

**PENGARUH EKSTRAK DAN SERBUK SIMPLISIA *Sargassum polycystum*
TERHADAP TOTAL HEMOCYTE COUNT (THC), AKTIVITAS FAGOSITOSIS
DAN RESPIRATORY BURST UDANG (*Litopennaeus vannamei*) YANG
TERINFEKSI WSSV (*WHITE SPOT SYNDROM VIRUS*)**

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

Oleh :

ANGGI TRIWULANDARI

NIM. 115080101111065



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

**PENGARUH EKSTRAK DAN SERBUK SIMPLISIA *Sargassum polycystum*
TERHADAP TOTAL HEMOCYTE COUNT (THC), AKTIVITAS FAGOSITOSIS
DAN RESPIRATORY BURST UDANG (*Litopennaeus vannamei*) YANG
TERINFEKSI WSSV (*WHITE SPOT SYNDROM VIRUS*)**

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

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

Oleh:

ANGGI TRIWULANDARI

NIM. 115080101111065



**MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2015

SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK DAN SERBUK SIMPLISIA *Sargassum polycystum*
TERHADAP TOTAL HEMOCYTE COUNT (THC), AKTIVITAS FAGOSITOSIS
DAN RESPIRATORY BURST UDANG (*Litopennaeus vannamei*) YANG
TERINFEKSI WSSV (*WHITE SPOT SYNDROM VIRUS*)

Oleh:

ANGGI TRIWULANDARI

NIM. 115080101111065

telah dipertahankan didepan penguji pada tanggal 11 Agustus 2015

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No. :

Tanggal :

Dosen Penguji I

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. Mohammad Mahmudi, MS)

NIP. 19600505 198601 1 004

Tanggal :

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

NIP. 19610523 198703 2 003

Tanggal :

Dosen Penguji II

Dosen Pembimbing II

(Andi Kurniawan, S.Pi, M.Eng, D.Sc)

NIP : 19790331 200501 1 003

Tanggal :

(Dr. Ir. Umi Zakiyah, M.Si)

NIP:19610303 198602 2 001

Tanggal :

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)

NIP : 19620805 198603 2 001

Tanggal :

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

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 jiplakan maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 12 Agustus 2015

ANGGI TRIWULANDARI



UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirahim, Saya sebagai penulis dalam Tugas Skripsi ini mengucapkan terima kasih kepada:

1. Puji Syukur kepada Allah SWT yang selalu memberikan rahmad dan hidayahNYa sehingga saya dapat menyelesaikan laporan skripsi ini.
2. Kedua orang tua tercinta dan keluarga atas setiap dukungan baik moril maupun materil yang telah diberikan.
3. Prof. Ir.Yenny Risjani, DEA, Ph.D dan Dr. Ir. Umi Zakiyah M.Siselaku dosen pembimbing atas bimbingan serta nasehat yang telah diberikan.
4. Dr. Ir. Muhammad Mahmudi, MS dan Andi Kurniawan, S.Pi,M. Eng,D.Sc selaku dosen penguji atas kritik dan saran yang telah diberikan.
5. Bapak Ibu dosen serta seluruh staff di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, atas sumbangan ilmu dan pengalaman yang berharga.
6. Teman Teman seperjuangan penelitian ini (Dewi Nur Apriliya) atas do'a dan semangatnya dalam melaksanakan penelitian ini
7. Sahabat sahabat seperjuangan (Ellen, Rizal, Lili, Duta, Dewi, Lufy, Desy, Sheilla, Alan, Fahmi, Endri dan semuanya yang sudah menemani saya dari awal hingga akhir masa perkuliahan yang memberikan banyak pelajaran dan pengalaman.
8. Badrul Huda Husain yang telah membantu dan memberikan semangat serta do'a pada penyusunan laporan skripsi ini.
9. Teman Teman satu angkatan seperjuangan "ARM 11" atas waktu, dukungan serta do'a yang telah diberikan
10. Keluarga kedua yang berada di malang Mbak Nirmala, Bhebie, Bhatara dan Mas Daru

11. Keluarga Sigura Gura V, 29 F (Fauziah, Yasmin, Rini, Mbak Dwi dan Mbak Ika) untuk kritik yang selalu membangun, waktu yang selalu ada, perhatian yang tiada henti, kesabaran dalam menghadapi, canda untuk menghibur, dan perasaan aman yang selalu diberikan.
12. Keluarga kecil "KS5" (Ellen, Erlita, Yenny) yang memberikan semangat, Bantuan dan do'a.
13. Semua pihak yang tidak penulis sebutkan satu persatu yang secara langsung maupun tidak langsung dan baik sengaja maupun tidak sengaja telah membantu hingga terselesaikannya skripsi ini.

Semoga Allah SWT senantiasa membalas segala kebaikan yang telah diberikan oleh pihak pihak tersebut dengan pahala dan ilmu yang bermanfaat. Semoga apa yang kita kerjakan dapan menjadi manfaat dan berkah, Amin.

Malang, 12 Agustus 2015

Penulis



RINGKASAN

ANGGI TRIWULANDARI. PENGARUH EKSTRAK DAN SERBUK SIMPLISIA *Sargassum polycystum* TERHADAP TOTAL HEMOCYTE COUNT (THC), AKTIVITAS FAGOSITOSIS DAN RESPIRATORY BURST UDANG (*Litopennaeus vannamei*) YANG TERINFEKSI WSSV (WHITE SPOT SYNDROM VIRUS) (dibawah bimbingan Prof.Ir. Yenny Risjani., DEA, Ph.D dan Dr. Ir. Umi Zakiyah., M.Si)

Pakan merupakan salah satu bagian faktor produksi terbesar (55-60%) dari setiap operasional budidaya udang vannamei. Salah satu upaya dalam mengurangi kebutuhan pakan dalam setiap operasional budidaya dan memperbaiki kualitas pakan udang vannamei adalah melalui penambahan peningkatan sistem pertahanan tubuh udang, yaitu dengan menggunakan imunostimulan. Penambahan imunostimulan pada udang dapat dilakukan dengan cara memberikan campuran pada pakan udang melalui perendaman menggunakan *Sargassum polycystum*. Salah satu manfaat pemberian imunostimulan adalah untuk mengurangi penyakit pada udang yang nantinya dapat meningkatkan produksi udang *Litopennaeus vannamei*.

Tujuan dari penelitian ini yaitu Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak dan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* dalam meningkatkan *Total Hemocyte Count* (THC), aktifitas fagositosis, dan *respiratory burst* udang vannamei yang terinfeksi WSSV (*White Spot Syndrom Virus*). Dan untuk mengetahui efektivitas *Sargassum polycystum* untuk menstimulasi sistem pertahanan non spesifik udang *Litopennaeus vannamei*.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 3 perlakuan. Tahapan penelitian meliputi pengambilan sampel dan ekstrak *Sargassum polycystum*, proses pembuatan ekstrak *Sargassum polycystum*, proses penyediaan larutan inoculum WSSV (*White spot syndrom virus*), teknik persiapan hewan uji, pengujian respon imun udang dengan *Sargassum polycystum*, Pengamatan jumlah *Total Hemocyte Count* (THC), pengamatan aktifitas fagositosis dan perhitungan *respiratory burst* dan analisa kualitas air berupa suhu, pH, salinitas dan DO.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini mendapatkan rendemen ekstraksi *Sargassum polycystum* dengan menggunakan pelarut methanol yaitu sebesar 2,388 %. Jumlah total hemosit dari udang vannamei didapatkan bahwa jumlah total hemosit udang (*Litopennaeus vannamei*) setelah dilakukan perendaman menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum* lebih tinggi sebesar 35×10^5 se/ml, dibandingkan dengan kontrol positif yaitu sebesar $19,75 \times 10^5$ sel/ml. Kemudian dilakukan analisa sidik ragam menunjukkan nilai F hitung pada perlakuan sebesar 20,38 lebih besar dari F tabel 5 % dan 1 %. Hal ini berarti, dengan adanya perbedaan perlakuan pengamatan pada jam yang berbeda (0, 4, 24, 48 dan 72 jam) memberikan pengaruh sangat berbeda nyata terhadap jumlah total hemosit udang (*Litopennaeus vannamei*). Sedangkan nilai F hitung kelompok sebesar 1,95 kurang dari F tabel 5% dan 1 %. Hal ini berarti dengan adanya perbedaan Pemberian ekstrak *Sargassum polycystum*, serbuk simplisia *Sargassum polycystum* dan kontrol positif tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah total hemosit udang (*Litopennaeus vannamei*). Sehingga perhitungan dilanjutkan dengan uji Tukey/ BNT. Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan pada jam ke 4, 24, 48 dan 72 tidak berbeda nyata setelah perendaman virus WSSV (*White Spot Syndrom Virus*) tetapi berbeda sangat nyata dengan

perlakuan pada jam ke 0 tanpa perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom Virus*).

Hasil prosentase aktifitas fagositosis tertinggi pada udang vannamei pada perlakuan setelah dilakukan perendaman serbuk *Sargassum polycystum* dan perendaman dengan menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum*, yaitu berturut turut sebesar 24,7% dan 20%. Kemudian dilakukan analisa sidik ragam dan diperoleh nilai perlakuan sebesar 7,31 yaitu F hitung lebih besar dari F tabel 5% tetapi kurang dari F tabel 1%. Hal ini berarti pemberian perlakuan pada waktu pengamatan yang berbeda (0, 4, 24, 4 dan 72 jam) memberikan pengaruh nyata terhadap indeks aktifitas fagositosis. Sedangkan pada pemberian kelompok menunjukkan nilai sebesar 0,94 yaitu F hitung kurang dari F tabel 5 % dan 1%, yaitu tidak berbeda nyata. Sehingga perhitungan dilanjutkan dengan uji Tukeyatau BNT. Hasil BNT menunjukkan pada perlakuan jam ke 0, 4, 24, 48 dan 72 tidak berpengaruh nyata tetapi berpengaruh nyata pada perlakuan jam ke 0.

Hasil yang didapatkan nilai *respiratory burst* tertinggi yaitu pada perlakuan perendaman ekstrak *Sargassum polycystum* sebesar 0,66 dan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* sebesar 0,77. Analisa sidik ragam menunjukkan nilai perlakuan mendapatkan nilai F hitung sebesar 4,540 lebih besar dari F tabel 5% dan 1%. Hal ini berarti dengan adanya perbedaan lama pengamatan memberikan pengaruh terhadap hasil nilai *respiratory burst*. Sedangkan nilai kelompok F hitung sebesar 7,239 lebih besar dari F Tabel 5 % dan 1%. Hal ini berarti dengan perbedaan pemberian antara ekstrak *Sargassum polycystum* dan serbuk *Sargassum polycystum*, kontrol positif dan kontrol negatif berpengaruh nyata terhadap hasil nilai *respiratory burst*. Sehingga perhitungan dilanjutkan dengan uji Tukey/BNT. Hasil BNT menunjukkan perlakuan pada jam ke 4, 24, 48 tidak berbeda nyata tetapi berbeda nyata dengan perlakuan jam ke 0 dan jam ke 72. Perlakuan pada jam ke 0 berbeda sangat nyata dengan perlakuan pengamatan pada jam ke 72.

Kesimpulan dari penelitian ini bahwa pemberian ekstrak dan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* berpengaruh nyata terhadap peningkatan *Total Hemocyte Count* (THC), aktifitas Fagositosis dan *respiratory burst* apabila dibandingkan dengan udang kontrol positif udang yang terserang virus WSSV (*White spot syndrom virus*). Total Hemosit tertinggi yaitu didapatkan pada perlakuan pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* sebesar 35×10^4 sel/ml. Aktifitas Fagositosis tertinggi yaitu didapatkan pada perlakuan perlakuan dengan perendaman serbuk simplisia *Sargassum polycystum* 24,7%. *Respiratory burst* tertinggi yaitu didapatkan pada perlakuan perendaman menggunakan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* sebesar 0,77. Berdasarkan hasil rata-rata yang didapatkan maka lebih efektif menggunakan Ekstrak *Sargassum polycystum* untuk menstimulasi sistem pertahanan non spesifik udang (*Litopennaeus vannamei*).

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul Pengaruh Ekstrak Dan Serbuk Simplisia *Sargassum polycystum* Terhadap *Total Hemocyte Count* (THC), Aktivitas Fagositosis dan *Respiratory Burst* Udang (*Litopennaeus Vannamei*) Yang Terinfeksi WSSV (*White Spot Syndrom Virus*).

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, 12 Agustus 2015

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI.....	iii
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Maksud dan Tujuan.....	6
1.4 Kegunaan.....	6
1.5 Waktu dan Tempat.....	7
1.6 Hipotesis.....	7
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Biologi Udang Vannamei.....	8
2.1.1 Klasifikasi Udang Vannamei.....	8
2.1.2 Morfologi Udang Vannamei.....	8
2.1.3 Siklus Hidup Udang Vannamei.....	9
2.1.4 Reproduksi Udang Vannamei.....	10
2.1.5 Sistem Imun Udang.....	11
2.2 Hemosit.....	12
2.3 Fagositosis.....	15
2.4 <i>Respiratory Burst</i>	16
2.5 <i>Virus White Spot Syndrom Virus (WSSV)</i>	17
2.6. Metode Pemberian Imonostimulan.....	19
2.7 Imonostimulan.....	20
2.8 Mekanisme kerja imonostimulan.....	21
2.9 Alga Coklat <i>Sargassum polycystum</i>	23
2.10 Kualitas Air.....	25
2.10.1 Parameter Fisika.....	25
2.10.2 Parameter Kimia.....	26
III. METODE PENELITIAN.....	28
3.1 Materi Penelitian.....	28
3.2 Alat dan Bahan.....	28
3.3 Metode Penelitian.....	28
3.4 Data Penelitian.....	30



3.5 Tahapan Penelitian	31
3.5.1 Pengambilan Sampel.....	31
3.5.2 Proses Pembuatan Serbuk Simplisia <i>Sargassum polycystum</i>	32
3.5.3 Proses Ekstraksi <i>Sargassum polycystum</i>	32
3.6 Proses Penyediaan Larutan Inokulum WSSV (<i>White Spot Syndrom Virus</i>).....	33
3.7 Teknik Persiapan Hewan Uji.....	34
3.8 Pengujian respon imun udang dengan <i>Sargassum polycystum</i>	34
3.9 Teknik Pengambilan Sampel.....	37
3.9.1. Pengamatan <i>Total Hemocyte Count</i> (THC)	37
3.9.2 Pengamatan Aktivitas Fagositosis.....	37
3.9.3 Uji Aktivitas <i>Respiratory Burst</i> (Kandungan Anion Superoksida.....	38
3.10 Pengukuran Kualitas Air.....	39
3.11 Rancangan Penelitian.....	40
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1 Ekstraksi <i>Sargassum polycystum</i>	43
4.2 <i>Total Hemocyte Count</i> (THC)	43
4.3 Aktifitas Fagositosis	51
4.4 Aktifitas <i>Respiratory Burst</i>	57
4.5 Ciri Ciri Dan Morfologi Udang (<i>Litopennaeus vannamei</i>) Yang Dilakukan Perendaman Menggunakan Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i> Kemudian Diinfeksi Virus WSSV (<i>White Spot Syndrom Virus</i>).....	62
4.6 Ciri Ciri Dan Morfologi Udang (<i>Litopennaeus vannamei</i>) Yang Dilakukan Perendaman Menggunakan Serbuk Simplisia <i>Sargassum polycystum</i> Kemudian Diinfeksi Virus WSSV (<i>White Spot Syndrom Virus</i>).....	63
4.7 Ciri Ciri Dan Morfologi Udang (<i>Litopennaeus vannamei</i>) Yang Dilakukan Perendaman Menggunakan Virus WSSV (<i>White Spot Syndrom Virus</i>)...	63
4.5 Analisa Kualitas Air	64
V. KESIMPULAN	68
5.1 Kesimpulan.....	68
5.2 Saran.....	68
DAFTAR PUSTAKA.....	77
DAFTAR ISTILAH.....	76
LAMPIRAN	77



DAFTAR TABEL

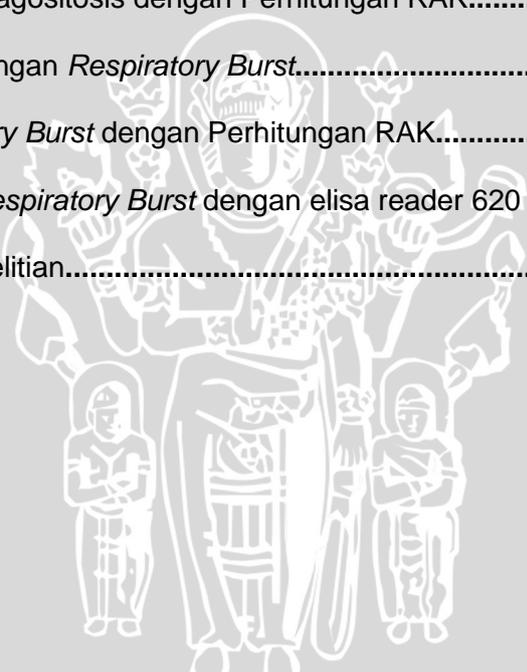
Tabel	Halaman
1. Fungsi Tiap jenis Hemosit pada crustacea.....	14
2. Metode Adimistrasi Immunostimulan pada ikan.....	19
3. Ringkasan Kelebihan dan Kekurangan metode pemberian Immunostimulan.....	19
4. Perlakuan dan Ulangan Pengambilan data.....	41
5. Analisa Sidik Ragam Jumlah total hemosit (<i>L. Vannamei</i>).....	47
6. Uji BNT Jumlah total hemosit (<i>L. Vannamei</i>).....	47
7. Analisa Sidik Ragam Aktifitas Fagositosis (<i>L. Vannamei</i>).....	54
8. Uji BNT <i>Respiratory burst</i> (<i>L. Vannamei</i>).....	54
9. Analisa Sidik Ragam <i>Respiratory Burst</i>	59
10. Uji BNT <i>Respiratory Burst</i>	60
11. Ciri Ciri dan Morfologi Udang dengan Perendaman Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i>	62
12. Ciri Ciri dan Morfologi Udang dengan Perendaman Serbuk Simplisia <i>Sargassum polycystum</i>	63
13. Ciri Ciri dan Morfologi Udang dengan Perendaman WSSV (<i>White Spot Syndrom Virus</i>).....	64
14. Analisa Kualitas Air.....	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagan Alir Perumusan Masalah.....	5
2. Udang vaname (<i>Litopennaeus vannamei</i>).....	8
3. Morfologi Udang vaname.....	9
4. Siklus Hidup Udang Vannamei.....	10
5. Jenis Jenis tipe Hemosit.....	13
6. A. <i>Sargassum polycystum</i> basah dan B. <i>Sargassum polycystum</i> kering.	23
7. Desain Penelitian.....	29
8. Ekstraksi <i>Sargassum polycystum</i>	33
9. Grafik hasil Rata rata THC pada Masing Masing Perlakuan.....	44
10. Pengaruh Pemberian Perlakuan Terhadap Jumlah Total THC udang (<i>Litopennaeus Vannamei</i>).....	48
11. Uji Respon perlakuan terhadap THC (<i>Litopennaeus Vannamei</i>).....	50
12. Perhitungan THC dengan Haemocytometer.....	51
13. Rata Rata Grafik hasil Aktifitas Fagositosis.....	51
14. Pengaruh Perlakuan terhadap Aktifitas Fagositosis.....	55
15. Uji Respon Perlakuan Terhadap Aktifitas Fagositosis (<i>Litopennaeus Vannamei</i>).....	56
16. Aktifitas fagositosis dengan perbesaran 1000X.....	56
17. Rata Rata Grafik hasil <i>Respiratory Burst</i>	57
18. Pengaruh Perlakuan terhadap <i>Respiratory Burst</i>	60
19. Uji Respon perlakuan terhadap nilai <i>respiratory burst</i>	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan.....	77
2. Tahapan Penelitian.....	79
3. Perhitungan THC menggunakan Haemocytometer.....	80
4. Data Hasil Perhitungan THC (<i>Total Hemocyte Count</i>).....	81
5. Analisis THC dengan menggunakan RAK.....	81
6. Data Hasil Perhitungan Aktifitas Fagositosis.....	90
7. Analisis Aktifitas Fagositosis dengan Perhitungan RAK.....	91
8. Data Hasil Perhitungan <i>Respiratory Burst</i>	99
9. Analisis <i>Respiratory Burst</i> dengan Perhitungan RAK.....	100
10. Hasil Penelitian <i>Respiratory Burst</i> dengan elisa reader 620 nm.....	108
11. Dokumentasi Penelitian.....	111



I. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Pakan merupakan salah satu bagian faktor produksi terbesar (55-60%) dari setiap operasional budidaya udang vannamei. Hal ini disebabkan oleh karena penyediaan pakan oleh petani adalah sesuatu yang harus dibeli (komersial) dari suatu produsen dengan harga yang relatif mahal. Tingginya harga pakan sebagai akibat dari penyediaan beberapa jenis bahan baku yang harus diimpor dari negara lain (Pinandoyo *et al.*, 2014). Kualitas pakan buatan dipengaruhi oleh kualitas bahan baku. Tepung ikan merupakan sumber protein dalam pakan ikan atau udang yang berkualitas tinggi, kandungan energi dan mineralnya tinggi, daya cerna tinggi dan cocok untuk sebagian jenis ikan dan udang. Tetapi harga tepung ikan mahal dan produksinya semakin terbatas untuk mensuplai kebutuhan industri pakan buatan (Pinandoyo *et al.*, 2014). Salah satu upaya dalam mengurangi kebutuhan pakan dalam setiap operasional budidaya dan memperbaiki kualitas pakan udang vannamei adalah melalui penambahan peningkatan sistem pertahanan tubuh udang, yaitu dengan menggunakan imonostimulan, vitamin dan hormon (Johny *et al.*, 2005). Penambahan imonostimulan pada udang dapat dilakukan dengan cara perendaman.

Perkembangan sistem imun pada udang sangat primitif apabila dibandingkan dengan ikan dan vertebrata lainnya, karena udang tidak memproduksi antibodi spesifik (Kwang, 1996). Sistem imun pada udang merupakan sistem imun alami (*innate immunity*) (Kwang, 1996). Udang tidak memproduksi limfosit dan tidak memiliki sistem imun *adaptive* seperti yang dimiliki vertebrata lain (Van de Braak, 2002). Strategi yang digunakan oleh pembudidaya udang dalam pengendalian penyakit adalah dengan cara

meningkatkan sistem imun udang dengan pemberian imunostimulan (Dugger dan Jory, 1999). Smith *et al.*, (2003) menggunakan kata imonostimulan sebagai suatu zat yang digunakan dalam budidaya dalam maksud untuk meningkatkan reaktifitas kekebalan tubuh dan meningkatkan resistensi terhadap infeksi oleh mikroorganisme berbahaya. Menurut Anderson (2004), imonostimulan merupakan senyawa biologis, sintesis atau bahan lainnya yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh non spesifik. Imonostmulan adalah kelompok sintesa kandungan biologi untuk meningkatkan respon imun non spesifik, yang digunakan untuk meningkatkan efesiensi sistem imun dalam menanggulangi patogen. Kelemahan dari imunostimulan ini adalah harganya relatif mahal, sehingga diperlukan usaha pencarian sumber alternatif imunostimulan yang murah dan mudah penanganannya, salah satunya adalah dari rumput laut.

Rumput laut merupakan salah satu sumberdaya hayati laut Indonesia yang mempunyai potensi cukup baik untuk kebutuhan dalam negeri maupun ekspor. Rumput laut termasuk alga multiselular yang mengandung substansi yang aktif secara imunologi (Castro *et al.*, 2004). Rumput laut tersebut belum banyak dimanfaatkan bahkan seringkali merupakan sampah yang berserakan dan pengganggu bagi pelayaran kapal nelayan meskipun dapat dimanfaatkan sebagai sumber alginat maupun produk minuman kesehatan karena kandungan komponen bioaktifnya yang cukup tinggi (Yulianto, 2007). Pemanfaatan rumput laut selama ini masih terbatas pada produk karagenan dan agar. Potensi rumput laut di bidang pengendalian penyakit masih belum banyak di eksplorasi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa rumput laut mempunyai prospek yang masih terbuka bagi pengembangannya dalam bidang pengendalian penyakit (Castro *et al.*, 2004). Di antaranya yaitu Rumput laut hijau, merah ataupun coklat merupakan sumber potensial senyawa bioaktif yang sangat bermanfaat bagi

pengembangan (1) industri farmasi seperti sebagai anti bakteri, anti tumor, anti kanker dan (2) industri agrokimia terutama untuk antioksidan, fungisida dan herbisida (Bachtiar, 2007).

Salah satu jenis rumput laut yang memiliki jumlah melimpah di Indonesia adalah rumput laut jenis *Sargassum* sp. *Sargassum* sp. adalah salah satu jenis rumput laut yang bernilai ekonomis, tersebar luas di perairan Indonesia (Kadi dan Atmadja, 1988). Ekstrak rumput laut telah diketahui mempunyai aktivitas sebagai antitumor, meningkatkan aktivitas kemotaksis *macrophage*, menstimulasi aktivitas sekresi radikal oksigen dan fagositosis pada *peritoneal and splenicmarine macrophage* (Castro *et al.*, 2004). Ada beberapa macam spesies dari *Sargassum* salah satunya yaitu *Sargassum polycystum*. *Sargassum polycystum* mengandung vitamin C, vitamin E (α -tokoferol), mineral, karotenoid, klorofil, florotanin, polisakarida sulfat, asam lemak, dan asam amino (Castro *et al.*, 2004). Tumbuhan ini memiliki potensi dalam penyembuhan penyakit kantung kemih, gondok, kolesterol, digunakan sebagai kosmetik, sumber alginat, dan antioksidan (Matanjun *et al.*, 2008). Menurut Ridlo dan Rini (2009), uji efektivitas aplikasi rumput laut laut sebagai imunostimulan sistem pertahanan tubuh non spesifik udang *Litopennaeus vannamei* dapat dilakukan dengan pengamatan terhadap sistem kekebalan tubuh nonspesifik berdasarkan gambaran hematologinya, yaitu dengan menghitung jumlah hemosit dan aktivitas fagositosis. Berdasarkan hasil terbaik jumlah hemosit dan aktivitas fagositosis dicapai oleh *Sargassum* sp. spesies rumput laut lainnya yaitu *Dictyota* sp., *Gracilaria* sp. Dan *Padina* sp.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *hot-water extract* rumput laut meningkatkan sistem pertahanan dan memproteksi terhadap infeksi bakterial, misalnya *Gracilaria tenuistipitata* (Hou & Chen, 2005; Yeh & Chen, 2009), *Sargassum duplicatum* (Yeh *et al.*, 2006), *Ulva* dan *Dendrilla* (Selvin *et al.*, 2004).

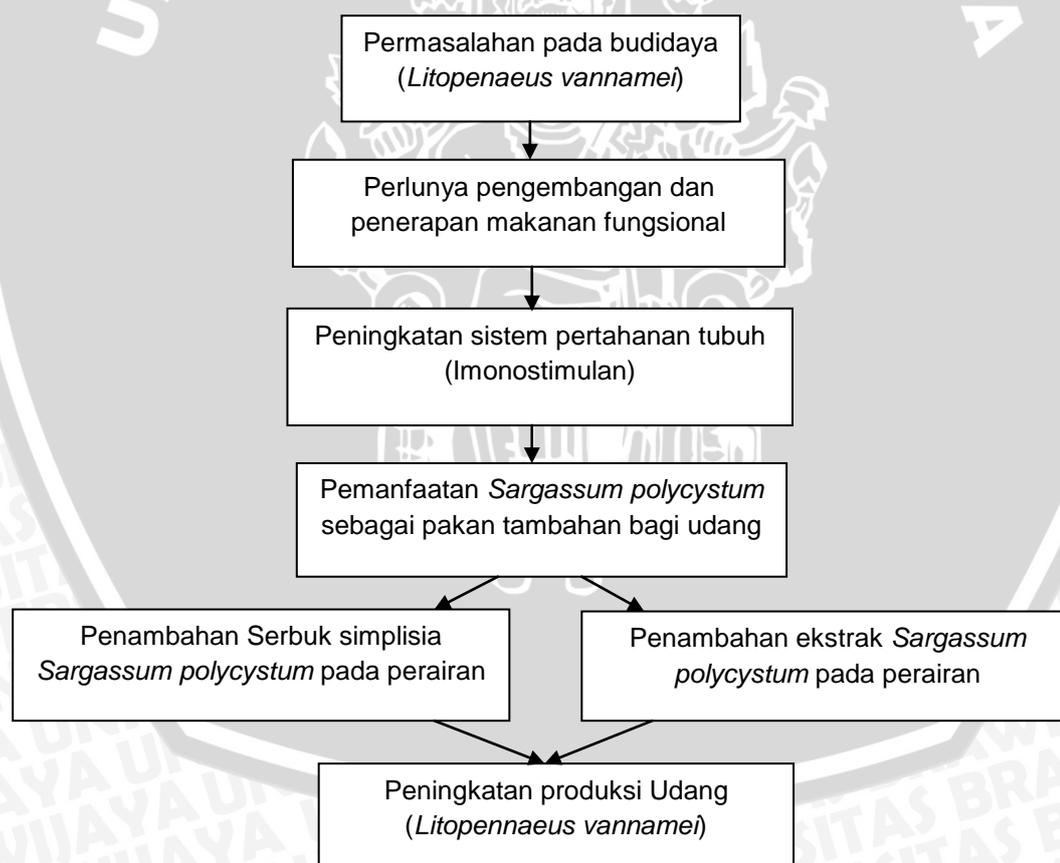
Selain itu senyawa yang terdapat dalam rumput laut juga terbukti mempunyai aktivitas immunostimulan, diantaranya adalah natrium alginate (Cheng *et al.*, 2004) dan karagenan (Yeh dan Chen, 2008). Kemampuan immunostimulan ini ditunjukkan oleh meningkatnya *Total Hemocyte Count* (THC), *Differential Haemocyte Count* (DHC), Aktivitas Phenoloksidase (PO), *Respiratory Burst* (RB) dan Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) dan Aktivitas Fagositosis terhadap patogen. Menurut hasil penelitian Subagiyo (2009), peningkatan sistem imun pada udang (*Litopennaeus vannamei*) dengan pemberian serbuk *Halimeda* sp. dengan THC (*Total Hemocyte Count*) lebih tinggi memberikan pengaruh sebesar 170,117% dibandingkan dengan pemberian ekstrak *Halimeda* sp. yaitu hanya berpengaruh sebesar 96,242 %. Salah satu manfaat pemberian immunostimulan adalah untuk mengurangi penyakit pada udang yang nantinya dapat meningkatkan produksi udang *Litopennaeus vannamei*.

