daya racun amoniak dan H_2S dalam air (Haliman dan Dian, 2006).

Menurut Law (1988) dalam Budiardi (2008), perairan dengan pH yang ekstrim dapat membuat udang tertekan, pelunakan karapas serta kelangsungan

hidup rendah. Mortalitas tinggi pada udang terjadi pada pH perairan dibawah 6,0 sedangkan pada pH 3,0 dalam 20 jam terjadi kematian 100%.

4.1.4 DO (Disolved Oxygen)

Hasil pengukuran oksigen terlarut pada media pemeliharaan selama penelitian didapatkan hasil nilai DO terendah sebesar 6,41 dan nilai DO terbesar yaitu 6,81(disajikan pada Tabel 2). Kisaran oksigen tersebut dapat mendukung kehidupan udang karena oksigen terlarut yang baik untuk kehidupan udang adalah 4-8 ppm (Amri, 2006).

Kelarutan oksigen dalam air khususnya untuk pemeliharaan udang vannamei harus diperhatikan. Sekalipun udang vannamei mempunyai kemampuan mentolerir beberapa parameter air yang cukup luas, maka kisaran kualitas air optimum perlu diperhatikan. Kisaran oksigen terlarut yang baik untuk pertumbuhan yaitu 3-7 ppm, optimumnya yaitu >4 ppm (Kordi dan Ghufuran, 2007). Menurut Goldman dan Horne (1983) Oksigen dalam perairan bersumber dari difusi ataupun hasil proses fotosintesis organisme produsen. Oksigen dikonsumsi secara terus menerus oleh tumbuhan dan hewan dalam aktivitas respirasi.

4.2 Pengamatan Morfologi dan Tingkah Laku Udang Vannamei

4.2.1 Udang Vannamei Sehat (K+)

Pada perlakuan kontrol (K+) yang berisi udang vannamei tanpa diinfeksi WSSV menunjukkan ciri – ciri yang dapat dilihat Tabel 4 di bawah ini :

Tabel 3. Morfologi dan Tingkah Laku Perlakuan Udang Kontrol (K+)

No	Hari ke-	Tingkah Laku
1	1	<ul style="list-style-type: none"> • Udang aktif bergerak pada malam hari • Cepat merespon gangguan bergerak aktif • Nafsu makan normal • Terlihat segar dan utuh • Pada siang hari udang terlihat saja tanpa memunculkan diri di atas permukaan air • Berenang mendekati cahaya
2	2	<ul style="list-style-type: none"> • Berdiam diri di dasar perairan dan bergerak di dasar • Pada siang hari udang terlihat saja tanpa memunculkan diri di atas permukaan air • Menghindar jika diberi rangsangan • Berenang mendekati cahaya • Nafsu makan normal • Terlihat segar
3	3	<ul style="list-style-type: none"> • Nafsu makan normal • Menjauh jika mendapat rangsangan • Berdiam di dasar pada malam hari • Berenang mendekati cahaya • Tubuh terlihat segar • Berenang mendekati cahaya

Ket : Hari ke 1 : Masa inkubasi dengan WSSV
 Hari ke 2 : Perlakuan pemberian Ekstrak *Sargassum polycystum* hari ke 1
 Hari ke 3 : Perlakuan pemberian Ekstrak *Sargassum polycystum* hari ke 2

Hal ini sesuai dengan pernyataan Kilawati (2011), udang vannamei yang sehat memiliki ciri-ciri warna tubuh cerah, tidak terdapat bintik putih pada bagian tubuh udang, bergerak dengan aktif dan cepat menerima respon pada gangguan. Sedangkan menurut Adiwijaya (2004) bahwa udang yang sehat dicirikan dengan tingkah laku yang normal (tidak terjadi penyimpangan) yaitu jika diamati secara visual maka akan menunjukkan ciri-ciri: nafsu makan berjalan normal, gerakannya aktif, berenang normal dan melompat bila anco diangkat, respon positif terhadap arus, cahaya, bayangan dan sentuhan, tubuh berwarna cerah berbelang putih yang jelas, tubuh bersih licin tidak ada kotoran atau lumut yang menempel, tubuh tidak keropos udang anggota tubuh lengkap.

4.2.2 Udang Kontrol (K-)

Pada perlakuan kontrol (K-) berisi udang vannamei yang diinfeksi WSSV tetapi tidak diberi ekstrak *Sargassum polycystum* menunjukkan ciri – ciri yang dapat dilihat Tabel 4 di bawah ini :

Tabel 4. Morfologi dan Tingkah Laku Perlakuan Udang Kontrol (K-)

No	Hari ke-	Tingkah Laku
1	1	<ul style="list-style-type: none"> • Tidak aktif bergerak (lambat) berdiam diri didasar kolam dan respon sangat rendah • Tubuh, ekor, kaki jalan, kaki renang berwarna kemerahan • Pakan yang diberikan masih utuh • Terlihat segar dan utuh • Gerakan lambat
2	2	<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
3	3	<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 • Udang berenang ke permukaan dan sangat lemah kemudian tergelepar ke dasar kolam • Udang dalam keadaan lemas dan mengalami kematian

Ket : Hari ke 1 : Masa inkubasi dengan WSSV
 Hari ke 2 : Perlakuan pemberian Ekstrak *Sargassum polycystum* hari ke 1
 Hari ke 3 : Perlakuan pemberian Ekstrak *Sargassum polycystum* hari ke 2

Udang vannamei yang terinfeksi WSSV menunjukkan tanda-tanda, timbulnya bercak-bercak putih pada karapaks, antena patah, mata rusak, warna tubuh berubah menjadi kemerahan, berenang ke pinggir dan permukaan. Tanda-tanda penyerangan tersebut sesuai dengan pernyataan Herlina (2004), yaitu terbentuknya bercak putih seperti panu pada bagian cephalothorax dan udang

berenang ke tepi dekat pematang, lemas dan kehilangan nafsu makan merupakan gejala klinis karena serangan penyakit yang disebabkan oleh virus. Menurut Kilawati (2011), infeksi ringan pada udang yang terserang virus WSSV ditandai dengan terdapat bintik putih hanya pada bagian karapas, warna tubuh, kaki renang dan kaki jalan menjadi kemerahan serta udang berenang miring ke permukaan, menjauhi aerator terlihat lemas.

4.2.3 Perlakuan Dengan Perendaman Ekstrak *Sargassum polycystum* (P1)

Pada perlakuan (P1) berisi udang vannamei yang diinfeksi WSSV kemudian diberi ekstrak *Sargassum polycystum* dengan cara direndam pada dosis 250 ppm (0,25 g/L) menunjukkan ciri – ciri yang dapat dilihat Tabel 5 di bawah ini :

Tabel 5. Morfologi dan Tingkah Udang Dengan Perlakuan Perendaman Ekstrak *Sargassum polycystum*.

No	Hari ke-	Tingkah Laku
1.	1	<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 • Terlihat segar dan utuh • Tubuh, ekor, kaki jalan, kaki renang berwarna kemerahan
2.	2	<ul style="list-style-type: none"> • Tubuh mulai pucat • Berenang ke arah tepi • Berenang di permukaan kemudian berdiam di dasar kolam • Tubuh menggelepar • Respon makan rendah • Pakan masih utuh
3.	3	<ul style="list-style-type: none"> • Tubuh pucat • Respon makan rendah • Berenang ke permukaan • Tubuh menggelepar • Berenang miring • Mati 2

Ket : Hari ke 1 : Masa inkubasi dengan WSSV
 Hari ke 2 : Perlakuan pemberian Ekstrak *Sargassum polycystum* hari ke 1
 Hari ke 3 : Perlakuan pemberian Ekstrak *Sargassum polycystum* hari ke 2

4.2.4 Perlakuan Pakan Yang Dicampur Dengan Ekstrak *Sargassum polycyctum* (P2)

Pada perlakuan (P2) berisi udang vannamei yang diinfeksi WSSV kemudian diberi ekstrak *Sargassum polycyctum* dengan cara dicampurkan ke dalam pelet pada dosis 10 g/kg menunjukkan ciri – ciri yang dapat dilihat Tabel 6 di bawah ini :

Tabel 6. Morfologi dan Tingkah Laku Udang Dengan Perlakuan Pencampuran Ekstrak *Sargassum polycyctum* Ke Dalam Pakan.

No	Hari ke-	Tingkah Laku
1.	1	<ul style="list-style-type: none">• Udang berenang ke permukaan dan sangat lemah kemudian tergelepar ke dasar kolam• Gerakan lambat• Nafsu makan menurun• Terlihat segar dan utuh• Udang dalam keadaan lemas
2.	2	<ul style="list-style-type: none">• Mati 1• Respon makan rendah• Berenang ke arah tepi• Berdiam di dasar kolam• Berenang miring• Tubuh miring• Tubuh agak pucat
3.	3	<ul style="list-style-type: none">• Berenang miring• Berenang ke permukaan• Respon makan rendah• Pakan masih utuh• Antena patah 1• Tubuh menggelepar

Ket : Hari ke 1 : Masa inkubasi dengan WSSV
Hari ke 2 : Perlakuan pemberian Ekstrak *Sargassum polycyctum* hari ke 1
Hari ke 3 : Perlakuan pemberian Ekstrak *Sargassum polycyctum* hari ke 2

4.3 Tingkat Infeksi Virus WSSV Berdasarkan Skoring

Data diperoleh dengan cara skoring, pemberian kode dalam penelitian ini berdasarkan tingkat infeksi terhadap morfologi udang vannamei, yaitu untuk infeksi ringan diberi skor 1 (+), infeksi sedang skor 2 (++), dan infeksi berat diberi

skor 3 (+++). Penjelasan tentang kategori kode dapat dilihat pada uraian dibawah ini yaitu :

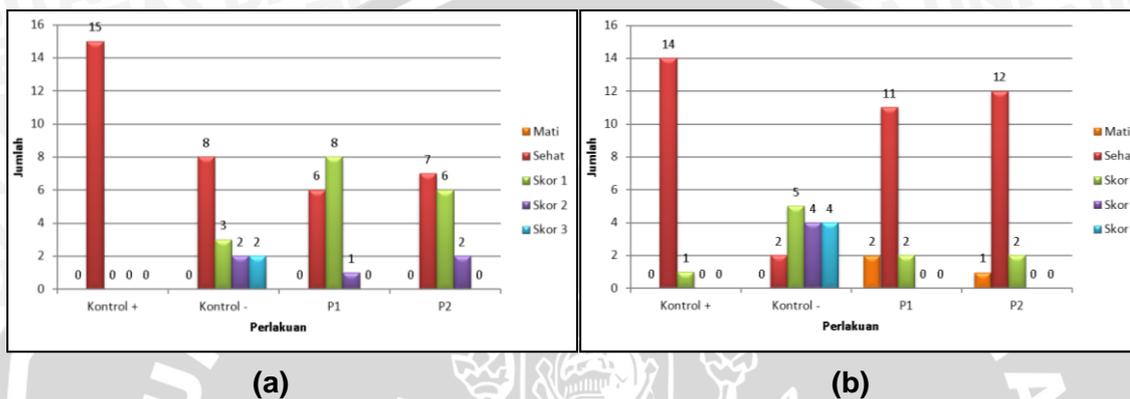
Skor 1 = infeksi ringan yang terjadi pada morfologi udang vannmei dicirikan belum adanya perubahan morfologi yang nampak selain perubahan tingkah laku yang tidak normal pada udang serta perubahan warna pada tubuh udang vannamei. Menurut Sudha *et al.*, dalam Yanto (2006), menyebutkan bahwa bila udang yang terserang WSSV tetapi belum terdapat tanda bintik putih, dikategorikan infeksi ringan (kronis) dimana infeksi yang dialami oleh jaringan rendah sehingga bintik putih dan kernerahan 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.

Gambar 6 berikut ini merupakan grafik hasil skoring yang diperoleh berdasarkan pengamatan morfologi serta tingkah laku udang pasca inkubasi WSSV dan pasca perlakuan menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum*.



Gambar 6. Tingkat infeksi udang menggunakan metode skoring (a) pasca inkubasi WSSV, (b) pasca perlakuan menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum*.

Gambar 6 (a) menunjukkan bahwa pada kontrol positif (+) yang berisi udang sehat tidak terdapat udang yang terinfeksi WSSV. Pada kontrol negatif (-) terdapat 8 udang yang dikategorikan sehat dan 8 udang yang terinfeksi dengan skala skor 1-3. Udang P1 sebagian besar menunjukkan infeksi WSSV pada skor 1. Sedangkan pada P2, 8 udang sehat dan sisanya terinfeksi WSSV. Tabel tingkat infeksi udang pasca inkubasi WSSV terdapat di Lampiran 1.

Gambar 6 (b) menunjukkan bahwa pada kontrol positif (+) hanya terdapat 1 udang yang terinfeksi sedangkan 14 udang yang lainnya sehat. Pada kontrol negatif (-) hanya terdapat 2 udang yang dikategorikan sehat sedangkan yang lainnya terinfeksi dengan skor 1-3. P1 menunjukkan bahwa sebagian besar udang adalah sehat yaitu sebanyak 11 ekor sedangkan udang yang masih terinfeksi hanya 2 ekor dan ditemukan 2 ekor udang yang mati. Sedangkan pada

P2, udang yang sehat sebanyak 12 ekor sedangkan udang yang masih terinfeksi hanya 2 ekor dan ditemukan 1 ekor udang yang mati. Tabel tingkat infeksi udang pasca perlakuan menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum* terdapat di Lampiran 1.

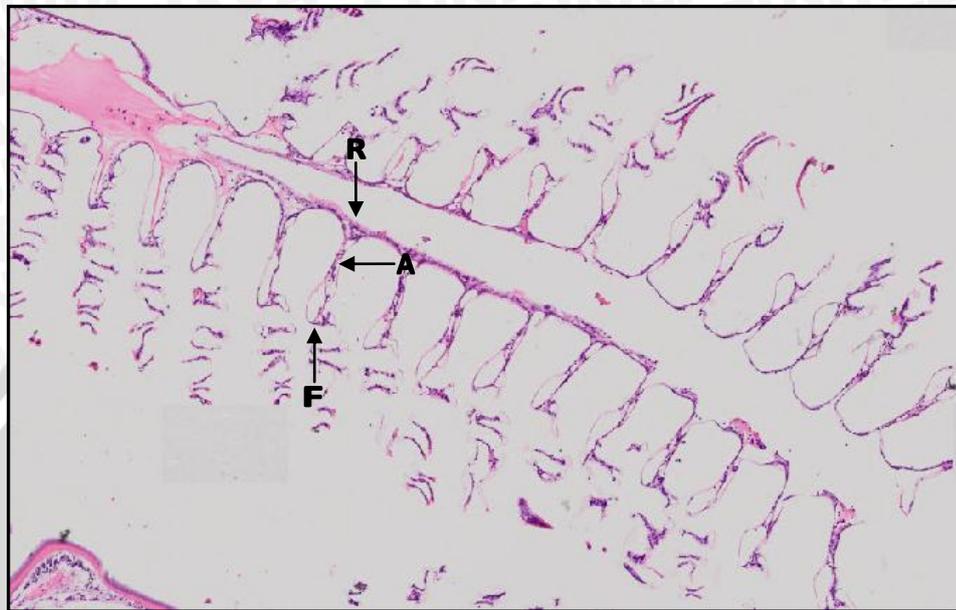
Data tersebut menunjukkan adanya penurunan jumlah udang yang terinfeksi pada sebelum dan setelah perlakuan. Hal ini terjadi karena ekstrak *Sargassum polycystum* yang diberikan pada saat perlakuan dapat menurunkan tingkat kerusakan akibat infeksi WSSV dengan cara meningkatkan sistem imunitas udang. Pernyataan ini diperkuat oleh Castro *et al.*, (2004) yang menjelaskan bahwa rumput laut merupakan alga multiselular yang mengandung substansi yang aktif secara imunologi. Ekstrak rumput laut telah diketahui mempunyai aktivitas sebagai antitumor, meningkatkan aktivitas kemotaksis *macrophage*, menstimulasi aktivitas sekresi radikal oksigen dan fagositosis pada *peritoneal and splenic murine macrophage*. Beberapa rumput laut selain *Sargassum polycystum* dilaporkan juga dapat meningkatkan sistem imunitas seperti yang dijelaskan oleh Selvin *et al.*, (2004) bahwa rumput laut *Ulva sp.*, *Dendrilla sp.*, *Spirulina sp.*, *Enteromorpha sp.*, *Dictyota sp.*, dan *Porphira sp.* telah terbukti mampu meningkatkan aktifitas imunostimulan udang.