1.2 Rumusan Masalah

Udang vannamei merupakan salah satu komoditas unggulan perikanan di Indonesia bahkan Asia. Diberbagai negara produsen udang vannamei dihadapkan dengan masalah munculnya penyakit yang dapat mempengaruhi spesies udang vannamei. Salah satu penyebabnya adalah kurangnya perhatian terhadap kualitas air dan pakan yang dapat menyebabkan udang ini mengalami penurunan sistem imun sehingga mempermudah akses organisme patogen seperti WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) untuk masuk dan menginfeksi udang tersebut. Infeksi virus ini berdampak buruk pada kualitas udang sehingga dapat menurunkan produktivitas budidaya udang vannamei. Salah satu upaya dalam penanggulangan dan pencegahan penyakit udang adalah melalui peningkatan sistem pertahanan tubuh udang atau immunostimulan, yaitu dengan menggunakan dengan penggunaan *Sargassum polycystum* pada campuran pakan dengan cara

perendaman, selain dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang juga dapat dijadikan alternatif baru untuk meningkatkan produksi Udang vannamei. Bagan alir perumusan masalah dapat dilihat pada Gambar 1. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui :

1. Apakah pemberian ekstrak dan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* berpengaruh nyata dalam meningkatkan *Total Hemocyte Count* (THC), aktifitas fagositosis, dan *respiratory burst* udang vannamei yang terinfeksi WSSV (*White Spot Syndrom Virus*)?
2. Manakah yang lebih efektif ekstrak *Sargassum polycystum* ataukah serbuk simplisia *Sargassum polycystum* untuk menstimulasi sistem pertahanan non spesifik udang (*Litopennaeus vannamei*)?



Gambar 1. Bagan Alir Perumusan Masalah

1.3 Maksud dan Tujuan

Maksud dari penelitian ini adalah untuk menguji kemampuan ekstrak dan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* sehingga dapat meningkatkan sistem imunostimulan pada udang (*Litopennaeus vannamei*).

Tujuan dari penelitian ini antara lain :

- Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak dan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* dalam meningkatkan *Total Hemocyte Count* (THC), aktifitas fagositosis, dan *respiratory burst* udang vannamei yang terinfeksi WSSV (*White Spot Syndrom Virus*).
- Untuk mengetahui efektivitas *Sargassum polycystum* untuk menstimulasi sistem pertahanan non spesifik udang (*Litopennaeus vannamei*).

1.4 Kegunaan

1. Lembaga Akademisi (Mahasiswa dan Perguruan Tinggi)

Menambah wawasan pengetahuan dan keterampilan serta sebagai bahan informasi dan pedoman untuk mengadakan penelitian lebih lanjut.

2. Perusahaan dan Lembaga Ilmiah

Sebagai alternatif bahan informasi ilmiah yang digunakan untuk dasar pertimbangan dalam memajemen kualitas air serta masukan bagi pengembangan usaha. Dan hasil penelitian ini diharapkan dapat melengkapi database potensi pemanfaatan *Sargassum polycystum* sehingga dapat digunakan sebagai pedoman dalam pengembangan ilmu bioteknologi kelautan (*marine bioteknology*).

3. Pemerintah

Sebagai informasi dan alternatif bahan pertimbangan dalam menyusun kebijakan untuk pengembangan usaha perikanan.

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Maret – Mei 2015. Lokasi pengambilan rumput laut *Sargassum polycystum* di perairan Sumenep, Pulau Madura. Pengambilan udang (*Litopennaeus vannamei*) di BPAP Bangil Pasuruan. Proses ekstraksi dan perlakuan dilakukan di Laboratorium Ilmu Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang. Perhitungan *Total Hemosit Count* (THC) di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang. Dan uji aktifitas fagositosis dan *respiratory burst* dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya, Malang.

1.6 Hipotesis

H0 : Diduga pemberian ekstrak *Sargassum Polycystum* dan Serbuk simplisia *Sargassum polycystum* tidak berpengaruh terhadap peningkatan *Total Hemocyte Count* (THC), aktifitas fagositosis dan *respiratory burst* pada udang vannamei yang terinfeksi WSSV (*White Spot Syndrom Virus*).

H1 : Diduga Pemberian ekstrak dan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* berpengaruh terhadap peningkatan *Total Hemocyte Count* (THC), aktifitas fagositosis dan *respiratory burst* pada udang vannamei yang terinfeksi WSSV (*White Spot Syndrom Virus*).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Udang Vannamei

2.1.1 Klasifikasi Udang Vannamei

Udang Vannamei termasuk filum terbesar dalam kerajaan hewan, Arthropoda. Kelompok ini dikarakteristikkan dengan adanya sepasang *appendage* dan kutikula pelindung atau eksoskeleton yang menutupi tubuhnya. Menurut Weyban dan Sweeney 1991 Klasifikasi udang Vanname sebagai adalah:

Phylum	: Arthropoda
Sub phylum	: Crustacea
Class	: Malacostraca
Sub class	: Eumalacostraca
Ordo	: Decapoda
Sub ordo	: Dendrobranchia
Famili	: Penaeidae
Genus	: Litopenaeus
Species	: <i>Litopenaeus vannamei</i>



Gambar 2. *Litopenaeus vannamei*
(Dokumentasi Pribadi)

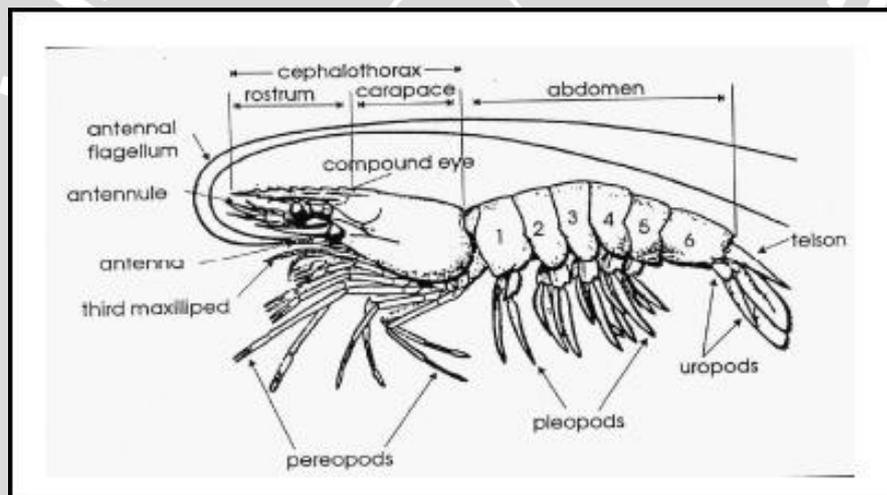
2.1.2 Morfologi Udang Vannamei

Bagian eksterior udang penaeid dibedakan atas *cepalotorax* yang memiliki rostrum yang keras dan *abdomen* yang bersegmen. Hampir seluruh organ seperti insang, sistem pencernaan dan jantung terletak di cepalotoraks sedangkan ototnya terkonsentrasi di abdomen (Van de Braak, 2002).

Apendiks pada bagian cepalotoraks memiliki beberapa bentuk dan fungsi yang berbeda. Pada bagian kepala, antena dan antenula memiliki fungsi sebagai sensor. Mandibula dan sepasang maxilla berbentuk seperti taring yang berfungsi

untuk mengambil makanan. Pada bagian thoraks, terdapat maxilliped yang berfungsi untuk membantu ketika makan dan lima pasang kaki jalan (*periopoda*). Lima pasang kaki renang (*pleopoda*) terdapat bagian abdomen.

Udang penaeid dan arthropoda memiliki sistem sirkulasi darah terbuka, karenanya darah dan sel darahnya disebut hemolimf dan hemosit. Crustacea memiliki jantung yang terletak bagian dorsal cepalotoraks. Bagian terbesar cepalotoraks diisi oleh hepatopankreas yang berfungsi untuk menyerap nutrisi, menyimpan lemak dan menghasilkan enzim pencernaan. Selain itu juga terdapat lymphoid yang berfungsi untuk menyaring hemolimf dan jaringan hematopoietic yang berfungsi untuk memproduksi hemosit.

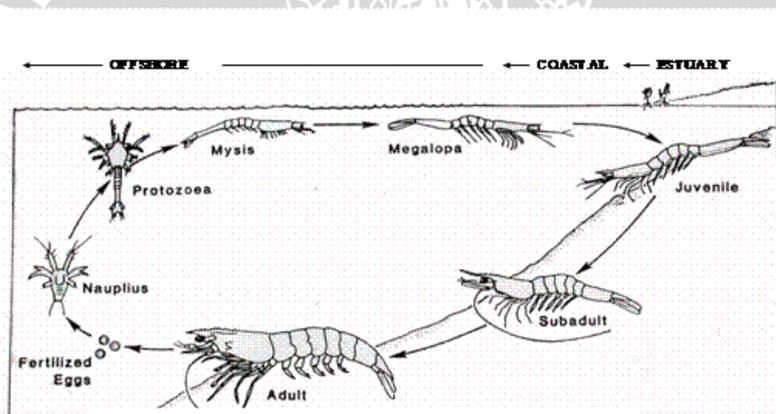


Gambar 3. Morfologi Udang vannamei (Google Image, 2015)

2.1.3 Siklus Hidup Udang Vannamei

Udang biasa kawin dilepas pantai yang dangkal. Proses kawin udang meliputi pemindahan spermatophore dari udang jantan ke udang betina. Peneluran bertempat dilepas pantai yang lebih dalam. Telur-telur dikeluarkan dan difertilisasi secara eksternal di dalam air. Seekor udang betina mampu menghasilkan setengah sampai satu juta telur setiap bertelur. Dalam waktu 13-14 jam, telur kecil tersebut berkembang menjadi larva berukuran mikroskopik yang disebut nauplii atau nauplius (Weyban *et al.*, 1991) tahap nauplii tersebut

memakan kuning telur yang tersimpan dalam tubuhnya lalu mengalami metamorphosis menjadi zoea. Tahap kedua ini memakan alga dan setelah beberapa hari bermetamorfosis lagi menjadi mysis. Mysis mulai terlihat seperti udang kecil dan memakan alga dan zooplankton. Setelah 3 sampai 4 hari, mysis mengalami metamorfosis menjadi postlarva. Tahap postlarva adalah tahap saat udang sudah mulai memiliki karakteristik udang dewasa. Keseluruhan proses dari tahap nauplii sampai postlarva membutuhkan waktu sekitar 12 hari. Di habitat alaminya, postlarva akan migrasi menuju estuaria yang kaya nutrisi dan bersalinitas rendah. Meraka tumbuh di sana dan akan kembali ke laut terbuka saat dewasa. Udang dewasa adalah hewan bentik yang hidup di dasar laut (weyban dan Sweeney 1991).



Gambar 4. Siklus Hidup udang vannamei (Google Image, 2015)

2.1.4 Reproduksi Udang Vannamei

Sistem reproduksi *Litopenaeus vannamei* betina terdiri dari sepasang ovarium, oviduk, lubang genital, dan thelycum. Oogonia diproduksi secara mitosis dari epitelium germinal selama kehidupan reproduktif dari udang betina. Oogonia mengalami meiosis, berdiferensiasi menjadi oosit, dan menjadi dikelilingi oleh sel-sel folikel. Oosit yang dihasilkan akan menyerap material kuning telur (*yolk*) dari darah induk melalui sel-sel folikel (Van de Braak, 2002).

Organ reproduksi utama dari udang jantan adalah testes, vasadereferensia, petasma, dan apendiks maskulina. Sperma udang memiliki nukleus yang tidak terkondensasi dan bersifat nonmotil karena tidak memiliki flagela. Selama perjalanan melalui vas deferens, sperma yang berdiferensiasi dikumpulkan dalam cairan fluid dan melingkupinya dalam sebuah *chitinous spermatophore*. Hal yang ditemukan juga bahwa jumlah spermatozoa berhubungan langsung dengan ukuran tubuh jantan (Van de Braak, 2002).

2.1.5 Sistem Imun Udang

Sistem pertahanan kekebalan tubuh udang (*immune defense*) adalah sistem yang dimiliki oleh tubuh (inang) untuk menghentikan penyusup (benda asing) yang dapat menyebabkan penyakit dan akhirnya membunuh inangnya, meliputi: (1) pengenalan terhadap material asing, (2) transmisi pesan yang akan menginduksi pelepasan dan produksi zat-zat yang akan menonaktifkan penyusup, dan (3) mengarahkan zat-zat tersebut ke penyusup dan menkoordinasikan tindakan untuk membuatnya tidak berbahaya (Holmbald dan Soderhall, 1999). Sistem imun merupakan gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi. Resistensi dapat dilihat dari kelangsungan hidup maupun respons imun yang diberikan berupa reaksi yang dikoordinasikan sel-sel, molekul-molekul terhadap mikroba dan bahan lainnya (Baratawijaya, 2004).

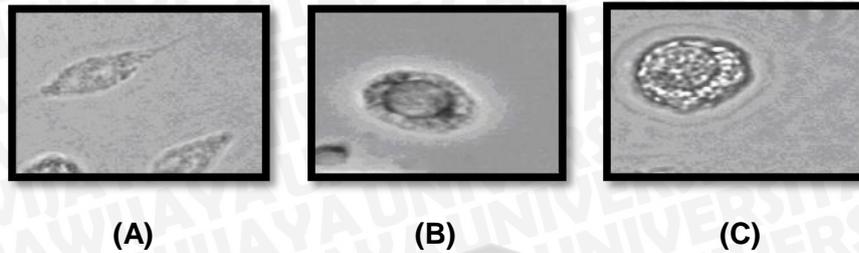
Sebagai hewan arthropoda, udang memiliki eksoskeleton yang terdiri atas kitin yang merupakan perlindungan terhadap berbagai jenis bahaya. Eksoskeleton adalah pertahanan pertama tubuh udang dalam mencegah infeksi penyakit melalui lendir yang dihasilkan oleh sel-sel epitel terluar. Apabila eksoskeleton ini gagal menangkal patogen dalam tubuh, maka selanjutnya mengandalkan pertahanan internal dalam merespon infeksi tersebut melalui

respon seluler dan humoral (Supamattaya *et al.*, 2000). Udang (*Litopennaeus Vannamei*) merupakan invertebrata krustasea yang memiliki sistem imun yang masih primitif dan tidak memiliki sel memori, yang dikenal dengan sistem imunitas nonspesifik. Sistem pertahanan tubuh udang tidak mempunyai kemampuan mengingat antigen dan merupakan sistem kekebalan non spesifik. Udang tidak memiliki antibodi dan karena itu mekanisme pertahanan tubuhnya sangat mengandalkan sistem imunitas bawaan (*innate immunity*) dalam membasmi patogen yang masuk ke dalam tubuhnya. Udang tidak memproduksi limfosit dan tidak memiliki sistem imun *adaptive* seperti yang dimiliki vertebrata (Van de Braak, 2002). Sistem pertahanan tubuh udang tidak mempunyai kemampuan mengingat antigen dan merupakan sistem kekebalan non spesifik, berdasarkan hanya pada imunitas innate.

Sistem pertahanan inang invertebrata sering dikategorikan sebagai humoral dan selular yang diperantarai faktor-faktor di dalam plasma hemolimf atau dieksekusi langsung oleh sel darah utuh (Smith dan Chisholm, 1992). Komponen selular dan humoral dari sistem sirkulasi, saling bekerjasama untuk mendeteksi dan menghilangkan bahan asing seperti mikroorganisme dan parasit yang berpotensi berbahaya (Bachere, *et al.*, 1995).

2.2 Hemosit

Hemosit merupakan sel yang berperan dalam sistem kekebalan dari invertebrata yang ditemukan dalam hemolimf. Pada Decapoda (Crustacea), secara morfologi, Saha dan Ray (2006) mengidentifikasi hemosit terdiri dari 3 tipe sel, antara lainnya adalah *hyalinocyte*, *semigranulocyte*, dan *granulocyte*. Ketiga tipe sel tersebut dibedakan berdasarkan granulasi sitoplasma yang ditunjukkan oleh Gambar 5.



Gambar 5. Jenis-jenis tipe hemosit pada *hemolymph* kepiting: *hyalinocytes* (A), *semigranulocytes* (B), *granulocytes* (C). Saha *et al.*, 2010)

Hyalinocytes merupakan sel-sel berbentuk gelendong yang ditandai dengan ekstensi ekor dibawah pengamatan dengan mikroskop cahaya dan optik dimana fase inti dalam bentuk bundar atau bulat telur dan sitoplasma dapat dibedakan dalam kondisi bernoda (Gambar 5A). Penampilan *semigranulocytes* berbentuk bulat besar di tengah inti dengan pinggiran tipis sitoplasma yang mengelilingi inti (Gambar 5B). Sedangkan *granulocytes* berbentuk bulat dengan inti besar dan sitoplasma yang beruang dengan butiran-butiran bulat (Gambar 5C) (Saha *et al.*, 2010).

Hemosit memainkan peran yang sangat penting pada pertahanan tubuh udang, tidak hanya secara langsung mengkarantina dan membunuh agen infeksi tetapi juga dengan sintesis dan eksositosis molekul bioaktif melalui reaksi inflamasi seperti penegenalan, fagositosis, pengumpulan hemosit, produksi metabolit oksigen reaktif, melanisasi, sitotoksis dan pelepasan protein mikrobisidal (Johansson *et al.*, 2000). Menurut Soderhall dan Cerenius (1998), pertahanan krustasea sebagian besar berdasarkan pada aktivitas sel darah atau hemosit. Sel ini bisa menghilangkan partikel asing pada tubuh krustasea akuatik melalui aktivitas fagositosis atau enkapsulasi. Selain itu juga penutupan luka yang cepat untuk mencegah keluarnya hemolimf dan untuk mencegah mikroorganisme menempel pada luka, juga ada reaksi pada pertahanan krustasea yang disebut *clotting*.

Sistem pertahanan bawaan dari krustasea termasuk udang terdiri dari respons imun selular dan humoral (Little *et al.*, 2005). Udang memiliki respon imunitas yang meliputi respon selular dan humoral yang bersifat non spesifik (Johansson dan Soderhall, 1999; Itami *et al.*, 1994). Respon imun selular meliputi apoptosis, enkapsulasi, fagositosis, dan pembentukan nodul, sedangkan respon imun humoral meliputi sistem prophenoloksidase (proPO), kaskade pembekuan dan beragam sintesis peptida antimikrobal dan antivirus (Little *et al.*, 2005). Menurut Itami (1994) sistem pertahanan selular meliputi fagosit sel-sel hemosit, nodulasi dan enkapsulasi. Sistem pertahanan humoral mencakup phenoloksidase (PO), prophenoloksidase (proPO), lectin dan aglutinin. Kedua sistem tersebut bekerjasama memberikan perlindungan tubuh terhadap infeksi organisme patogen dari lingkungan. Kontrol produksi hemosit baru dan pelepasannya pada udang, kemungkinan kombinasi dari adanya paparan benda asing, aktivitas pengenalan kekebalan dan jalur efektor, serta penurunan jumlah sel darah dalam sirkulasi baik secara langsung atau tidak, menginisiasi hemopoiesis (Smith *et al.*, 2003). Untuk lebih jelasnya seperti pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Fungsi Tiap Jenis Hemosit Pada Crustacea

Tipe Hemosit	Fungsi
Sel Hyalin	Fagositosis (Thornqvist <i>et al.</i> , 1994)
Sel Semigranular	<ul style="list-style-type: none"> - Encapsulation (Kobayashi <i>et al.</i>, 1976), - Fagositosis (terbatas) (Thornqvist <i>et al.</i>, 1994), - Penyimpanan dan pelepasan system proPO (Johansson dan Soderhall, 1988), - Cytotoxicity (Soderhall <i>et al.</i>, 1985).
Sel Granular	Penyimpanan dan pelepasan system proPO (Cytotoxicity) (Soderhall <i>et al.</i> , 1985).

2.3 Fagositosis

Fagositosis adalah meningkatnya pertahanan non spesifik untuk melindungi adanya serangan patogen yang masuk kedalam tubuh organisme, dengan cara mengeliminasi atau menyelubungi satu atau lebih patogen yang masuk kedalam tubuh udang. Meningkatnya ketahanan tubuh udang dapat diketahui dengan meningkatnya aktifitas sel fagosit. Sel-sel fagosit berfungsi melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk tubuh inang. Fagositosis merupakan mekanisme pertahanan non spesifik yang secara umum mampu melindungi adanya serangan penyakit.

Fagositosis adalah proses multifase yang melibatkan perantara reseptor pengenalan bahan asing untuk mengeliminasi atau menghilangkan partikel asing yang masuk ke tubuh udang oleh sel tunggal, baik sirkulasi sel darah atau sel-sel jaringan statis, dengan jalan menelan atau menyelubungi satu atau lebih pathogen dan benda asing yang masuk ke tubuh udang, penyerapan di vakuola (fagosome), fusi fagosome dengan lisosome (membentuk fagosom) dan untuk selanjutnya dihancurkan degradasi bahan tertutup oleh enzim dan molekul antimikroba seperti peptide dan radikal oksigen dan dikeluarkan (Greenberg dan Grinstein, 2002; Smith *et al.*, 2010). Umumnya, proses fagositosis dianggap sebagai salah satu reaksi perantara sel kekebalan yang paling penting dalam invertebrate. Dari ketiga tipe hemosit yang umumnya dikenal pada krustasea, hialin dan semi granular sel dianggap fagositik (Matozzo dan Martin, 2010). Granulosit adalah tipe sel yang terlihat dalam pertahanan benda asing melalui fagositosis dan enkapsulasi (Hose *et al.*, 1990).

Sel yang berperan dalam menelan patogen dan benda asing yang masuk tubuh inang dikenal sebagai sel fagosit. Sel-sel fagosit berbeda dari sel darah yang immobil dan tidak memiliki butiran, sel fagosit bertindak untuk meningkatkan sel-sel darah dalam menghilangkan patogen (Supamattaya *et al.*,

2000). Meningkatkan pertahanan tubuh pada udang dapat diketahui dengan meningkatkan aktifitas sel-sel fagosit dari hemosit, dimana kemampuan hemosit dalam aktifitas fagositosis akan meningkat pada kejadian infeksi. Hemosit dihasilkan oleh jaringan yang terletak sekitar lambung. Hemosit memegang peranan penting dalam respon selular pertahanan tubuh udang yang meliputi pengenalan, fagositosis, melanisasi, cytotoksitas dan komunikasi antar sel. Sel-sel fagosit berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh udang. Aktifitas fagositosis pada udang dilakukan oleh sel hialin dan sebagian sel semi granul. Sirkulasi hemosit tersuspensi dalam hemolim, sangat melimpah dan umumnya sebagai sel fagosit. Fagosit yang terdapat dalam jaringan (fixed fagosit) sangat penting dalam mengeliminasi beberapa substansi. Sel ini berlokasi di permukaan luar dari arteriola dalam ruang haemal pada hepatopankreas (Johnson dan Soderhall, 1987).

2.4 Respiratory Burst

Proses fagositosis yang dilakukan oleh sel hialin, akan disertai dengan metabolisme berupa letupan atau lonjakan respiratory (*respiratory burst*). Pada peristiwa letupan tersebut akan terjadi kenaikan konsumsi oksigen. Pembentukan reaktif oxygen intermediates (ROIs), yaitu radikal bebas seperti anion superoxide (O_2^-). Hidrogen peroksida (H_2O_2), hidroksi radikal (OH) dan siglet oksigen (1O_2) serta pembentukan enzim-enzim degradasi (Rodriguez and Moullac, 2000; Supamattaya *et al.*, 2000).

Membran hialin terdapat rantai transfer elektron yang mengandung NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate) oksidase, yang merupakan suatu sistem kompleks terdiri dari flavoprotein. NADPH oksidase aktif apabila ada kontak antara membran hialin dengan partikel (Abbas *et al.*, 2000). Anion superoksida merupakan substansi yang pertama kali dihasilkan pada saat

terjadinya lonjakan pernafasan (*respiratory burst*) yang dikatalis oleh enzim NADPH oksidase sehingga pengukurannya dapat dijadikan dasar untuk menentukan intensitas *respiratory burst*. Peningkatan jumlah hemosit akan diikuti dengan peningkatan jumlah anion superoksida dan hidrogen peroksida yang pada akhirnya akan meningkatkan kekebalan udang pada penyakit (Citarasuet *al.*, 2006).

Faktor penting yang berperan dalam *respiratory burst* adalah peroxinectin. Peroxinectin mempunyai dua fungsi yaitu sebagai sel adesi dan peroxidase. Peroxinectin dihasilkan oleh sel hemosit dan disimpan sel granula dalam keadaan tidak aktif, dan akan diaktifkan melalui proses degranulasi hemosit (Van de Braak, 2002). Peroxinectin akan menempel pada organisme atau antigen yang masuk ke dalam tubuh. Selanjutnya hemosit akan mendekati dan berikatan dengan peroxinectin melalui intergrin. Mekanisme penghancuran selama proses fagositosis maupun enkapsulasi dimulai dengan terbentuknya anion superoksida (O_2^-) dari molekul oksigen (O_2) oleh NADPH oksidase. Ion O_2^- selanjutnya dirubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh enzim superoxide dismutase (SOD). Akhirnya akan dikonfersi menjadi air dan oksigen oleh enzim katalase dan peroxidase (Holmbald dan Soderhall, 1999). Peroxinectin akan menggunakan hidrogen peroksida untuk menghasilkan toxic seperti *hypochlorous acid* (HOCl). Jika terdapat *nitric oxide* (NO), peroxinectin akan menghasilkan *toxic peroxynitrite* ($ONOO^-$), yang akan digunakan untuk menyerang patogen yang masuk.

2.5 Virus White Spot Syndrom Virus (WSSV)

White spot syndrom 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-

10 hari penyerangan (Wang *et al.*, 2007 dalam Kilawati dan Darmanto 2009). Di Indonesia, penelitian mengenai penyakit White spot belum banyak dilakukan baik dalam aspek biologi penularan, perkembangan infeksi serta sifat virus WSSV. Informasi yang diperoleh ini merupakan dasar untuk aspek diagnostik klinik dan pengendalian infeksi (Alifuddin *et al.*, 2002). Bintik putih adalah salah satu penyakit yang menyerang udang. Penyakit ini mempengaruhi sebagian besar komersil udang. Tanda tanda bintik putih dibagian eksoskeleton dan epidermis, warna kemerahan ditubuh, pergerakan udang ditepi kolam dan berkembangnya nafsu makan udang.

Menurut Admin (2007) dalam Rahmat (2012), tanda serangan bercak putih WSSV (*White Spot Syndrom virus*) yaitu:

- Terdapat tanda seperti bercak putih pada kulit udang berdiameter 0,5-2mm
- Udang dalam keadaan lemah, berenang kepermukaan, kemudian mendekat ke pematang dan mati
- Tanda bercak sering tidak terdapat, tetapi pola kematian yang terjadi dalam skala logaritmis, yaitu kematian pada hari berikutnya mencapai 10 kali lipat, dan biasanya hanya dalam waktu antara 3-5 hari sejak gejala kematian pertama teramati kematian sudah mencapai 100 %.

Beberapa faktor pemicu timbulnya penyakit WSSV adalah kadar oksigen yang rendah, terjadi fluktuasi pH harian yang besar, rendahnya suhu air, turun hujan secara mendadak dan masalah utama penyebab kegagalan udang antara lain adalah serangan penyakit yang disebabkan oleh parasit, virus dan bakteri. Umumnya jasad-jasad tersebut bersifat oportunistik, yaitu serangan terjadi bila udang dalam keadaan tidak normal atau stres (Prajitno, 1995).