4.4 Pengamatan Histopatologi Jaringan Insang Udang Vannamei

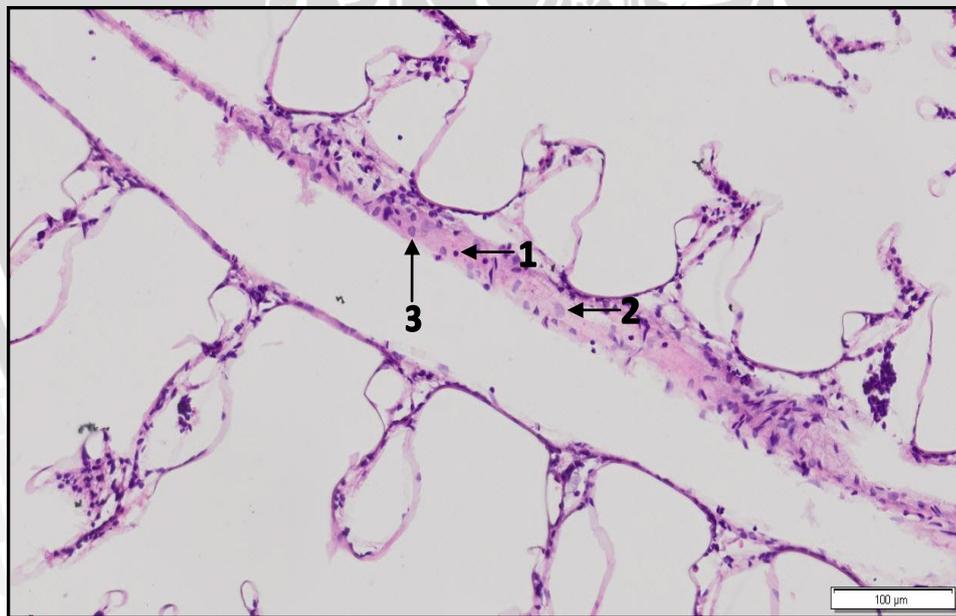
4.4.1 Struktur dan Kerusakan Jaringan Insang Udang Vannamei

Penelitian ini menggunakan analisa histologi jaringan untuk mengetahui struktur jaringan yang rusak karena pengaruh perlakuan yang diberikan. Metode ini sering disebut histopatologi. Menurut Wijayanti (2004) dalam Destiany (2007), histopatologi adalah ilmu yang mempelajari perubahan struktur dan fungsi di dalam jaringan dan organ tubuh yang menyebabkan atau disebabkan oleh penyakit yang diproses secara histologi. Berikut merupakan hasil pewarnaan

jaringan insang udang vannamei secara utuh serta bagian-bagiannya menggunakan hematoksilin-eosin dan divisualisasi menggunakan aplikasi OlyVIA perbesaran 40x dan 100x dapat dilihat pada Gambar 7.



(a)



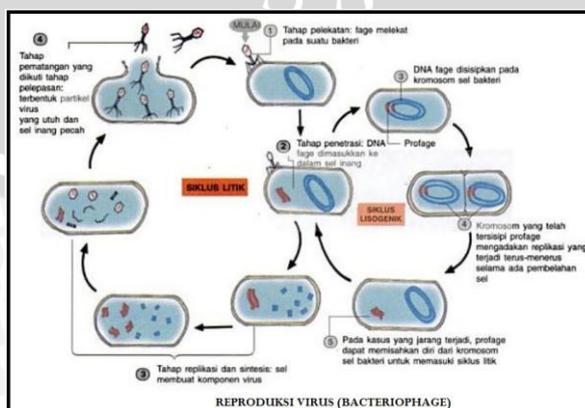
(b)

Gambar 7. Jaringan insang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) (a) menunjukkan bagian jaringan insang udang vannamei. R : Gill Racker, A : Gill Arch dan F : Gill Filamen dengan perbesaran 40x dan (b) menunjukkan jenis kerusakan sel. (1) Sel Normal, (2) Badan Inklusi/*inclusion bodies cell* (Agregat virus) dan (3) Hipertrofi epitel (Pembengkakan sel) dengan perbesaran 100x. (Sumber : dokumentasi pribadi).

Hasil pewarnaan jaringan insang udang vannamei secara utuh dapat dilihat pada gambar 7 (a) sedangkan gambar 7 (b) menunjukkan adanya beberapa kerusakan yang terjadi pada jaringan insang udang vannamei akibat infeksi WSSV yang berhasil memasuki jaringan insang. Dalam hal ini, organ yang dipreparasi secara histopatologi adalah insang. Insang adalah salah satu organ yang dapat digunakan untuk mendeteksi adanya paparan senyawa asing pada organisme perairan karena insang merupakan organ pertama yang berhubungan langsung dengan lingkungan eksternal tubuh organisme perairan khususnya berkaitan dengan fungsi respirasi organisme. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Erlangga (2007) yang menyebutkan bahwa insang merupakan organ dari ikan yang berhubungan langsung dengan lingkungan luar dan memiliki peran yang sangat penting dalam pertukaran gas serta pertukaran ion antara organisme dengan lingkungan. Kerusakan jaringan tersebut berupa hipertrofi sel epitel atau yang biasa disebut dengan pembengkakan epitel. Pembengkakan sel epitel pada jaringan insang merupakan mekanisme pertahanan diri udang vannamei, dimana insang merupakan pembatas antara lingkungan luar dengan darah.

4.4.2 Hipertrofi Epitel dan Badan Inklusi (*Inclusion Bodies Cell*)

Gambar 8 berikut ini merupakan tahap-tahap WSSV menginfeksi sel inang (udang vannamei).

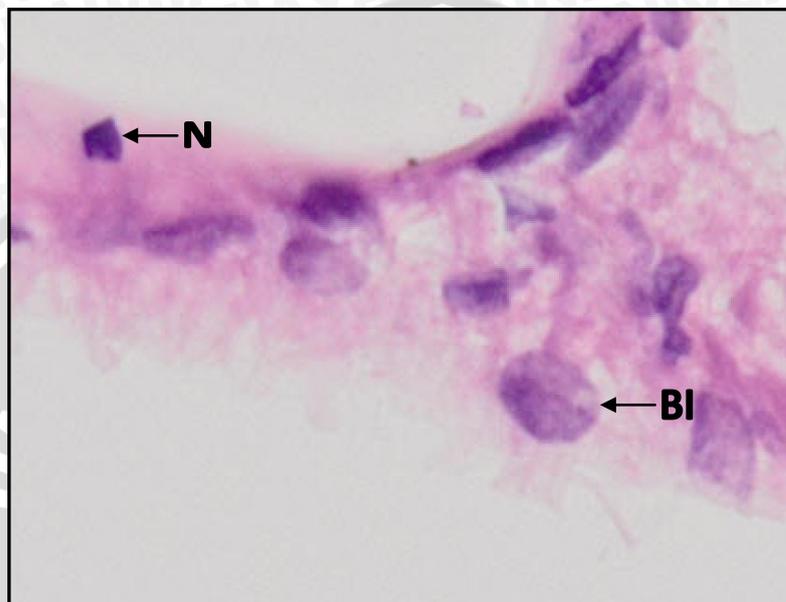


Gambar 8. Tahap – tahap WSSV menyerang sel inang (lisis dan lisogenik). (Sumber : google image, 2015).

Dalam menginfeksi inang virus memiliki 2 tahap yaitu lisis dan lisogenik. Pelczar dan Chan (2007) menyatakan bahwa proses lisis dimulai dari virus menginfeksi udang dengan cara menginjeksikan isi kepala virus (asam nukleat virus) melalui sebuah lubang tusukan yang dibuatnya pada dinding sel. Asam nukleat virus itu kemudian mengendalikan metabolisme sel dan mengarahkan inang untuk mensintesis lebih banyak asam nukleat virus serta bahan-bahan lain yang diperlukan untuk membuat partikel virus yang lengkap. Dalam waktu singkat partikel-partikel virus baru yang terbentuk itu dibebaskan oleh pecahnya dinding sel secara tiba-tiba yaitu lisis, dan menjadi bebas untuk menginfeksi sel – sel lain yang rentan. Sedangkan lisogeni adalah suatu proses yang didalamnya asam nukleat virus tidak merampas fungsi proses sintetik inang tetapi menjadi suatu bagian integral dan kromosom inang. Seraya inang itu bereproduksi, asam nukleat virus tadi diteruskan ke sel – sel anak pada setiap pembelahan sel. Pada status lisogenik, virus itu merupakan salah satu dari gen – gen inang. Di bawah kondisi alamiah tertentu atau perangsang buatan (seperti dikenali cahaya ultraviolet), maka dapat terjadi sintesis virus yang diikuti dengan lisis.

Menurut Robiins (1992) adaptasi jaringan terhadap paparan senyawa asing yang bersifat toksik bagi tubuh organisme misalnya virus, rickettsia, bakteri, jamur dan parasit hewan terdiri atas beberapa bentuk antara lain atrofi, hipertrofi, hiperplasia, metaplasia dan displasia. Sebagian dari organisme ini menginfeksi manusia melalui akses langsung misalnya inhalasi, sedangkan yang lain menginfeksi melalui transmisi oleh vektor perantara, misalnya melalui sengatan atau gigitan serangga. Sel tubuh dapat mengalami kerusakan secara langsung oleh mikroorganisme, melalui toksis yang dikeluarkannya, atau secara tidak langsung akibat reaksi imun dan peradangan yang muncul sebagai respon terhadap mikroorganisme.

Gambar 9 berikut ini merupakan hasil pewarnaan jaringan insang udang vannamei menggunakan hematoksilin-eosin untuk menunjukkan adanya badan inklusi (*inclusion bodies cell*) dan hipertrofi epitel yang divisualisasi menggunakan aplikasi OlyVIA perbesaran 800x.



(a)



(b)

Gambar 9. Kerusakan sel pada jaringan insang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). (a) menunjukkan adanya (N) Sel Normal dan (BI) Badan Inklusi/*inclusion bodies cell* (Agregat virus) dengan perbesaran 800x dan (b) menunjukkan adanya (N) Sel Normal dan (HI) Hipertrofi epitel (Pembengkakan sel) dengan perbesaran 800x. (Sumber : dokumentasi pribadi).

Gambar 9 (a) menunjukkan adanya badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang vannamei yang diperoleh melalui pewarnaan jaringan histopatologi. Menurut Pelczar dan Chan (2007), tubuh inklusi merupakan agregat sub unit virus yang tak terakit dan virion utuh di dalam sel-sel yang terinfeksi (gambar 9). Secara eksperimental tubuh-tubuh itu dapat dipisahkan dari selnya dan digunakan sebagai inokulum untuk menginfeksi sel-sel yang lain. Hal ini sependapat dengan Taillac PP (2008) dan Reed K (2011), yang menyebutkan bahwa pada mikroskop elektron, badan inklusi mengandung banyak sekali partikel virus. Partikel-partikel tersebut dan juga badan inklusi menyebabkan terjadinya akantosis yang invasif yang mengakibatkan hiperplasia dan penebalan dermis. Sehingga permukaan epidermis mengelupas dan membentuk kavitas sentral yang terbuka melalui pori-pori. Kemudian selanjutnya terbentuk nodul yang mengandung inklusi intrasitoplasmik yang terdapat virion di dalamnya, disebut sebagai badan moluskum berbentuk bulat, bersifat eosinofilik dan ditemukan pada epidermis lapisan bawah.

Gambar 9 (b) menunjukkan adanya hipertrofi epitel pada insang udang vannamei yang diperoleh melalui pewarnaan jaringan histopatologi. Hipertrofi epitel merupakan suatu bentuk adaptasi jaringan terhadap paparan senyawa asing yang bersifat toksik bagi tubuh organisme misalnya logam berat, bakteri, virus, dll. Hipertrofi epitel adalah peningkatan ukuran sel akibat peningkatan metabolisme. Menurut Robiins (2007), hipertrofi menyatakan peningkatan ukuran sel dan perubahan ini meningkatkan ukuran alat tubuh. Setiap jaringan menunjukkan bentuk-bentuk adaptasi yang berbeda-beda sesuai dengan fungsi jaringan yang bersangkutan. Jaringan insang udang pada penelitian ini menunjukkan adaptasi jaringan berupa hipertrofi epitel karena hipertrofi epitel merupakan bentuk adaptasi yang paling sesuai untuk menunjang fungsi respirasi pada insang. Pada udang yang terinfeksi, terjadi perubahan seluler sehingga

terjadi pembengkakan inti sel (hipertrofi epitel) yang disebabkan oleh perkembangan dan penumpukan virion WSSV dalam inti sel (Moore and Poss, 1999 dalam Angelica, 2004).

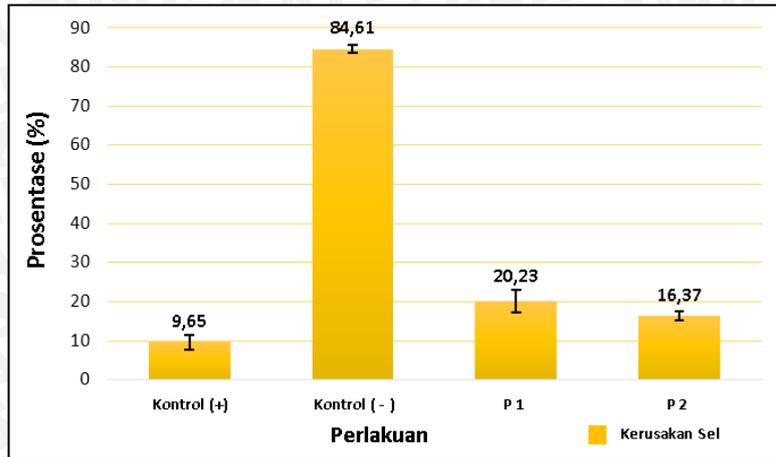
4.5 Penghitungan Kerusakan Sel Pada Insang Udang Vannamei

Berikut ini merupakan hasil penghitungan sel pada perlakuan kontrol (K+), kontrol (K-), perlakuan (P1) dan perlakuan (P2). Hasil penghitungan kerusakan disajikan dalam tabel 7 dibawah ini.

Tabel 7. Hasil penghitungan jumlah kerusakan sel

No.	Perlakuan	Σ Kerusakan sel
1	Kontrol +	9,65 %
2	Kontrol -	84,61 %
3	P1	20,23 %
4	P2	16,37 %

Tabel diatas menunjukkan persentase kerusakan yaitu hipertrofi epitel sel pada insang udang. Kontrol positif (+) berisi udang sehat, kontrol negatif (-) berisi udang yang diinfeksi WSSV namun tidak diberi perlakuan ekstrak *Sargassum polycystum* Sedangkan P1 berisi udang yang diinfeksi WSSV dan diberi perlakuan menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum* dengan cara perendaman dan P2 merupakan udang yang diinfeksi WSSV dan diberi perlakuan menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum* melalui pemberian pakan.



Gambar 10. Kerusakan sel tiap perlakuan

Gambar 10 diatas menunjukkan penurunan kerusakan sel udang yang diberi perlakuan ekstrak *Sargassum polycystum*. Hasil penghitungan menunjukkan adanya penurunan persentase kerusakan antara perlakuan kontrol negatif (-) dan perlakuan (P1 dan P2). Hasil penghitungan pada kontrol (-) sebesar 84, 61 %, pada P1 (rendam) sebesar 20,23 % dan pada P2 (pakan) sebesar 16, 37 %. Hasil penghitungan kerusakan jumlah sel pada P2 (pakan) lebih rendah dibandingkan P1 (rendam). Hasil tersebut bertolakbelakang dengan teori yang seharusnya, karena menurut Rola (2014), mekanisme pernapasan pada ikan meliputi 2 tahap, yakni inspirasi dan ekspirasi. Pada fase inspirasi, O_2 dari air masuk ke dalam insang kemudian O_2 diikat oleh kapiler darah untuk dibawa ke jaringan-jaringan yang membutuhkan. Sebaliknya pada fase ekspirasi, CO_2 yang dibawa oleh darah dari jaringan akan bermuara ke insang dan dari insang diekskresikan keluar tubuh. Sehingga, ekstrak *Sargassum polycystum* yang masuk ke dalam tubuh udang melalui sistem pernafasan akan lebih mudah diserap langsung oleh tubuh melalui sel-sel epitel pada lamela-lamela insang bersama dengan penyerapan oksigen terlarut dalam air. Dengan begitu, penyerapan bahan aktif dalam ekstrak *Sargassum polycystum* akan lebih efektif

karena langsung diserap oleh tubuh dan tidak melalui mekanisme degradasi oleh enzim-enzim pencernaan.

Sedangkan, menurut Puspita (2014) sistem pencernaan udang windu dimulai dari mulut anteroventral yang turun ke arah dorsal sepanjang tubuh dan berakhir di anus. Sistem pencernaannya dibagi menjadi bagian foregut, midgut dan hindgut beserta kelenjar pencernaan, cecae dan diverticulae. Foregut merupakan struktur ruangan yang berada di cephalothoraks yang mencakup oesophagus dan lambung (cardiac dan ruangan pilorik). Pada ruangan ini terjadi mekanisme filter yang bekerja sama dengan enzim yang memulai proses pencernaan. *Gastric mill* berfungsi sebagai mekanisme menggiling dengan ossicles pada ruangan anterior dari foregut. Partikel makanan yang telah dirusak dipisahkan dan dipindahkan ke midgut. Pada midgut terjadi absorpsi nutrisi dan kegiatan enzim. Hepatopancreas membentuk kompleks kompak saluran dan *blind-ending tubules*, yang merupakan bagian terbesar dari cephalothoraks. Hepatopancreas mensekresi enzim pencernaan, re-absorpsi nutrisi dan menyimpan energi. Sesuatu yang tak dapat dicerna dibuang melalui feses. Proses akhirnya daerah yang cukup pendek dan berhenti di otot yang dikontrol anus. Sehingga, ekstrak *Sargassum polycystum* pada P2 akan masuk melalui sistem pencernaan yaitu bersamaan dengan masuknya pelet komersial yang kemudian akan didegradasi terlebih dahulu oleh enzim-enzim pencernaan dan diserap oleh tubuh udang bersamaan dengan proses pencernaan dan penyerapan nutrisi pada pelet komersial.

Teori diatas menjelaskan bahwa perlakuan perendaman lebih efektif dari pada pencampuran dengan pakan. Namun, pencampuran ekstrak *Sargassum polycystum* dengan pelet pada penelitian ini dilakukan dengan cara meneteskan ekstrak *Sargassum polycystum* pada pelet sebelum diberikan kepada udang. Proses ini merupakan proses pencampuran yang tidak sempurna karena ekstrak

Sargassum polycystum tidak dapat terikat secara keseluruhan pada pelet, sehingga sebagian ekstrak *Sargassum polycystum* akan terlepas ke lingkungan (air) saat pakan diberikan. Hal ini menyebabkan seolah-olah udang P2 mendapatkan ekstrak *Sargassum polycystum* masuk ke dalam tubuh udang P2 melalui mulut dan insang. Hal tersebut menjelaskan mengapa perlakuan P2 (pakan) lebih efektif dari pada P1 (rendam).

Penurunan persentase kerusakan tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* dapat menurunkan persentase sel yang mengalami hipertrofi epitel pada udang yang terinfeksi WSSV dengan cara meningkatkan sistem imunitas udang. Dalam hal ini, ekstrak *Sargassum polycystum* berperan sebagai imunostimulan yang dapat merangsang sistem imunitas udang. Menurut Bratawidjaja (2006) imunostimulan adalah suatu bahan yang dapat meningkatkan kekebalan organisme terhadap infeksi patogen, dengan meningkatkan mekanisme respon imun non spesifik seperti sistem fagositik.

Ekstrak *Sargassum polycystum* yang digunakan dalam penelitian ini mengandung beberapa senyawa diantaranya polisakarida yang berperan penting sebagai imunostimulan. Anggadiredja *et al.*, (2006) menyatakan bahwa kandungan polisakarida pada rumput laut dapat digunakan sebagai imunostimulan untuk meningkatkan produksi sel-sel imun dalam tubuh. Menurut Maftuch (2009), secara imunitas, udang memiliki system imun non spesifik (innate), yang terutama dijalankan hemosit (Sel granular dan semigranular) berfungsi menyimpan protein antibakteri dan enzim protease tidak aktif (inactive serine proteinase /proppA) dan dapat diaktifkan menjadi Phenoloksidase (PO) yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh udang. Untuk mengaktifkan dibutuhkan bahan yang dapat merangsang system imun (imunostimulan). Bahan

imunostimulan ini banyak ditemukan di permukaan bakteri dalam bentuk beta glukukan, peptidoglikan dan LPS.

Senyawa polisakarida dalam ekstrak *Sargassum polycystum* yang masuk ke dalam tubuh udang akan dikenali oleh protein reseptor yang kemudian dapat mengaktifkan enzim-enzim intraseluler pada sel-sel tubuh udang. Menurut Manoppo (2014), beberapa tipe modulator protein telah diketahui dapat mengenali komponen dinding sel mikroorganisme misalnya β -1,3-glucan-binding protein (BGBP), lipopolysaccharide-binding protein (LPS-BP), hemosit reseptor yang mengikat *plasmatic glucan-binding protein* (PGBP) setelah PGBP bereaksi dengan β -1,3-glukan; *peptidoglycan recognition protein* yang mampu mengaktifkan phenoloxidase. Hal ini didukung oleh Saraswati (2013) yang menyebutkan bahwa sistem pertahanan tubuh udang akan berfungsi bila protein pengenal mengenali masuknya lipopolisakarida (LPS) atau peptidoglikan (PG) dari dinding sel mikroorganisme.

Masuknya lipopolisakarida (LPS) atau peptidoglikan (PD) yang terkandung dalam ekstrak *Sargassum* dapat menstimulasi aktivitas enzim-enzim yang berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh udang, seperti phenoloxidase (PO) dan prophenoloxidase (proPO). Menurut Manoppo (2014), Enzim phenoloxidase (PO) terdapat dalam hemolim sebagai *inactive pro-enzyme* yang disebut proPO. Transformasi proPO menjadi PO melibatkan beberapa reaksi dikenal sebagai *proPO activating system* (sistem aktivasi proPO). Sistem ini terutama diaktifkan oleh beta glukukan, dinding sel bakteri dan LPS. Enzim ini mengkatalis hidrosilasi monophenol dan oksidasi phenol menjadi quinones yang diperlukan untuk proses melanisasi sebagai respon terhadap penyerang asing dan selama proses penyembuhan (Sritunyalucksana & Söderhäll 2000; Vargas-Albores & Yepiz-Plascencia 2000). Manoppo (2014) berpendapat bahwa quinone selanjutnya akan diubah melalui suatu reaksi *non-enzymatic* menjadi melanin

dan sering dideposit pada benda yang dienkapsulasi, dalam nodul hemosit, dan pada daerah kulit yang terinfeksi jamur.

4.6 Analisis Statistik Uji Hipotesis Berpasangan

4.6.1 P1 (Rendam)

1. Perumusan hipotesis yang diuji adalah apakah pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* berpengaruh terhadap aktifitas hipertrofi epitel dan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang vannamei yang terinfeksi WSSV dengan perendaman. Hal ini berarti bahwa selisih (μ_d) antara sesudah dan sebelum lebih kecil dari nol. Perumusan hipotesisnya adalah :

$$H_0 : \mu_d \geq 0$$

$$H_1 : \mu_d < 0$$

Tanda < pada H_1 menunjukkan uji satu arah dengan daerah penolakan H_0 berada di ujung sebelah kiri.

2. Taraf nyata yaitu 5%. Nilai *t-student* dengan taraf nyata 5% (0,05) uji satu arah dengan derajat bebas (df) = $n - 1 = 9 - 1 = 2,306$
3. Menentukan uji *t*

Tabel 8. Uji statistik *t* (P1)

Kode	Σ Sel		d	d^2
	K (-) / Rusak	P1 / Rusak		
BP.1.1	677	129	548	300304
BP.1.2	745	127	618	381924
BP.1.3	619	143	476	226576
BP.2.1	631	138	493	243049
BP.2.2	750	140	610	372100
BP.2.3	849	188	661	436921
BP.3.1	797	200	597	356409
BP.3.2	724	207	517	267289
BP.3.3	668	228	440	193600

- Standart deviasi :

$$s = \sqrt{\frac{\sum d^2 - \frac{(\sum d)^2}{n}}{n-1}} = \sqrt{\frac{2.778.172 - \frac{2.778.172}{9}}{9-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{2.778.172 - 308.686}{8}}$$

$$= \sqrt{308.686}$$

$$= 556$$

- Uji t :

$$t = \frac{\bar{d}}{sd/\sqrt{n}} = \frac{4.960/9}{556/\sqrt{9}}$$

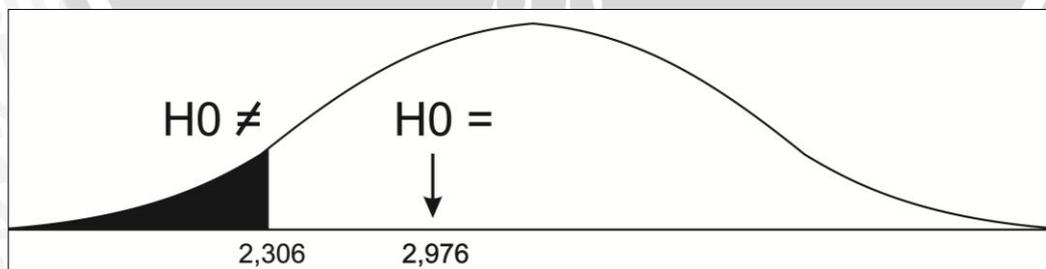
$$= \frac{551}{185}$$

$$= 2,976$$

di mana :

- t : Nilai distribusi t
- \bar{d} : Nilai rata-rata perbedaan antara pengamatan
- Sd : Standart deviasi dari perbedaan antara pengamatan berpasangan
- n : Jumlah pengamatan berpasangan
- d : Perbedaan antara data berpasangan

4. Menentukan daerah keputusan dengan nilai kritis 2,306



Gambar 13. Daerah keputusan H0 diterima pada perlakuan P1

5. Dari hasil uji t didapatkan kurva penentuan daerah keputusan yang menunjukkan bahwa H_0 diterima, hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* dengan cara dicampurkan ke dalam pakan berpengaruh terhadap aktifitas hipertrofi epitel dan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang vannamei yang terinfeksi WSSV.

4.6.2 P2 (Pakan)

1. Perumusan hipotesis yang diuji adalah apakah pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* berpengaruh terhadap aktifitas hipertrofi epitel dan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang vannamei yang terinfeksi WSSV dengan pencampuran ke dalam pelet komersial. Hal ini berarti bahwa selisih (μ_d) antara sesudah dan sebelum lebih kecil dari nol. Perumusan hipotesisnya adalah :
$$H_0 : \mu_d \geq 0$$
$$H_1 : \mu_d < 0$$
Tanda $<$ pada H_1 menunjukkan uji satu arah dengan daerah penolakan H_0 berada di ujung sebelah kiri.
2. Taraf nyata yaitu 5%. Nilai t -student dengan taraf nyata 5% (0,05) uji satu arah dengan derajat bebas (df) = $n - 1 = 9 - 1 = 2,306$

3. Menentukan uji t

Tabel 9. Uji statistik t (P2)

Kode	Σ Sel		d	d ²
	K (-) / Rusak	P2 / Rusak		
BP.1.1	677	186	491	241081
BP.1.2	745	151	594	352836
BP.1.3	619	131	488	238144
BP.2.1	631	137	494	244036
BP.2.2	750	129	621	385641
BP.2.3	849	147	702	492804
BP.3.1	797	199	598	357604
BP.3.2	724	127	597	356409
BP.3.3	668	157	511	261121

- Standart deviasi :

$$s = \sqrt{\frac{\sum d^2 - \frac{(\sum d)^2}{n}}{n-1}} = \sqrt{\frac{2.929.676 - \frac{2.929.676}{9}}{9-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{2.929.676 - 325.520}{8}}$$

$$= \sqrt{325.520}$$

$$= 571$$

- Uji t :

$$t = \frac{\bar{d}}{sd/\sqrt{n}} = \frac{5.096/9}{571/\sqrt{9}}$$

$$= \frac{566}{190}$$

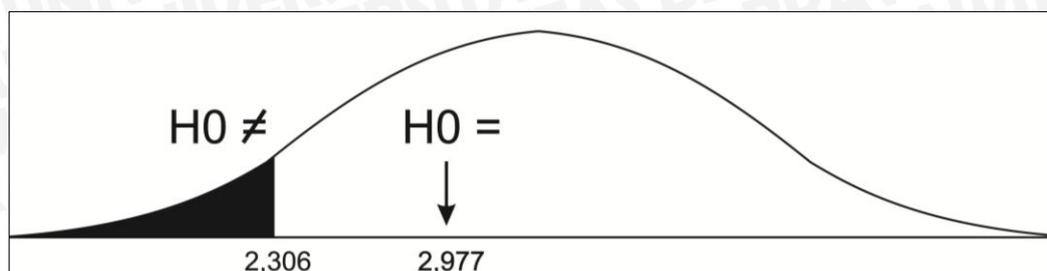
$$= 2,977$$

di mana :

- t : Nilai distribusi t
- \bar{d} : Nilai rata-rata perbedaan antara pengamatan
- Sd : Standart deviasi dari perbedaan antara pengamatan berpasangan
- n : Jumlah pengamatan berpasangan
- d : Perbedaan antara data berpasangan



- Menentukan daerah keputusan dengan nilai kritis 2,306



Gambar 13. Daerah keputusan H0 diterima pada perlakuan P2

- Dari hasil uji t didapatkan kurva penentuan daerah keputusan yang menunjukkan bahwa H0 diterima, hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* dengan cara perendaman berpengaruh terhadap aktifitas hipertrofi epitel dan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang vannamei yang terinfeksi WSSV.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak *Sargassum polycystum* dapat menurunkan aktifitas hipertrofi epitel dan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang terinfeksi WSSV.
2. Pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* melalui pakan lebih efektif menurunkan aktifitas hipertrofi epitel dan badan inklusi (*inclusion bodies cell*) pada insang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang terinfeksi WSSV dari pada melalui perendaman.
3. Ekstrak *Sargassum polycystum* mengandung beberapa senyawa penting antara lain polisakarida yang berperan dalam menurunkan tingkat kerusakan jaringan insang akibat infeksi WSSV dengan cara meningkatkan sistem kekebalan tubuh udang vannamei.

5.2 Saran

Bagi para pembudidaya udang khususnya udang vannamei, bahwa alga coklat jenis *Sargassum polycystum* mengandung bahan aktif berupa Polisakarida yang berfungsi menurunkan kerusakan sel akibat infeksi virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*). Sehingga dapat diaplikasikan untuk meningkatkan produktivitas budidaya udang vannamei.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiwijaya. 2004. *Budidaya Udang Vannamei (Litopenaeus Vanamei) Intesif Yang Berkelanjutan*. Jepara. Departemen Kelautan dan Perikanan
- Alifuddin, M., D. Dana, M. Eidman, M.B. Malole dan F.H. Pasaribu. 2003. *Penyakit white spot pada udang windu (Penaeus monodon fab.) : penularan melalui perendaman dengan virus white spot 20, 100 dan 200 µg/ml dengan waktu ekspos 120 menit. Jurnal akuakultur Indonesia. 2(1):31-35*
- Amri, K. dan I. Kanna. 2008. *Budi Daya Udang Vaname Secara Intensif, Semi Intensif dan Tradisional*. Jakarta. PT. Gramedia Pustaka Utama
- Amri, Khairul. 2006. *Budidaya Udang Windu Secara Intensif*. Jakarta. Agromedia Pustaka
- Anderson, D.P. 2004. Immunostimulants, Vaccines and Enviromental Stressors in Aquaculture : NBT Assays to Show Neutrophil Activity by These Immunomodulators. In: Cruz Suarez, L.E.Ricque Marie D, Nieto Lopez. M.G. Villareal, D., Scholz, U. Y. Gonzales, M. 2004. *Avances en Nutricion Acuicola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutricion Acuicola*
- Angelica, G. 2004. *Efek radiasi ultraviolet (30, 45 dan 60 menit dengan jarak 20 cm) terhadap patogenitas virus white spot syndrome pada udang windu (Penaeus monodon)*. **Skripsi**. Program studi Teknologi dan Manajemen Akuakultur. Bogor. Departemen Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor
- Anggadiredja, J.T., Achmad Z, Heri P, Sri I. 2006. *Rumput Laut*. Jakarta. Penebar Swadaya
- Anggoro,S., Johannes Hutabarat., Diana Rachmawati. 2000. *Pengaruh Salinitas Media Berbeda Terhadap Pertumbuhan Keong Macan (Babylonia spirata L.) Pada Proses Domestikasi*. ILMU KELAUTAN September 2012. Vol. 17 (3) 141-147
- Antunes WM, Luna AS, Henriques CA, Costa ACA. 2003. *An evaluation of copper biosorption by a brown seaweed under optimized conditions*. J. Biotechnology 6(3):174-184
- Arifin, Z., D. Adiwidjaya, U. Komarudin, A. Nur, A. Susanto, A. Taslihan, K. Ariawan, A. Mardjono, E. Sutikno, Supito dan S. Latief. 2007. *Penerapan Best Management Practices (BMP) pada Budidaya Udang Windu (Penaeus monodon Fabricus) Intensif*. Jepara. Departemen Kelautan dan Perikanan Direktorat Jendral Perikanan Budidaya Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara
- Aslan LM. 1999. *Budidaya Rumput Laut*. Yogyakarta. Penerbit Kanisius