2.6. Metode Pemberian Imonostimulan

Kondisi pemeliharaan yang berbeda bedatelah memberikan cara cara yang berbeda dalam penerapan imonostimulan metode dasar yang telah digunakan adalah melalui penyuntikan, perendaman dan oral seperti pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Metode Adiminstrasi Imonostimulan Pada Ikan

Rute	Dosis	Waktu Ekspos
Penyuntikan	Bervariasi	1 atau 2 dosis
Perendaman	2-10ml/l	10 menit sampai beberapa jam
Oral	0,01-4 %	Beberapa hari atau lebih

Sumber : Galindo dan Hosokawa, (2004)

Penelitian Yeh *et al.*, (2006) menunjukkan *L. Vannamei* yang diberi ekstrak air panas *S. duplicatum* secara perendaman maupun penyuntikan dapat meningkatkan *Total Hemocyte Count* (THC), aktifitas PO, dan *respiratory burst*. Dosis dan waktu yang dibutuhkan untuk meningkatkan respon imun udang *L. Vannamei* dengan metode perendaman berbeda dengan penyuntikan. Dosis yang dibutuhkan dengan metode perendaman lebih banyak dibandingkan dengan penyuntikan, namun waktu yang dibutuhkan untuk menimbulkan reaksi lebih cepat. Ringkasan metode pemberian imonostimulan seperti Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Ringkasan Kelebihan dan Kekurangan Metode Pemberian Imonostimulan

Metode	Kelebihan	Kekurangan
Penyuntikan	Cara Imonostimulan manjur. Paling hemat untuk ikan besar	Sangat berguna untuk pemeliharaan intensif. Butuh kerja lebih. Potensi ikan untuk stress lebih tinggi (ketika dibius atau penanganan) berat ikan harus >10-15 gram
Perendaman	Metode paling ekonomis, pelaksanaan perendaman non stressing	Cocok untuk Intensif akuakultur, kemampuan dibawah metode injeksi. Pengangkatan dari bak perendaman berpotensi menimbulkan stress

Oral	Satu Satunya cara yang tidak berpotensi menimbulkan stress. Memungkinkan untuk digunakan pada imonostimulan masal untuk ikan berukuran berapapun. Tidak banyak membutuhkan tenaga dan biaya	Keampuan rendah, membutuhkan banyak bahan imunostimulan untuk mencapai tingkat proteksi
------	---	---

Sumber : Galindo dan Hosokawa, 2004

2.7 Imonostimulan

Salah satu upaya yang dilakukan untuk mencegah terjangkitnya suatu penyakit adalah dengan meningkatkan kekebalan tubuh organisme termasuk udang, yang dikenal dengan imonostimulasi, yaitu suatu strategi untuk menyiagakan atau menyiapkan sistem pertahanan (imun) udang sehingga meningkatkan resistensinya dalam melawan patogen, seperti bakteri, virus, parasit ataupun mikroorganisme berbahaya lainnya. Imonostimulasi dapat dilakukan dengan memberikan imonostimulan pada udang.

Smith *et al.*, (2008) menggunakan kata imonostimulan sebagai suatu zat yang digunakan dalam budidaya dalam maksud untuk meningkatkan reaktifitas kekebalan tubuh dan meningkatkan resistensi terhadap, atau kelangsungan hidup setelah infeksi oleh mikroorganisme berbahaya. Menurut Anderson (2004), imonostimulan merupakan senyawa biologis, sintesis atau bahan lainnya yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh non spesifik. Imonostmulan adalah kelompok sintesa kandungan biologi untuk meningkatkan respon imun non spesifik, yang digunakan untuk meningkatkan efesiensi sistem imun dalam menanggulangi patogen. Keistimewaan imonostimulan dibandingkandengan vaksinasi adalah sifatnya yang tidak spesifik, artinya bahan tersebut mampu merangsang peningkatan ketahanan ikan dan udang terhadap penyakit.

Salah satu kemampuan imonostimulan adalah dapat meningkatkan ketahanan tubuh non spesifik, yaitu dengan meningkatnya sel sel fagositosis. Sel

sel fagositosis berfungsi melakukan fagositosis terhadap benda-benda asing yang masuk ke tubuh inang. Fagositosis merupakan sistem pertahanan tubuh non spesifik yang secara umum dapat melindungi adanya serangan penyakit (Secombes, 1994). Eksplorasi untuk memperoleh imunostimulan dari bahan alami telah banyak dilakukan terhadap hewan dan tumbuhan yang berasal dari laut, diantaranya adalah jenis makroalga yang belum banyak dilakukan eksplorasi salah satunya adalah alga coklat *Sargassum* sp. Alga coklat mengandung bahan kimia utama sebagai sumber alginat, protein, vitamin C, mineral seperti Ca, K, Mg, Na, Fe, Cu, Zn, S, P dan Mn, Tanin, Iodin auxin dan fenol (Kadi, 2005). Ekstrak rumput laut telah diketahui mempunyai aktivitas sebagai antitumor, meningkatkan aktivitas kemotaksis *macrophage*, menstimulasi aktivitas sekresi radikal oksigen dan fagositosis pada *peritoneal and splenic marine macrophage* (Castro *et al.*, 2004). *Sargassum* sp. mengandung fucoïdon (Yunizal, 2003), dan komponen fenolik (Lim *et al.*, 2002). Jenis komponen fenolik yang banyak dijumpai pada rumput laut coklat adalah phlorotanin yang berkisar antara 0,74 % sampai 5,06 % (Samee *et al.*, 2009).

2.8 Mekanisme kerja imunostimulan

Udang memiliki mekanisme untuk mendeteksi dan mengenali bahan asing yang dapat mengaktifkan fungsi pertahanan selular. Itu menunjukkan bahwa sel yang bertanggung jawab terhadap pembuangan bahan asing termasuk sirkulasi hemosit dan fixed fagosit (Johnson, 1987). 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. 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 -glukan binding protein yang dapat merangsang degranulasi dan aktivasi sistem proPO (Soderhall *et al.*, 1985).

Saat terdapat antigen yang masuk, misalnya struktur polisakarida atau β -glukan, maka plasma dalam hemolim akan segera mengenali dan mengikat antigen tersebut. Ikatan tersebut dilakukan oleh aglutinin atau sering disebut lektin yang merupakan komponen glikoprotein (Johansson *et al.*, 1989 ; Smith, *et al.*, 2003). Lektin merupakan bagian pertahanan humoral berfungsi untuk melakukan pengenalan terhadap benda asing. Ikatan antara antigen dengan glikoprotein tersebut terjadi dalam bentuk LPS binding protein atau β -glukan binding protein. Saat LPS masuk ke dalam hemolim maka sel semigranular dan granular akan melakukan degranulasi, yang akan melepaskan perioxinectin (Johansson *et al.*, 2000; Smith, *et al.*, 2003). Pada proses degranulasi juga terjadi eksositosis yang akan memicu proses aglutinasi.

Ikatan glikoprotein dengan LPS akan mengaktifasi pro enzim pro-ppA menjadi enzim ppA. Enzim ppA akan mengaktifasi enzim pro PO menjadi PO. Selama proses aktivasi ini akan dilepaskan beberapa protein yang sangat berperan dalam eliminasi patogen, yaitu perioxinectin, transglutamin dan clotting protein (Johansson dan Soderhall, agositois dan enkapsulasi 1989). Perioxinectin berfungsi sebagai protein faktor opsonin yang akan menempel pada antigen atau patogen. Selanjutnya dengan adanya ikatan tersebut sel fagosit akan mendekat dan berikatan dengan enkapsulasi. Selama proses fagositosis dan enkapsulasi akan terjadi mekanisme penghancuran antigen atau patogen melalui proses reaktif oksigen intermediate (ROIs).

Mekanisme lain eliminasi patogen adalah melalui proses melanisasi. Hidrolisis prekursor proPO menjadi PO aktif, enzim PO akan mengkatalis oksidasi terhadap phenol menjadi quinon dalam pembentukan melanin, yaitu pengekapan patogen untuk mencegah infeksi. Pemberian imonostimulan seperti

polisakarida merupakan hal penting dalam proses pengenalan antigen. Pemberian imonostimulan akan meningkatkan protein pengenalan glikoprotein. Ikatan ini akan meningkatkan proses degranulasi sel granular dan semigranular, yang akan diikuti dengan meningkatnya peroxinectin sebagai faktor opsonin dalam memicu proses fagositosis dan enkapsulasi, serta meningkatnya aktifitas PO yang akan berperan dalam memicu proses melanisasi (Johansson dan Soderhall, 1987).

2.9 Alga Coklat *Sargassum polycystum*

Menurut Anggadiredja *et al.*, (2006), klasifikasi *Sargassum polycystum* adalah sebagai berikut :

- Divission : Rhodophyta
- Class : Phaeophyceae
- Ordo : Fucales
- Family : Sargassaceae
- Genus : Sargassum
- Spesies : *Sargassum polycystum*



A

B

Gambar 6. (A). *Sargassum polycystum* Basah dan (B). *Sargassum polycystum* Kering (Dokumentasi Pribadi)

Menurut Pranoto *et al.*, (2010), salah satu rumput laut yang mempunyai serat tinggi dan banyak tumbuh diperairan Indonesia adalah rumput laut jenis *Sargassum polycystum* yang termasuk dalam kelas Phaeophyceae. Ada 150 jenis marga *Sargassum* yang dijumpai didaerah perairan tropis, subtropis dan daeran bermusim dingin. Umumnya berbentuk silindris dan cabangnya rimbun. *Sargassum* sp. tumbuh diperairan pada kedalaman 0,5-10 m, ada arus dan ombak. Pertumbuhan alga ini sebagai makro alga benthik melekat pada substrat dasar perairan. Di daerah tubir tumbuh membentuk membentuk rumpun berat, panjang thalli utama mencapai 0,5-3 m dengan untaian cabang thalli terdapat kantong udara (*bladder*) yang berguna untuk menopang cabang cabang thalli terapung ke permukaan air untuk mendapat cahaya matahari.

Sargassum polycystum mempunyai kandungan gizi yang tinggi. Selain mempunyai nilai gizi yang tinggi *Sargassum polycystum* menghasilkan alginat. Alginat merupakan senyawa organik kompleks yang berbentuk dari polimer asam D-mannuronat yang terdiri dari asam α dan β -D-mannuronat sehingga membentuk rumus $(C_6H_7O_6)_n$. Alginat berfungsi sebagai pemelihara bentuk jaringan pada makanan. Alginat dapat berbentuk asam alginat dan kalsium alginat. Asam alginat tidak larut dalam air, tetapi akan mengembang sehingga dapat dimanfaatkan sebagai binder (pengikat) (Pratono *et al.*, 2010).

Senyawa polisakarida atau turunannya dapat dihasilkan dari proses ekstraksi dengan menggunakan air dan dapat meningkatkan ketahanan ikan dan udang terhadap infeksi patogen. Beberapa diantaranya adalah ekstrak *G. tenuistipitata* meningkatkan imunitas dan resistensi udang vannamei terhadap *V. Alginolyticus* (Hou and Chen, 2005). Ekstrak *S. duplicatum* meningkatkan imunitas dan resistensi udang vannamei terhadap *V. alginolyticus* (Yeh *et al.*, 2006). Fucoidan yang diekstrak dari *S. polycystum* dapat menurunkan infeksi WSSV terhadap udang windu (Chotigeat *et al.*, 2004). Galaktosa hasil ekstraksi

air panas *G. tunistipitata* dapat mempercepat pemulihan parameter respon imun udang vannamei terhadap perubahan suhu dan infeksi *V. alginolyticus* (Yeh *et al.*, 2010).

2.10 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).

2.10.1 Parameter Fisika

a. 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, 1997).

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).

2.10.2 Parameter Kimia

a. 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 mengetahui apakah air tersebut sesuai atau tidak untuk menunjang kehidupan organisme air.

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.

b. Salinitas

Menurut Kordi dan Andi (1997), 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.

c. DO (Oksigen Terlarut)

Menurut Effendi (2003), oksigen merupakan salah satu gas yang terlarut dalam perairan. Kadar oksigen yang terlarut di dalam perairan bervariasi, tergantung pada suhu, salinitas, turbulensi dan tekanan atmosfer. Semakin besar suhu dan ketinggian semakin kecil tekanan atmosfer, kadar oksigen terlarut semakin kecil. Semakin tinggi suatu tempat dari permukaan laut, tekanan atmosfer semakin rendah. Kadar oksigen terlarut juga berfluktuasi secara harian dan musiman, tergantung pada pencampuran dan pergerakan masa air, aktifitas fotosintesis, respirasi dan limbah yang masuk ke badan air. Sumber oksigen terlarut dapat berasal dari difusi oksigen yang terdapat di atmosfer (Sekitar 35 %) dan aktifitas fotosintesis oleh tumbuhan air dan fitoplankton. Difusi oksigen ke dalam air dapat terjadi secara langsung pada kondisi air diam.

Menurut Adiwidjaya *et al.*, (2008), nilai oksigen terlarut di atas 3,5 ppm cukup layak untuk mendukung pertumbuhan tingkat kelangsungan udang vannamei, karena usaha untuk meningkatkan kandungan oksigen di atas 3,5 ppm dalam air media peliharaan udang dapat dilaksanakan dengan cara pergantian atau sirkulasi air dan penambahan baik jumlah maupun jam operasional kincir air. Sehingga pada akhirnya dapat mengatasi kondisi kelarutan oksigen yang optimal dalam media air pemeliharaan udang.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga coklat berupa *Sargassum polycystum*, udang (*Litopennaeus vannamei*) pada masing-masing akuarium berisi 15 ekor dengan ukuran panjang 11-13 cm, pakan udang komersial dengan merk viternadan pengamatan kualitas air berupa pengamatan fisika perairan yang meliputi suhu dan parameter kimia yang meliputi pH (*Poisoning Hydrogen*), Salinitas dan DO (Oksigen terlarut).

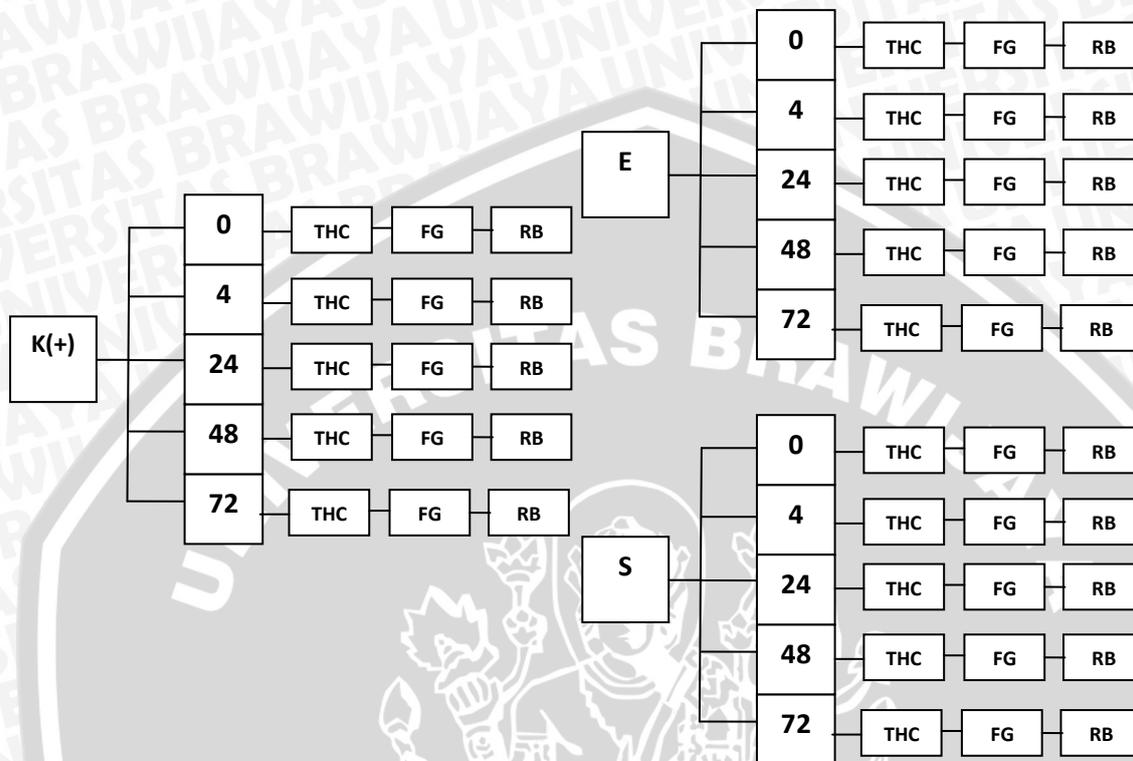
3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 3 perlakuan. Menurut Sugiyono (2010), metode eksperimen adalah metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendalikan. Menurut Rakhmat (1985) dalam Setyanto (2006), metode eksperimen bioassay bertujuan untuk meneliti hubungan sebab akibat dengan memanipulasikan satu atau lebih variabel pada satu atau lebih kelompok eksperimen dan membandingkan hasilnya dengan kelompok kontrol yang tidak mengalami manipulasi. Dalam penelitian ini metode eksperimental mencakup perlakuan pemberian virus WSSV (*White Spot Syndrom Virus*) pada udang *Litopennaeus vannamei*, pemberian perendaman ekstrak *Sargassum polycystum* pada udang *Litopennaeus vannamei*, dan perendaman serbuk *Sargassum*

polycystum pada udang *Litopennaeus vannamei* , Desain penelitian dapat dilihat sebagai pada Gambar 7.



Gambar 7. Desain Penelitian

Keterangan :

THC : *Total Hemocyte Count*

FG : *Aktifitas Fagositosis*

RB : *Respiratory Burst*

K(+) : *Aquarium dengan perlakuan udang dengan perendaman virus WSSV*

E : *Aquarium dengan perlakuan udang dengan perendaman Ekstrak *Sargassum polycystum**

S : *Aquarium dengan perlakuan udang dengan perendaman Serbuk *Sargassum polycystum**

0 : *Aquarium dengan perlakuan udang dengan perendaman ekstrak dan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* 500 mg/l selama 3 jam*

4 : *Aquarium dengan perlakuan udang setelah perendaman *Sargassum polycystum* dan perendaman virus WSSV sebanyak 6 µl/500 ml selama 4 jam*

24 : *Aquarium dengan perlakuan udang setelah perendaman *Sargassum polycystum* dan perendaman virus WSSV setelah 24 jam*

48 : *Aquarium dengan perlakuan udang setelah perendaman *Sargassum polycystum* dan perendaman virus WSSV setelah 48 jam*

72 : *Aquarium dengan perlakuan udang setelah perendaman *Sargassum polycystum* dan perendaman virus WSSV setelah 72 jam*



3.4 Data Penelitian

Pengambilan data penelitian ini dilakukan dengan mengambil dua macam data yaitu data primer dan data sekunder.

a. Data primer

Data Primer adalah data yang di dapat dari sumber pertama, survey dilakukan bila data sudah ada di sasaran penelitian (Mulyanto, 2008). Data primer merupakan data yang diperoleh secara langsung dari kegiatan penelusuran dari objek yang diamati dan dicatat untuk pertama kalinya. Sampel uji yang diambil dalam praktek lapang ini yaitu alga coklat (*Sargassum polycystum*) dan hewan uji berupa Udang (*Litopennaeus vannamei*). Dalam penelitian ini data primer diperoleh dari hasil observasi, dan partisipasi aktif dengan pihak terkait.

- Observasi

Observasi merupakan proses yang kompleks, suatu proses yang tersusun dari berbagai proses biologis dan psikologis (Sugiyono, 2010). Observasi yaitu melakukan pengamatan dan pencatatan secara sistematis terhadap gejala atau fenomena yang diselidiki tanpa mengajukan pertanyaan (Primyastanto, 2012). Adapun observasi yang dilakukan dalam penelitian ini antara lain mengamati THC (*Total Hemocyte Count*), aktifitas fagositosis dan *respiratory burst*. Serta dilakukannya pengamatan kualitas fisika dan kimia perairan yang meliputi suhu, pH, salinitas dan DO (Oksigen terlarut) didalam perairan sebagai faktor penunjang kehidupan udang (*Litopennaeus vannamei*).

- Partisipasi aktif

Partisipasi aktif adalah berperan aktif dalam melakukan serangkaian kegiatan. Dalam hal ini meliputi proses ekstraksi sampel, persiapan hewan uji berupa udang (*Litopennaeus vannamei*) dan perlakuan hewan uji serta

perhitungan jumlah *Total hemocyte Count* (THC), aktifitas fagositosis dan *respiratory burst*.

b. Data sekunder

Data sekunder adalah data primer yang diperoleh pihak lain (telah diolah) dan disajikan baik oleh pengumpul maupun pihak lain (Mulyanto, 2008). Data sekunder ialah data yang diperoleh secara tidak langsung yaitu dari lembaga pemerintah, lembaga swasta, instansi terkait, pustaka dan laporan lainnya (Primyastanto, 2012).

Data sekunder pada penelitian ini yaitu mencari referensi meliputi metode ekstraksi, tahapan proses analisa THC (*Total Hemocyte Count*), aktifitas fagositosis dan *respiratory burst*. Serta berbagai sumber yang terkait seperti buku, jurnal, skripsi, tesis dan sebagainya yang mendukung dan memperkuat hasil penelitian yang telah diperoleh.

3.5 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan dalam peningkatan sistem imun pada udang yaitu dengan cara pemberian imonostimulan salah satu alternatif baru yaitu dengan penggunaan *Sargassum polycystum*. Beberapa tahapan dalam penggunaan *Sargassum polycystum* sebagai imonostimulan udang yaitu antara lain dilakukannya proses pembuatan serbuk simplisia dan ekstrak *Sargassum polycystum* sebelum dilakukannya pemberian pakan tambahan pada udang *vannamei*. Bagan alur tahapan penelitian dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.5.1 Pengambilan Sampel

Sampel uji yang diambil dalam praktek lapang ini yaitu alga coklat (*Sargassum polycystum*) yang diperoleh dari perairan Sumenep, Madura. Dan hewan uji berupa udang (*Litopennaeus vannamei*) diperoleh di Tambak air payau BPAP Pasuruan Jawa Timur.

3.5.2 Proses Pembuatan Serbuk Simplisia *Sargassum polycystum*

Menurut Subagiyo, 2009 proses pembuatan Serbuk simplisia *Sargassum polycystum* sebagai berikut :

- Mencuci *Sargassum polycystum* basah 20 kg menggunakan air bersih dan mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel pada *Sargassum polycystum*
- Mengeringkan *Sargassum polycystum* dengan cara diangin-anginkan dan tidak boleh langsung terkena sinar matahari dan diperoleh berat kering *Sargassum polycystum* sebanyak 1809 gram
- Memblender *Sargassum polycystum* sampai kering sampai menjadi serbuk kasar sebanyak 1594 gram
- Mengayak *Sargassum polycystum* menggunakan ayakan ukuran 80 mesh sehingga mendapatkan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* dengan ukuran yang seragam 1243 gram

3.5.3 Proses Ekstraksi *Sargassum polycystum*

Menurut Subagiyo (2009) proses pembuatan ekstraksi *Sargassum polycystum* yaitu dengan melarutkan 10 gram dalam 150 ml pelarut methanol, proses ekstraksi *Sargassum polycystum* sebagai berikut :

- Menimbang serbuk *Sargassum polycystum* sebanyak 335 gram dan di masukkan ke dalam erlenmeyer
- Merendam dalam 5025 ml methanol ditutup menggunakan plastik dan diikat menggunakan karet
- Menshaker dengan menggunakan *shaker waterbath* dengan kecepatan 160 rpm selama 24 jam
- Menyaring menggunakan kertas saring whatman

- Menguapkan dengan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50 °C dengan kecepatan 160 rpm
- Mendapatkan ekstrak kental *Sargassum polycystum* tanpa ada campuran pelarut



Gambar 8. Proses Ekstraksi *Sargassum polycystum* (Dokumentasi Pribadi)

3.6 Proses Penyediaan Larutan Inokulum WSSV (*White Spot Syndrom Virus*)

Menurut Hameed *et al.*, (1998) dalam Rahma *et al.*, (2014) proses penyediaan larutan inokulum WSSV (*White Spot Syndrom Virus*) dengan menggunakan insang karena insang merupakan organ utama dalam pernafasan udang vannamei, yang mana proses penyerapan tertinggi yaitu terdapat dalam insang udang dibandingkan dengan organ yang lainnya. Proses penyediaan inokulum WSSV adalah sebagai berikut

- Mengambil insang udang sebanyak 1 gram yang terinfeksi virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*)
- Menggerus menggunakan mortal dan alu sampai halus
- Melarutkan kedalam 9 ml air laut steril
- Mensentrifuse dengan kecepatan 8000 rpm selama 30 menit pada suhu 40°C
- Memasukkan udang yang telah disentrifuse kedalam valcon agar homogen
- Virus siap untuk diinfeksi pada udang lain

3.7 Teknik Persiapan Hewan Uji

Teknik persiapan hewan uji sebelum dilakukan perlakuan adalah sebagai berikut:

- Menyiapkan hewan uji berupa udang (*Litopennaeus vannamei*) dengan berat 15 gram sebanyak 60 ekor dan 4 akuarium dengan ukuran 80x80x30 yang dilengkapi dengan sistem aerasi, sirkulasi air dan heater
- Mengisi air pada masing masing akuarium dengan salinitas 2 ppm sebanyak 31 liter dan masing masing akuarium berisikan 15 ekor udang
- Mengadaptasikan udang didalam akuarium selama 3 hari
- Memberikan pakan udang komersial merk viterna 3 kali sehari pada jam 07.00, 12.00 dan 17.00 secara ad libitum (Rahma, 2014)
- Melakukan pengamatan parameter kualitas air meliputi suhu, pH, salinitas dan DO pada saat pagi dan sore hari serta memfilter air (Subaiyo, 2009)

3.8 Pengujian respon imun udang dengan *Sargassum polycystum*

Pengujian respon udang vannamei dengan cara perendaman. Dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan yaitu perendaman menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum*, Serbuk *Sargassum polycystum* dan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) sebagai kontrol positif sebagai berikut :

a. Pengujian respon imun menggunakan perendaman ekstrak *sargassum polycystum*

- Menyiapkan 3 akuarium dengan ukuran 80x80x30 dan dilengkapi aerasi lengkap dan heater,
- Mengisi akuarium 1 menggunakan air dengan salinitas 1-2 ppm (disamakan dengan salinitas yang ada ditambah) sebanyak 14 liter
- Melarutkan 7 gram ekstrak *Sargassum polycystum* menggunakan DMSO sebanyak 7 ml agar tidak menggumpal

- Memasukkan ekstrak yang telah cair ke dalam media percobaan hingga homogen
- Memasukkan udang sebanyak 15 ekor kedalam media
- Melakukan perendaman udang selama 3 jam menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum* 500 mg/l (Huynh *et al.*, 2011)
- Mengambil udang untuk melakukan pengamatan THC, aktifitas fagositosis dan *respiratory burst*
- Memasukkan udang pada akuarium 2 yang telah berisikan air dan Virus WSSV sebanyak 6 μ l/ 500 ml dan melakukan perendaman selama 4 jam (Arts, 2007)
- Mengambil udang untuk melakukan pengamatan THC, aktifitas fagositosis dan *respiratory burst*
- Memindahkan udang pada media steril tanpa perlakuan pada akuarium 3
- Mengambil udang untuk melakukan pengamatan THC, aktifitas fagositosis dan *respiratory burst* dan dilakukan pengamatan setelah 24 jam, 48 jam dan 72 jam

b. Pengujian respon imun menggunakan serbuk *sargassum polycystum*

- Menyiapkan 3 akuarium dengan ukuran 80x80x30 dan dilengkapi aerasi lengkap dan heater,
- Mengisi akuarium 1 menggunakan air dengan salinitas 1-2 ppm sebanyak 14 liter
- Melarutkan 7 gram serbuk *Sargassum polycystum* menggunakan air sebanyak 7 ml
- Memasukkan serbuk yang telah cair ke dalam media percobaan hingga homogen
- Memasukkan udang sebanyak 15 ekor kedalam media

- Melakukan perendaman udang selama 3 jam menggunakan serbuk *Sargassum polycystum*
- Mengambil udang untuk melakukan pengamatan THC, aktifitas fagositosis dan *respiratory burst*
- Memasukkan udang pada akuarium 2 yang telah berisikan air dan virus WSSV sebanyak 6µl/ 500 ml dan melakukan perendaman selama 4 jam (Arts, 2007)
- Mengambil udang untuk melakukan pengamatan THC, aktifitas fagositosis dan *respiratory burst*
- Memindahkan udang pada media steril tanpa perlakuan pada akuarium 3
- Mengambil udang untuk melakukan pengamatan THC, aktifitas fagositosis dan *respiratory burst* dan dilakukan pengamatan setelah 24 jam, 48 jam dan 72 jam

c. Pengujian respon imun menggunakan perendaman virus WSSV (Arts, 2007)

- Menyiapkan 2 akuarium dengan ukuran 80x80x30 dan dilengkapi aerasi lengkap dan heater
- Mengisi akuarium menggunakan air dengan salinitas 1-2 ppm sebanyak 42 liter
- Melarutkan virus WSSV (*White Spot Syndrom Virus*) sebanyak 506 µl hingga homogen
- Memasukkan udang sebanyak 15 ekor sebagai pengamatan kontrol positif udang terserang virus WSSV kedalam media selama 4 jam
- Memindahkan udang pada media steril tanpa perlakuan pada akuarium 2
- Melakukan pengamatan THC, aktifitas fagositosis dan *respiratory burst* setelah 24, 48 dan 72 jam

3.9 Teknik Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan sebanyak tiga kali pengamatan yaitu pengamatan *Total Hemocyte Count* (THC), aktifitas fagositosis, *respiratory burst* dan pengamatan kualitas air.

3.9.1. Pengamatan *Total Hemocyte Count* (THC)

Pengambilan sampel hemolimf dilakukan pada sampel udang dengan prosedur Campa *et al.*, (2002) adalah sebagai berikut:

- Mengambil hemolimf pada bagian pangkal pleopod menggunakan syringe 1 ml
- Memasahi jarum sringe dengan menggunakan anti koagulan Na- Citrat dan mengambil sebanyak 0,1 ml
- Mengambil hemolimf pada pangkal pleopod udang dan dimasukkan kedalam ependorf
- Mengambil tripan blue solution sebanding dengan hemolimfe yang didapatkan dengan menggunakan syringe baru
- Mencampurkan tripan blue dengan hemolimfe secara homogen digalam eppendorf
- Menghitung jumlah total hemosit menggunakan rumus Wotton *et al.*, (2003)

$$\text{THC} = \text{Total hemolymph yang dihitung} \times \text{Jumlah kotak yang dihitung} \times 10^4 \times \frac{3}{10}$$

3.9.2 Pengamatan Aktivitas Fagositosis

Pengamatan aktifitas fagositosis dapat dilakukan sebagai berikut:

- Mengambil hemolimf sebanyak 100 μl dan dimasukkan kedalam eppendorf
- Menambahkan 25 μl bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kepadatan 10^6 sel/ml
- Mencampurkan merata menggunakan dalam medium RPMI

- Menginkubasi selama 20 menit dalam suhu kamar
- Menshaker dengan kecepatan 1500 rpm dan supernatan dibuang
- Menambahkan PBS 100 µl pada pellet (endapan)
- Mengambil hemolimf dan membuat preparat ulas pada objek glass lalau dikeringkan
- Memfiksasi preparat menggunakan larutan methanol 100 % selama 5 menit
- Mewarnai preparat menggunakan gymsa selama 45 menit dan dikeringkan secara merata
- Mengamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000X
- Menghitung aktifitas fagositosis menggunakan rumus Anderson, 2004

$$\text{Aktivitas Fagositosis (\%)} = \frac{\text{Jml sel fagosit aktif}}{\text{Jml sel fagosit diamati}} \times 100\%$$

3.9.3 Uji Aktivitas *Respiratory Burst* (Kandungan Anion Superoksida)

Uji kandungan anion superoksida dilakukan untuk melihat aktivitas *respiratory burst* menggunakan metode Citarasu *et al.*, (2006) :

- Mengambil hemolimf 100 µl dan disentrifuse 10000 rpm selama 10 menit
- Membuang supernatan dan menambahkan HBSS sebanyak 100 µl hingga homogen
- Mengambil 50 µl dan memasukkan kedalam mikroplate
- Menginkubasi dengan suhu 37 °C selama 1 jam
- Membuang HBSS
- Menambahkan 50µl 0,3 % NBT
- Menginkubasi dengan suhu 37°C selama 1 jam
- Membuang NBT
- Menambahkan 100µl methanol absolut dan menginkubasi selama 15 menit
- Membuang methanol absolut

- Menambahkan methanol 70% sebanyak 100 μ l sebanyak 3 kali
- Membuang methanol 70%
- Mengeringanginkan selama \pm ½ jam
- Menambahkan 50 μ l 2M KOH dan 70 μ l DMSO
- Mengamati meggunakan lisa reader dengan panjang gelombang 620 nm

3.10 Pengukuran Kualitas Air

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

1. Suhu

Menurut Fatris *et al.*, (2004) pengukuran suhu adalah sebagai berikut:

- Memasukkan termometer Hg kedalam perairan dengan cara membelakangi cahaya matahari
- Melihat hasil pada saat masih didalam perairan dan jangan sampai terkontaminasi oleh lingkungan luar termasuk sentuhan tangan

2. pH (Derajat Keasaman)

Menurut SNI (1990), 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. 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

4. 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.

3.11 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu dengan pemberian tiga perlakuan dan tiga kali ulangan. Perlakuan pertama yaitu dengan perendaman menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum* dan perlakuan yang kedua dengan perendaman menggunakan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* dan

perlakuan ketiga yaitu kontrol positif udang terinfeksi WSSV (*White Spot Syndrom Virus*) dan ulangan pengambilan data disajikan seperti Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Perlakuan dan Ulangan Pengambilan Data

PENGULANGAN	I	II	III
Kontrol Positif	THC ₁	THC ₂	THC ₃
	AF ₁	AF ₂	AF ₃
	RB ₁	RB ₂	RB ₃
A Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i>	THC _{a1}	THC _{a2}	THC _{a3}
	AF _{a1}	AF _{a2}	AF _{a3}
	RB _{a1}	RB _{a2}	RB _{a3}
B Serbuk <i>Sargassum polycytm</i>	THC _{b1}	THC _{b2}	THC _{b3}
	AF _{b1}	AF _{b2}	AF _{b3}
	RB _{b1}	RB _{b2}	RB _{b3}

Keterangan:

A :Perlakuan dengan pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* 500mg/l.

B :Perlakuan dengan pemberian Serbuk simplisia *Sargassum polycystum*500 mg/l.

K :Perlakuan kontrol dengan pemberian pakan udang komersial.

I,II,III :Ulangan

Parameter yang diuji secara statistik adalah *Total Hemocyte Count*(THC), aktivitas fagositosis dan *respiratory burst* dari perbedaan pemberian *Sargassum polycystum* kedalam media hidup udang vannamei. Semua analisa data penelitian dilakukan dengan menggunakan cara statistik dengan analisa keragaman (ANOVA) dengan selang kepercayaan 95%. Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*) (F hitung > F tabel), maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata terkecil (BNT) dan polynomial orthogonal untuk mengetahui uji responnya.

- Jika $F_{hit} > F_{tabel 1\%}$ maka perlakuan berbeda sangat nyata
- Jika $F_{hit} > F_{tabel 5\%}$ maka perlakuan berbeda nyata
- Jika $F_{hit} < F_{tabel 5\%}$ maka tidak berbeda nyata

Jika dalam sidik ragam diperoleh hasil berbeda nyata atau berbeda sangat nyata, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dari masing-masing perlakuan.

$$SED = \sqrt{\frac{2KTG}{r}}$$

BNT 5 % = t tabel 5% DBG x SED

BNT 1% = t tabel 1 % DBG x SED

Kesimpulan

- Jika selisih \leq BNT 5% maka non signifikan atau tidak berbeda nyata
- Jika BNT 5% < selisih < BNT 1% maka berbeda nyata
- Jika selisih \geq BNT 1% maka berbeda sangat nyata.



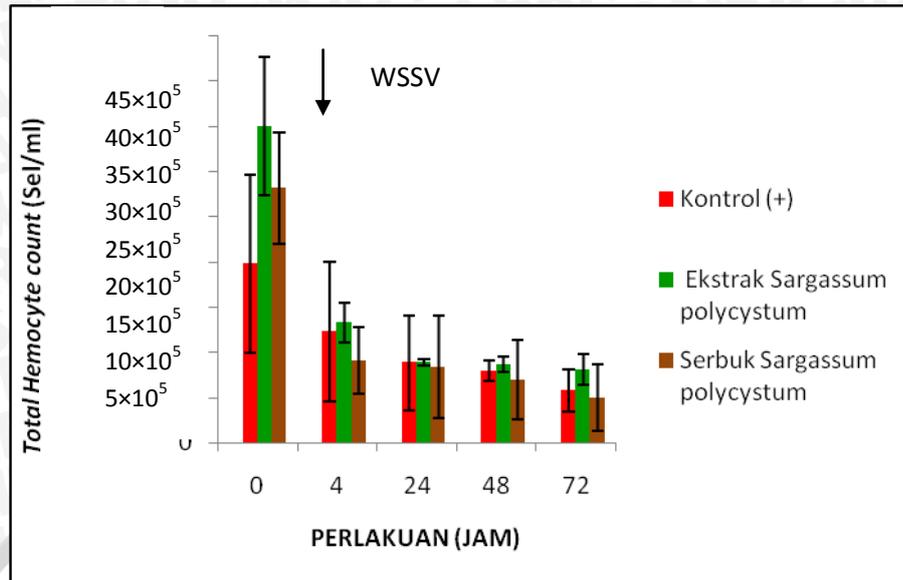
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi *Sargassum polycystum*

Rendemen ekstraksi *Sargassum polycystum* dengan menggunakan pelarut methanol yaitu sebesar 2,388 %, dengan berat awal sebelum diekstraksi sebanyak 335 gram dan bobot ekstrak yang dihasilkan sebanyak 8 gram. Rendemen ekstraksi diperoleh dari jumlah bobot ekstrak yang dihasilkan dibagi dengan bobot sampel awal sebelum diekstraksi. Prinsip dari ekstraksi ini yaitu pelarut yang digunakan harus sesuai dengan sifat kepolaran bahan yang akan diekstraksi. Menurut Wijayanto (2010), melaporkan bahwa penggunaan pelarut methanol lebih efektif dalam ekstraksi alga merah *Kappaphycus alvarezii* dan *Eucheuma denticullatum* dibandingkan dengan ethanol yang memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah. Hal ini dapat mempertegas adanya sifat kelarutan senyawa senyawa aktif pada rumput laut yang relatif larut pada pelarut yang bersifat polar.

4.2 Total Hemocyte Count (THC)

Berdasarkan hasil pengamatan perhitungan *Total Hemocyte Count* (THC) dapat dilakukan perhitungan menggunakan kamar hitung haemocytometer pada Lampiran 3. Hasil perhitungan Jumlah *Total Hemocyte Count* (THC) udang *Litopennaeus vannamei* dapat dilihat pada Lampiran 4. Dari data jumlah *Total Hemocyte Count* (THC) udang (*Litopennaeus vannamei*) pada masing masing perlakuan seperti pada Gambar 9 berikut ini.



Gambar 9. Grafik Hasil Rata Rata Perhitungan THC (*Total Haemocyte Count*) *Litopennaeus Vannamei* pada Masing Masing Perlakuan.

Berdasarkan hasil pengamatan dilaboratorium mengenai jumlah total hemosit dari udang vannamei didapatkan bahwa jumlah total hemosit udang (*Litopennaeus vannamei*) setelah dilakukan perendaman menggunakan *Sargassum polycystum* lebih tinggi sebesar 35×10^5 sel/ml dibandingkan dengan kontrol positif yaitu sebesar $19,75 \times 10^5$ sel/ml. Perlakuan perendaman menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum* setelah diinfeksi virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*), rerata total hemosit setelah dilakukan perendaman selama 4 jam, 24 jam, 48 jam dan 72 jam menunjukkan penurunan dari 35×10^5 sel/ml hingga 81×10^4 sel/ml. Hal ini sesuai dengan penelitian Chin *et al.*, 2011 bahwa udang dengan perlakuan perendaman ekstrak *Gracilaria tenuistipitata* dengan dosis 600 mg/l yang diinjeksi dengan menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) setelah 6, 12, 24, 48, 72 dan 120 jam mengalami penurunan dari 155×10^5 sel/ml hingga 50×10^5 sel/ml. Perlakuan perendaman ekstrak *Sargassum polycystum* sebesar 35×10^5 sel/ml dan serbuk *Sargassum polycystum* 281×10^4 sel/ml. Pada perlakuan perendaman menggunakan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* menunjukkan nilai yang lebih rendah pada

perlakuan 4, 24, 48 dan 72 jam apabila dibandingkan kontrol positif udang terserang WSSV pada perlakuan jam yang sama. Penurunan jumlah total hemosit pada perlakuan perendaman serbuk *Sargassum polycystum* dikarenakan udang dalam kondisi tidak siap kemudian serbuk *Sargassum polycystum* tidak dapat langsung diserap oleh tubuh udang sehingga ternyata dengan pemberian serbuk simplisia *Sargassum polycystum* dalam kondisi udang terinfeksi virus WSSV hanya membuat efek berbahaya bagi udang (*Litopennaeus vannamei*). Penurunan jumlah total hemosit pada perlakuan perendaman serbuk simplisia *Sargassum polycystum* diikuti dengan kenaikan jumlah aktifitas fagositosis dan *respiratory burst*, diduga bahwa pemberian serbuk simplisia *Sargassum polycystum* berpengaruh terhadap penurunan jumlah total hemosit udang (*Litopennaeus vannamei*). Menurut Chin *et al.*, (2011) pemberian perendaman menggunakan ekstrak *Gracilaria tunistipitata* pada udang *Litopennaeus vannamei* dengan pemberian dosis sebesar 400 dan 600 mg/l dapat meningkatkan jumlah total hemosit, dan setelah dilakukan injeksi dengan menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) jumlah total hemosit udang *vannamei* mengalami kenaikan apabila dibandingkan dengan udang yang diinjeksi dengan virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*). Rerata total hemosit udang *Litopennaeus vannamei* setelah dilakukan perendaman ekstrak *Sargassum polycystum* sebesar 35×10^5 sel/ml sedangkan rerata total hemosit setelah dilakukan perendaman menggunakan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* sebesar 281×10^4 sel/ml lebih rendah apabila dibandingkan dengan menggunakan perendaman ekstrak *Sargassum polycystum*. Penelitian yang lain juga memberikan hasil yang sama yaitu pemberian fukoidan dengan perendaman menggunakan *hot water* ekstrak *Sargassum hemiphyllum* var. dengan dosis 300 mg/l dan 500 mg/l mampu meningkatkan jumlah total hemosit setelah 3 jam (Huynh, *et al.*, 2011). Meningkatnya total hemosit menunjukkan

adanya peningkatan respon imun pada udang akibat pemberian *Sargassum polycystum*. Injeksi bahan asing seperti alginat, karaginan, atau ekstrak air panas polisakarida rumput laut secara signifikan meningkatkan total hemosit udang *Litopennaeus vannamei* (Fu *et al.*, 2007).

Penurunan total hemosit pada udang vannamei yang dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*), terjadi karena masuknya patogen WSSV (*White Spot Syndrome Virus*), akan menyebabkan proses lisis sel hemosit. Terjadinya lisis pada sel hemosit akan mengurangi jumlah hemosit yang beredar karena sudah tidak mampu melawan patogen yang masuk, sehingga total hemosit menjadi turun. Hemosit memegang peran penting pada sistem pertahanan tubuh udang terhadap patogen. Jumlah hemosit dapat bervariasi tergantung pada spesies, respon terhadap infeksi, stress lingkungan, aktivitas endokrin selama siklus molting (Johansson *et al.*, 2000). Selain itu juga dipengaruhi oleh jenis kelamin, fase perkembangan, status reproduksi dan nutrisi (Song *et al.*, 2003). Meskipun setelah dilakukan perendaman ekstrak *Sargassum polycystum* dan serbuk *Sargassum polycyctum* kemudian dilakukan perendaman dengan menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) mengalami penurunan tetapi masih dapat memperpanjang usia hidup udang vannamei meskipun terjadinya penurunan jumlah total hemosit udang (*Litopennaeus vannamei*). Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap jumlah total hemosit dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pada Lampiran 5, analisa sidik ragam jumlah total hemosit udang (*Litopennaeus vannamei*) disajikan pada Tabel 5 berikut ini.

Tabel 5. Analisa Sidik Ragam Jumlah Total Hemosit *Litopennaeus vannamei*

SUMBER KERAGAMAN	DB	JK	KT	F. HIT	F.TABEL 5%	F.TABEL 1%
PERLAKUAN	4	9.12×10^{12}	2.28×10^{12}	20.38**	4.46	8.65
KELOMPOK	2	4.36×10^{11}	2.18×10^{11}	1.95	3.84	7.01
GALAT	8	8.95×10^{11}	1.11×10^{11}			
TOTAL	14	1.04×10^{13}				

Perhitungan analisa sidik ragam Tabel 5 menunjukkan nilai F hitung pada perlakuan sebesar 20,38 lebih besar dari F tabel 5 % dan F tabel 1 %. Hal ini berarti, dengan adanya perbedaan perlakuan pengamatan pada jam yang berbeda (0, 4, 24, 48 dan 72 jam) memberikan pengaruh sangat berbeda nyata terhadap jumlah total hemosit udang (*Litopennaeus vannamei*). Sedangkan nilai F hitung kelompok sebesar 1,95 kurang dari F tabel 5% dan F tabel 1 %. Hal ini berarti dengan adanya perbedaan Pemberian ekstrak *Sargassum polycystum*, serbuk simplisia *Sargassum polycystum* dan kontrol positif tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah total hemosit udang (*Litopennaeus vannamei*). Sehingga perhitungan dilanjutkan dengan uji Tukey atau BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing masing perlakuan terhadap jumlah total hemosit udang *vannamei*. Hasil uji BNT dilanjutkan pada Tabel 6 berikut ini.

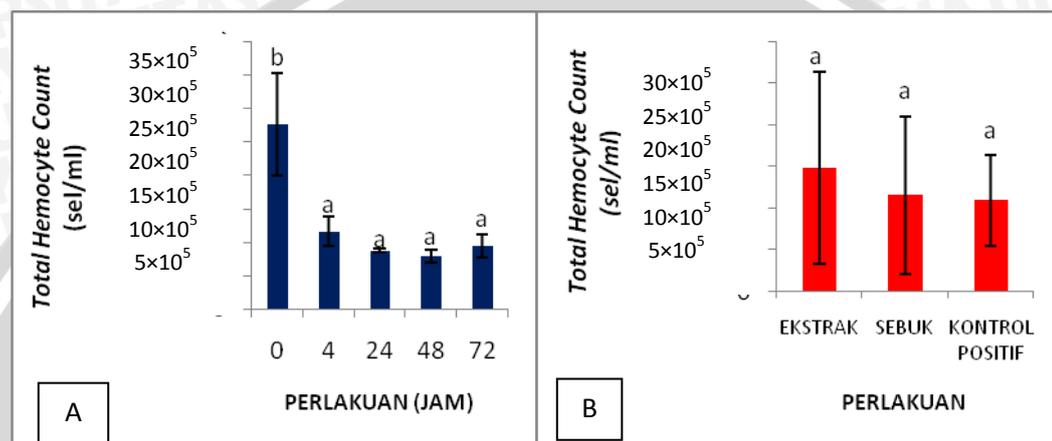
Tabel 6. Uji BNT Jumlah Total Hemosit udang (*Litopennaeus vannamei*)

RATA RATA PERLAKUAN		48	24	72	4	0	NO TA SI
		786666	87×10^4	94×10^4	$115,5 \times 10^4$	27616666	
48	786666	0 ^{ns}					a
24	87×10^4	83334 ^{ns}	0 ^{ns}				a
72	94×10^4	153334 ^{ns}	70000 ^{ns}	0 ^{ns}			a
4	$115,5 \times 10^4$	368334 ^{ns}	285000 ^{ns}	215000 ^{ns}	0 ^{ns}		a
0	27616666	26830000**	26746666**	26676666**	26461666**	0 ^{ns}	b

Keterangan : ns= Non signifikan * = signifikan **= sangat signifikan

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan pada jam ke 4, 24, 48 dan 72 tidak berbeda nyata setelah perendaman virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) tetapi berbeda sangat nyata dengan perlakuan pada jam ke 0 tanpa

perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom Virus*). Hal ini dapat dilihat bahwa jumlah total hemosit udang pada jam ke 0 tanpa diberikan perlakuan memiliki nilai lebih tinggi dibandingkan dengan udang setelah dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) yaitu pada jam 4, 24, 48 dan 72. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 10 berikut ini.



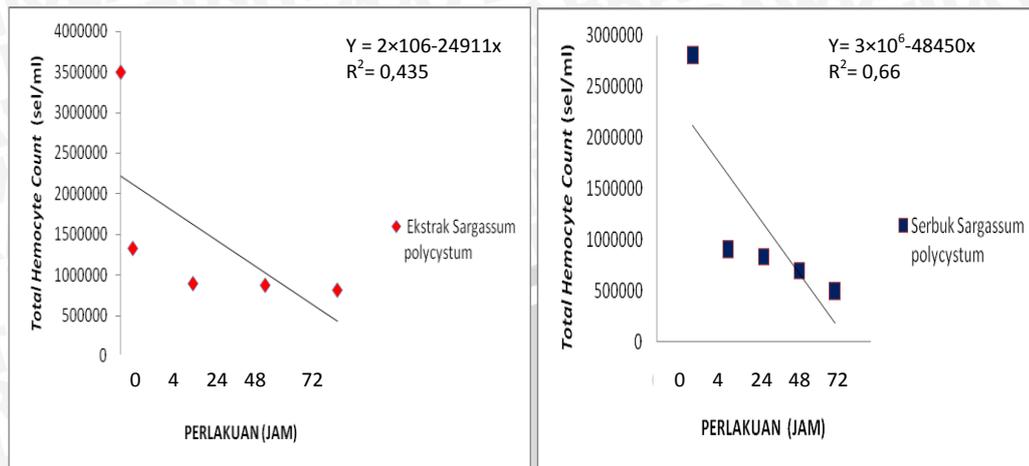
Gambar 10. Pengaruh (A) Terhadap Waktu, (B) Ekstrak *Sargassum polycystum*, Serbuk *Sargassum polycystum* dan kontrol positif Perlakuan Terhadap Jumlah Total Hemosit udang *Litopennaeus vannamei*

Berdasarkan perlakuan dengan lama waktu yang berbeda memberikan pengaruh terhadap Jumlah Total Hemosit udang vannamei pada perlakuan pengamatan jam ke 4, 24 jam, 48 jam dan 72 jam berbeda nyata dengan pengamatan perlakuan pada jam ke 0. Sedangkan Pada perlakuan 10(B) pemberian ekstrak, serbuk *Sargassum polycystum* dan kontrol positif memberikan pengaruh tidak berbeda nyata. Hal ini sama dengan Erika (2009), yang menyatakan pemberian ekstrak *C. Ceratosporum* dengan dosis 15 µg/g dengan jumlah total hemosit udang (*Litopennaeus vannamei*) lebih tinggi sebesar $6,08 \pm 0,02 \times 10^5$ sel/ml dibandingkan dengan udang yang terinfeksi virus WSSV (*White Spot Syndrom Virus*) yaitu sebesar $5,47 \pm 0,06 \times 10^5$ sel/ml. Menurut (Person *et al.*, 1997; Le Moullac dan Haffner, 2000), Jumlah hemosit yang

rendah sangat bekolerasi dengan sensitifitas terhadap patogen yang lebih tinggi dan oleh karena itu, total hemosit yang rendah mengindikasikan kerentanan terhadap penyakit infeksi yang tinggi. Terkait dengan pengaruh stress lingkungan, penurunan jumlah THC tersebut kemungkinan menunjukkan terjadinya lisis pada hemosit ataupun terjadi gangguan dengan organ haematopoitik yang terletak di permukaan perut bagian dorsal yang telah banyak diidentifikasi pada spesies krustasea (Johansson *et al.*, 2000). Jumlah hemosit udang dapat menurun apabila kondisi lingkungan memburuk, misalnya rendahnya kandungan oksigen terlarut, suhu dan salinitas, atau terdapatnya serangan patogen (Supamattaya *et al.*, 2000).

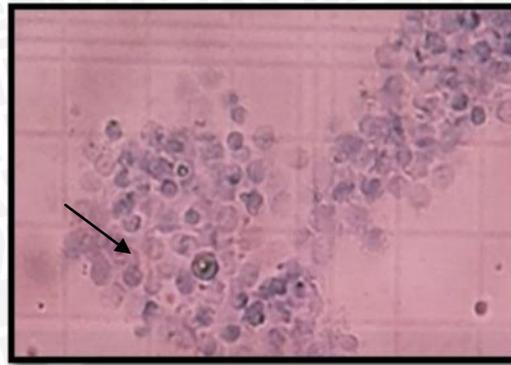
Saat terjadinya serangan patogen, sel hemosit akan melakukan proses degranulasi, *cytotoxicity* dan lisis terhadap material tersebut. Dengan demikian jumlah sel hemosit yang beredar dalam hemolim akan terlihat menurun. Hasil proses degranulasi adalah pelepasan *peroxinectin* yang akan memicu munculnya fagositosis (Effendy *et al.*, 2004). Lectin atau agglutinin adalah protein pada hemolim yang memiliki peranan penting saat terdapatnya antigen yang masuk ke dalam tubuh. Komponen ini akan berikatan dengan karbohidrat yang terdapat pada dinding sel patogen atau benda asing yang disebut sebagai *aglutinasi*. Reaksi akan diikuti dengan eliminasi benda asing tersebut melalui proses fagositosis, melanisasi oleh enzim phenoloksidase dan lonjakan respirasi (*Respiratory Burst*) (Supamattaya *et al.*, 2000).

Hasil perhitungan BNT ternyata menunjukkan hasil yang berbeda nyata sehingga selanjutnya dilakukan uji polynomial orthogonal Lampiran 4, untuk mengetahui uji respon perbedaan perlakuan terhadap jumlah total hemosit udang (*Litopennaeus vannamei*) yang dapat ditunjukkan pada grafik pada Gambar 9 berikut ini.



Gambar 11. Uji Respon Perbedaan Perlakuan Terhadap Jumlah Total Hemosit Udang (*Litopennaeus vannamei*)

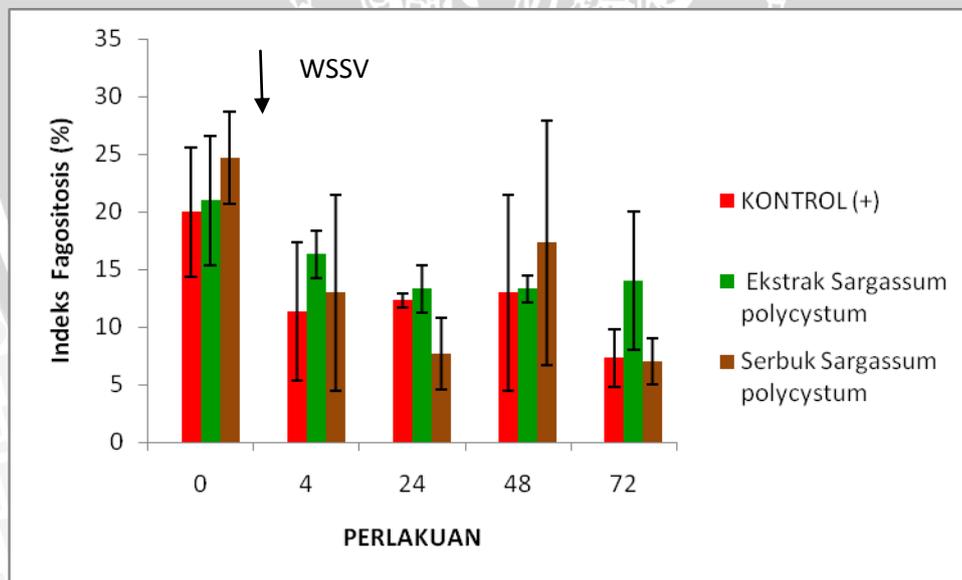
Gambar 11 menunjukkan bahwa Perlakuan tertinggi yaitu pada perlakuan 1 pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* yaitu sebesar 35×10^5 sel/ml. Dan perlakuan terendah yaitu pada perlakuan setelah dilakukannya perendaman selama 72 jam yaitu sebesar 495×10^3 sel/ml. Peningkatan jumlah total hemosit dikarenakan terdapatnya senyawa polisakarida yang terdapat dalam ekstrak *Sargassum polycystum* sehingga dapat meningkatkan ketahanan udang terhadap infeksi patogen. Menurut (Chotigeat *et al.*, 2004) fucoidan yang diekstrak dari *Sargassum polycystum* dapat menurunkan infeksi WSSV (*White Spot Syndrome Virus*), terhadap udang windu. Grafik 10 menunjukkan bahwa antara perlakuan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* dengan jumlah total hemosit memiliki hubungan yang sangat kuat. Ditunjukkan dengan hasil R^2 pada perlakuan serbuk yaitu sebesar 0,66 dengan hasil $r = 0,81$ dihubungkan dengan garis linier. Sedangkan untuk perlakuan ekstrak *Sargassum polycystum* memiliki hubungan yang kuat memiliki nilai R^2 sebesar 0,43 dengan hasil $r = 0,65$ yaitu 65 % dihubungkan dengan garis linier. Perhitungan jumlah hemosit pada udang (*Litopennaeus vannamei*) yang dilakukan dalam kamar hitung haemocytometer Gambar 12.



Gambar 12. Perhitungan Jumlah Total Hemosit *Litopennaeus Vannamei* dengan Haemocytometer

4.3 Aktifitas Fagositosis

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan maka diperoleh aktifitas fagositosis udang (*Litopennaeus vannamei*) dapat dilihat pada Lampiran 6. Dari Data tersebut didapatkan hasil rata rata indeks Aktifitas Fagositosis dari udang (*Litopennaeus vannamei*) dari masing masing perlakuan dan apabila ditabulasi mendapatkan hasil sebagai berikut Gambar 13.



Gambar 13. Grafik Hasil perhitungan Aktifitas Fagositosis *Litopennaeus vannamei* pada masing masing perlakuan.