- Atmadja WS dan Soelistijo. 1988. *Beberapa Aspek Vegetasi dan Habitat Tumbuhan Laut Bentik di Pulau-Pulau Seribu*. Jakarta. Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi-LIPI
- Atmaja WS. 1996. Pengenalan Jenis Algae coklat (Phaeophyta). Dalam: W.S. Atmaja, A. Kadi, Sulistijo dan R. Satari (Eds). *Pengenalan Jenis-jenis Rumpun Laut Indonesia*. Jakarta. Puslitbang Oseanologi LIPI
- Bellanti, Joseph, A. Dan Kadlec, Josev, V. 1993. *Immunologi Umum: Imunologi III*. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press
- Bratawidjaja KG. 2006. *Imunologi Dasar*. Jakarta. Fakultas Kedokteran Indonesia
- Budiardi, T. 2008. *Keterkaitan Produksi Dengan Beban Masukan Bahan Organik Pada Sistem Budidaya Intensif Udang Vaname (Litopenaeus vannamei Boone 1931)*. **Disertasi**. Institut Pertanian Bogor
- Castro, R. I. Zarrab, & J. Lamas. 2004. *Water-soluble Seaweed Extracts Modulate the Pantoea agglomerans lipopolysaccharide (LPS)*. Fish Shellfish Immunol. 10: 555–55
- Departemen Kelautan dan Perikanan. 2003. *Jenis Penyakit Udang Pada Budidaya Perairan Payau*. Belawan Medan
- Depita, F. 2004. *Peran arthemiasis sp. Dalam penularan White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada udang windu (Penaeus monodon fbr) dengan berbagai perlakuan*. **Skripsi**. Program Studi Teknologi dan Manajemen Akuakultur. Departemen Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor
- Desrina, A. H., C. Haditomo dan S. B. Prayitno. 2011. *Survey keberadaan virus White Spot Syndrome (WSS) pada cacing Polychaeta di tambak udang : studi kasus di kendal*. Jurnal Litbang Provinsi Jawa tengah. 9(2):130-140
- Destiany, Maulida. 2007. *Pengaruh pemberian merkuri klorida Terhadap struktur mikroskopis hati Ikan mas*. **Skripsi**. Universitas Negeri Semarang
- Destralina, O. M. 2004. *Screening test white spot syndrome virus pada udang putih (Penaeus vannamei) menggunakan teknik polymerase chain reaction di balai karantina ikan Soekarno-Hatta*. **Skripsi**. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor
- Ditjen Perikanan Budidaya. 2006. *Pengendalian Penyakit TVS pada Budidaya Udang Vaname*. Artikel DKP. Jakarta. Diakses tanggal 12 Mei 2015
- Donati I, Paoletti S. 2009. Materials Properties of Alginates. Dalam: B.H.A Rehm (Ed). *Alginates: Biology and Applications*. P. 1-54. Springer-Verlag. Berlin
- Draget KI, Strand B, Hartmann M, Valla S, Smidsrod O, Skjak-Braek G. 2005. *Ionic and acid gel formation of epimerised alginates; the effect of algE4*. Int J Biol Macromol 27:117-122

- Erlangga. 2007. *Efek Pencemaran Sungai Kampar Di Provinsi Riau terhadap Ikan Baung (Hemibagrus nemurus)*. **Tesis**. Program Magister Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor
- Ertesvag H, Vall S, Skjak-Braek G. 2009. Enzymatic Alginate Modification. Dalam: B.H.A Rehm (Ed). *Alginates: Biology and Applications*. P. 102-122. Springer-Verlag. Berlin
- Esteban MA, Cuesta A, Ortuno J, & Meseguer J. 2001. *Immunomodulatory Effects of Dietary Intake of Chitin in Gilthead Seabream (Sparus aurata L.) Innate Immune Response*. *Fish & Shellfish Immunology*. 11:303–15
- Estiati, B hidayat. 1995. *Taksonomi Tumbuhan (Cryptogamae)*. Bandung. ITB Pers
- FCC.1993. *Food Chemical Codex*. Washington. National Academy Press
- Firmansyah ,A. 2002. *Uji patogenitas White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada udang windu (Penaeus monodon)*. **Skripsi**. Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut pertanian Bogor
- Google. 2015. www.google.com. Tabel distribusi *t*-student. Diakses pada 30 Juni 2015
- Goldman, C.R. and A.J. Horne. 1983. *Limnology*. Mc. Graw Hill. International Book Company. Tokyo
- Haliman, R. W. 2004. *White Spot Syndrome Virus (WSSV) dan bakteri Vibrio sp. Pada pakan segar uang diberikan sebagai ransum induk udang windu (Penaeus monodon)*. *Jurnal akuakultur Indonesia*. 3(1): 12-22
- Haliman, R. W. 2005. *Udang Vannamei*. Jakarta. Penebar Swadaya
- Haliman. R.W, Dian A.S. 2006. *Budidaya Udang Vanamei*. Jakarta. Penebar Swadaya
- Hameed, A. S. S, M. Anilkumar, M.L.S.Raj and K. Jayaraman.1998. *Studies on the pathogenicity of systemic ectodermal mesodermal baculovirus and its detection in shrimp by immunological methods*. *Aquaculture* 160 : 31- 45.
- Hartono, R. C. 2014. *Pengaruh Penginfeksi White Syndrome Virus (WSSV) Dengan Perendaman Yang Berbeda Terhadap Morfologi Udang Vannamei (Litopenaeus vannamei)*. **Skripsi**. Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang
- Hendrajat, E. A., B. Pantjara dan M. Mangapa. 2010. *Polikultur udang vaname (Litopenaeus vannamei) dan rumput laut (Gracilaria verrucosa)*. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur 2010. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau. Maros. Sulawesi Selatan

- Jasmanindar, Y. 2009. *Penggunaan ekstrak Gracilaria verrucosa untuk meningkatkan sistem ketahanan udang vannamei Litopenaeus vannamei*. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor
- Johnson, P.T. 1987. *A review of fixed phagocytic and pinocytotic cells of decapod crustaceans, with remark on haemocytes*. Development and Comparative Immunology. 11(4), pp. 679-704
- Kamiso HN., Triyanto, A. Isnansetyo dan E. Setyobudi. *Method for Production of Vibrio Free Freshwater Giant Prawn Fry Macrobrachium rosenbergii*. Dipresentasikan dalam World Aquaculture Symposium, Nusa Dua Bali, 9-13 Mei 2005
- Karubaba, I, I, I. 2012. *Kajian Kualitas Perairan di Sekitar Pangkalan Ikan (PPI) Teluk Sawaoba Manukwari Papua Barat*. Skripsi. Universitas Negeri Papua Manukwari
- Kasornchandra, J., S. Boonyaratpalin, and T. Itami. 1998. *Detection of whitespot syndrome in cultured penaeid in Asia*. Microscopic observation and polymerase chain reaction. Aquac. 164:243-251
- Kilawati, Y. 2011. *Pengaruh Serangan WSSV Terhadap Morfologi, Tingkah Laku dan Kelulushidupan SPF Udang Vaname Indonesia Yang Dipelihara Dalam Lingkungan Terkontrol*. Journal of Biological Researchers. No. 7F, hlm. 105 – 109
- Kilawati, Y. Dan W. Darmanto. 2009. *Karakter protein ICP11 pada DNA udang vannamei (Penaeus vannamei) yang terinfeksi White Spot Syndrome Virus (WSSV)*. Berk. Penel. Hayati:15: 21-24 hlm
- Kordi., Ghufron. 2007. *Pemeliharaan Udang Vanamei*. Penerbit Indah. Surabaya
- Kordi.,Tancung. 2005. *Pengelolaan Kualitas Air Dalam Budidaya Perairan*. Jakarta. Rineka Cipta
- Kou Hsiung-Guang, Shao-En Peng, Ya-Lin Chiu, Chu-Fang Lo. 1996. *Tissue distribution of white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp and carps, In flagel TW (ed) advances in shrimp biotechnology*. Bangkok. National center for genetic engineering and biotechnology
- Kwang, L.C. 1996. *Imune Enhancer in The Control of Disease in Aquaculture*. Singapore. Encap Technology Pte. Ltd.
- Lightner, D.V. 1996. *A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp*. The World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisiana, USA
- Lightner, D.V., R.M. Redman, and T.A. Bell. 1983. *Observations on the geographic distributions, pathogenesis, and morphology of the baculovirus from Penaeus monodon fabricius*. Aquacult. 23:209-233

- Lightner, D.V.1996. *A Handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of culture penaeid shrimp in Asia*. World Aquaculture Society. Baton Rouge, LA. USA
- Madeali, M.I., Tompo, dan A. Muliani. 1998. *Diagnosis penyakit viral pada udang windu Penaeus monodon secara histopatologi dan antibodi poliklonal dengan metode elisa*. J. Penelitian Perikanan Indonesia. 4:11-18
- Maftuch. 2009. *PERAN ADHESIN PILI DAN OMP Vibrio alginolyticus SEBAGAI IMUNOSTIMULAN PADA BUDIDAYA UDANG WINDU (Penaeus monodon Fabr.)*. Universitas Brawijaya Malang
- 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
- Martini, FH. 2001. *Fundamental of Anatomy and Physiologi*. Published by Prentice-Hall Inc. Upper Saddle River: New Jersey, pp. 1-11
- Mc Cormick E, ali. 2001. Alginate-Lifecasters'Gold. Art Casting Journal-September.2001.http://www.artmolds.com/ali/pdf/alginatelifecaster_gold.pdf.
- Manoppo H., Magdalena E.F.K. 2014. *Respon imun krustase (Crustacean immune response)*. Review artikel budidaya perairan mei 2014. Vol. 2 No. 2
- Mirshafiey A, Rehm BHA. 2009. *Alginate and Its Comonomer Mannuronic Acid: Medical Relevance as Drug*. Dalam: B.H.A Rehm (Ed). *Alginates*. Biology and Applications. P. 229-260. Springer-Verlag. Berlin
- Murtidjo, B. A. 1989. *Budidaya udang dan bandeng*. Yogyakarta. Kanisius
- Mushollaeni, W. Endang, R. 2011. *Karakterisasi Natrium Alginat dari Sargassum sp., Turbinaria sp., dan Padina sp.* Jurnal teknik dan industri pangan Vol XXII No 1. Universitas Tribhuwana Tunggaladewi
- Nazaruddin, Dwinna Aliza, Siti Aisyah, Zainuddin dan Syafrizal. 2014. *Gambaran Histopatologis Hepatopankreas Udang Windu (Penaeus Monodon) Akibat Infeksi Virus Hepatopancreatica Parvovirus (Hpv)*. Universitas Syiah Kuala Banda Aceh
- Nofiauwaty, 2012. *Faktor – Faktor yang Mempengaruhi Konsumen Membeli Produk Vetsin (Studi Kasus : Ajinomoto, Masako, dan Royco)*. Jurnal Orasi Bisnis
- Nuhmah. 2009. *Pengaruh prosentasi pemberian pakan terhadap kelangsungan hidup dan laju pertumbuhan udang vannamei (Litopenaeus vannamei)*. Jurnal Berkala Ilmiah Perikanan 3(1):36 Surabaya

- Nurhidayah, B. Tampangallo, A. R. Tondok dan H. Anshary. 2013. *Penyebaran White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada pasca larva udang windu (Penaeus monodon) dengan substrat yang berbeda.* (tidak diterbitkan)
- Pelczar, M, J., E, C, S, Chan. 2007. *Dasar-dasar Mikrobiologi 1.* Jakarta. Penerbit Universitas Indonesia
- Pradikta, A.N. 2010. *Teknik pembesaran udang vannamei (Litopenaeus vannamei) secara intensif pada PT Sumber Sewu Samudera Desa Palukuning kecamatan Muncar kabupaten Banyuwangi Jawa Timur.* Ringkasan. (tidak diterbitkan)
- Prajitno Arief. 2008. *Penyakit Ikan-Udang Virus.* Penerbit Universitas Negeri Malang/IKIP Malang
- Prastowo B. W., K. Ariawan, E. M. Nur, R. Rahardianti dan Y. Setyowati. 2009. *Identifikasi cacing Polychaeta, Nereis sp. Sebagai vektor White Spot Syndrome Virus (WSSV) di alam dan kajian uji tantang di laboratorium.* Jurnal Perikanan (J. Fish. Sci) XI(2): 183-191
- Priatni, D. 2003. *Pengaruh pemanasan pada tingkat 45°C, 50°C, 55°C, dan 60°C selama 30 menit terhadap patogenitas White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada udang windu (Penaeus monodon Fabr.).* **Skripsi.** Program Studi Teknologi dan Manajemen Akuakultur. Departemen Budidaya perairan Fakultas Perikanan dan Kelautan. Institut Pertanian Bogor
- Pulungan, H. S. 2002. *Uji patogenitas penyebab penyakit bintik putih (White Spot Syndrome Virus) pada udang windu (Penaeus monodon, Fabr) dalam inokulum 100-115 pg/ml selainya 120, 180, dan 210 menit.* **Skripsi.** Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor
- Pusat Penyuluhan kelautan dan Perikanan. 2011. *Budidaya udang vaname (Litopenaeus vannamei).* Jakarta. Pusat Penyuluhan kelautan dan Perikanan
- Puspita. 2014. udang galah, udang windu dan kepiting bakau. <http://puspita-nero.blogspot.com/2014/12/udang-galah-udang-windu-dan-kepiting.html>. Diakses pada 4 juni 2015.
- Raa, J. 2000. The Use of Immune Stimulants in *Fish and Shellfish Feeds*. In: Cruz-Suarez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A., Civera-corecedo, R (Eds). *Avances en Nutricion Acuicola.* 19-22 oviembre. 2000. Merida, Yucatan, Mexico
- Rahma, H., Slamet Budi Prayitno dan A. Harjuno Condro Haditomo. 2014. *INFEKSI WHITE SPOT SYNDROM VIRUS (WSSV) PADA UDANG WINDU (Penaeus monodon Fabr.) YANG DIPELIHARA PADA SALINITAS MEDIA YANG BERBEDA.* Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro Semarang
- Rahmawati, R. 2002. *Uji patogenitas White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada udang windu (Penaeus monodon) melalui metode perendaman dengan*

konsentrasi 200 µg/ml selama 30, 60 dan 90 menit. **Skripsi**. Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor

Ramxel. 2010. *Biology Shrimp, Pond bottom management, Feeding management, Water Quality Management, Shrimp Disease*. <http://shrimp-culture.blogspot.com/>. Diakses pada tanggal 21 Desember 2014

Reed, K. 2011. *Handbook of Ocular Disease Management Molluscum Contagiosum*. http://cms.revoptom.com/handbook/oct02_sec1_1.htm. Diakses pada 4 Juni 2015

Ridlo, A. dan R. Pramesti. 2009. *Aplikasi Ekstrak Rumput Laut Sebagai Agen Immunostimulan Sistem Pertahanan Non Spesifik Pada Udang (Litopenaeus vannamei)*. Universitas Diponegoro Semarang

Robiins dan Kumar. 1992. *Buku Ajar Patologi I*. Jakarta. EGC.

Robiins. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Penerbit EGC Medical Book Store. Jakarta. Edisi 7 Vol 1.

Rodriguez, J.E. and G. Le Moullac. 2000. *State of The Art Immunological Tools and Health Control of Penaeid Shrimp*. *Aquaculture* 191 : 109-119.

Rodryguez, A. Cuesta, A. Esteban, M. A. & Meseguer, J. 2003. *The Effect of Dietary Administration of The Fungus Mucor circinneloides on Nonspecific Immune Responses of Gilthead Seabream, Fish & Shellfish Immunology*. (16):241 – 249.

Rola, A. 2014. *Sistem Pernapasan Invertebrata Dan Vertebrata Sistem Pernapasan Invertebrata Dan Vertebrata*. <http://smadiya.blogspot.com/2014/02/pernapasan-invertebrata-dan-vertebrata.html>. Diakses pada 4 Juni 2015.

Sakai, M. 1999. *Current Research Status of Fish and Shellfish Immunostimulants*. *Aquaculture*. 172:3-92.

Salasa, FFA. 2002. *Teknologi Pengolahan Ikan dan Rumput Laut*. Departemen Kelautan dan Perikanan. Pusat Pendidikan dan Pelatihan Perikanan. Jakarta.

Saraswati, E. 2013. *Respons Imun Udang Putih (Litopenaeus vannamei) Dengan Pemberian Ekstrak Chaetoceros ceratosporum Terhadap Infectious Myonecrosis Virus (IMNV)*. **Disertasi**. Ilmu Perikanan dan Kelautan Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya Malang

Sati, I. 2003. *Riset Public Realitionship Modul*. Pusat Pengembangan Bahan Ajar. UMB.

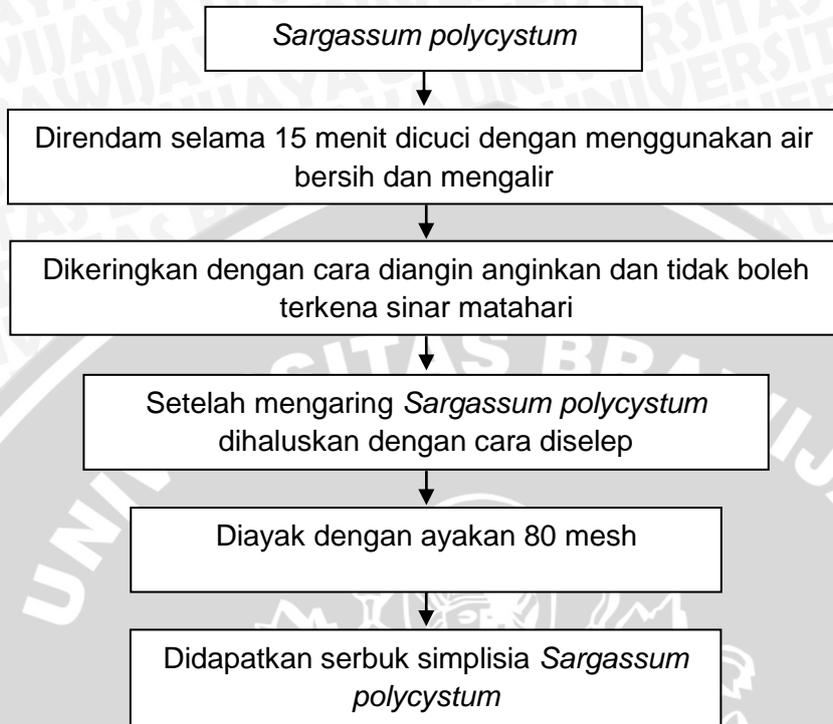
Selvin J., A.J. Huxleya, & A.P. Lipton. 2004. *Immunomodulatory Potential of Marine Secondary Metabolites Against Bacterial Diseases of Shrimp*. *Aquaculture* 230: 241– 248.