Berdasarkan Gambar 13 menunjukkan bahwa prosentase aktifitas fagositosis tertinggi pada udang vannamei pada perlakuan setelah dilakukan perendaman serbuk *Sargassum polycytum* dan perendaman dengan menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum*, yaitu berturut turut sebesar 24,7% dan 20%. Meningkatnya aktivitas fagositosis menunjukkan adanya peningkatan kekebalan tubuh, sebagaimana diungkapkan, yang menyatakan peningkatan kekebalan tubuh dapat diketahui dari peningkatan aktivitas sel fagosit dari sel darah. Sel fagosit ini berfungsi untuk melakukan fagositosis. Penelitian yang terkait aktivitas fagositosis oleh Yeh dan Chen (2006), menunjukkan pemberian HWE *S. duplicatum* baik dengan cara perendaman atau injeksi dapat meningkatkan aktivitas fagositosis udang *L. Vannamei*. Penelitian yang lain mengenai aktifitas fagositosis Hou dan Chen (2005), menunjukkan aktivitas fagositosis secara nyata lebih tinggi pada udang yang diberi ekstrak *G. Tenuistipita* $6 \mu\text{g g}^{-1}$ daripada udang yang diberi larutan saline dan kontrol, setelah 1 hari.

Nilai aktifitas fagositosis pada perlakuan perendaman menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum* mencapai nilai yang lebih tinggi apabila dibandingkan dengan menggunakan kontrol yaitu sebesar 13,7 %. Setelah dilakukannya perlakuan perendaman menggunakan virus WSSV jumlah aktifitas fagositosis mengalami penurunan yaitu dengan nilai sebesar 16,3 %, kemudian pada perlakuan ke 3 dengan waktu lama perendaman setelah 24 jam juga mengalami penurunan sebesar 13,3 %, pada perlakuan ini sebanding dengan perlakuan ke 4 yaitu mencapai nilai yang sama dengan sebelumnya 13,3 %. Kemudian pada perlakuan terakhir mengalami kenaikan dengan nilai sebesar 14 %. Peningkatan jumlah aktifitas fagositosis dikarenakan terdapatnya sel healin yang bertugas sebagai proses penghancuran material asing yang masuk

kedalam tubuh udang vanamei, sehingga pada saat itu proses pematangan sel menjadi terhambat.

Nilai aktifitas fagositosis pada perlakuan perendaman serbuk *Sargassum polycystum* lebih tinggi apabila dibandingkan dengan kontrol negatif yaitu sebesar 21 %. Kemudian setelah dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV mengalami penurunan tingkat aktifitas fagositosis yaitu sebesar 13% dan selanjutnya mengalami penurunan kembali sebesar 7,7 %. Kemudian setelah itu terjadi kenaikan pada perlakuan setelah direndam menggunakan virus selama 48 jam yaitu sebesar 17,3 %. Pada pengamatan hari terakhir terjadi penurunan aktifitas fagositosis yaitu sebesar 7,0 %, penurunan aktifitas fagositosis dapat terjadi karena terjadinya lisis pada sel healin yang diakibatkan oleh virus tersebut sehingga kemampuan sel healin sudah tidak dapat mengeliminasi partikel tersebut (Virus WSSV) dan kemampuan respon imun udang tidak optimal sehingga virus WSSV mudah menginfeksi yang dapat menyebabkan rendahnya sel healin yang memicu rendahnya aktifitas fagositosis. Hal ini juga dilihat dari sifat sel healin itu sendiri menurut (Gargioni dan Barracco, 1998 dalam Erika, 2009) sel healin dicirikan dengan tidak memiliki sitoplasma yang merupakan agranular atau memiliki sedikit granular, berukuran lebih kecil diantara sel hemosit, memiliki diameter 7-12 μm , agak labil dan cepat lisis.

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap Aktifitas Fagositosis dapat dihitung menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pada Lampiran 7, kemudian dihitung menggunakan analisa sidik ragam disajikan pada Tabel 7 berikut ini :

Tabel 7. Analisa Sidik Ragam Aktifitas Fagositosis *Litopennaeus vannamei*

SUMBER KERAGAMAN	DB	JK	KT	F. HIT	F.TABEL 5%	F.TABEL 1%
PERLAKUAN	4	260.32	65.08	7.31	4.46	8.65
KELOMPOK	2	16.77	8.38	0.94	3.84	7.01
GALAT	8	71.26	8.91			
TOTAL	14	348.35				

Perhitungan analisa sidik ragam Tabel 7 menunjukkan nilai perlakuan sebesar 7,31 yaitu F hitung lebih besar dari F tabel 5% tetapi kurang dari F tabel 1%. Sedangkan pada pemberian kelompok menunjukkan nilai sebesar 0,94 yaitu F hitung kurang dari F tabel 5 % dan 1%. Hal ini berarti pemberian perlakuan pada waktu pengamatan yang berbeda (0, 4, 24, 4 dan 72 jam) memberikan pengaruh nyata terhadap indeks aktifitas fagositosis. Sehingga perhitungan dilanjutkan dengan uji Tukey atau BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing masing perlakuan terhadap aktifitas fagositosis udang vannamei. Hasil uji BNT disajikan pada Tabel 8 berikut ini.

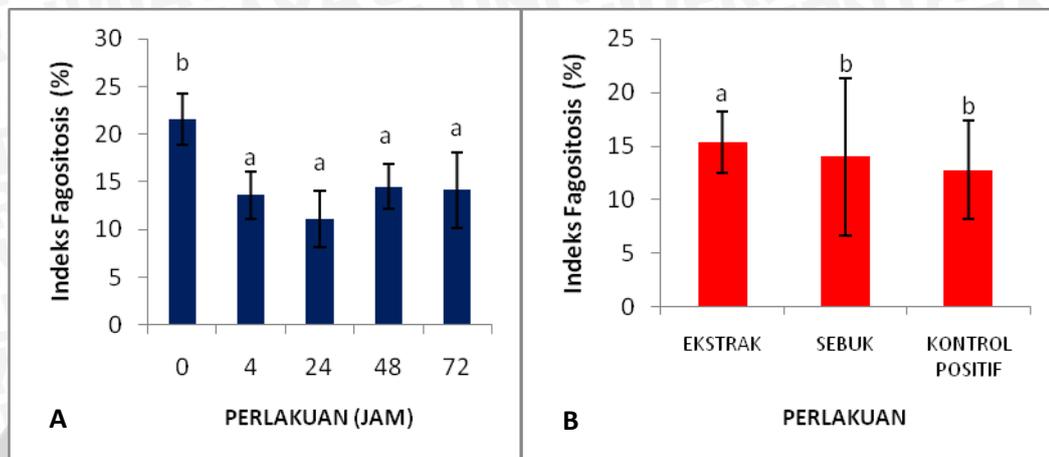
Tabel 8. Uji BNT Aktifitas Fagositosis Udang (*Litopennaeus vannamei*)

RATA RATA PERLAKUAN		24	4	72	48	0	NOTASI
		11.11	13.637	14.165	14.533	21.56	
24	11.11	0 ^{ns}					a
4	13.637	2.527 ^{ns}	0 ^{ns}				a
72	14.165	3.055 ^{ns}	0.528 ^{ns}	0 ^{ns}			a
48	14.533	3.423 ^{ns}	0.896 ^{ns}	0.368 ^{ns}	0 ^{ns}		a
0	21.56	10.45 ^{**}	7.923 [*]	7.395 [*]	7.027 [*]	0 ^{ns}	b

Keterangan : ns= Non signifikan * = signifikan **= sangat signifikan

Hasil Tabel 9 berikut dapat dilihat bahwa pada perlakuan 4 jam, 24 jam, 48 jam dan 72 jam setelah dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrome virus*) tidak berbeda nyata tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 0 tanpa diberikan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrome virus*). Hal ini didapatkan kesimpulan bahwa pada dengan diberikannya perendaman *Sargassum polycystum* memberikan pengaruh terhadap aktifitas fagositosis dengan hasil yang berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan

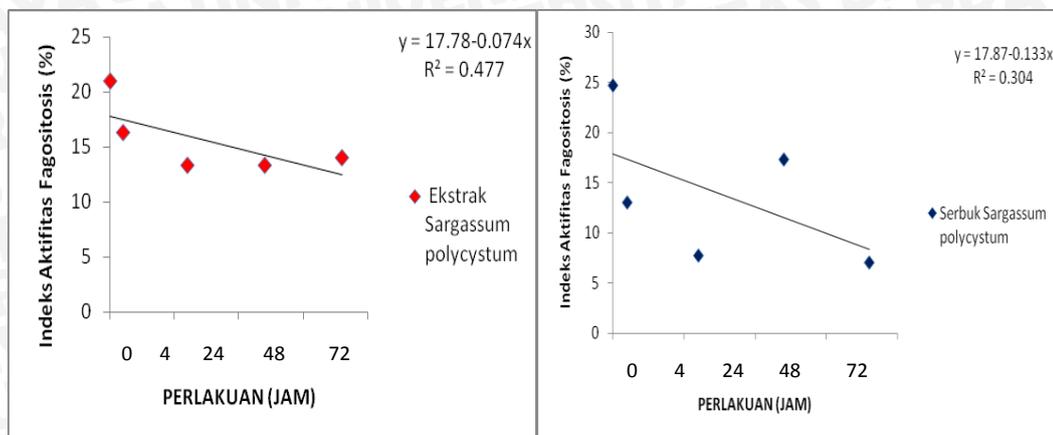
dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom Virus*). Untuk lebih jelasnya pengaruh perlakuan terhadap aktifitas fagositosis dapat dilihat pada Gambar 14 berikut ini.



Gambar 14. Pengaruh (A) Terhadap Waktu, (B) Ekstrak *Sargassum polycystum*, Serbuk *Sargassum polycystum* dan kontrol positif Perlakuan Terhadap Aktifitas Fagositosis udang (*Litopennaeus vannamei*)

Gambar 14(A) pengaruh perlakuan terhadap terhadap aktifitas fagositosis pada perlakuan jam ke 4, 24 dan 72 tidak berbeda nyata tetapi berbeda nyata dengan perlakuan jam ke 0 dan jam ke 48. Sedangkan Gambar 14(B) perlakuan pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* dan serbuk *Sargassum polycystum*, tidak berbeda nyata tetapi berbeda nyata dengan perlakuan kontrol positif udang dengan perlakuan perendaman WSSV (*White Spot Syndrom Virus*) tanpa perlakuan perendaman *Sargassum polycystum*. Hal ini dinyatakan oleh Huynh *et al.*, (2011) Terjadi penurunan aktifitas fagositosis pada pemberian ekstrak *Sargassum hemiphilum* var pada dosis 500 mg/l. Pada *L. Vannamei* yang diinfeksi *V. Alginotycus* dan WSSV. Hal ini juga dijelaskan bahwa Jumlah sel fagositik bervariasi antara 2 – 18% dari jumlah total sel darah (Le Moullacet *al.*, 1997). Dari hasil BNT ternyata menunjukkan hasil yang berbeda nyata sehingga selanjutnya dilakukan uji polynomial orthogonal Lampiran 8. Untuk mengetahui uji respon perbedaan perlakuan terhadap Aktifitas Fagositosis udang

(*Litopennameus vannamei*) yang dapat ditunjukkan pada grafik pada Gambar 15 berikut ini.



Gambar 15. Uji Respon Perbedaan Perlakuan Terhadap presentase Fagositosis udang (*Litopennaeus vannamei*)

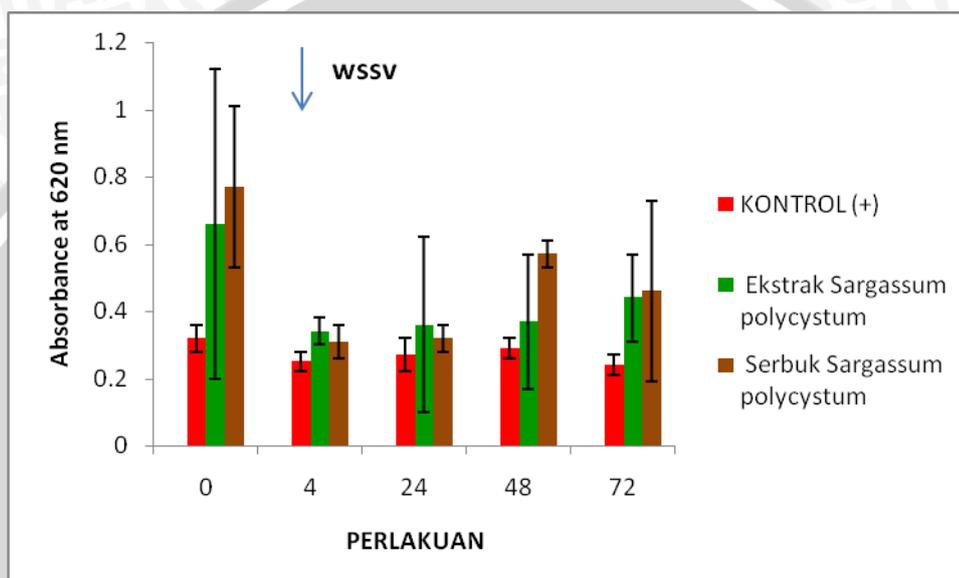
Grafik pada Gambar 15 menunjukkan bahwa antara perlakuan pemberian serbuk *Sargassum polycystum* yang berbeda dengan Aktifitas fagositosis memiliki hubungan yang kuat. Ditunjukkan dengan hasil R^2 sebesar 0,304 dengan hasil nilai $r = 0,55$ yaitu memiliki hubungan korelasi yang kuat dengan dihungkan menggunakan garis linier. Sedangkan pada perlakuan pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* memiliki hubungan yang kuat dengan hasil aktifitas fagositosis mendapatkan nilai R^2 sebesar 0,47 dan hasil nilai r sebesar 0,68 dan ditunjukkan dengan garis linier. Perhitungan Aktifitas Fagositosis udang (*Litopennaeus vannamei*) dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Aktifitas Fagositosis Udang (*Litopennaeus vannamei*) dengan Perbesaran 1000 X (Dokumentasi Pribadi)

4.4 Aktifitas *Respiratory Burst*

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan maka diperoleh aktifitas *Respiratory Burst* (letupan pernafasan) udang (*Litopennaeus vannamei*) dapat dilihat pada Lampiran 8. Dari data tersebut hasil nilai *Respiratory Burst* pada masing masing perlakuan apabila ditabulasi maka akan mendapatkan hasil sebagai berikut Gambar 17.



Gambar 17. Grafik Hasil perhitungan *Respiratory Burst* Udang (*Litopennaeus vannamei*) pada masing masing perlakuan.

Nilai Aktifitas *respiratory burst* yang didapatkan dari perendaman menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum* dan perendaman dengan menggunakan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* berkisar antara 0,3 – 0,7. Nilai *respiratory burst* dengan perlakuan perendaman ekstrak *Sargassum polycystum* apabila dibandingkan dengan kontrol positif dengan nilai 0,74 mengalami penurunan sebesar 0,08. Nilai tertinggi didapat pada saat perlakuan pertama yaitu pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* sebesar 0,66. Sedangkan nilai terendah yaitu didapat pada perlakuan ke dua setelah pemberian virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) sebesar 0,34, namun tidak jauh berbeda apabila dibandingkan dengan perlakuan ke tiga dan keempat yaitu

sebesar 0,34 dan 0,37 tetapi setelah pemberian virus selama 72 jam *Respiratory Burst* mengalami peningkatan yaitu sebesar 0,44.

Nilai *respiratory burst* dengan perendaman serbuk simplisia *Sargassum polycystum*, apabila dibandingkan pada perlakuan kontrol negatif dengan nilai 0,74 setelah dilakukan perendaman menggunakan serbuk simplisia mengalami kenaikan sebesar 0,3 yaitu sebesar 0,77. Nilai tertinggi didapat pada perlakuan pertama yaitu setelah dilakukan perendaman serbuk simplisia *Sargassum polycystum*. Dan nilai terendah yaitu didapatkan pada perlakuan ke 3 setelah dilakukan perendaman virus WSSV (*White Spot Syndrom Virus*) selama 4 jam, namun tidak jauh berbeda apabila dibandingkan dengan perlakuan ke tiga yaitu dengan nilai sebesar 0,32. Pada perlakuan ke empat dengan perendaman virus selama 48 jam mengalami kenaikan dengan nilai sebesar 0,57 dan pada perlakuan terakhir dengan perendaman virus selama 72 jam mengalami penurunan dengan nilai sebesar 0,46.

Berdasarkan hasil nilai *respiratory burst* apabila dibandingkan perlakuan pertama dengan perlakuan kedua nilai *respiratory burst* tertinggi didapatkan pada perlakuan kedua yaitu dengan perendaman menggunakan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* yaitu sebesar 0,77. Hasil yang didapatkan nilai *respiratory burst* apabila dibandingkan dengan kontrol positif udang dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) terjadinya peningkatan jumlah *respiratory burst* udang yang dilakukan perendaman menggunakan ekstrak sebesar 0,66 dan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* sebesar 0,77. Menurut Chin *et al.*, (2011) perendaman menggunakan ekstrak *Gracilaria tunistipitata* dengan dosis 400 dan 600 mg/l dapat meningkatkan jumlah nilai *respiratory burst* udang vannamei yang diinjeksi virus WSSV (*White Spot Syndrom Virus*) selama 6, 12, 24, 48, 72 dan 120 jam. Hal ini dinyatakan oleh Huynh *et al.*, 2011. Terjadi penurunan *respiratory burst* pada pemberian ekstrak

Sargassum hemiphilum var pada dosis 500 mg/l. Pada *L. Vannamei* yang diinfeksi *V. Alginotycus* dan WSSV. Monserrat *et al.*, (2007) menyatakan bahwa untuk penelitian *immunotoxicity*, biomarker difokuskan pada fungsi kekebalan tubuh bawaan yang tidak bisa dihindarkan karena memiliki respon yang kuat terhadap benda asing. Salah satu fungsi yang paling sering diteliti dalam ekotoksikologi adalah aktifitas *respiratory burst*. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap jumlah *respiratory burst* dilakukan perhitungan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pada Lampiran 9, kemudian dilakukan Analisa sidik ragam kandungan anion superoksida udang (*Litopennaeus vannamei*) disajikan pada Tabel 9 berikut ini.

Tabel 9. Anaisa Sidik Ragam *Respiratory Burst* *Litopennaeus vannamei*

SUMBER KERAGAMAN	DB	JK	KT	F. HIT	F.TABEL 5%	F.TABEL 1%
PERLAKUAN	4	0.153	0.038	4.540	4.46	8.65
KELOMPOK	2	0.122	0.061	7.239	3.84	7.01
GALAT	8	0.067	0.008			
TOTAL	14	0.343				

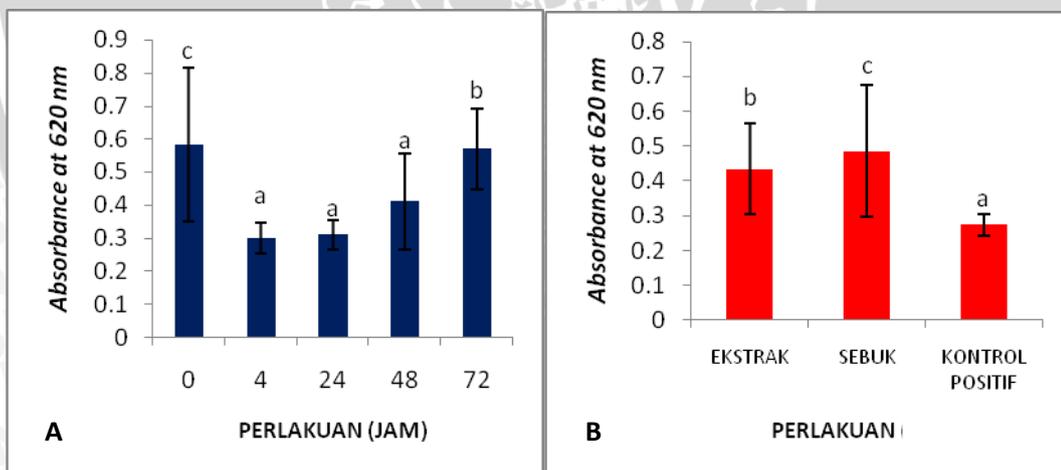
Perhitungan analisa sidik ragam Tabel 9 menunjukkan nilai perlakuan mendapatkan nilai F hitung sebesar 4,540 lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%. Hal ini berarti dengan adanya perbedaan lama pengamatan memberikan pengaruh terhadap peningkatan *respiratory burst*. Sedangkan nilai kelompok F hitung sebesar 7,239 lebih besar dari F Tabel 5 % dan 1%. Hal ini berarti dengan perbedaan pemberian antara ekstrak *Sargassum polycystum* dan serbuk *Sargassum polycystum*, kontrol positif dan kontrol negatif berpengaruh nyata terhadap peningkatan *respiratory burst*. Sehingga perhitungan dilanjutkan dengan uji Tukey atau BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap nilai *respiratory burst*. Hasil Uji BNT ditunjukkan pada Tabel 10 berikut ini.

Tabel 10. Uji BNT *Respiratory Burst* udang (*L. Vannamei*)

RATA RATA PERLAKUAN		4	24	48	72	0	NOTASI
		0.3	0.316	0.41	0.57	0.58	
4	0.3	0 ^{ns}					a
24	0.316	0.016 ^{ns}	0 ^{ns}				a
48	0.41	0.11 ^{ns}	0.094 ^{ns}	0 ^{ns}			a
72	0.57	0.27**	0.254**	0.16 ^{ns}	0 ^{ns}		b
0	0.58	0.28**	0.264**	0.17*	0.01	0 ^{ns}	c

Keterangan : ns= Non signifikan *= Signifikan ** = Sangat signifikan

Berdasarkan hasil tersebut maka perlakuan pada jam ke 4, 24, 48 tidak berbeda nyata tetapi berbeda nyata dengan perlakuan jam ke 0 dan jam ke 72. Perlakuan pada jam ke 0 berbeda sangat nyata dengan perlakuan pengamatan pada jam ke 72. Hal ini berarti hasil *respiratory burst* pada udang yang di rendam dengan *Sargassum polycystum* memberikan pengaruh nyata apabila dibandingkan dengan udang yang dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*). Untuk lebih jelasnya maka dapat disajikan pada Gambar 18 berikut ini.

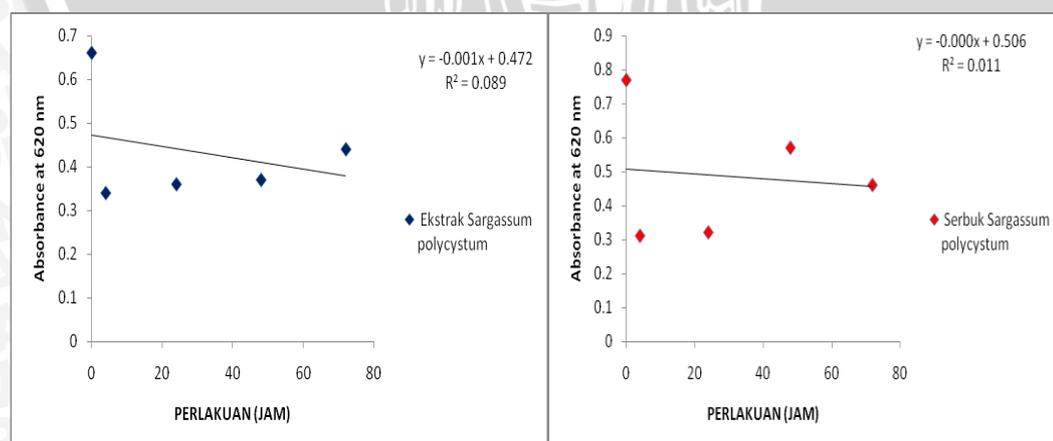


Gambar 18. Pengaruh (A) Perbedaan Perlakuan Waktu (B) Ekstrak *Sargassum polycystum*, Serbuk *Sargassum polycystum* dan Kontrol Negatif Terhadap *Respiratory Burst* Udang (*Litopennaeus vannamei*)

Gambar 18(A) pengaruh perlakuan waktu pengamatan yang berbeda terhadap *respiratory burst* dapat dilihat bahwa pada pengamatan jam ke 0 dan jam ke 72 berbeda nyata dengan perlakuan jam ke 4, 24, 48. Sedangkan pada

Gambar 18(B) bahwa perlakuan pemberian ekstrak dan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* sangat berbeda nyata dan berbeda nyata dengan perlakuan kontrol positif. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pemberian *Sargassum polycystum* memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap hasil *respiratory burst* dibandingkan dengan perlakuan dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*). Hal ini dinyatakan oleh Huynh *et al.*, (2011), terjadi penurunan *respiratory burst* pada pemberian ekstrak *Sargassum hemiphilum* var pada dosis 500 mg/l. Pada *L. Vannamei* yang diinfeksi *V. Alginotycus* dan WSSV. Menurut Saraswati (2013), pada proses fagositosis akan dihasilkan anion superoksida sebagai hasil dari proses *respiratory burst* dan akan dikonfersi oleh enzim-enzim menghasilkan racun asam hipoklorit (HOCl), *Nitricoxid* (NO), dan peroxinitrit (ONOO⁻) yang akan digunakan untuk menghancurkan patogen, dengan demikian jika proses fagositosis meningkat, maka akan meningkatkan aktivitas *respiratory burst*.

Hasil perhitungan BNT ternyata menunjukkan hasil yang berbeda nyata sehingga selanjutnya dilakukan uji polynomial orthogonal Lampiran 8, untuk mengetahui respon pemberian perlakuan yang berbeda terhadap *respiratory burst* yang dapat ditunjukkan dengan grafik pada Gambar 19 berikut ini.



Gambar 19. Uji Respon Perbedaan Perlakuan Terhadap Persentase Fagositosis udang (*Litopennaeus vannamei*)

Berdasarkan Grafik pada Gambar 18 menunjukkan bahwa antara pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* dengan waktu pengamatan yang berbeda memiliki hubungan korelasi yang cukup. Ditunjukkan dengan hasil R^2 sebesar 0,089 dengan $r = 0,29$ dihubungkan dengan garis linier. Sedangkan pada perlakuan pemberian serbuk *Sargassum polycystum* dengan waktu pengamatan yang berbeda memiliki hubungan korelasi yang sangat lemah yaitu dengan hasil R^2 sebesar 0,011 dengan $r = 0,10$ dan dihubungkan dengan garis linier.

4.5 Ciri Ciri Dan Morfologi Udang (*Litopennaeus vannamei*) Yang Dilakukan Perendaman Menggunakan Ekstrak *Sargassum polycystum* Kemudian Diinfeksi Virus WSSV (*White Spot Syndrom Virus*)

Berdasarkan hasil pengamatan ciri ciri dan morfologi udang (*Litopennaeus Vannamei*) yang dilakukan perendaman menggunakan ekstrak *Sargassum polycystum* kemudian diinfeksi virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) mendapatkan hasil sebagai Tabel 11 berikut.

Tabel 11. Ciri – Ciri Tingkah Laku Dan Morfologi Udang Menggunakan Ekstrak *Sargassum polycystum*

Jam Ke-	Ciri – ciri tingkah laku dan morfologi
0	<ul style="list-style-type: none"> • Udang berdiam diri di dasar perairan • Bergerak di dasar tanpa memunculkan diri di atas permukaan air • Respon terhadap rangsangan bertambah • Udang terlihat segar dan utuh • Pergerakan udang aktif
4	<ul style="list-style-type: none"> • Udang bergerak aktif • Respon pada rangsangan • Udang terlihat segar dan utuh
24	<ul style="list-style-type: none"> • Udang bergerak aktif • Pakan yang diberi dimakan • Respon pada rangsang • Udang terlihat utuh
48	<ul style="list-style-type: none"> • Udang bergerak aktif • Pakan yang diberikan dimakan • Merespon terhadap rangsangan • Antenula tidak sempurna (ada yang patah)

72	<ul style="list-style-type: none"> •Udang bergerak lambat •Pakan yang diberikan hanya sedikit yang dimakan •Merespon terhadap rangsangan •Antenula tidak sempurna (berkurang 1)
----	---

4.6 Ciri Ciri Dan Morfologi Udang (*Litopennaeus vannamei*) Yang Dilakukan Perendaman Menggunakan Serbuk Simplisia *Sargassum polycystum* Kemudian Diinfeksi Virus WSSV (*White Spot Syndrom Virus*)

Berdasarkan hasil pengamatan ciri ciri dan morfologi udang (*Litopennaeus Vannamei*) yang dilakukan perendaman menggunakan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* kemudian diinfeksi virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) mendapatkan hasil sebagai Tabel 12 berikut.

Tabel 12. Ciri – Ciri Dan Morfologi Udang Menggunakan Serbuk Simplisia *Sargassum polycystum*

Jam Ke-	Ciri – ciri tingkah laku dan morfologi
0	<ul style="list-style-type: none"> •Udang berdiam di dasar perairan •Respon terhadap rangsangan •Udang terlihat segar dan utuh •Udang aktif pergerakannya •Warna tubuh udang berwarna kehijauan akibat perendaman
4	<ul style="list-style-type: none"> •Udang bergerak aktif •Respon pada rangsangan •Udang terlihat segar dan utuh
24	<ul style="list-style-type: none"> •Bergerak aktif •Pakan yang diberi dimakan •Respon terhadap adanya gangguan •Nafsu makan normal.
48	<ul style="list-style-type: none"> •Bergerak bertambah aktif •Pakan yang diberi dimakan •Respon terhadap adanya gangguan •Nafsu makan tidak normal
72	<ul style="list-style-type: none"> •Pergerakan kurang aktif •Pakan yang diberi tidak dimakan •Respon terhadap rangsangan berkurang •Antenula tidak sempurna •Tubuh miring ketika berenang dan pergerakan lemah

4.7 Ciri Ciri Dan Morfologi Udang (*Litopennaeus vannamei*) Yang Dilakukan Perendaman Menggunakan Virus WSSV (*White Spot Syndrom Virus*)

Berdasarkan hasil pengamatan ciri ciri dan morfologi udang (*Litopennaeus Vannamei*) yang dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) mendapatkan hasil sebagai Tabel 13 berikut.

Tabel 13. Ciri Ciri Dan Morfologi Udang Kontrol Positif Yang Terinfeksi Virus WSSV (*White Spot Syndrom Virus*)

Jam ke-	Ciri – ciri tingkah laku dan morfologi
0	<ul style="list-style-type: none"> • Udang aktif bergerak pada malam hari. • Cepat merespon gangguan bergerak aktif • Nafsu makan normal • Terlihat segar dan utuh • Tubuh, ekor, kaki jalan, kaki renang berwarna hijau kecoklatan
4	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan kurang aktif (lambat) berdiam diri didasar kolam dan respon rendah • Pakan yang diberikan termakan sedikit • Udang berenang ke permukaan dan sangat lemah kemudian tergelepar ke dasar kolam
24	<ul style="list-style-type: none"> • Gerakan lambat • Pergerakan tidak aktif (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.
48	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan berdiam didasar kolam dan respon sangat rendah • Pakan yang diberikan tidak termakan • Tubuh, kaki jalan, ekor, kaki renang berwarna kemerahan • Udang berenang didasar kolam sangat lemah dan tergelepar
72	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan tidak aktif berdiam didasar kolam dan respon sangat rendah • Pakan yang diberikan tidak termakan • Tubuh, kaki jalan, ekor, kaki renang berwarna kemerahan • Udang berenang didasar kolam sangat lemah dan tergelepar • Udang dalam keadaan lemas tergelepar kemudian mengalami kematian

4.5 Analisa Kualitas Air

Dalam penelitian ini kualitas air merupakan parameter penunjang yang perlu diamaati meliputi suhu, pH, salinitas dan oksigen terlarut (DO). Kualitas air

merupakan salah satu faktor yang memegang peranan penting dalam kegiatan penelitian karena digunakan sebagai media hidup ikan yang diteliti. Kualitas air yang diuji meliputi faktor fisika dan kimia, diantaranya adalah suhu, kandungan oksigen terlarut, salinitas dan pH. Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air didapatkan hasil rata rata pengukuran kualitas Air seperti pada Tabel 14 berikut.

Tabel 14. Analisa Kualitas Air

Perlakuan	Nilai Kisaran Kualitas Air Harian			
	Suhu (°C)	pH	DO (mg/L)	Salinitas (ppt)
Kontrol +	28 – 29,5	8	5,95 – 6,06	1– 2
Kontrol – (Sehat)	28 – 30,1	8	5,21 – 6,03	1– 2
Ekstrak <i>Sargassum polycystum</i>	27 – 29,7	8	5,95 – 6,04	1– 2
Serbuk <i>Sargassum polycystum</i>	27,1 – 29,8	8	5,93 – 6,08	1– 2

4.5.1 Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor yang sangat penting bagi kehidupan organisme perairan karena suhu mempengaruhi baik aktivitas dan metabolismenya. Suhu yang optimal sangat dibutuhkan dalam suatu perairan organisme, saat suhu perairan optimal maka ikan akan memiliki selera makan yang baik. Bila suhu rendah udang akan kehilangan nafsu makan, sehingga pertumbuhannya terhambat, sebaliknya bila suhu terlalu tinggi ikan akan stress bahkan mati.

Berdasarkan hasil pengukuran, kisaran suhu selama pemeliharaan berkisar antara 27-29,8°C. Pada kisaran tersebut nilai suhu normal, sesuai dengan Adiwidjaya *et al.*, (2008), nilai suhu optimal bagi pertumbuhan dan perkembangan udang secara umum berkisar antara 28 °C sampai dengan 31,5 °C. Pada suhu dibawah 25 °C nafsu makan udang berkurang. Selain itu, ada pula ada yang berpendapat bahwa suhu yang cocok pada pertumbuhan udang vannamei berkisar antara 23 °C - 30°C.

4.5.2 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman atau pH adalah biasanya digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaaan suatu larutan. Ukuran konsentrasi ion hidrogen yang menunjukkan keasaman atau kebasaaan suatu zat. Pada pH rendah kandungan oksigen terlarut akan berkurang akibatnya konsumsi oksigen menurun sehingga aktifitas pernafasan menjadi naik dan selera makan akan berkurang.

Hasil pengukuran derajat keasaman (pH) selama pemeliharaan berkisar antara 8. Amri dan kanna (2008), menyatakan nilai pH yang normal untuk tambak udang berkisar antara 6-9. Nilai pH diatas 10 dapat mematikan udang karena bersifat basa karena amonia lebih mudah terserap kedalam tubuh udang dan dapat bersifat toksik. Sedangkan pH dibawah 5 mengakibatkan pertumbuhan udang menjadi lambat.

4.5.3 Salinitas

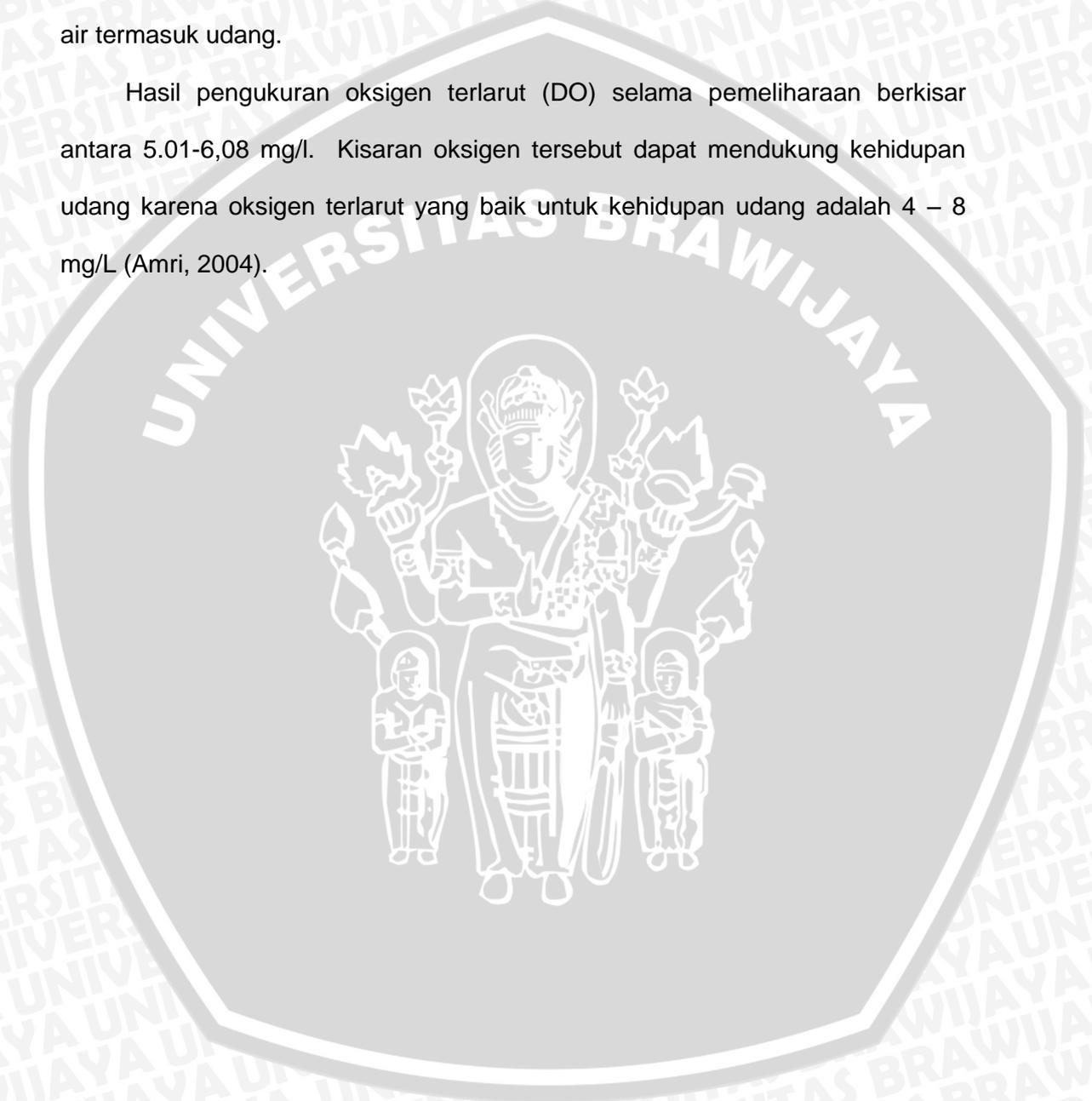
Salinitas berperan dalam pengaturan osmoregulasi. Pada salinitas tinggi apabila salinitas meningkat maka pertumbuhan udang menjadi terhambat karena energi yang terserap untuk proses osmoregulasi dibandingkan untuk proses pertumbuhan. Hasil pengukuran salinitas selama pemeliharaan berkisar antara 1-2 ppm karena ini menyesuaikan dengan keadaan tambak pada pengambilan udang vannamei karena sudah dilakukan penurunan salinitas dalam pembudidayaannya sehingga dapat dikatakan hampir tawar. Menurut Adiwidjaya *et al.*, (2008), komoditas udang secara umum dapat hidup pada toleransi salinitas yang cukup luas, termasuk udang seperti udang vannamei.

4.5.4. DO (Oksigen Terlarut)

Oksigen terlarut (DO) disuatu perairan sangat berperan dalam proses penyerapan makanan oleh makhluk hidup air. Semakin banyak oksigen terlarut

(DO) maka perairan tersebut kualitas airnya baik. Oksigen parameter yang paling penting untuk kehidupan organisme perairan yang bersifat aerobik, disamping menentukan kecepatan metabolisme dan respirasi dari keseluruhan ekosistem perairan, juga sangat penting bagi kelangsungan hidup serta pertumbuhan biota air termasuk udang.

Hasil pengukuran oksigen terlarut (DO) selama pemeliharaan berkisar antara 5.01-6,08 mg/l. Kisaran oksigen tersebut dapat mendukung kehidupan udang karena oksigen terlarut yang baik untuk kehidupan udang adalah 4 – 8 mg/L (Amri, 2004).



V. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

- Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* berpengaruh nyata terhadap peningkatan Jumlah total hemosit, aktifitas Fagositosis dan *respiratory burst* yang terpapar virus WSSV (*White spot syndrom virus*). Sedangkan pada perlakuan Serbuk *Sargassum polycystum* tidak berpengaruh nyata terhadap peningkatan jumlah total hemosit tetapi berpengaruh nyata terhadap peningkatan aktifitas fagositosis dan *respiratory burst*. Total Hemosit tertinggi yaitu didapatkan pada perlakuan pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* sebesar 35×10^4 sel/ml. Aktifitas Fagositosis tertinggi yaitu didapatkan pada perlakuan perlakuan dengan perendaman serbuk simplisia *Sargassum polycystum* 24,7%. *Respiratory burst* (kandungan anion superoksida tertinggi yaitu didapatkan pada perlakuan perendaman menggunakan serbuk simplisia *Sargassum polycystum* sebesar 0,77.
- Dari hasil rata rata yang didapatkan maka lebih efektif menggunakan Ekstrak *Sargassum polycystum* untuk menstimulasi sistem pertahanan non spesifik udang (*Litopennaeus vannamei*) yang memiliki nilai yang lebih tinggi yaitu *Total Hemocyte Count* sebesar $14,79 \times 10^5$ sel/ml, aktifitas fagositosis sebesar 15,4 % dan *respiratory burst* sebesar 0,43.

5.2 Saran

Berdasarkan analisa data dari semua parameter hematologi, grafiknya meunjukkan grafik yang linear, sehingga masih perlu diketahui dengan adanya perpanjangan waktu perendaman menggunakan virus WSSV dengan dosis sebesar 6 µl/500ml ataukah semakin berpengaruh terhadap penurunan jumlah

total hemosit, aktifitas fagositosis dan *Respiratory burst* Udag (*Litopennaeusvannamei*). Dandiperlukannya jenis pelarut lain pada saat proses fraksinasi *Sargassum polycystum* agar kemurnian ekstrak lebih tinggi.



DAFTAR PUSTAKA

- Adiwidjaya, D., Supito dan I. Sumantri. 2008. Penerapan Teknologi Budidaya Udang vanname L. *Vannamei* semi intensif pada lokasi tambak salinitas tinggi. Media.
- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulan pada Hewan Akuatik. *Akuakultur Indonesia*. **1 (2)**: 87-92.
- Anderson, C. B. 2004. Immunotoxicity of Evironmental Pollutants in Marine Invertebrates. *Recent Advantages in Marine Biotechnology*. **5**: 189-242.
- Anggadiredja, J. T., A. Zatznika, H. Purwanto dan S. Istini. 2006. Rumput Laut Pembudidayaan, Pengolahan Dan Pemasaran Komoditas Perikanan Potensial. Jakarta. 146 Hlm.
- Amri, K. 2003. Kilat Mengatasi Permasalahan Budidaya Udang Windu Secara Intensif. Agromedia Pustaka. Jakarta. 98 hal.
- Amri dan Kanna, 2008. Budidaya Udang Vanname Secara Intensif, Semi Intensif dan Tradisional. Gramedia. Jakarta.
- Atts, A.J, Anja J. Taverne- Thiele, Huub F.J. Savelkoul, Jan H. W. M. Rombout. 2007. Haemocyte reactions in WSSV immersion infected *Penaeus monodon*. *Fish and shellfish immunology*. **23**. 164-170.
- Bachtiar, E., 2007. Penelusuran Sumber Daya Hayati Lat (Alga) Sebagai Biotarget Industri. *Skripsi*. Universitas Padjajaran Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Jatinangor.
- Bachere, E., E. Mialhe, D. Noel, V. Boulo, A. Morvan, & J. Rodriguez. 1995. Knowledge and Research in Marine Mollusk and Crustacean Immunology. *Aquaculture*. **132**: 17-32.
- Baratawidjaya, K. G. 2004. Imonology Dasar. Edisi ke 6. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Boyd, E. C. 1989. Water Quality In Ponds For Aquaculture. Birmingham Publishing Co., Alabama, P. 482.
- Campa, A.I., N.Y. Hernaandez-Saavedra, R. De Phillipis, & F. Ascentio. 2002. Generation of Superoxide Anion and SOD Activity in Haemocytes and Muscle of American White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as a Response to *beta* -glucan and Respiratory Burst Activity of Turbot Phagocytes, *Aquacultur*. **229**: 67-78.
- Castro, R. I. Zarrab, & J. Lamas. 2004, Water-Soluble Seaweed Extracts Modulate The *Pantoea agglomerans* Lipopolysaccharide (LPS). *Fish Shellfish Immunol*. **10**: 555-558.

- Cheng W, CH. Liu, ST. Yeh, JC. Chen. 2004. The immune stimulatory effect of sodium alginate on the water shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology*. **18**:1-12.
- Chin, Yu, S.S, Siau L.C, Su, Y, Chyng, F, Jiann, C. 2012. Dietary administration of a *Gracilaria tenuistipitata* extract produces protective immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei* in response to ammonia stress. *Aquaculture*. **370**: 26-31.
- Chotigeat, W., S. Tongsupa, K. A. Phongdara. 2004. Effect of fukoidan on Diseases Resistance of Black Tiger Shrimp. *Aquaculture* 233:23-30.
- Citarasu, TVS., Grasian, I., Namita, R., dan Vadivel, M. 2006. Influence of Selected Indian Immunostimulan Herbs Againsts White Spote Syndrome Virus (WSSV) Infection in Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon* with Reference to Haematological, Biochemical, and Immunological Changes. *Fish and Shellfish Immunology*. **21**: 372-384.
- Dugger, D.M. dan D.E. Jory. 1999. Bio-Modulation of The Non Specific Immune Response In Marine Shrimp with Beta-glucan. *Aquaculture Magazine* No. 1/vol.**25**:81-89.
- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan. Kanisius. Yogyakarta.
- Effendy, S., A. Rantedondok, A. Tahir. 2004. Pningkatan Haemosit Benur Udang Windu (*Panaeus monodon* Fabricus) Pasca Perendaman Ekstrak Roti Ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) pada Konsentrasi Yang Berbeda. *J. Sains and Teknologi*, Agustus 2004. **4 (2)**: 4-53.
- Erika, S. 2013. Respon Imun Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*) dengan Pemberian Ekstrak *Chaetoceros ceratosporum* Terhadap Infection Myonecrosis Virus (IMNV). Disertasi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Fu, Y.W., W.Y. Hou, S.T. Yeh, C.H. Li, & J.C. Chen. 2007. The Immunostimulatory Effects of Hot-Water Extract of *Gelidium Amansii* Via Immersion, Injection and Dietary Administrations On White Shrimp *Litopenaeus Vannamei* and Its Resistance Against *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*. **22**: 673-685.
- Galindo, V.J. dan Hosokawa. 2004. Immunostimulants: Toward Temporary Prevention of Diseases in Marine Fish. Kochi University, Faculty of Agriculture. Laboratory of Fish Nutritions B200 Monobe, Nankoku, Kochi 783-85202 Japan.
- Gargioni, R. Barraco, M.A. 1998. Hemocytes of the plaemonids *Macrobrachium rosenbergi* and *M. Achanturus*, and of the penaeid *Penaeus paulensis*. *Journal of Marphology*, **236**: 209-221.
- Google Images. 2015. WWW.Google Images.com. Gambar Siklus Hidup Udang Vannamei. Diakses pada tanggal 21 Juni 2015.

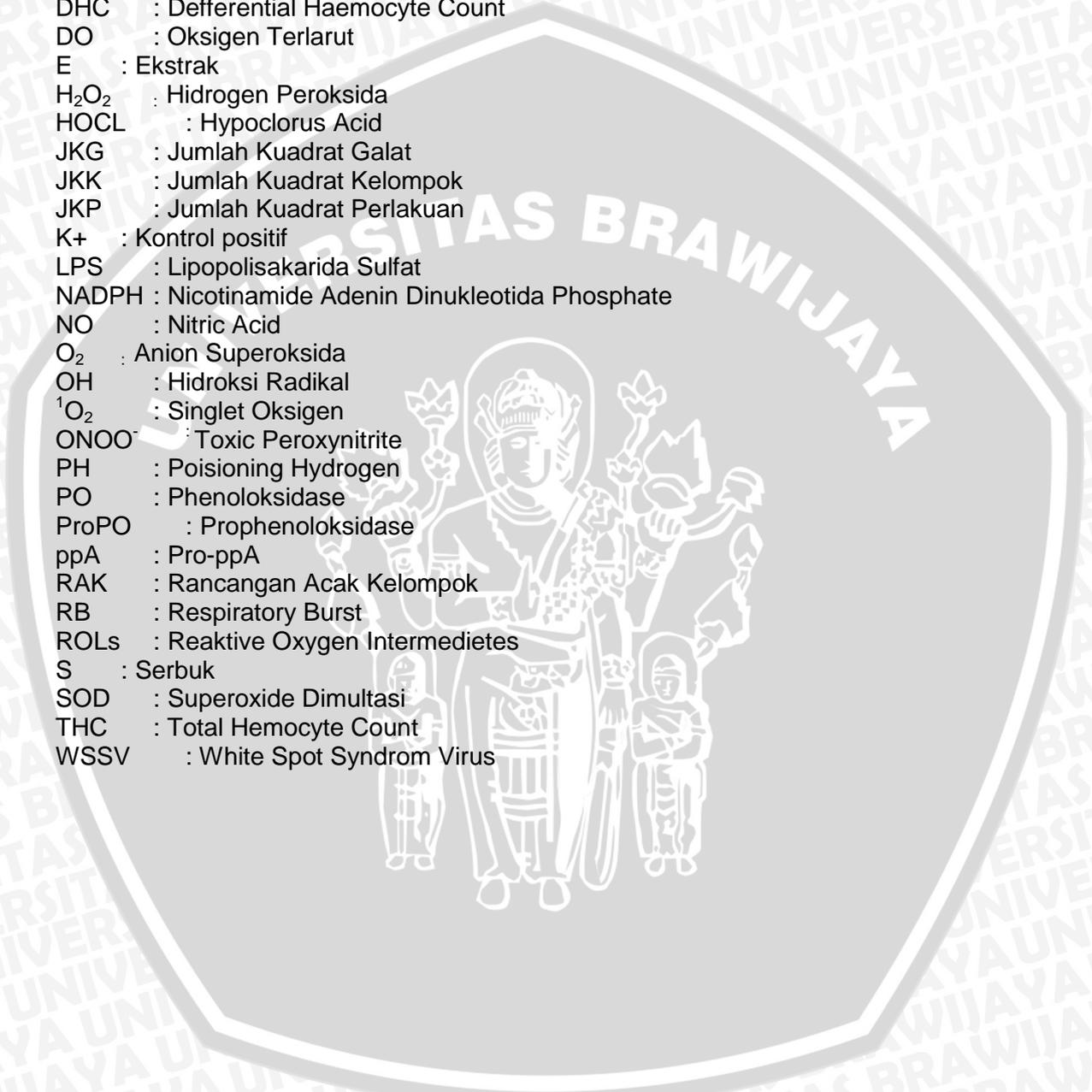
- Hamdiyati. 2012. Mikrobiologi Lingkungan (Mikrobiologi Tanah dan Mikrobiologi Air. [Http: // file. Upi. Edu/Direktori/FPMIPA/JUR ._PEND._BIOLOGI/196611031991012-Yanti_Hamdiyati/ Mikrobiologi_Tanah.Pdf](http://file.upi.edu/Direktori/FPMIPA/JUR._PEND._BIOLOGI/196611031991012-Yanti_Hamdiyati/Mikrobiologi_Tanah.Pdf). Diakses pada tanggal 5 Mei 2015.
- Holmbald, T., dan K. Soderhall. 1999. Cell adhesion molecules and antioxidative enzymes in a crustacean, possible role immunity. *Aquaculture*, 172(1-2), 111—123.
- Hou, W.Y., dan Chen, J.C. 2005. The Immunostimulatory Effect of Hot Water Extract of *Gracilaria tenuistipitata* on The White Shrimp *Litopenaeus vannamei* and its Resistance Against *Vibrio alginolyticus*. *Fish Shellfish Immunology* 19:1, 27-38.
- Hose, J. E., Martin, G. G., dan Gerard, A. S. 1990. A Decapod Hemocyte Classification Scheme Integrating Morphology, Cytichemistry, and Function. *Biological bulletin*. **178**: 33-45.
- Huynh, T.G , S.T.Yeh., Y.C.Lin, J.F.Shyu, L.L Chen, J.C. Chen . 2011. White shimp *Litopenaeus vannamei* immersed in seawater containing *Sargassum hemiphyllum* var. Chinense powder and its extract showed increased immunity and resistance against *Vibrio alginolyticus* and white spot syndrome virus. *Fish and shellfish immonology*. **31**. 286- 293.
- Isnansetyo, A., 2007, Evaluasi Pertahanan Non Spesifik Ikan. Pelatihan Hematologi Ikan, Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Itami, T. 1994. Body Defence System of Penaeid. Seminar Fish Physiology and Prevention Partemen of Aquaculture and Biology. Shimonoseki University of Fisheries. Japan. **7**: 59-65.
- Johny, F., Roza, D. K., Mahardika, Zafran dan Prijono. 2005. Penggunaan Imonostimulan untuk meningkatkan kekebalan non spesifik Benih ikan kerapu lumpur (*Ephinephelus coides*) terhadap inveksi virus Irido. *Journal Penelitian Perikanan Indonesia*. **11 (5)**: 75-83.
- Johansson, M. W., dan K. Soderhall. 1987. Isolation and Purification of a Cell Adhesion Factor from Crayfish Blood Cells. *Journal Cell Biology*.**106**:1795 – 1803.
- Johansson M W, P. Keyser, K. Sritunyalucksana, & K Soderhall. 2000. Crustacean Haemocytes andHaematoposis. *Aquaculture*.**191** : 45-52.
- Kadi, A. 2005. Beberapa Catatan Kehadiran Marga Sargassum Di Perairan Indonesia. Pusat penelitian oseanografi- LIPI. Jakarta. 23 hlm.
- Kadi, A dan Atmadja W. S., 1988. Rumput Laut Jenis Reprobuksi Budidaya dan Pasca Panen. Seri Sumber Daya Alam no. 141. Puslitbag Oceanologi LIPI. Jakarta.

- Kilawati, Y dan D. Win. 2009. Karakter Protein ICP11 pada DNA Udang *Vannamei (Panaeus vannamei)* yang Terinfeksi White Spot Syndrom Virus (WSSV). Berk. Penelitian Hayati. **15**: 21-24.
- Kobayashi, K. H. Akitake dan S. Kimura. 1976. Studies on the Metabolism of Chlorophenols in Fish. VI-Turnover of Absorbed Phenol in Gold Fish. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. **42**: 45-50.
- Kordi, G.H. 1997. Budidaya Kepiting dan Ikan Bandeng di Tambak Sistem Polikatur. Dahara Press. Bandung.
- Kwang, L.C. 1996. Imune Enhancer In The Control Of deases in Aquaculture. Encap Technology pte. Lcd. Singapore.
- Lim, S. N., P. C. K. Cheung, V. E. C. Ooi and P. O. Ang. 2002. Evaluation of Antioxidant Activity of Extracts from Brown Seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *Food Chemistry*. **50** : 3862-3866.
- Little T. J., hultmark D., Read A.F. 2005. Invertebrate Immunity and The Limits of Mechanistic Immunology. *Nat Immunol*. **6**. 651-655.
- Matanjun, P., S. Mohamed, N. M. Mustapha, K. Muhammad and C. H. Ming. 2008. Antioxidant Activities and Phenolics Content of Eight Species of Seaweeds from North Borneo. *J. Appl Phycol*. **20** : 367-373.
- Matozzo, V., dan Marin, M. G. 2010. The Role of Haemocytes from the Crab *Carcinus Aestuari* (Crustacea, Decapoda) in Immune Responses: A First Survey. *Fish and Shellfish Immunology*. **28(4)**: 534-541.
- Mulyanto. 2008. Metode Sampling. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Person M, Cerenius L, Soderhall K. 1987. The Influence of Haemocytometer Number on The Resistance of Fresh water Crayfish (*P. Liniusculus Dana*), to the Parasitic fungus *A. Astaci*, *J. Fish Disease*. **10**: 471-477.
- Pinandoyo, H.B, B. Subayakto., dan Triastutik, G. 2014. Kebutuhan pakan Udang (*Litopennaeus vannamei*) yang dibudidayakan diIndonesia. *Jurnal Perikanan*. **9**: 25-31.
- Prajitno, A. 1995. Antigen vibrio Luminecent yang telah dilemahkan guna meningkatkan imunitas benur udang windu (*Panaeus monodon Fab*). Karya Ilmiah. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 53 hal
- Pratono, E.N. Shofiatun N, Bayu H. 2010. Artikel kesehatan : Manfaat Tahu Berserat Tinggi Untuk Diet Harian Penderita Kanker Kolon Dan Obesitas Di Indonesia. Program studi teknologi hasil perikanan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro.
- Rahmad, R. 2012. Potensi Alga Coklat di Indonesia dan Prospek Pemanfaatannya. Prosidings Pra Kipnas VII Forum Komunikasi Ikatan Fikologi Indonesia (IFI). Serpong : Gedung DRN, Puspiptek. 31-35.

- Rahma, H. N, Slamet B.P, Alfabetian HCH. 2014. The infection of white spot syndrome virus (WSSV) in Tiger Shrimp (*Panaeus monodon* Fabr.) which was cultured in different salinitas. *Aquaculture management and technology*. **3(3)**: 25-34.
- Ridlo, A dan Rini P. 2009. Aplikasi ekstrak rumput laut sebagai agen imunostimulan sistem pertahanan non spesifik pada udang (*Litopennaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan*. **14(3)**: 133-137.
- Saha, S. dan S. Ray. 2006. Hemocyte Profile of the Estuarine Mud Crab, *Scylla serrata*. *Environ. Ecol.* 24S (3A): 818-819.
- Sakai, M. 1999. Current Research Status of Fish Immunostimulants. *Aquaculture* **172** : 63 - 92
- Samee H, ZX Li, H Lin, J Khalid and YC Guo. 2009. Antiallergic effect of ethanol extract from brown seaweeds. *Journal of zhejiang university science B*. **10**. (2) :147-153.
- Saraswati, E. 2013. Respons Imun Udang Putih *Litopennaeus vannamei* dengan Pemberian Ekstrak *Chaetoceros ceratosporum* Terhadap Infeksi Myonecrosis Virus (MNV). Disertasi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang.
- Secombes, C. J. 1994. Enhancement of Fish Phagocyte Activity. *Journal of fish and Shellfish Immunology*. Academic press.
- Selvin J., A.J. Huxleya, & A.P. Lipton. 2004. Immunomodulatory Potential of Marine Secondary Metabolites Against Bacterial Diseases of Shrimp, *Aquacultur*. **230**: 241– 248.
- Setyanto, Agung. 2006. *Macam macam metode Penelitian*. Penebar swadaya. Jakarta. 15 Hlm.
- Smith V J., J H. Brown, & C. Hauton. 2003. Immunostimulation in Crustaceans: Does it Really Protect Against Infection. *Fish & Shellfish Immunology* **15** : 71–90.
- Smith, V. J, Chisholm J. R. S. 1992. Non Cellular Immunity In Crustaceans. *Fish Shellfish Immunol.* **2**: 1-31.
- Soderhall, K and L. Cerenius. 1998. Crustacean Immunity. *Annual Review of Fish Disease*. **2**:2-23.
- Soderhall, K., A. Wingren., M. W. Johansson., K. Bertheussen. 1985. The Cytotoxic Reaction of hemocytes from the Freshwater Crayfish *Astacus astacus*. *Cell Immunol.* **94**: 326-332.
- Song, Y.L., Yu, Cl., Lien, TWC., Huang, C., and Lin, MN. 2003. Haemolymph parameters of pacific white shrimp (*Litopennaeus vannamei*) infected with Taura syndrome virus. *Fish and Shellfish Immunology*. **14**: 317-331.