- Setiawan, A. R. 2010. *Aplikasi Sistem Informasi Gudang. PT. Antika Raya. Skripsi*. Universitas Diponegoro Semarang
- Sime W. 1990. *Alginates*. Dalam: P. Harris (Ed). Food Gels. Elsevier. London
- Smith, V.J., J.H. Brown, C. Hauton. 2003. *Immunostimulation in Crustaceans : does it Really Protect Against Infection? Fish and Shellfish Immunology*. 15 (2003) 71-90. Elsevier Science Ltd. www.elsevier.com/locate/fsi.
- Soderhall, K. dan L. Cerenius. 1998. *Role of The Prophenoloxdase Activating System in Invertebrate Immunity*. *Curr.opin. Immunology* 10:23-28. Annual Review of Fish Disease 2:3-23
- Soetrisno, C. K. 2004. 2004. *Mensiasati penyakit WSSV di tambak udang*. *Aquacultura Indonesiana*. 5(1):19-31
- Sugiyono. 2003. *Metode Penelitian Bisnis*. Bandung. Pusat Bahasa Depdiknas
- Sugiyono. 2012. *Metode Penelitian Kombinasi (Mixed Methods)*. Bandung: Alfabeta
- Sukenda, S. H. Dwinanti dan M. Yuhana. 2009. *Keberadaan white spot syndrome virus (WSSV), taura syndrome virus (TSV) dan infectious hypodermal haematopotic necrosis virus (IHHNV) di tambak intensif udang vaname (Litopenaeus vannamei) di Bakauheni*. Lampung Selatan. *Akuakultur Indonesia*. 8(2):1-8. Bogor.
- Sulistijo. 2002. *Penelitian budidaya rumput laut (algae makro/ sea weed) di Indonesia*. <http://katalog.pdii.lipi.go.id> diakses pada 10 April 2015
- Sutrisno, E., W.T. Prabowo dan S. Subyakto. 2010. *Produksi Calon Induk Udang Vaname Litopenaeus vannamei Dengan Sistem Resirkulasi Tertutup Pada Bak Raceway*. Situbondo. Balai Budidaya Air Payau Situbondo
- Taillac, P, P. 2008. *Molluscum Contagiosum in Emergency Medicine*. <http://emedicine.medscape.com/article/762548-overview#showall>. Diakses pada 4 Juni 2015.
- Taslihan, Supito, Erik, Richard. 2004. *Teknik Budidaya Udang Secara Benar*. Jepara. Departemen Kelautan dan Perikanan
- Taslihan., Supito., Erik., Richard. 2004. *Teknik Budidaya Udang Secara Benar*. Jepara. Departemen kelautan dan perikanan
- Taylor WR. 1979. *Marine Alga of the Eastern Tropical and Subtropical Coast of the Americas*. Michigans. The University of Michigan
- Tjondronegoro PD, Natasaputra M, Kusumaningrat T, Gunawan AW, Jaelani M, Suwanto A. 1989. *Botani Umum II*. Bogor: Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati, Institut Pertanian Bogor

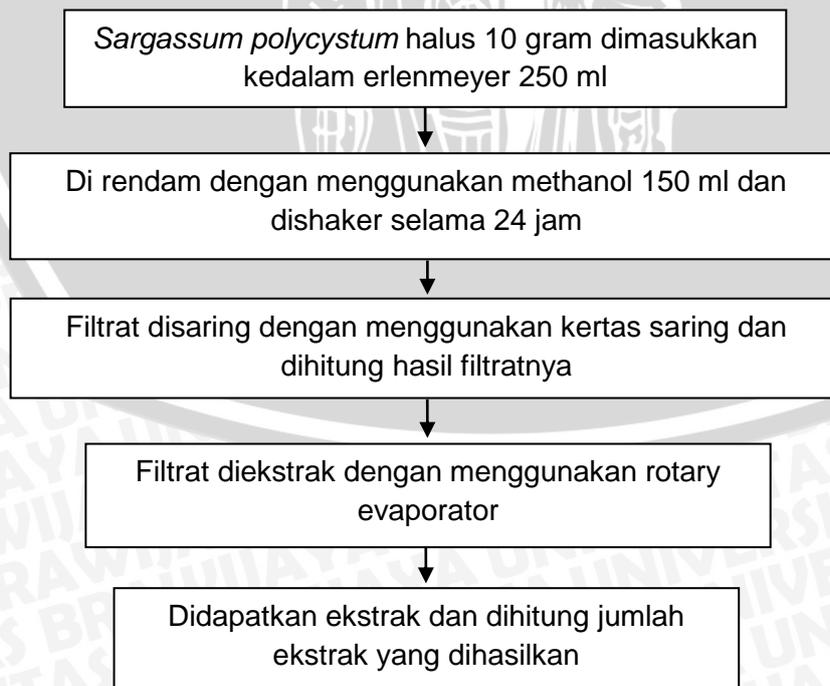
- Toft K, Grasdalen H, smidsrod O. 1986. *Synergistic gelation of alginates and pectins*. ACS Symp Ser
- Triwahyudi Marjoko. 2012. *Kepekaan dalam budidaya udang vannamei*. <http://marjokotriwahyudi.blogspot.com/2012/01/kepekaan-dalam-budidaya-udang-vannamei.html>. Diakses pada tanggal 10 April 2015.
- Trobos. 2011. *Jaga Salinitas Demi Produktivitas*. (http://www.trobos.com/show_article.php). Diakses 25 Mei 2015.
- Truss, Vaheer, Taure. 2001. *Algal biomass from Fucus vesiculosus (Phaeophyta): investigation of the mineral and alginate components*. Proc Estonian Acad Sci Chem 50(2)
- Wahjuningrum, D S. H. Sholeh dan S. Nuryati. 2006. *PENCEGAHAN INFEKSI VIRUS WHITE SPOT SYNDROME VIRUS (WSSV) PADA UDANG WINDU Penaeus monodon DENGAN CAIRAN EKSTRAK POHON MANGROVE (CEPM) Avicennia sp. DAN Sonneratia sp.* Institut Pertanian Bogor
- Wang, Y. G., M. Shariff, P.M. Sudha, P.S. Srinivasa Rao, M.D. Hassan and L.T. Tan. 1998. *Managing white spot disease in shrimp*, *Infosh International*.p : 30-36
- Winarno FG. 1996. *Teknologi Pengolahan Rumput Laut*. Jakarta Pustaka Sinar Harapan
- Yanto, H. 2006. *Diagnosa dan identifikasi penyakit udang asal tambak intensif dan panti benih di Kalimantan Barat*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. 7(1):17-32
- 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 2015
- Yanuar, U. 2011. *Respon Immun Sel Interleukin -4 (IL-4) Pada Ikan Kerapu Tikus (Cromileptes altivelis) Yang Dipapar Protein Immunogenik Vibrio Harveyi*. *Jurnal Kelautan*, Vol-4(2)
- 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 vaname Litopenaeus vannamei*. **Skripsi**. Departemen Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor
- Zuriah, Nurul. 2006. *Metodologi Penelitian Sosial dan Pendidikan*. Jakarta. Bumi Aksara.

Lampiran 1. Proses Ekstraksi *Sargassum polycystum*

a. Proses pembuatan serbuk simplisia *Sargassum polycystum*



b. Proses pembuatan ekstrak *Sargassum polycystum*



Lampiran 2. Tingkat Infeksi Udang Menggunakan Metode Skoring.

➤ Tingkat Infeksi Udang Pasca Inkubasi WSSV.

No	Perlakuan	Sehat	Jumlah udang yang terdeteksi WSSV dengan skoring			Mati	Jumlah
			1	2	3		
1	Kontrol +	15	-	-	-	-	15
2	Kontrol -	8	3	2	2	-	15
3	P1	6	8	1	-	-	15
4	P2	7	6	2	-	-	15

➤ Tingkat Infeksi Udang Pasca Perlakuan Menggunakan Ekstrak *Sargassum polycyctum*.

No	Perlakuan	Sehat	Jumlah udang yang terdeteksi WSSV dengan skoring			Mati	Jumlah
			1	2	3		
1	Kontrol +	14	1	-	-	-	15
2	Kontrol -	2	5	4	4	-	15
3	P1	11	2	-	-	2	15
4	P2	12	2	-	-	1	15

Lampiran 3. Foto proses persiapan *Sargassum polycystum* (Sumber : Dokumentasi pribadi)



Perendaman *Sargassum polycystum*



Pencucian *Sargassum polycystum*



Penjemuran *Sargassum polycystum*



Sargassum polycystum (Google, 2015)

Lampiran 4. Foto proses ekstraksi alginat dari *Sargassum polycystum* (Sumber : Dokumentasi pribadi)



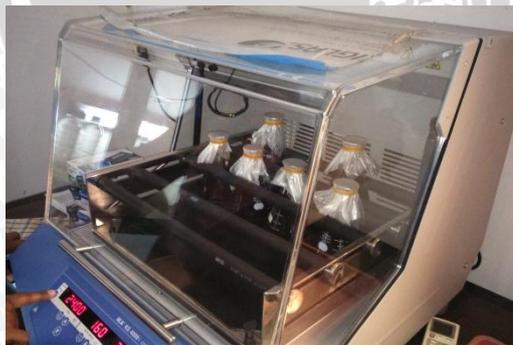
Sterilisasi alat



Penimbangan serbuk *Sargassum polycystum*



Melarutkan serbuk *Sargassum polycystum* dengan methanol



Proses Shaker



Proses Evaporasi

Lampiran 5. Foto proses isolasi virus WSSV (Sumber : Dokumentasi pribadi)



Lampiran 6. Foto penelitian (Sumber : Dokumentasi pribadi)



Pencucian akuarium



Pengambilan udang dengan menggunakan anco



Pengambilan air dari tambak



Akuarium pemeliharaan

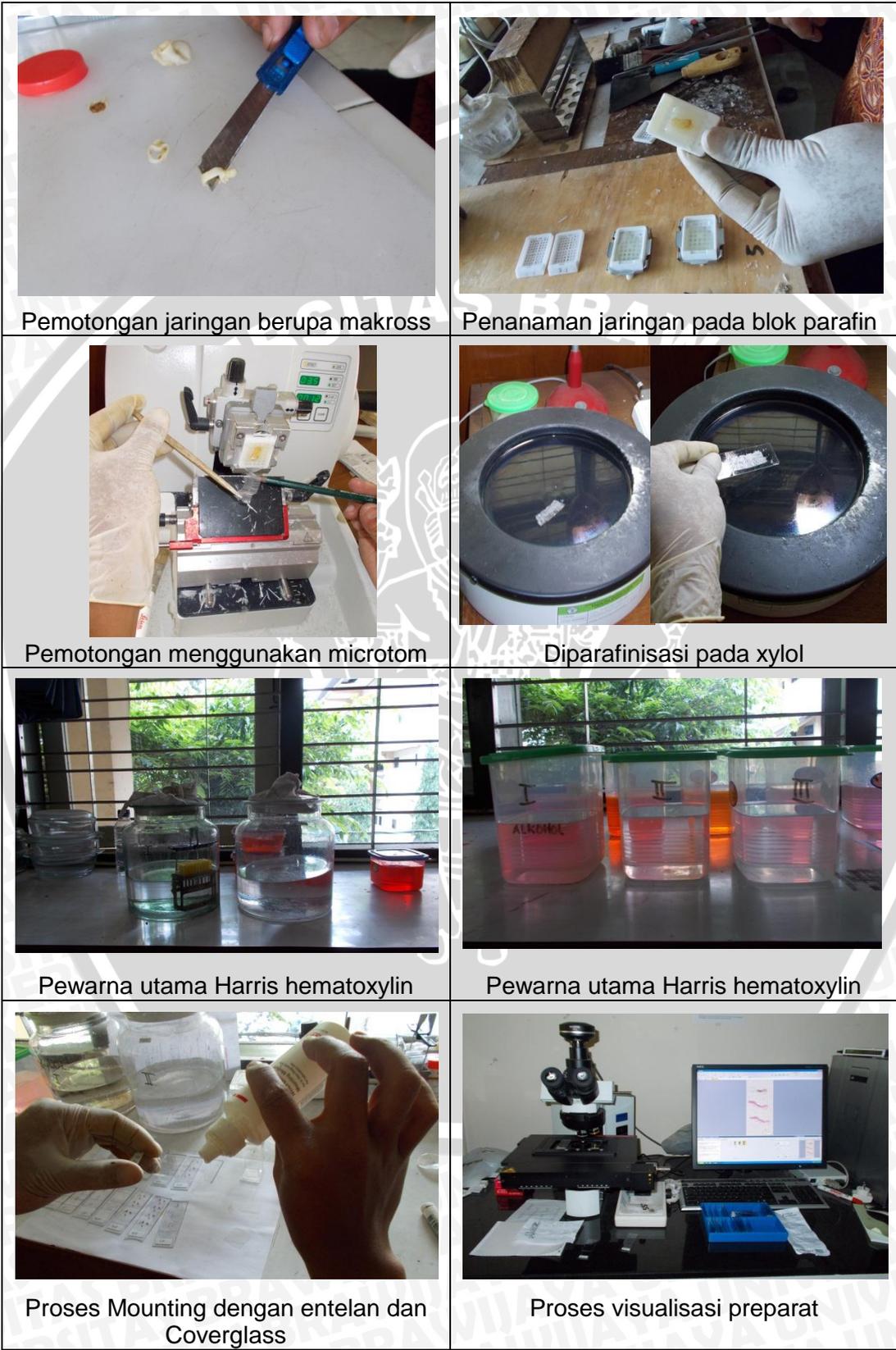


Pembedahan insang udang



Pengukuran Suhu, pH, DO, salinitas dan penyiponan akuarium

Lampiran 7. Foto proses preparasi jaringan insang udang vannamei (Sumber : Dokumentasi pribadi)



Pemotongan jaringan berupa makross

Penanaman jaringan pada blok parafin

Pemotongan menggunakan microtom

Diparafinisasi pada xylol

Pewarna utama Harris hematoxylin

Pewarna utama Harris hematoxylin

Proses Mounting dengan entelan dan Coverglass

Proses visualisasi preparat



Lampiran 8. Tabel perhitungan jumlah sel udang vannamei

Kode	BP	Σ Sel			Prosentasi Kerusakan	Rata – rata Kerusakan	
		Sehat	Rusak	Jumlah			
Kontrol + (1)	1	671	80	751	10,65 %	11,06 %	9,65 %
	2	782	101	883	11,43 %		
	3	808	101	909	11,11 %		
Kontrol + (2)	1	732	70	802	8,72 %	7,64 %	
	2	878	69	947	7,28 %		
	3	831	62	893	6,94 %		
Kontrol + (3)	1	440	39	479	8,14 %	10,26 %	
	2	833	64	897	7,13 %		
	3	533	98	631	15,53 %		
Kontrol – (1)	1	107	677	784	86,35 %	84,26 %	
	2	161	745	906	82,23 %		
	3	116	619	735	84,21 %		
Kontrol – (2)	1	161	631	792	79,62 %	85,74 %	
	2	77	750	827	90,68 %		
	3	124	849	973	86,94 %		
Kontrol – (3)	1	93	797	890	89,55 %	83,84 %	
	2	149	724	873	82,93 %		
	3	177	668	845	79,05 %		
P1 (1)	1	719	129	848	15,21 %	17,11 %	
	2	659	127	786	16,15 %		
	3	573	143	716	19,97 %		
P1 (2)	1	411	138	549	25,13 %	20,83 %	
	2	773	140	913	15,33 %		
	3	665	188	853	22,03 %		
P1 (3)	1	573	200	773	25,84 %	22,76 %	
	2	802	207	1009	20,51 %		
	3	811	228	1039	21,94 %		
P2 (1)	1	800	186	986	18,86 %	16,59 %	
	2	693	151	844	17,89 %		
	3	789	131	929	14,10 %		
P2 (2)	1	875	137	1012	13,53 %	15 %	
	2	850	129	979	13,17 %		
	3	656	147	803	18,30 %		
P2 (3)	1	925	199	1124	17,70 %	17,52 %	
	2	778	127	905	14,03 %		
	3	596	157	753	20,85 %		