- Subagiyo. 2009. Uji Pemanfaatan Rumput Laut *Halimeda* sp. Sebagai Sumber Makanan Fungsional Untuk Memodulasi Sistem pertahanan Non Spesifik Pada Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan*.**14 (3)**: 195–199.
- Supamattaya, K., V. Chittiwon dan M. Boonyaratpalin. 2000. Immunological Factors in Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon*, Fabricus. <http://aquafeed.com/docs/ns/Supamattayaetal.pdf>. Diakses 3 Februari 2015.
- Thornqvist, P. O., M. W. Johansson., K. Soderhall. 1994. Opsonic Activity of Cell Adhesion Protein and b-1,3-glucan Binding Protein from Two Crustacean. *Dev. Comp. Immunol.* 18: 3-12.
- Van de braak, K. 2002. Haemocytic Defance in Black Tiger Shrimp (*Panaeus monodon*). *Phd Thesis*. Wageningen University. Netherland.
- Wijayanto DB. 2010. Uji aktifitas antibakteri ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Euclima denticulatum* terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyii*. *Jurnal Kelautan*.**3(1)**: 1-7.
- Wotton, E.C., E.A. Dyrinda., R.K. Pipe dan N.A. Ratcliffe. 2003. Bivalve immunity: comparisons between the marine mussel (*Mytilus edulis*), the edible cokle (*Cerastoma edule*), and the razor shell (*Ensis siliqua*). *Fish & Shellfish immunology*.**15**:195-210.
- Wyban, J.A., dan Sweeney, J.N., 1991. Intensive Shrimp Production Technology. Hawaii: The Oceanic Institute.
- Yeh, S., C.S., dan J.C. Chen, 2006. Administration of Hot-Water Extract of Brown Seaweed *Sargassum duplicatum* Via Immersion and Injection Enhances The Immune Resistance Of White Shrimp *Litopenaeus Vannamei*. *Fish Shellfish Immunol*.**20**: 332-45.
- . 2008. Immunomodulation by Carrageenans in The White Shrimp *Litopenaeus vannamei* and Its Resistance Rgainst *Vibrio alginolyticus*. *Aquaculture*.**276**: 22-28.
- . 2009. White shrimp *Litopenaeus vannamei* that received the hot-water extract of *Gracilaria tenuistipitata* showed earlier recovery in immunity after a *Vibrio alginolyticus* injection. *Fish Shellfish Immunol.* **26**:724-730.
- Yulianto K. 2007. Penelitian Isolasi alginat Algae Laut Coklat dan Prospeknya Menuju Industri. *Prosiding seminar riptek kelautan Nasional*. Jakarta. **2** :104-108.
- Yunizal. 2003. Teknologi Pengolahan Alginat. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautandan Perikanan. Jakarta. 61 hlm.

DAFTAR ISTILAH



AF	: Aktifitas Fagositosis
BNT	: Beda Nyata Terkecil
DB	: Derajat Bebas
DHC	: Defferential Haemocyte Count
DO	: Oksigen Terlarut
E	: Ekstrak
H ₂ O ₂	: Hidrogen Peroksida
HOCL	: Hypoclorus Acid
JKG	: Jumlah Kuadrat Galat
JKK	: Jumlah Kuadrat Kelompok
JKP	: Jumlah Kuadrat Perlakuan
K+	: Kontrol positif
LPS	: Lipopolisakarida Sulfat
NADPH	: Nicotinamide Adenin Dinukleotida Phosphate
NO	: Nitric Acid
O ₂	: Anion Superoksida
OH	: Hidroksi Radikal
¹ O ₂	: Singlet Oksigen
ONOO ⁻	: Toxic Peroxynitrite
PH	: Poisioning Hydrogen
PO	: Phenoloksidase
ProPO	: Prophenoloksidase
ppA	: Pro-ppA
RAK	: Rancangan Acak Kelompok
RB	: Respiratory Burst
ROLS	: Reaktive Oxygen Intermedietes
S	: Serbuk
SOD	: Superoxide Dimultasi
THC	: Total Hemocyte Count
WSSV	: White Spot Syndrom Virus

Lampiran 1. Alat dan Bahan

A. Alat yang digunakan pada saat penelitian adalah sebagai berikut :

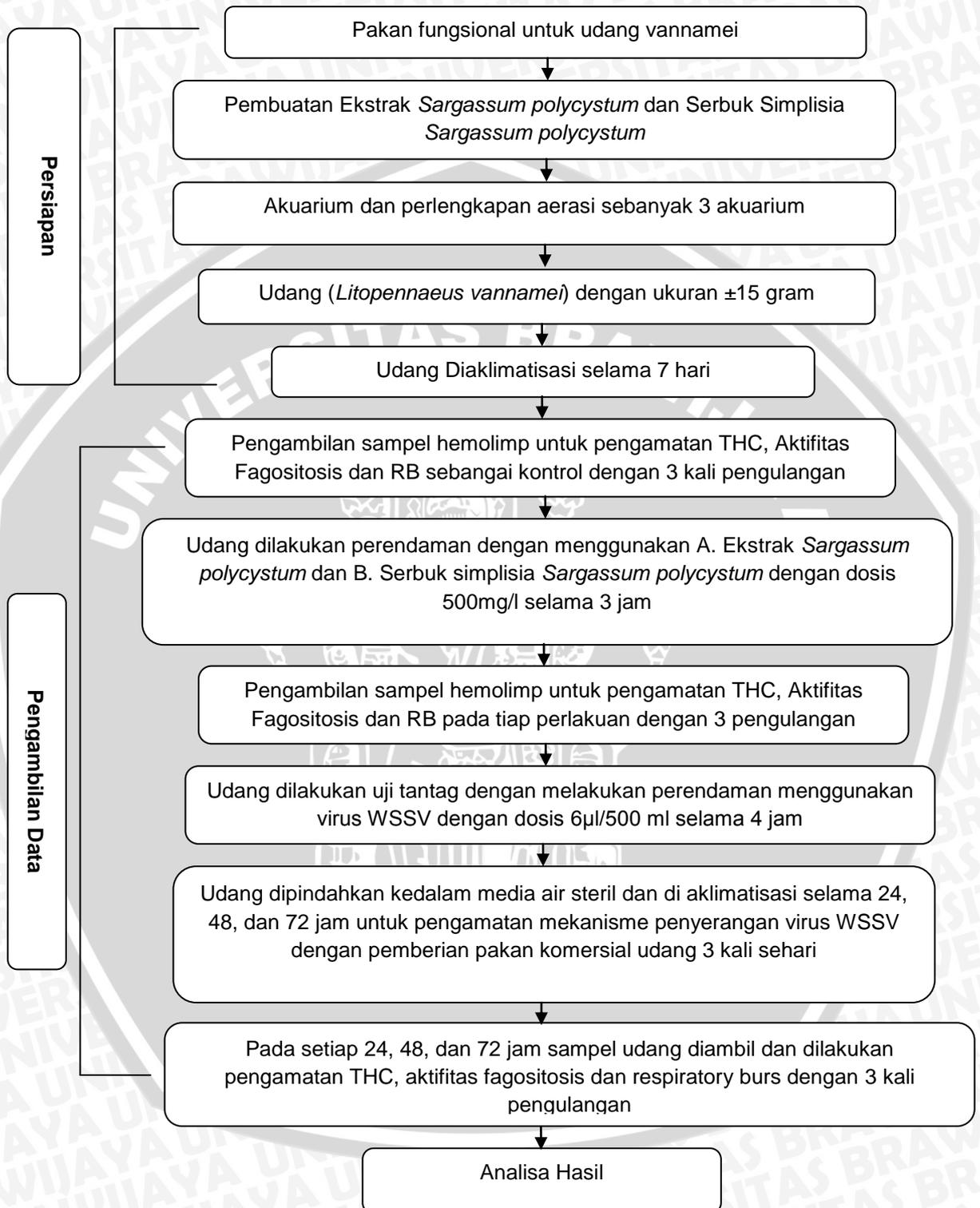
No	Alat	Fungsi
1	Erlenmeyer 250 ml	Sebagai tempat Sargassum pada saat maserasi
2	Labu Ukur 50,100 ml	Untuk mengukur larutan
3	Gelas Ukur	Untuk mengukur larutan
4	Shaker	Sebagai alat pengaduk pada saat proses maserasi
5	Timbangan analitik	Untuk enimbang sampel <i>Sargassum polycystum</i>
6	Pipet volume 1ml, 2 ml	Untuk mengambil larutan dalam skala kacil
7	Beaker glass	Sebagai wadah penampung sementara
8	Sendok pengaduk	Untuk mengaduklarutan dan
9	Nampan	Sebagai tempat alat dan bahan
10	Oven listrik	Sebagai alat sterilisasi
11	Lemari es	Sebagai tempat penyimpanan hasil ekstraksi
12	Ayakan	Suntuk mengayak <i>Sargassum polycystum</i>
13	Baskom	Sebagai wadah penampung sementara
14	Rotary evaporator	Sebagai alat untuk proses ekstraksi
15	Botol ekstrak	Sebagai tempat hasil ekstraksi
16	Gunting	Untuk membantu proses pemotongan sampel
17	Akuarium	Sebagai media hidup udang <i>L. vannamei</i>
18	Selang	Sebagai penyalur aerasi pda tiap tiap akuarium
19	Aerator dan batu aerator	Sebagai pensuplai O ₂ di dalam akuarium
20	pH meter	Untuk mengukur pH
21	Do meterrefraktometer	Untuk mengukur DO
22	Thermometer	Untuk mengukur suhu
23	Syringe 1 ml	Untuk mengambil darah ikan
24	Jarum suntik	Untuk mengambil darah ikan
25	Eppendorf	Sebagai tempat sampel darah ikan uji
26	Mikroskop	Sebagai alat pengamatan hemosit dan aktifitas fagositosis
27	Mikroplate	Sebagai tempat sampel uji <i>respiratory burst</i> (uji kandungan anion superoksida)
28	Objek glass dan cover glass	Untuk tempat darah yang diamati di mikroskop dan sebagai penutup obyek glass
29	Haemocytometer	Untuk menghitung jumlah eritrosit dan leukosit
30	Hand tally counter	Sebagai alat bantu menghitung jumlah sel makrofag
31	Sentrifuge	Sebagai alat sentrifugasi
32	Mikropipet	Untuk mengambil larutan dalam skala kecil
33	Inkubator	Sebagai tempat inkubasi
34	Elisa reader	Sebagai alat uji kandungan anion superoksida dengan panjang gelombang 620 nm
35	Corong	Untuk membantu memasukkan larutan
36	Bola hisap	Sebagai alat bantu untuk mengambil larutan

NO	Alat	Fungsi
37	Kamera digital	Sebagai alat dokumentasi pengambilan gambar
38	Blue dan yellow tip	Sebagai alat pada mikropipet untuk membantu mengambil larutan dalam skala kecil
39	Stopwatch	Untuk menghitung waktu yang ditentukan
40	Jarum ose	Sebagai alat pengambilan bakteri
41	bunsen	Untuk pengkondisian agar tetap steril
42	Cawan petri	Sebagai tempat perkembangbiakan bakteri

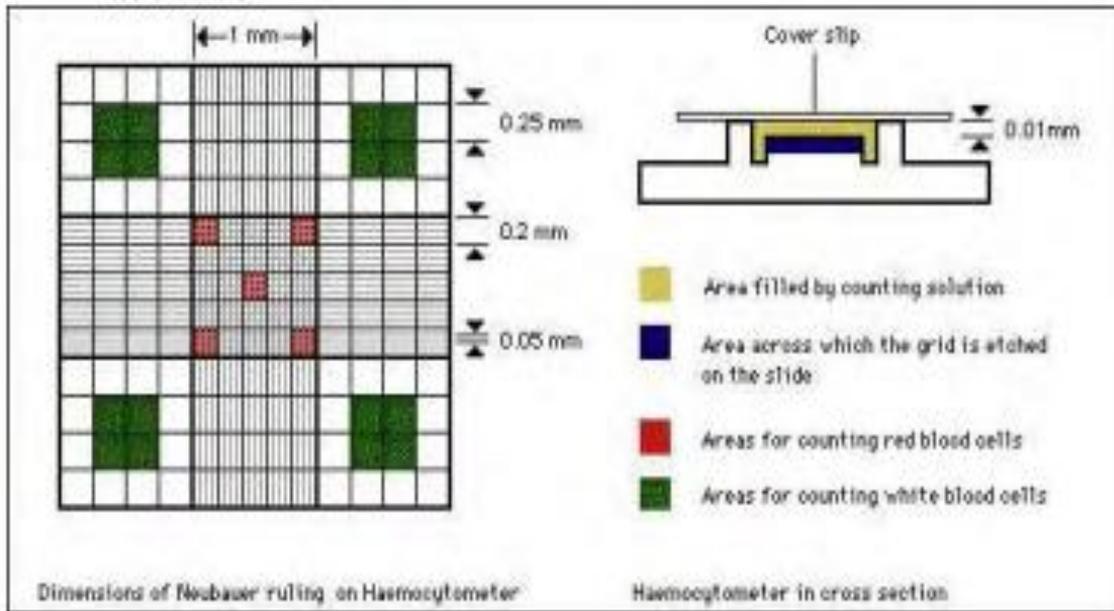
B. Bahan yang digunakan pada saat penelitian adalah sebagai berikut :

No	Bahan	Fungsi
1	<i>Sargassum polycystum</i>	Sebagai bahan campuran pakan
2	<i>Sargassum</i>	Sebagai bahan campuran pakan
3	Udang (<i>Litopanneous vannamei</i>)	Sebagai hewan uji pengambilan sampel hemolimf
4	Pakan udang komersial	Sebagai pakan udang <i>L. vannamei</i>
5	Etanol / N- Heksan	Sebagai pelarut
6	Aquades	Sebagai bahan sterilisasi alat
7	Bakteri vibrio	Sebagai bahan uji aktivitas fagositosis
8	Tryplan blue	Sebagai bahan uji perhitungan hemosit
9	Gymsa	Sebagai bahan uji aktivitas bakteri
10	Alkohol	Sebagai bahan sterilisasi alat
11	Tissue	Untuk membersihkan alat yang telah digunakan
12	Kertas label	Untuk menandai alat agar tidak tertukar
13	Masker	Sebagai penutup mulut
14	Sarung tangan	Sebagai penutup tangan
15	EDTA / Na sitrat 10 %	Sebagai antikoagulan
16	Aluminium foil	Sebagai penutup erlenmeyer pada saat dimasukkan kedalam kulkas
17	HBSS	Sebagai larutan buffer
18	NBT 0,3 %	Sebagai pewarna pada pembacaan uji anion superoksida
19	Methanol absolut	Untuk menghentikan proses staining
20	Methanol 70 %	Sebagai pelarut
21	KOH 2M	Untuk melarutkan formazan sitoplasma
22	DMSO	Untuk melarutkan formazan sitoplasma
23	Kertas saring	Untuk menyaring <i>Sargassum</i> pada saat proses maserasi
24	spritus	Sebagai bahan pengisian bunsen
25	TSA	Sebagai media pengkulturan bakteri
26	NACl	Sebagai media pengkulturan bakteri

Lampiran 2. Tahapan Penelitian



Lampiran 3. Kamar Hitung Haemocytometer (Vonti, 2009)



Lampiran 4. Data hasil perhitungan THC (*Total Hemocyte Count*)

PERLAKUAN	KE-	ULANGAN	RATA RATA	STAND.DEV	
EKSTRAK	0	1	3105000	3500000	736733
		2	3045000		
		3	4350000		
	4	1	2100000	1325000	671212
		2	930000		
		3	945000		
	24	1	1335000	890000	386038
		2	645000		
		3	690000		
	48	1	1395000	870000	510661
		2	375000		
		3	840000		
	72	1	2145000	810000	1156363
		2	165000		
		3	120000		
SERBUK	0	1	2940000	2810000	610471
		2	2145000		
		3	3345000		
	4	1	1335000	910000	371786
		2	750000		
		3	645000		
	24	1	1485000	835000	567891
		2	435000		
		3	585000		
	48	1	1200000	695000	437921
		2	420000		
		3	465000		
	72	1	345000	495000	368646
		2	225000		
		3	915000		
KONTROL POSITIF	0	1	3105000	1975000	981478
		2	1335000		
		3	1485000		
	4	1	2100000	1230000	768228
		2	645000		
		3	945000		
	24	1	1485000	885000	519615
		2	585000		
		3	585000		
	48	1	2100000	795000	1130387
		2	165000		
		3	120000		
	72	1	840000	575000	230597
		2	420000		
		3	465000		
KONTROL NEGATIF	0	1	2940000	2590000	978149
		2	1485000		
		3	3345000		

Lampiran 5. Analisis THC (Total Hemocyte Count) menggunakan RAK (Rancangan Acak Kelompok)

PERLAKUAN	KELOMPOK			JUMLAH	RATA RATA
	EKSTRAK	SERBUK	KONTROL POSITIF		
0	3500000	2810000	1975000	8285000	2761666.667
4	1325000	910000	1230000	3465000	1155000
24	890000	835000	885000	2610000	870000
48	870000	695000	795000	2360000	786666.6667
72	810000	495000	575000	1880000	940000
JUMLAH	7395000	5745000	5460000	18600000	9300000

$$\begin{aligned}
 1. \text{ FAKTOR KOREKSI (FK)} &= (\sum_i \sum_j \sum_{ij})^2 / rp \\
 &= Y_2 / rp \\
 &= 18600000^2 / (3 \times 5) \\
 &= 2,3064 \times 10^{13}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ JK TOTAL (JKT)} &= \sum_i \sum_j \sum_{ij}^2 - FK \\
 &= 350000^2 + 1325000^2 + 890000^2 + 870000^2 + 810000^2 + \dots + 575000^2 - FK \\
 &= 1,04556 \times 10^{13}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK PERLAKUAN (JKP)} &= \sum_j (\sum_i \sum_{ij})^2 / p - FK \\
 &= (8285000^2 + 3465000^2 + 2610000^2 + 2360000^2 + 1880000^2 / 3) - FK \\
 &= 9,12385 \times 10^{12}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK KELOMPOK (JKK)} &= \sum_i (\sum_j \sum_{ij})^2 / r - FK \\
 &= (7395000^2 + 5745000^2 + 5460000^2 / 5) - FK
 \end{aligned}$$

$$= 4,3653 \times 10^{11}$$

5. JK GALAT = JK TOTAL- JK KELOMPOK- JK PERLAKUAN

$$= 1,04556 \times 10^{13} - 9,12385 \times 10^{12} - 4,3653 \times 10^{11}$$

$$= 8,952210^{11}$$

TABEL SIDIK RAGAM

SUMBER KERAGAMAN	DB	JK	KT	F. HIT	F.TABEL 5%	F.TABEL 1%
PERLAKUAN	4	9.12385E+12	2.28096E+12	20.38348116**	4.46	8.65
KELOMPOK	2	4.3653E+11	2.18265E+11	1.950492616	3.84	7.01
GALAT	8	8.9522E+11	1.11903E+11			
TOTAL	14	1.04556E+13				

Ket : ** = Sangat signifikan

PERLAKUAN: F HITUNG LEBIH BESAR DARI F TABEL 5% DAN F TABEL 1%

KELOMPOK : F HITUNG KURANG DARI F TABEL 5% DAN F TABEL 1%

DITERUSKAN KE UJI BNT (BEDA NYATA TERKECIL)

$$SED = \sqrt{\frac{2KTG}{r}}$$

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times 1.11903 \times 10^{11}}{3}}$$

$$SED = 273133,0567$$

$$\text{BNT } 5\% = 2,306 \times 273133,0567$$

$$= 629844,8288$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= 3,355 \times 273133,0567 \\ &= 916361,4053 \end{aligned}$$

RATA RATA PERLAKUAN		48	24	72	4	0	NOTASI
		786666	870000	940000	1155000	27616666	
48	786666	0 ^{ns}					a
24	870000	83334 ^{ns}	0 ^{ns}				a
72	940000	153334 ^{ns}	70000 ^{ns}	0 ^{ns}			a
4	1155000	368334 ^{ns}	285000 ^{ns}	215000 ^{ns}	0 ^{ns}		a
0	27616666	26830000**	26746666**	26676666**	26461666**	0 ^{ns}	b

Ket : ns: non signifikan

*: Signifikan

** : Sangat signifikan

→ Jadi pada perlakuan setelah dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) setelah 4, 24, 48 dan 72 jam berbeda sangat nyata dengan perlakuan tanpa dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) yaitu pada jam ke 0

Dilanjutkan ke Uji Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci			Ci×ti		
		Linear	Kuadratik	Kubik	linier	kuadratik	kubik
0	8285000	-2	2	-1	-16570000	16570000	-8285000
4	3465000	-1	-1	2	-3465000	-3465000	6930000
24	2610000	0	-2	0	0	-5220000	0
48	2360000	1	-1	-2	2360000	-2360000	-4720000
72	1880000	2	2	1	3760000	3760000	1880000
Q=∑Ci×Ti		-13915000	9285000	-4195000			
Kr=(∑Ci²)×r		30	42	30			
JK=Q²/Kr		6.45424E+12	2.05265E+12	5.86601E+11			

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber keragaman	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	9.09349E+12			3.84	7.01
Linear	1	6.45424E+12	6.45424E+12	57.6773605		
Kuadratik	1	2.05265E+12	2.05265E+12	18.3431846		
Kubik	1	5.86601E+11	5.86601E+11	5.24207085		
Acak	8	8.9522E+11	1.11903E+11			
Total	14					

Keterangan : **REGRESI BERBEDA SANGAT NYATA (**), MAKA DIHITUNG R² MASING MASING REGRESI TERSEBUT:**

$$R^2 \text{ Linier} = (\text{JK LINIER} / (\text{JK LINIER} + \text{JK GALAT})) \\ = 0,87$$

$$R^2 \text{ KUADRATIK} = (\text{JK KUADRATIK} / (\text{JK KUADRATIK} + \text{JK GALAT})) \\ = 0,69$$

$$R^2 \text{ KUBIK} = (\text{JK KUBIK} / (\text{JK KUBIK} + \text{JK GALAT})) \\ = 0,39$$

➔ Jadi yang sesuai digunakan untuk mengetahui hubungan kurva respon menggunakan hubungan linier karena R² linier lebih besar daripada R² kuadratik dan R² kubik

PENGARUH PERLAKUAN EKSTRAK, SERBUK SIMPLISIA *Sargassum polycystum* DAN KONTROL POSITIF TERHADAP PERLAKUAN WAKTU

PERLAKUAN	KELOMPOK					JUMLAH	RATA RATA
	0	4	24	48	72		
EKSTRAK	3500000	1325000	890000	870000	810000	$Y_1=7395000$	1479000
SEBUK	2810000	910000	835000	695000	495000	$Y_2=5745000$	1149000
KONTROL POSITIF	1975000	1230000	885000	795000	575000	$Y_3=5460000$	1092000
JUMLAH	$Y_1=8285000$	$Y_2=3465000$	$Y_3=2610000$	$Y_4=2360000$	$Y_5=1880000$	$Y=18600000$	3720000

$$\begin{aligned}
 1. \text{ FAKTOR KOREKSI (FK)} &= (\sum_i \sum_j \sum_{ij}^2) / rp \\
 &= Y_2 / rp \\
 &= 18600000^2 / (5 \times 3) \\
 &= 2,3064 \times 10^{13}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ JK TOTAL (JKT)} &= \sum_i \sum_j \sum_{ij}^2 - FK \\
 &= 350000^2 + 1325000^2 + 890000^2 + 870000^2 + 810000^2 + \dots + 575000^2 - FK \\
 &= 1,04556 \times 10^{13}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK KELOMPOK (JKK)} &= \sum_j (\sum_i \sum_{ij}^2) / p - FK \\
 &= (8285000^2 + 3465000^2 + 2610000^2 + 2360000^2 + 1880000^2 / 3) - FK \\
 &= 9,12385 \times 10^{12}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK PERLAKUAN (JKP)} &= \sum_i (\sum_j \sum_{ij}^2) / r - FK \\
 &= (7395000^2 + 5745000^2 + 5460000^2 / 5) - FK \\
 &= 4,3653 \times 10^{11}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ JK GALAT} &= \text{JK TOTAL} - \text{JK KELOMPOK} - \text{JK PERLAKUAN} \\
 &= 1,04556 \times 10^{13} - 9,12385 \times 10^{12} - 4,3653 \times 10^{11} \\
 &= 8,952210^{11}
 \end{aligned}$$

TABEL SIDIK RAGAM

SUMBER KERAGAMAN	DB	JK	KT	F. HIT	F.TABEL 5%	F.TABEL 1%
PERLAKUAN	2	4.3653E+11	2.18265E+11	1.950492616	3.84	7.01
KELOMPOK	4	9.12385E+12	2.28096E+12	20.38348116**	4.46	8.65
GALAT	8	8.9522E+11	1.11903E+11			
TOTAL	14	1.04556E+13				

**= Sangat signifikan

KETERANGAN : PERLAKUAN : F HITUNG < F TABEL 1% DAN F TABEL 5%

KELOMPOK: F HITUNG > F TABEL 1 % DAN F TABEL 5%

Dilanjutkan ke Uji BNT

$$SED = \sqrt{\frac{2KTG}{r}}$$

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times 1.11903 \times 10^{11}}{5}}$$

$$SED = 211567,956$$

$$\text{BNT } 5\% = 2,306 \times 211567,956$$

$$= 487875,707$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= 3,355 \times 211567,956 \\ &= 709810,492 \end{aligned}$$

RATA RATA PERLAKUAN		KONTROL POSITIF	SERBUK	EKSTRAK	NOTASI
		1092000	1149000	1479000	
KONTROL POSITIF	1092000	0 ^{ns}			a
SERBUK	1149000	57000 ^{ns}	0 ^{ns}		a
EKSTRAK	1479000	387000 ^{ns}	330000 ^{ns}	0 ^{ns}	a

Keterangan : ns: non signifikan (Tidak berbeda nyata)

- i. Jadi tidak ada perbedaan perlakuan pemberian ekstrak *Sargassum polycystum*, Serbuk *Sargassum polycystum* dan kontrol negatif udang terinfeksi virus WSSV terhadap peningkatan jumlah total hemosit

Dilanjutkan ke Uji Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci			Cixti		
		Linear	Kuadratik	Kubik	linier	kuadratik	kubik
EKSTRAK	7395000	-2	2	-1	-14790000	14790000	-7395000
SEBUK	5745000	-1	-1	2	-5745000	-5745000	11490000
KONTROL POSITIF	5460000	0	-2	0	0	-10920000	0
$Q = \sum C_i \times T_i$		-20535000	-1875000	4095000			
$Kr = (\sum C_i^2) \times r$		25	45	25			
$JK = Q^2 / Kr$		1.68674E+13	78125000000	6.70761E+11			

Tabel Regresi

Sumber keragaman	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1.76163E+13			4.46	8.65
Linear	1	1.68674E+13	1.68674E+13	150.7334421**		

Kuadratik	1	78125000000	78125000000	0.698152409
Kubik	1	6.70761E+11	6.70761E+11	5.994155627
Acak	8	8.9522E+11	1.11903E+11	
Total	14			

Keterangan : **REGRESI BERBEDA SANGAT NYATA (**), MAKA DIHITUNG R² MASING MASING REGRESI TERSEBUT:**

$$R^2 \text{ Linier} = (\text{JK LINIER} / (\text{JK LINIER} + \text{JK GALAT}))$$

$$= 0,94$$

$$R^2 \text{ KUADRATIK} = (\text{JK KUADRATIK} / (\text{JK KUADRATIK} + \text{JK GALAT}))$$

$$= 0,08$$

$$R^2 \text{ KUBIK} = (\text{JK KUBIK} / (\text{JK KUBIK} + \text{JK GALAT}))$$

$$= 0,42$$

→ Jadi yang sesuai digunakan untuk mengetahui hubungan kurva respon menggunakan hubungan linier karena R² linier lebih besar daripada R² kuadratik dan R² kubik