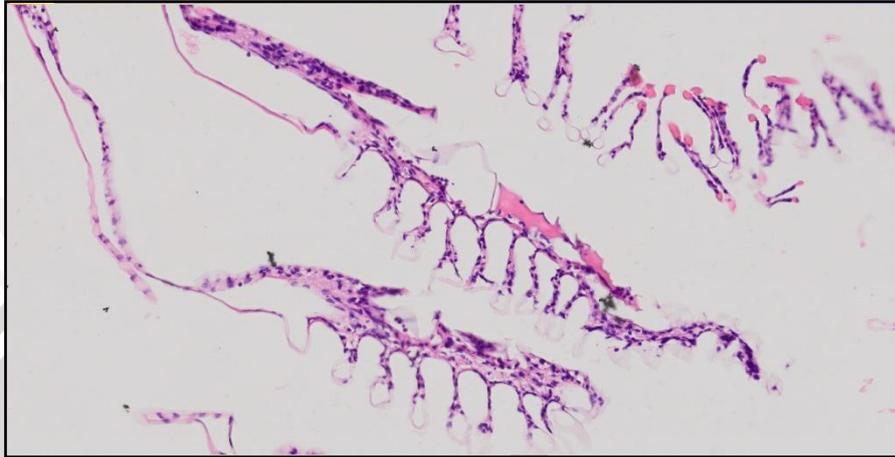
*BP : Bidang Pandang

Ket :

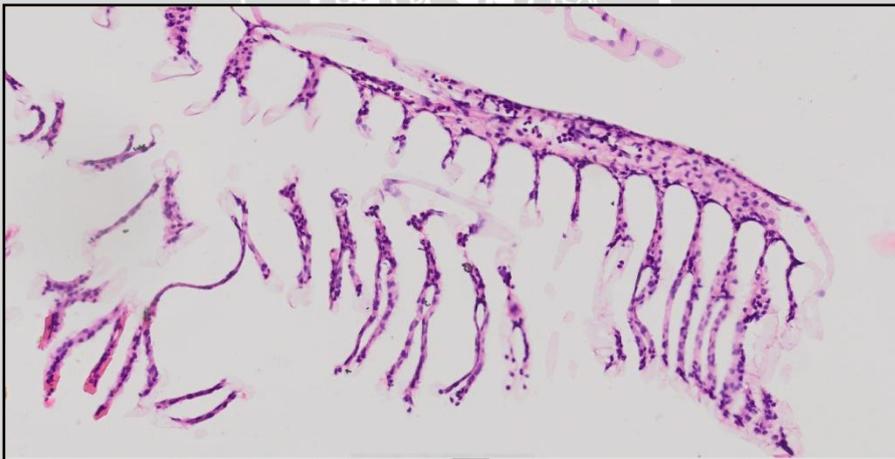
- K (-) : Menunjukkan udang yang sehat
- K (+) : Menunjukkan udang yang diinfeksi WSSV tanpa diberi ekstrak *Sargassum*
- P1 : Menunjukkan udang yang diinfeksi WSSV dan diberi ekstrak *Sargassum* dengan cara direndam
- P2 : Menunjukkan udang yang diinfeksi WSSV dan diberi ekstrak *Sargassum* dengan cara dicampur ke pakan

Lampiran 9. Bidang pandang pengamatan sel insang udang vannamei pada perlakuan kontrol (+)/Sampel ke 1. Pengamatan dengan menggunakan aplikasi OlyVIA Perbesaran 100x (Sumber : Dokumentasi pribadi)

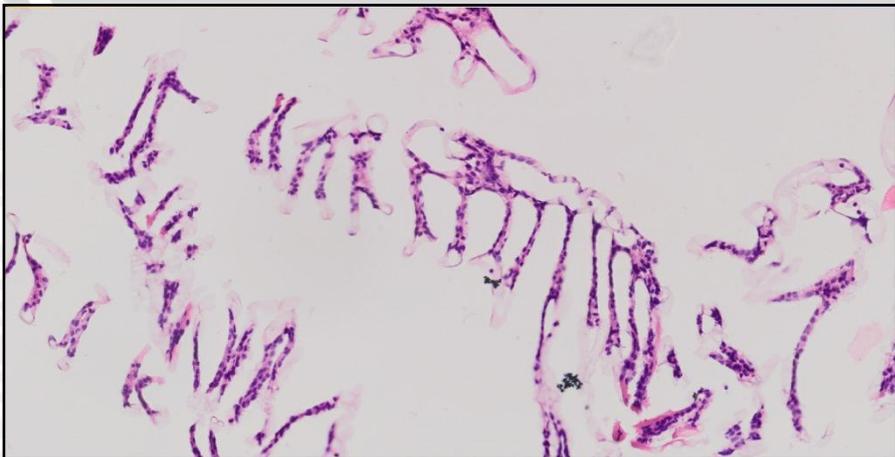
➤ Bidang Pandang 1



➤ Bidang Pandang 2



➤ Bidang Pandang 3



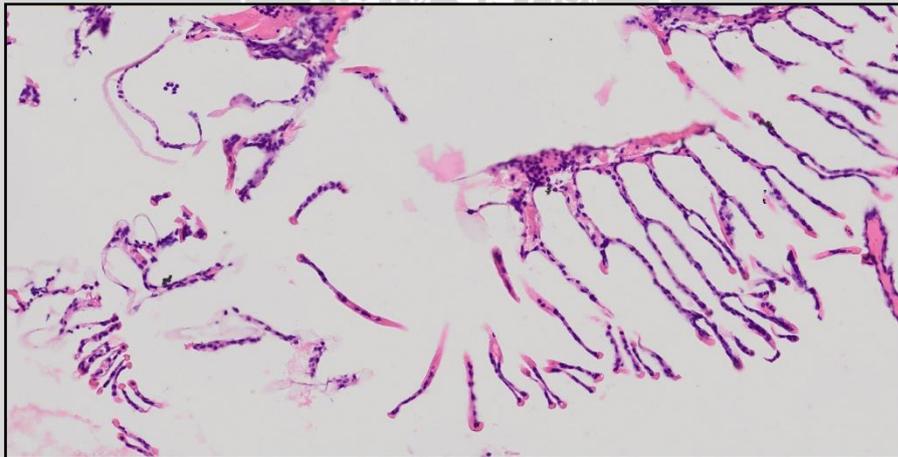
repository.ub.ac.id

Lampiran 10. Bidang pandang pengamatan sel insang udang vannamei pada perlakuan kontrol (+)/Pengulangan ke 2. Pengamatan dengan menggunakan aplikasi OlyVIA Perbesaran 100x (Sumber : Dokumentasi pribadi)

➤ Bidang Pandang 1



➤ Bidang Pandang 2



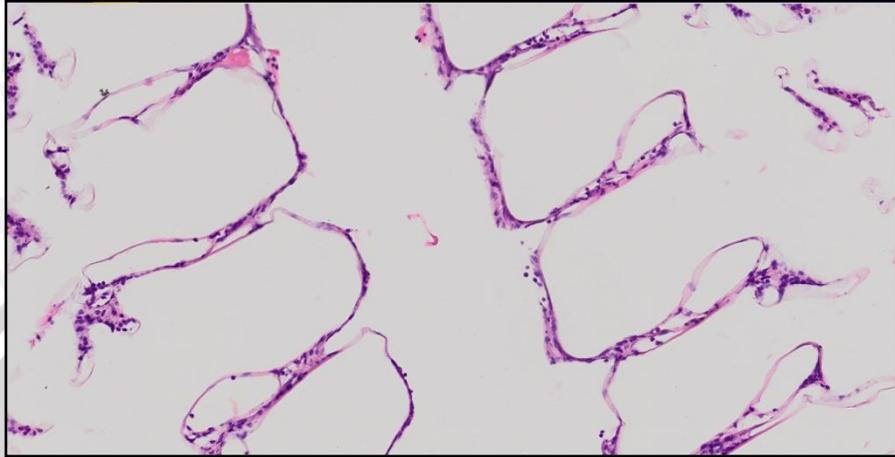
➤ Bidang Pandang 3



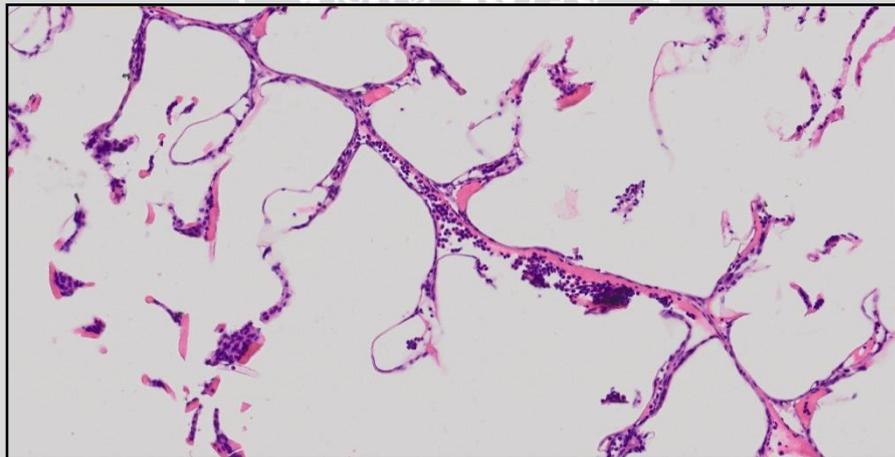
repository.ub.ac.id

Lampiran 11. Bidang pandang pengamatan sel insang udang vannamei pada perlakuan kontrol (+)/Pengulangan ke 3. Pengamatan dengan menggunakan aplikasi OlyVIA Perbesaran 100x (Sumber : Dokumentasi pribadi)

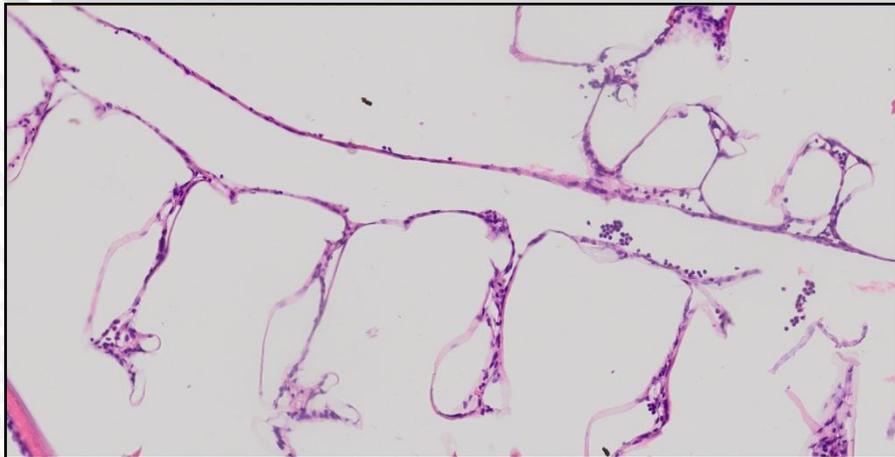
➤ Bidang Pandang 1



➤ Bidang Pandang 2

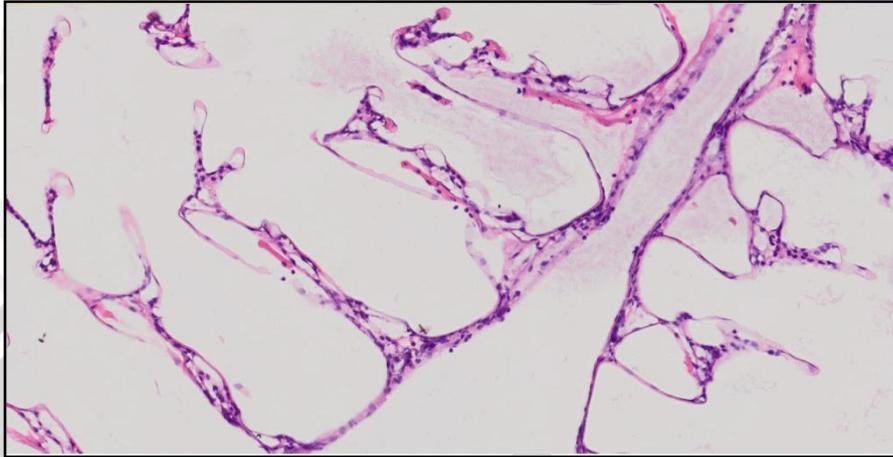


➤ Bidang Pandang 3

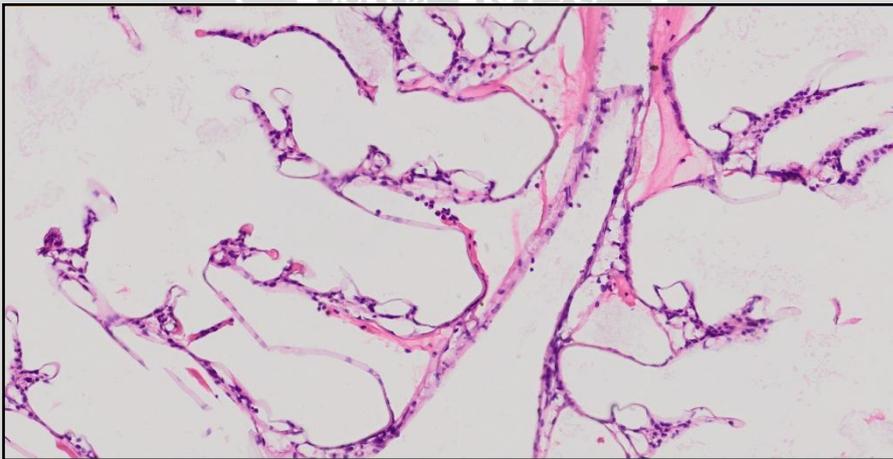


Lampiran 12. Bidang pandang pengamatan sel insang udang vannamei pada perlakuan kontrol (-) /Pengulangan ke 1. Pengamatan dengan menggunakan aplikasi OlyVIA Perbesaran 100x (Sumber : Dokumentasi pribadi)

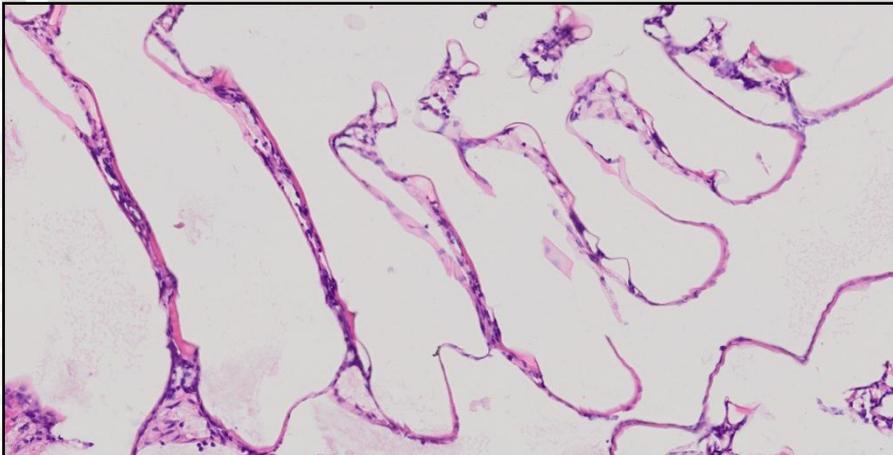
➤ Bidang Pandang 1



➤ Bidang Pandang 2

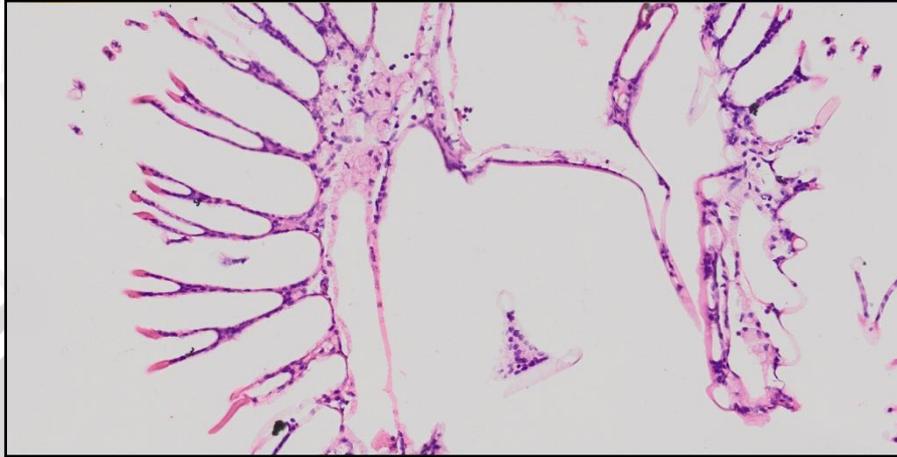


➤ Bidang Pandang 3

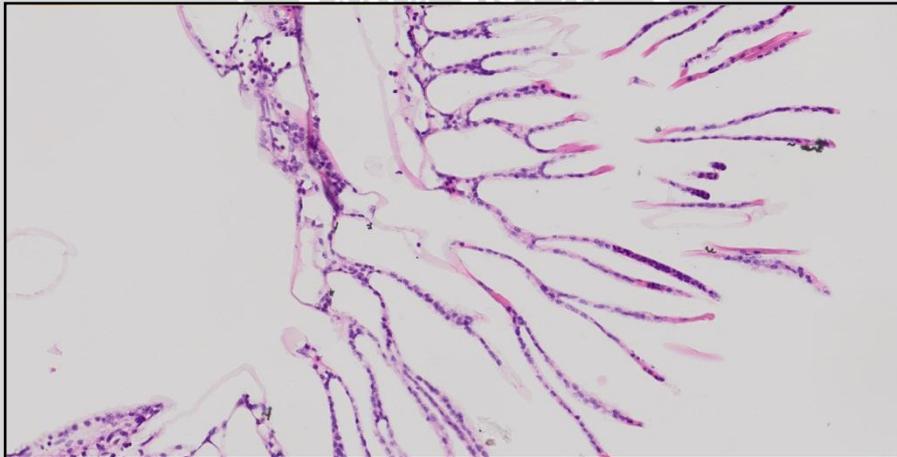


Lampiran 13. Bidang pandang pengamatan sel insang udang vannamei pada perlakuan kontrol (-) /Pengulangan ke 2. Pengamatan dengan menggunakan aplikasi OlyVIA Perbesaran 100x (Sumber : Dokumentasi pribadi)

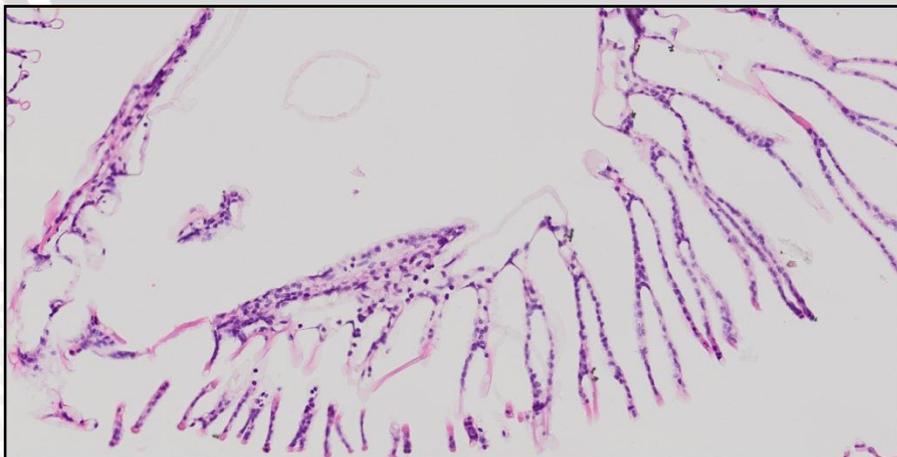
➤ Bidang Pandang 1



➤ Bidang Pandang 2

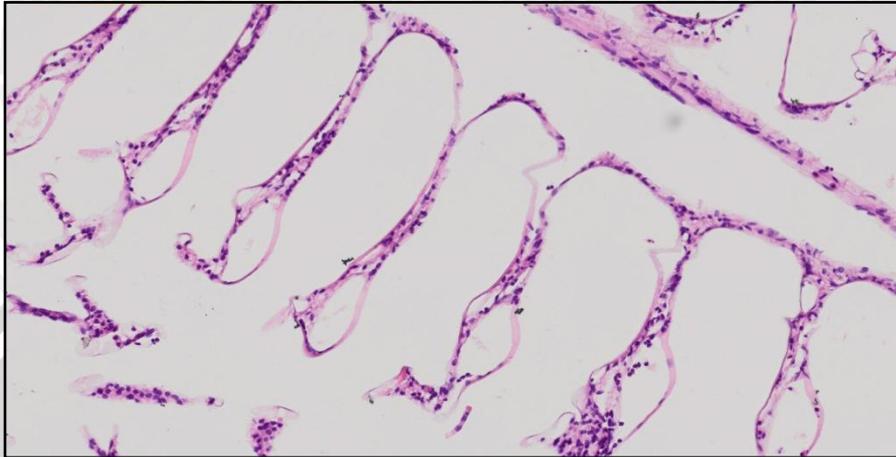


➤ Bidang Pandang 3

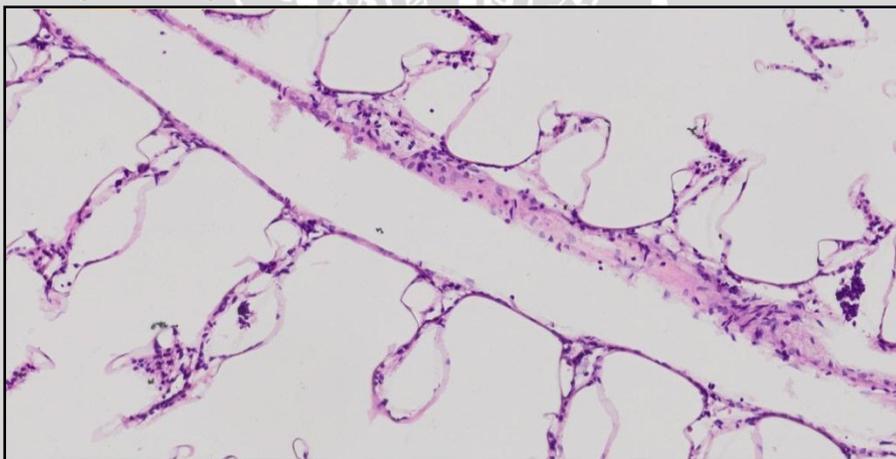


Lampiran 14. Bidang pandang pengamatan sel insang udang vannamei pada perlakuan kontrol (-) /Pengulangan ke 3. Pengamatan dengan menggunakan aplikasi OlyVIA Perbesaran 100x (Sumber : Dokumentasi pribadi)

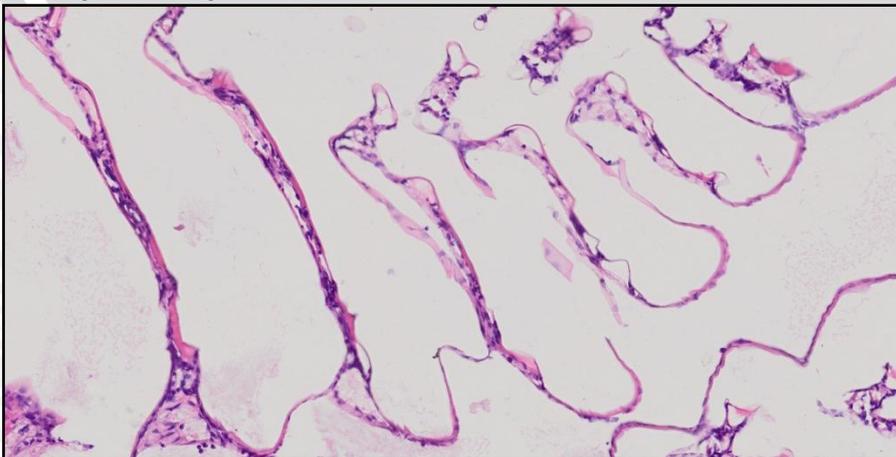
➤ Bidang Pandang 1



➤ Bidang Pandang 2

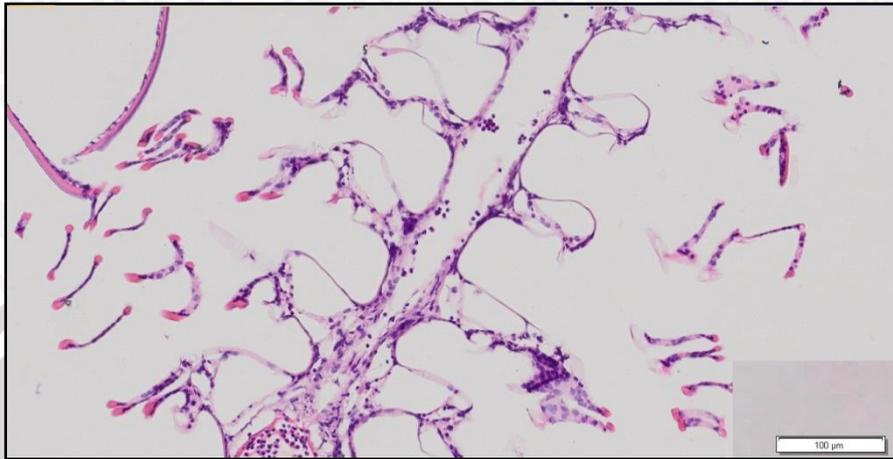


➤ Bidang Pandang 3

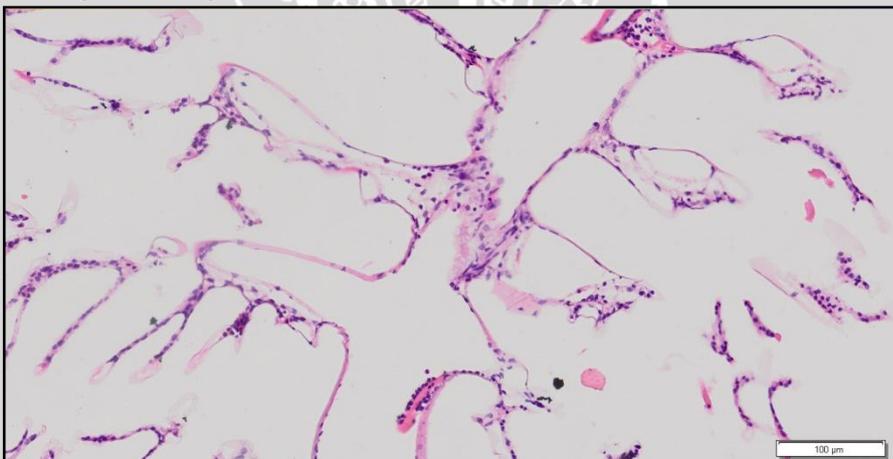


Lampiran 15. Bidang pandang pengamatan sel insang udang vannamei pada perlakuan P1 (Rendam)/Pengulangan ke 1. Pengamatan dengan menggunakan aplikasi OlyVIA Perbesaran 100x (Sumber : Dokumentasi pribadi)

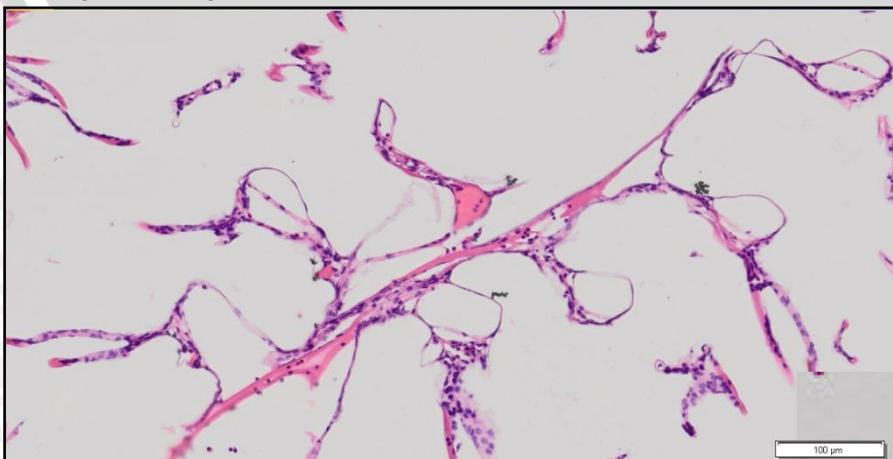
➤ Bidang Pandang 1



➤ Bidang Pandang 2

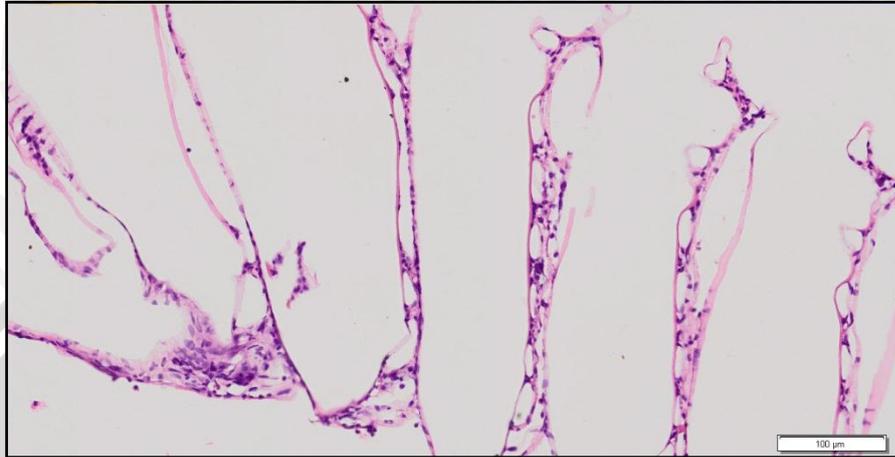


➤ Bidang Pandang 3

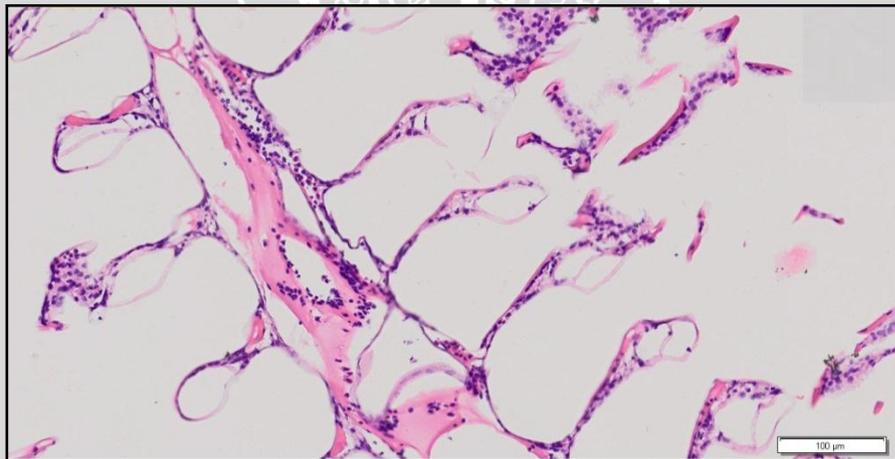


Lampiran 16. Bidang pandang pengamatan sel insang udang vannamei pada perlakuan P1 (Rendam)/Pengulangan ke 2. Pengamatan dengan menggunakan aplikasi OlyVIA Perbesaran 100x (Sumber : Dokumentasi pribadi)

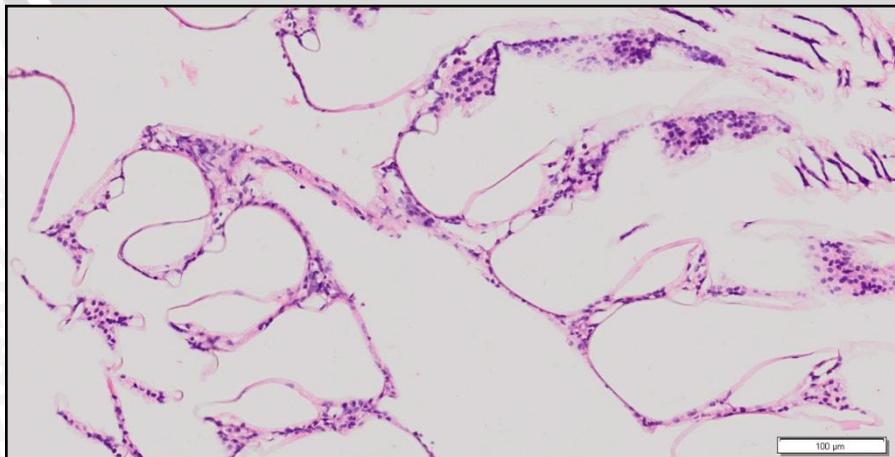
➤ Bidang Pandang 1



➤ Bidang Pandang 2

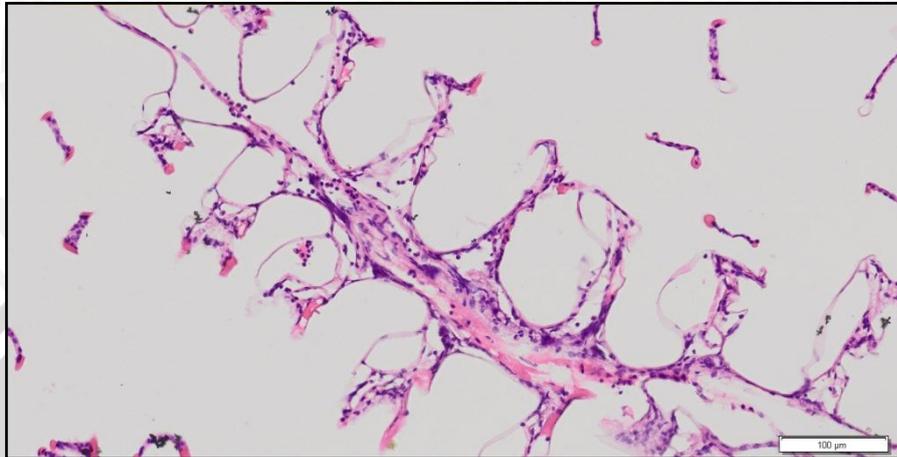


➤ Bidang Pandang 3

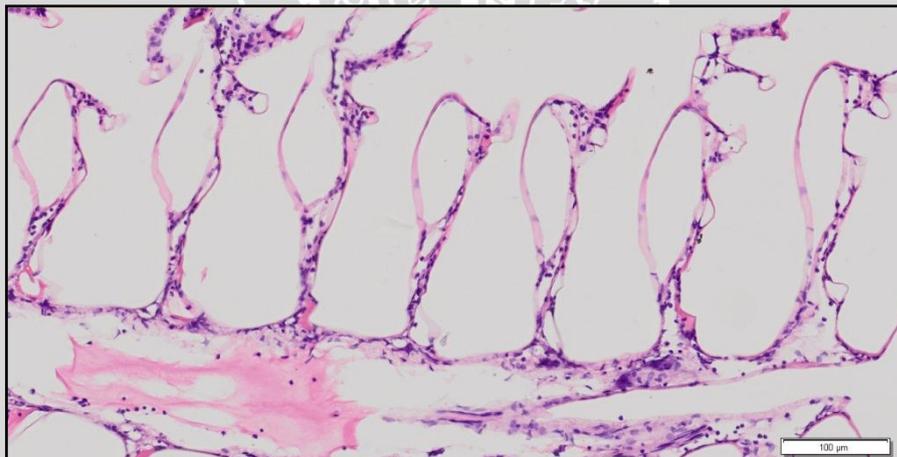


Lampiran 17. Bidang pandang pengamatan sel insang udang vannamei pada perlakuan P1 (Rendam)/Pengulangan ke 3. Pengamatan dengan menggunakan aplikasi OlyVIA Perbesaran 100x (Sumber : Dokumentasi pribadi)