Lampiran 6. Data hasil perhitungan Aktifitas Fagositosis

KELOMPOK	PERLAKUAN	ULANGAN		RATA RATA	ST. DEV
		1	2		
EKSTRAK	0	1	25	20.0	5.6
		2	21		
		3	14		
	4	1	17	16.3	2.1
		2	18		
		3	14		
	24	1	11	13.3	2.1
		2	14		
		3	15		
	48	1	14	13.3	1.2
		2	12		
		3	14		
72	1	14	14.0	6.0	
	2	20			
	3	8			
SERBUK	0	1	29	24.7	4.0
		2	24		
		3	21		
	4	1	5	13.0	8.5
		2	12		
		3	22		
	24	1	7	7.7	3.1
		2	11		
		3	5		
	48	1	34	17.3	14.6
		2	7		
		3	11		
72	1	7	7.0	2.0	
	2	9			
	3	5			
KONTROL NEGATIF	0	1	25	20.0	5.6
		2	21		
		3	14		
	4	1	5	11.3	6.0
		2	12		
		3	17		
	24	1	12	12.33	0.6
		2	12		
		3	13		
	48	1	5	13.00	8.5
		2	12		
		3	22		
72	1	7	7.33	2.5	
	2	10			
	3	5			
KONTROL POSITIF	0	1	25	21.00	4.0
		2	21		
		3	17		

Lampiran 7. Perhitungan Aktifitas Fagositosis menggunakan RAK (Rancangan Acak Kelompok)

PERLAKUAN	KELOMPOK			JUMLAH	RATA RATA
	EKSTRAK	SERBUK	KONTROL POSITIF		
0	20	24.7	20	64.7	21.56666667
4	16.3	13.3	11.3	40.9	13.63333333
24	13.3	7.7	12.33	33.33	11.11
48	13.3	17.3	13	43.6	14.53333333
72	14	7	7.33	28.33	14.165
JUMLAH	76.9	70	63.96	210.86	105.43

$$\begin{aligned}
 1. \text{ FAKTOR KOREKSI (FK)} &= (\sum_i \sum_j \sum_{ij})^2 / rp \\
 &= Y_2 / rp \\
 &= 210,86^2 / (3 \times 5) \\
 &= 2964,129
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ JK TOTAL (JKT)} &= \sum_i \sum_j \sum_{ij}^2 - \text{FK} \\
 &= 20^2 + 16,3^2 + 13,3^2 + 13,3^2 + 14^2 + \dots + 7,33^2 - \text{FK} \\
 &= 348,348
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK PERLAKUAN (JKP)} &= \sum_j (\sum_i \sum_{ij})^2 / p - \text{FK} \\
 &= (64,7^2 + 40,9^2 + 33,33^2 + 43,6^2 + 28,33^2 / 3) - \text{FK} \\
 &= 260,316
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK KELOMPOK (JKK)} &= \sum_i (\sum_j \sum_{ij})^2 / r - \text{FK} \\
 &= (76,9^2 + 70^2 + 63,96^2 / 5) - \text{FK}
 \end{aligned}$$

$$= 16,769$$

5. JK GALAT = JK TOTAL- JK PERLAKUAN- JK KELOMPOK
 = 348,348- 260,316-16,769
 = 71,262

Tabel Sidik Ragam

SUMBER KERAGAMAN	DB	JK	KT	F. HIT	F.TABEL 5%	F.TABEL 1%
PERLAKUAN	4	260.3166267	65.07916	7.305815428*	4.46	8.65
KELOMPOK	2	16.76901333	8.384507	0.941248493	3.84	7.01
GALAT	8	71.26285333	8.907857			
TOTAL	14	348.3484933				

Ket: *= Signifikan

Ket : PERLAKUAN: F HITUNG LEBIH BESAR DARI F TABEL 5% TETAPI KURANG DARI F TABEL 1%
 KELOMPOK: F TABEL KURANG DARI F TABEL 5% DAN F TABEL 1%

Dilanjutkan ke Uji BNT

$$SED = \sqrt{\frac{2KTG}{r}}$$

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times 8,9078}{3}}$$

$$SED = 2,4369$$

$$\text{BNT } 5\% = 2,306 \times 2,4369$$

$$= 5,6195$$

$$\text{BNT } 1\% = 3,355 \times 2,4369$$

$$= 8,1758$$

RATA RATA PERLAKUAN		24	4	72	48	0	NOTASI
		11.11	13.637	14.165	14.533	21.56	
24	11.11	0 ^{ns}					a
4	13.637	2.527 ^{ns}	0 ^{ns}				a
72	14.165	3.055 ^{ns}	0.528 ^{ns}	0 ^{ns}			a
48	14.533	3.423 ^{ns}	0.896 ^{ns}	0.368 ^{ns}	0 ^{ns}		a
0	21.56	10.45**	7.923*	7.395*	7.027*	0 ^{ns}	b

Ket : ns: non signifikan

*: Signifikan

** : Sangat signifikan

- ii. Jadi pada perlakuan setelah dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) setelah 4, 24, 48 dan 72 jam berbeda sangat nyata dengan perlakuan tanpa dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) yaitu pada jam ke 0

Uji Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci			Ci×ti		
		Linear	Kuadratik	Kubik	linier	kuadratik	kubik
0	64.7	-2	2	-1	-129.4	129.4	-64.7
4	40.9	-1	-1	2	-40.9	-40.9	81.8
24	33.33	0	-2	0	0	-66.66	0
48	43.6	1	-1	-2	43.6	-43.6	-87.2
72	28.33	2	2	1	56.66	56.66	28.33
Q=∑Ci×Ti		-70.04	34.9	-41.77			
Kr=(∑Ci²)×r		30	42	30			
JK=Q²/Kr		163.5200533	29.0002381	58.15776333			

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber keragaman	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	250.6780548				
Linear	1	163.5200533	163.5200533	18.35683481	3.84	7.01
Kuadratik	1	29.0002381	29.0002381	3.255579785		
Kubik	1	58.15776333	58.15776333	6.528816696		
Acak	8	71.26285333	8.907856667			
Total	14					

Keterangan : **REGRESI BERBEDA SANGAT NYATA (**), MAKA DIHITUNG R² MASING MASING REGRESI TERSEBUT:**

$$R^2 \text{ Linier} = (\text{JK LINIER} / (\text{JK LINIER} + \text{JK GALAT}))$$

$$= 0,696$$

$$R^2 \text{ KUADRATIK} = (\text{JK KUADRATIK} / (\text{JK KUADRATIK} + \text{JK GALAT}))$$

$$= 0,289$$

$$R^2 \text{ KUBIK} = (\text{JK KUBIK} / (\text{JK KUBIK} + \text{JK GALAT}))$$

$$= 0,44$$

→ Jadi yang sesuai digunakan untuk mengetahui hubungan kurva respon menggunakan hubungan linier karena R² linier lebih besar daripada R² kuadratik dan R² kubik

PENGARUH PERLAKUAN EKSTRAK, SERBUK SIMPLISIA *Sargassum polycystum* DAN KONTROL POSITIF TERHADAP PERLAKUAN WAKTU

PERLAKUAN	KELOMPOK					JUMLAH	RATA RATA
	0	4	24	48	72		
EKSTRAK	20	16.3	13.3	13.3	14	76.9	15.38
SEBUK	24.7	13.3	7.7	17.3	7	70	14
KONTROL POSITIF	20	11.3	12.33	13	7.33	63.96	12.792
JUMLAH	64.7	40.9	33.33	43.6	28.33	210.86	42.172

$$\begin{aligned}
 1. \text{ FAKTOR KOREKSI (FK)} &= (\sum_i \sum_j \sum_{ij})^2 / rp \\
 &= Y_2 / rp \\
 &= 210,86^2 / (5 \times 3) \\
 &= 2964,129
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ JK TOTAL (JKT)} &= \sum_i \sum_j \sum_{ij}^2 - FK \\
 &= 20^2 + 16,3^2 + 13,3^2 + 13,3^2 + 14^2 + \dots + 7,33^2 - FK \\
 &= 348,348
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK KELOMPOK (JKK)} &= \sum_j (\sum_i \sum_{ij})^2 / p - FK \\
 &= (64,7^2 + 40,9^2 + 33,33^2 + 43,6^2 + 28,33^2 / 3) - FK \\
 &= 260,316
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK PERLAKUAN (JKP)} &= \sum_i (\sum_j \sum_{ij})^2 / r - FK \\
 &= (76,9^2 + 70^2 + 63,96^2 / 5) - FK \\
 &= 16,769
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ JK GALAT} &= \text{JK TOTAL} - \text{JK KELOMPOK} - \text{JK PERLAKUAN} \\
 &= 348,348 - 260,316 - 16,769 \\
 &= 71,262
 \end{aligned}$$

Tabel Analisa Sidik Ragam

SUMBER KERAGAMAN	DB	JK	KT	F. HIT	F.TABEL 5%	F.TABEL 1%
PERLAKUAN	2	16.76901333	8.384506667	0.941248493	3.84	7.01
KELOMPOK	4	260.3166267	65.07915667	7.305815428**	4.46	8.65
GALAT	8	71.26285333	8.907856667			
TOTAL	14	348.3484933				

Ket : ** = Berbeda Sangat Nyata

Keterangan : PERLAKUAN: F HITUNG KURANG DARI F TABEL 5 % DAN F TABEL 1%

KELOMPOK: F HITUNG LEBIH DARI F TABEL 5% DAN F TABEL 1%

Dilanjutkan ke Uji BNT

$$SED = \sqrt{\frac{2KTG}{r}}$$

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times 8,9078}{5}}$$

$$SED = 1,8876$$

$$\text{BNT } 5\% = 2,306 \times 1,8876$$

$$= 4,3528$$

$$\text{BNT } 1\% = 3,355 \times 1,8876$$

$$= 6,3329$$

RATA RATA PERLAKUAN		KONTROL POSITIF	SERBUK	EKSTRAK	NOTASI
		180.48956	238.912	243.094	
KONTROL POSITIF	180.48956	0 ^{ns}			a
SERBUK	238.912	58.42244**	0 ^{ns}		b
EKSTRAK	243.094	62.60444**	4.182 ^{ns}	0 ^{ns}	b

Ket : ns: non signifikan

*: Signifikan

** : Sangat signifikan

- iii. Jadi tidak ada perbedaan perlakuan pemberian ekstrak *Sargassum polycystum*, Serbuk *Sargassum polycystum* tetapi berbeda nyata dengan perlakuan kontrol negatif udang terinfeksi virus WSSV terhadap peningkatan Aktifitas fagositosis

Uji Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci			Ci x Ti		
		Linear	Kuadratik	Kubik	linier	kuadratik	kubik
EKSTRAK	76.9	-2	2	-1	-153.8	153.8	-76.9
SEBUK	70	-1	-1	2	-70	-70	140
KONTROL POSITIF	63.96	0	-2	0	0	-127.92	0
$Q = \sum Ci \times Ti$		-223.8	-44.12	63.1			
$Kr = (\sum Ci^2) \times r$		25	45	25			
$JK = Q^2 / Kr$		2003.4576	43.25720889	159.2644			

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber keragaman	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	2205.979209			4.46	8.65
Linear	1	2003.4576	2003.4576	224.9090522		
Kuadratik	1	43.25720889	43.25720889	4.856073746		
Kubik	1	159.2644	159.2644	17.87909325		
Acak	8	71.26285333	8.907856667			
Total	14					

Keterangan : **REGRESI BERBEDA SANGAT NYATA (**), MAKA DIHITUNG R² MASIING MASIING REGRESI TERSEBUT:**

$$R^2 \text{ Linier} = (\text{JK LINIER} / (\text{JK LINIER} + \text{JK GALAT})) \\ = 0,965$$

$$R^2 \text{ KUADRATIK} = (\text{JK KUADRATIK} / (\text{JK KUADRATIK} + \text{JK GALAT})) \\ = 0,377$$

$$R^2 \text{ KUBIK} = (\text{JK KUBIK} / (\text{JK KUBIK} + \text{JK GALAT})) \\ = 0,6908$$

→ Jadi yang sesuai digunakan untuk mengetahui hubungan kurva respon menggunakan hubungan linier karena R² linier lebih besar daripada R² kuadratik dan R² kubik



Lampiran 8. Data hasil perhitungan *Respiratory Burst*

KELOMPOK	PERLAKUAN	ULANGAN	RATA RATA	ST. DEV	
EKSTRAK	0	1	0.412	0.66	0.11
		2	0.35		
		3	0.207		
	4	1	0.377	0.34	0.04
		2	0.342		
		3	0.291		
	24	1	0.658	0.36	0.26
		2	0.271		
		3	0.154		
	48	1	0.277	0.37	0.20
		2	0.594		
		3	0.238		
	72	1	0.474	0.44	0.13
		2	0.549		
		3	0.293		
SERBUK	0	1	0.666	0.77	0.24
		2	1.040		
		3	0.600		
	4	1	0.289	0.31	0.05
		2	0.357		
		3	0.269		
	24	1	0.275	0.32	0.04
		2	0.359		
		3	0.318		
	48	1	0.614	0.57	0.04
		2	0.583		
		3	0.526		
	72	1	0.218	0.46	0.27
		2	0.409		
		3	0.745		
KONTROL NEGATIF	0	1	0.275	0.32	0.04
		2	0.359		
		3	0.318		
	4	1	0.275	0.25	0.03
		2	0.269		
		3	0.218		
	24	1	0.275	0.27	0.05
		2	0.218		
		3	0.318		
	48	1	0.275	0.29	0.03
		2	0.269		
		3	0.318		
	72	1	0.275	0.24	0.03
		2	0.218		
		3	0.218		
KONTROL POSITIF	0	1	0.377	0.35	0.03
		2	0.359		
		3	0.318		

Lampiran 9. Analisis *Respiratory Burst* menggunakan RAK (Rancangan Acak Kelompok)

PERLAKUAN	KELOMPOK			JUMLAH	RATA RATA
	EKSTRAK	SERBUK	KONTROL POSITIF		
0	0.66	0.77	0.32	1.75	0.583333333
4	0.34	0.31	0.25	0.9	0.3
24	0.36	0.32	0.27	0.95	0.316666667
48	0.37	0.57	0.29	1.23	0.41
72	0.44	0.46	0.24	1.14	0.57
JUMLAH	2.17	2.43	1.37	5.97	2.985

1. FAKTOR KOREKSI (FK) = $(\sum_i \sum_j \sum_{ij})^2 / rp$

$$= Y_2 / rp$$

$$= 5,97^2 / (5 \times 3)$$

$$= 2,376$$

2. JK TOTAL (JKT) = $\sum_i \sum_j \sum_{ij}^2 - FK$

$$= 0,66^2 + 0,34^2 + 0,36^2 + 0,37^2 + 0,44^2 + \dots + 0,24^2 - FK$$

$$= 0,342$$

3. JK PERLAKUAN (JKP) = $\sum_j (\sum_i \sum_{ij})^2 / p - FK$

$$= (1,75^2 + 0,9^2 + 0,95^2 + 1,23^2 + 1,14^2 / 3) - FK$$

$$= 0,1531$$

4. JK KELOMPOK (JKK) = $\sum_i (\sum_j \sum_{ij})^2 / r - FK$

$$= (2,17^2 + 2,43^2 + 1,37^2 / 5) - FK$$

$$= 0,122$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ JK GALAT} &= \text{JK TOTAL} - \text{JK PERLAKUAN} - \text{JK KELOMPOK} \\
 &= 0,342 - 0,153 - 0,122 \\
 &= 0,067
 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

SUMBER KERAGAMAN	DB	JK	KT	F. HIT	F.TABEL 5%	F.TABEL 1%
PERLAKUAN	4	0.153106667	0.038276667	4.539632338*	4.46	8.65
KELOMPOK	2	0.12208	0.06104	7.239375371**	3.84	7.01
GALAT	8	0.067453333	0.008431667			
TOTAL	14	0.34264				

Ket: *= Signifikan

**= Sangat Signifikan

Ket: PERLAKUAN
KELOMPOK

: F HITUNG LEBIH BESAR DARI F TABEL 5% TETAPI KURANG DARI F TABEL 1%
: F HITUNG LEBIH BESAR DARI F TABEL 5% DAN F TABEL 1%

Dilanjutkan ke Uji BNT

$$SED = \sqrt{\frac{2KTG}{r}}$$

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times 0,00843}{3}}$$

$$SED = 0,0749$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5\% &= 2,306 \times 0,0749 \\
 &= 0,17289
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 1\% &= 3,355 \times 0,0749 \\
 &= 0,25153
 \end{aligned}$$

RATA RATA PERLAKUAN		4	24	48	72	0	NOTASI
		0.3	0.316	0.41	0.57	0.58	
4	0.3	0 ^{ns}					a
24	0.316	0.016 ^{ns}	0 ^{ns}				a
48	0.41	0.11 ^{ns}	0.094 ^{ns}				a
72	0.57	0.27**	0.254**	0.16 ^{ns}	0 ^{ns}		b
0	0.58	0.28**	0.264**	0.17*	0.01 ^{ns}	0 ^{ns}	c

Ket : ns: non signifikan

*: Signifikan

** : Sangat signifikan

- iv. Jadi pada perlakuan setelah dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) setelah 4, 24, 48 jam berbeda sangat nyata dengan perlakuan tanpa dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) yaitu pada jam ke 0 dan perlakuan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) setelah 72 jam dan perlakuan perlakuan tanpa dilakukan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) yaitu pada jam ke 0 sangat berbeda nyata dengan perlakuan perendaman menggunakan virus WSSV (*White Spot Syndrom virus*) setelah 72 jam.

Uji polynomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci			Cixti		
		Linear	Kuadratik	Kubik	linier	kuadratik	kubik
0	1.75	-2	2	-1	-3.5	3.5	-1.75
4	0.9	-1	-1	2	-0.9	-0.9	1.8
24	0.95	0	-2	0	0	-1.9	0
48	1.23	1	-1	-2	1.23	-1.23	-2.46
72	1.14	2	2	1	2.28	2.28	1.14
Q=∑Ci×Ti		-0.89	1.75	-1.27			
Kr=(∑Ci²)×r		30	42	30			

$JK=Q^2/Kr$	0.026403333	0.072916667	0.053763333
-------------	-------------	-------------	-------------

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber keragaman	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	0.153083333			3.84	7.01
Linear	1	0.026403333	0.026403333	3.131448903		
Kuadratik	1	0.072916667	0.072916667	8.647954141		
Kubik	1	0.053763333	0.053763333	6.376358964		
Acak	8	0.067453333	0.008431667			
Total	14					

Keterangan : **REGRESI BERBEDA SANGAT NYATA (**), MAKA DIHITUNG R^2 MASING MASING REGRESI TERSEBUT:**

$$R^2 \text{ Linier} = (JK \text{ LINIER} / (JK \text{ LINIER} + JK \text{ GALAT})) \\ = 0,2813$$

$$R^2 \text{ KUADRATIK} = (JK \text{ KUADRATIK} / (JK \text{ KUADRATIK} + JK \text{ GALAT})) \\ = 0,5194$$

$$R^2 \text{ KUBIK} = (JK \text{ KUBIK} / (JK \text{ KUBIK} + JK \text{ GALAT})) \\ = 0,443$$

→ Jadi yang sesuai digunakan untuk mengetahui hubungan kurva respon menggunakan hubungan kuadratik karena R^2 kuadratik lebih besar daripada R^2 linier dan R^2 kubik

PENGARUH PERLAKUAN EKSTRAK, SERBUK SIMPLISIA *Sargassum polycystum* DAN KONTROL POSITIF TERHADAP PERLAKUAN WAKTU

PERLAKUAN	KELOMPOK					JUMLAH	RATA RATA
	0	4	24	48	72		
EKSTRAK	0.66	0.34	0.36	0.37	0.44	2.17	0.434
SEBUK	0.77	0.31	0.32	0.57	0.46	2.43	0.486
KONTROL POSITIF	0.32	0.25	0.27	0.29	0.24	1.37	0.274
JUMLAH	1.75	0.9	0.95	1.23	1.14	5.97	1.194

1. FAKTOR KOREKSI (FK) = $(\sum_i \sum_j \sum_{ij})^2 / rp$

$$= Y_2 / rp$$

$$= 5,97^2 / (5 \times 3)$$

$$= 2,376$$

2. JK TOTAL (JKT) = $\sum_i \sum_j \sum_{ij}^2 - FK$

$$= 0,66^2 + 0,34^2 + 0,36^2 + 0,37^2 + 0,44^2 + \dots + 0,24^2 - FK$$

$$= 0,342$$

3. JK KELOMPOK (JKK) = $\sum_j (\sum_i \sum_{ij})^2 / p - FK$

$$= (1,75^2 + 0,9^2 + 0,95^2 + 1,23^2 + 1,44^2 / 3) - FK$$

$$= 0,1531$$

4. JK PERLAKUAN (JKP) = $\sum_i (\sum_j \sum_{ij})^2 / r - FK$

$$= (2,17^2 + 2,43^2 + 1,37^2 / 5) - FK$$

$$= 0,122$$

$$\begin{aligned}
 \text{5. JK GALAT} &= \text{JK TOTAL} - \text{JK KELOMPOK} - \text{JK PERLAKUAN} \\
 &= 0,342 - 0,153 - 0,122 \\
 &= 0,067
 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

SUMBER KERAGAMAN	DB	JK	KT	F. HIT	F.TABEL 5%	F.TABEL 1%
PERLAKUAN	2	0.122208	0.06104	7.239375371**	3.84	7.01
KELOMPOK	4	0.153106667	0.038276667	4.539632338*	4.46	8.65
GALAT	8	0.067453333	0.008431667			
TOTAL	14	0.34264				

Ket: *= Berbeda Nyata

**= Berbeda Sangat Nyata

Ket: PERLAKUAN

: F HITUNG SANGAT BEBRBEDA NYATA DENGAN F TABEL 5% DAN F TABEL 1%

KELOMPOK

: F HITUNG LEBIH BESAR DARI F TABEL 5% TETAPI KURANG DARI F TABEL 1%

Dilanjutkan ke Uji BNT

$$SED = \sqrt{\frac{2KTG}{r}}$$

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times 0,00843}{5}}$$

$$SED = 0,058$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= 2,306 \times 0,058 \\
 &= 0,13392
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= 3,355 \times 0,058 \\
 &= 0,19484
 \end{aligned}$$

RATA RATA PERLAKUAN		KONTROL	EKSTRAK	SERBUK	NOTASI
		0.274	0.434	0.486	
KONTROL	0.274	0 ^{ns}			a
EKSTRAK	0.434	0.16*	0 ^{ns}		b
SERBUK	0.486	0.212**	0.052 ^{ns}	0 ^{ns}	c

Ket : ns: non signifikan *: Signifikan **: Sangat signifikan

- v. Jadi Perlakuan kontrol positif udang terserang WSSV (*White Spot Syndrom Virus*) berbeda nyata dengan perlakuan perendaman ekstrak *Sargassum polycystum* dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan perendaman serbuk *Sargassum polycystum*

Uji Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci			Cixti		
		Linear	Kuadratik	Kubik	linier	kuadratik	kubik
EKSTRAK	2.17	-2	2	-1	-4.34	4.34	-2.17
SEBUK	2.43	-1	-1	2	-2.43	-2.43	4.86
KONTROL POSITIF	1.37	0	-2	0	0	-2.74	0
$Q = \sum C_i \times T_i$		-6.77	-0.83	2.69			
$Kr = (\sum C_i^2) \times r$		25	45	25			
$JK = Q^2 / Kr$		1.833316	0.015308889	0.289444			

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber keragaman	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	2.138068889				
Linear	1	1.833316	1.833316	217.4322198	4.46	8.65
Kuadratik	1	0.015308889	0.015308889	1.81564209		

Kubik	1	0.289444	0.289444	34.32820716		
Acak	8	0.067453333	0.008431667			
Total	14					

Keterangan : **REGRESI BERBEDA SANGAT NYATA (**), MAKA DIHITUNG R² MASING MASING REGRESI TERSEBUT:**

$$R^2 \text{ Linier} = (\text{JK LINIER} / (\text{JK LINIER} + \text{JK GALAT}))$$

$$= 0,964$$

$$R^2 \text{ KUADRATIK} = (\text{JK KUADRATIK} / (\text{JK KUADRATIK} + \text{JK GALAT}))$$

$$= 0,184$$

$$R^2 \text{ KUBIK} = (\text{JK KUBIK} / (\text{JK KUBIK} + \text{JK GALAT}))$$

$$= 0,811$$

→ Jadi yang sesuai digunakan untuk mengetahui hubungan kurva respon menggunakan hubungan linier karena R² linier lebih besar daripada R² kuadratik dan R² kubik



Lampiran 10. Tabel hasil *Respiratory burst* menggunakan Elisa Reader dengan panjang gelombang 620 nm

Plate ID: 28051502 **Biotrak II Reader** Results
 Method : Anggi 280515
 Measurement Date : 29.05.15 01:05
 Measurement Filter : 620 nm

Legend: Layout / Absorbance

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BK -0.008	SM1 0.207	SM4 0.357	0.001	-0.003	0.004	0.001	0.012	0.017	0.015	0.002	0.014
B	BK 0.002	SM2 0.666	SM4 0.269	-0.001	0.004	0.020	0.029	0.017	0.008	0.011	0.005	-0.003
C	BK 0.006	SM2 1.040	SM5 0.474	0.014	0.013	0.028	0.012	0.113	0.022	0.023	0.014	-0.002
D	PC 0.738	SM2 0.600	SM5 0.549	0.013	0.017	0.027	0.036	0.052	0.160	0.011	0.010	0.003
E	PC 0.555	SM3 0.377	SM5 0.293	0.008	0.017	0.015	0.024	0.091	0.021	0.006	0.011	0.026
F	PC 0.919	SM3 0.342	SM6 0.218	0.024	0.015	0.008	0.008	0.020	0.016	0.006	0.006	0.005
G	SM1 1.412	SM3 0.291	SM6 0.409	0.003	0.014	0.002	0.020	0.015	0.006	0.024	0.003	0.032
H	SM1 0.350	SM4 0.289	SM6 0.745	-0.006	0.002	0.011	0.005	-0.002	0.003	0.001	0.005	0.005



Biotrak II Reader

Plate ID: 26051502

Results

Method : Anggi 260515
 Measurement Date : 27.05.15 01:12
 Measurement Filter : 620 nm

Legend: Layout / Absorbance

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
BK	SM1	SM4										
A	-0.007	0.074	0.333	0.001	0.008	0.016	0.019	0.006	0.008	-0.005	0.002	0.015
BK	SM2	SM4										
B	0.002	0.203	0.413	0.005	0.012	0.012	0.004	0.009	0.026	0.005	-0.008	0.003
BK	SM2											
C	0.004	0.262	0.015	0.016	0.039	0.008	0.046	0.025	0.049	0.019	0.005	0.005
PC	SM2											
D	0.254	0.231	0.014	0.014	0.026	0.022	0.020	0.022	0.039	0.016	0.005	0.011
PC	SM3											
E	0.796	0.221	0.011	0.016	0.026	0.018	0.017	0.014	0.014	0.001	0.011	0.000
PC	SM3											
F	0.584	0.176	0.010	0.007	0.021	0.013	0.019	0.013	-0.003	0.001	0.005	-0.003
SM1	SM3											
G	0.340	0.189	0.025	0.007	0.014	0.012	0.018	0.013	0.003	0.018	0.003	0.012
SM1	SM4											
H	0.093	0.329	0.002	0.013	0.006	0.022	0.012	0.003	0.015	0.016	0.012	0.019



Biotrak II Reader

Plate ID: 25051502

Results

Method : Anggi 250515
 Measurement Date : 26.05.15 02:07
 Measurement Filter : 620 nm

Legend: Layout / Absorbance

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
BK	SM3											
A	0.000	0.110	-0.240	-0.237	-0.238	-0.245	-0.249	-0.240	-0.248	-0.246	-0.241	-0.254
NC	SM3											
B	0.039	0.525	-0.238	-0.240	-0.245	-0.242	-0.248	-0.232	-0.244	-0.242	-0.240	-0.239
SM1	SM3											
C	-0.114	-0.005	-0.246	-0.234	-0.248	-0.244	-0.245	-0.240	-0.244	-0.237	-0.236	-0.248
SM1	SM4											
D	-0.041	0.050	-0.237	-0.236	-0.236	-0.241	-0.240	-0.245	-0.247	-0.241	-0.235	-0.243
SM1	SM4											
E	-0.162	0.238	-0.243	-0.247	-0.240	-0.243	-0.250	-0.249	-0.246	-0.244	-0.201	-0.244
SM2	SM4											
F	0.403	0.071	-0.248	-0.029	-0.247	-0.234	-0.241	-0.250	-0.242	-0.237	-0.243	-0.244
SM2	SM5											
G	0.393	0.085	-0.246	-0.251	-0.252	-0.245	-0.238	-0.244	-0.243	-0.236	-0.241	-0.253
SM2	SM5											
H	0.232	0.021	-0.251	-0.251	-0.251	-0.251	-0.257	-0.242	-0.247	-0.245	-0.246	-0.240



Lampiran 11. Foto Penelitian



Perendaman *Sargassum polycystum*



Pencucian *Sargassum polycystum*



Penjemuran *Sargassum polycystum*



Gambar Udang Sehat



Gambar Udang Terinfeksi WSSV

Foto proses ekstraksi alginat dari *Sargassum polycystum*



Sterilisasi alat



Penimbangan serbuk *Sargassum polycystum*



Melarutkan serbuk *Sargassum polycystum* dengan methanol



Proses Shaker



Proses Evaporasi