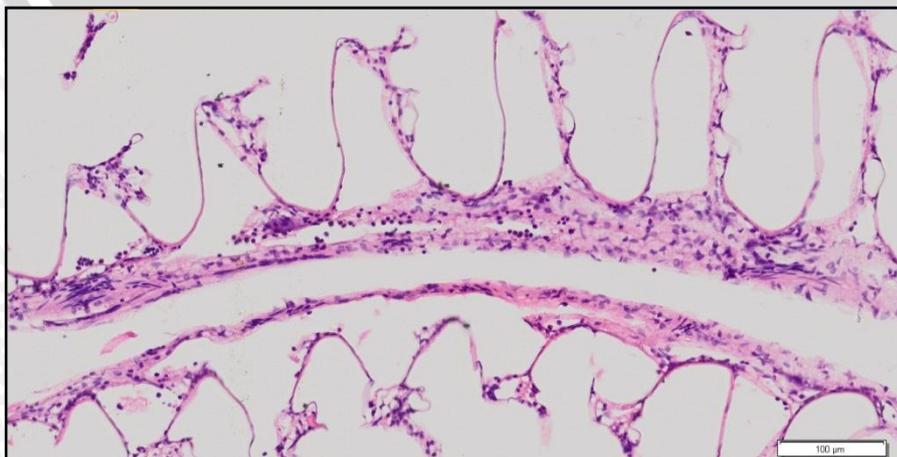
➤ Bidang Pandang 1



➤ Bidang Pandang 2

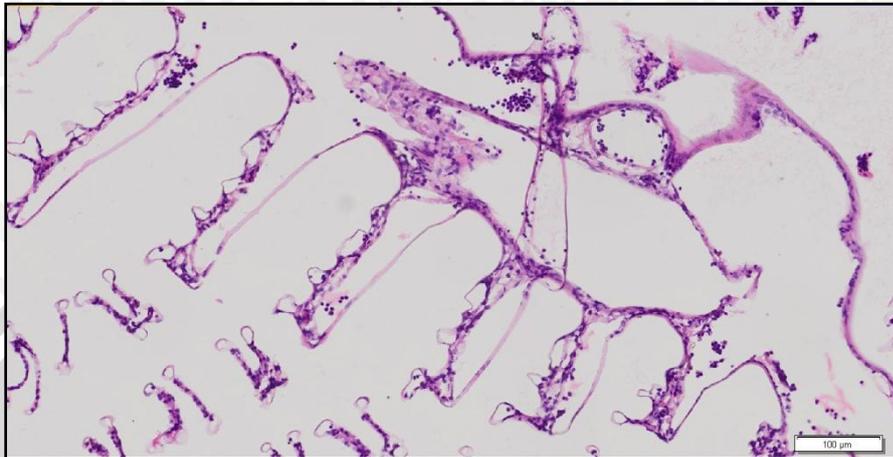


➤ Bidang Pandang 3

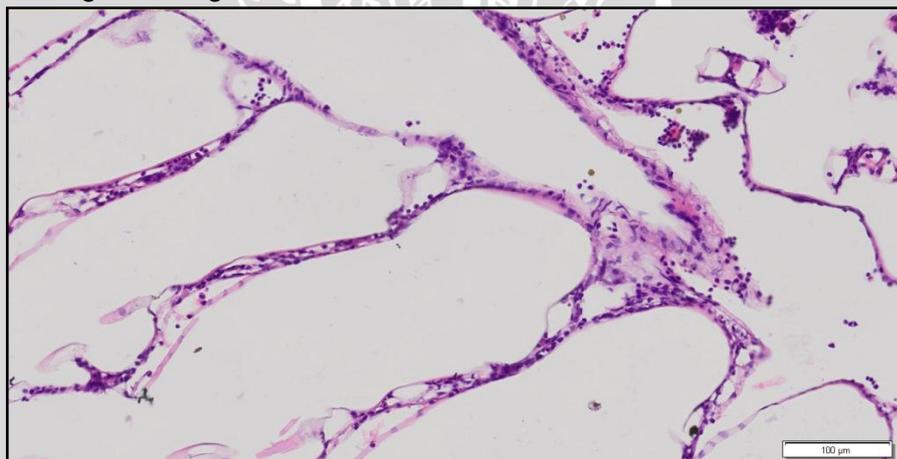


Lampiran 18. Bidang pandang pengamatan sel insang udang vannamei pada perlakuan P2 (Pakan)/Pengulangan ke 1. Pengamatan dengan menggunakan aplikasi OlyVIA Perbesaran 100x (Sumber : Dokumentasi pribadi)

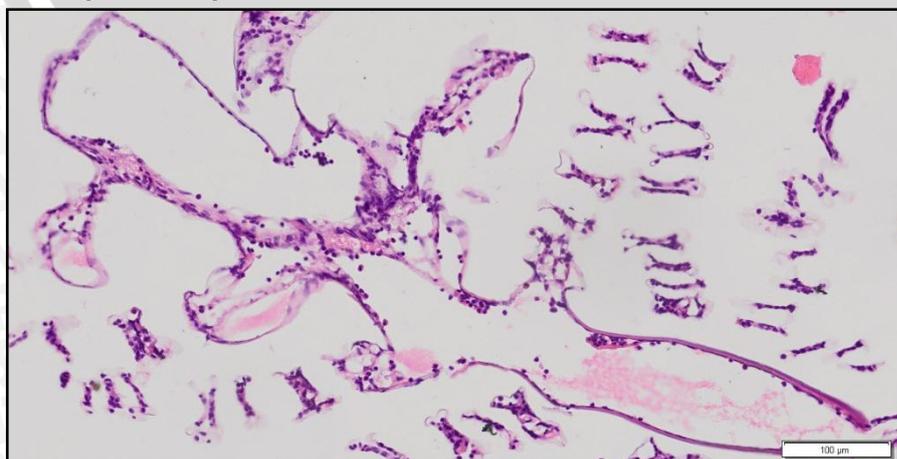
➤ Bidang Pandang 1



➤ Bidang Pandang 2

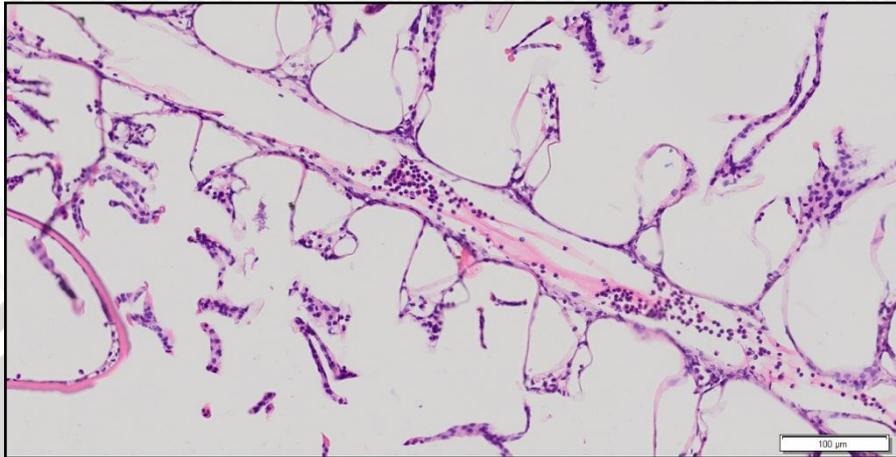


➤ Bidang Pandang 3

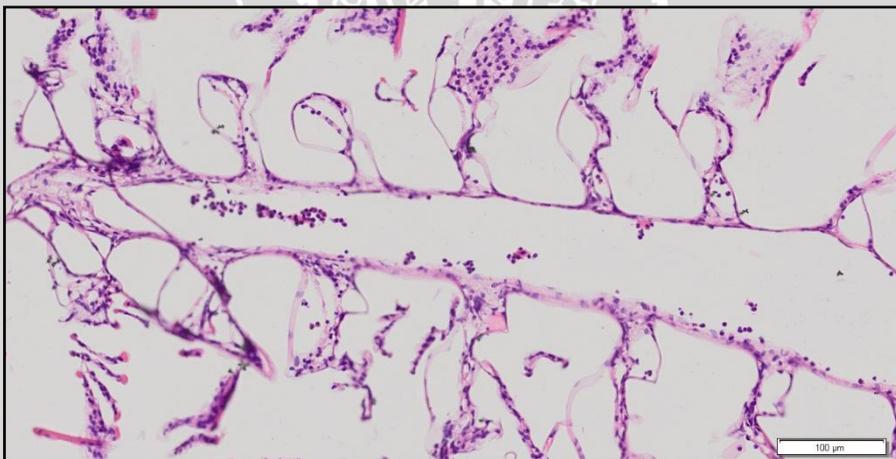


Lampiran 19. Bidang pandang pengamatan sel insang udang vannamei pada perlakuan P2 (Pakan)/Pengulangan ke 2. Pengamatan dengan menggunakan aplikasi OlyVIA Perbesaran 100x (Sumber : Dokumentasi pribadi)

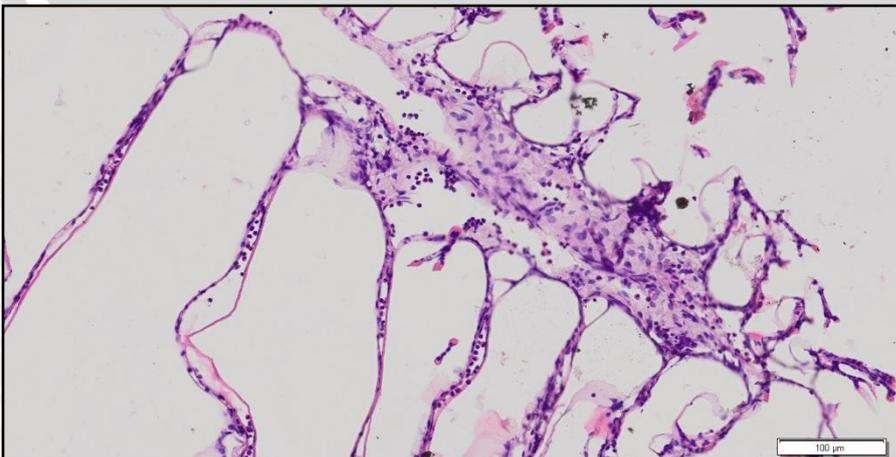
➤ Bidang Pandang 1



➤ Bidang Pandang 2

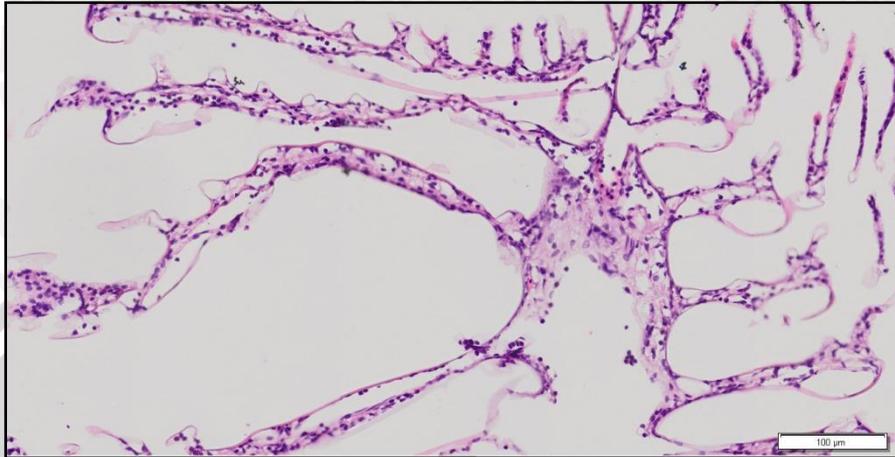


➤ Bidang Pandang 3

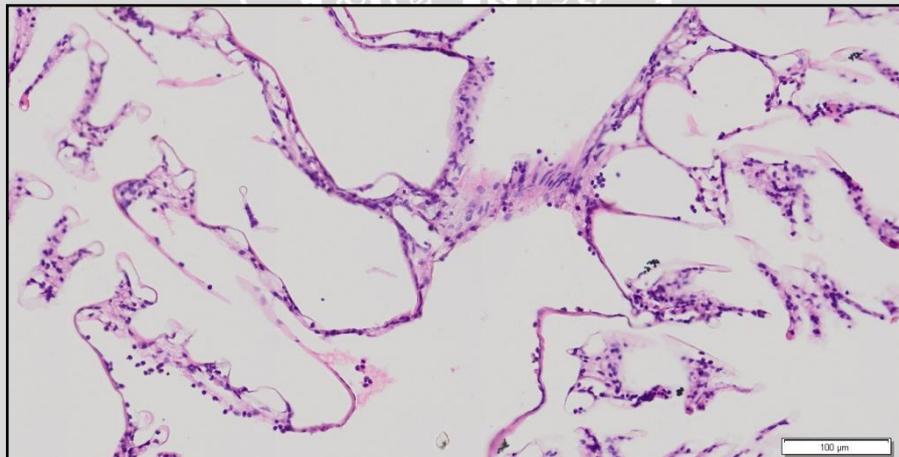


Lampiran 20. Bidang pandang pengamatan sel insang udang vannamei pada perlakuan P2 (Pakan)/Pengulangan ke 3. Pengamatan dengan menggunakan aplikasi OlyVIA Perbesaran 100x (Sumber : Dokumentasi pribadi)

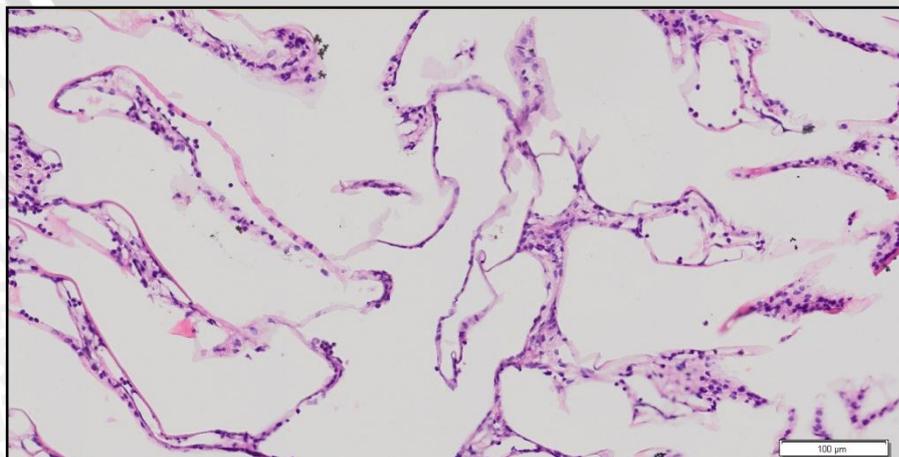
➤ Bidang Pandang 1



➤ Bidang Pandang 2



➤ Bidang Pandang 3



Lampiran 21. Tabel Distribusi *t*-Student (Sumber : Google image, 2015)

df	Tingkat signifikansi uji satu arah					
	0,10	0,05	0,025	0,01	0,005	0,0005
	Tingkat signifikansi uji dua arah					
	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619
2	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,599
3	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,924
4	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610
5	1,476	2,015	2,571	3,385	4,032	6,869
6	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015
17	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	1,235	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	1,323	1,721	2,080	2,518	2,813	3,819
22	1,321	1,717	2,074	2,508	2 [^] 19	3,792
23	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,768
24	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690
28	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
40	1,303	1,697	2,021	2,423	2,704	3,551
60	1,296	1,671	2,000	2,390	2,660	3,460
120	1,289	1,658	1,980	2,358	2,617	3,373
∞	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291