

**AKTIVITAS HIPERTROFI EPITHELIA DAN INCLUSION BODIES CELL PADA
SALURAN PENCERNAAN UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*)
YANG TERINFEKSI WSSV (*WHITE SPOT SYNDROME VIRUS*) DAN TELAH
DIBERI EKSTRAK *Gracilaria Verrucosa***

SKRIPSI

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

Oleh :

RIZKA AYU PRASTUTI

NIM. 115080100111084



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

**AKTIVITAS HIPERTROFI EPITHELIA DAN INCLUSION BODIES CELL PADA
SALURAN PENCERNAAN UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*)
YANG TERINFEKSI WSSV (*WHITE SPOT SYNDROME VIRUS*) DAN TELAH
DIBERI EKSTRAK *Gracilaria Verrucosa***

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

Oleh :

RIZKA AYU PRASTUTI

NIM. 115080100111084

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



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

SKRIPSI

AKTIVITAS HIPERTROFI EPITHELIA DAN INCLUSSION BODIES CELL PADA SALURAN PENCERNAAN UDANG VANNAMEI (*LITOPENAEUS VANNAMEI*) YANG TERINFEKSI WSSV (*WHITE SPOT SYNDROME VIRUS*) DAN TELAH DIBERI EKSTRAK *GRACILARIA VERRUCOSA*

Oleh :

RIZKA AYU PRASTUTI

NIM. 115080100111084

telah dipertahankan didepan penguji pada tanggal 14 Agustus 2015 dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No :

Tanggal :

Menyetujui,

Dosen Penguji I

(Ir. Putut Widjanarko, MP)

NIP. 19540101 198303 1 006

Tanggal :

Dosen Penguji II

(Nanik Retno Buwono, S.Pi., MP)

NIP. 8404200812004

Tanggal :

Dosen Pembimbing I

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

NIP. 19730702 200501 2 001

Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Ir. Kusriani, MP)

NIP. 19560417 198403 2 001

Tanggal :

Mengetahui,

Ketua Jurusan

(Dr. Ir. Arning Wiluieng Ekawati., MS.)

NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal:

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, Agustus 2015

Mahasiswa

Rizka Ayu Prastuti

115080100111084



UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayah Nya, saya dapat menyelesaikan Laporan Skripsi yang berjudul *Aktivitas Hipertrofi Epithelia Dan Inclusion Bodies Cell Pada Saluran Pencernaan Udang Vannamei (Litopenaeus vannamei) Yang Terinfeksi WSSV (White Spot Syndrome Virus) Dan Telah Diberi Ekstrak Gracilaria Verrucosa*. Dengan ini saya mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang membantu hingga terselesaikannya laporan ini, diantaranya :

1. Ayah (Ir.Supriyanto), Ibu (Tri Astuti), dan kedua adik saya (Vinka dan Vinki Aprilia), serta keluarga yang telah mendidik, memberikan kasih sayang, dan mendukung hingga saya seperti saat ini
2. Universitas Brawijaya dan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan yang telah menjadi sarana saya untuk berproses
3. Ketua Program Studi MSP (Ir.Mulyanto, M.Si) yang telah berbagi ilmu kepada mahasiswa
4. Dosen Pembimbing 1 (Ibu Dr. Yuni Kilawati S.Pi, M.Si) dan Dosen Pembimbing 2 (Ibu Ir.Kusriani, MP) yang telah membimbing dan memberikan nasehat kepada kami
5. Dosen Penguji 1 (Bapak Ir. Putut Widjanarko, MP) dan Dosen Penguji 2 (Ibu Nanik Retno Buwono, S.Pi., MP) yang telah member kritikan dan saran untuk perbaikan laporan ini
6. Tim Vannamei (Shinta, Toto, Ajir) yang suka duka dari awal penelitian sampai terselesaikannya laporan ini. **KALIAN LUAR BIASA!**
7. Pak Udin, Pak Yit, Mas Ali dan pihak-pihak yang sangat berjasa hingga terselesaikannya laporan ini
8. Sahabat terbaik saya dari SMA dan insyaAllah sampai kapanpun (Riski Muliawati) yang selalu menjadi tempat curhat, selalu bantu dalam hal apapun
9. Keluarga kedua di perantauan (KS6) Yourike, Mbak Nadia, Aprilia, Ega, Rahma, Mia, Defani, Wanda, Maya, Dian, Mbak Mesa, Mbak Anggun, Mbak Bias, Mbak Chris, karena kalian saya mengenal 'semuanya'
10. Sahabat yang berawal dari masa kuliah dan insyaAllah sampai kapanpun juga (Eka, Uli, Lia, Oki, Debby, Ratri, Ami), terima kasih ya pelajaran dari kalian sahabat
11. Kawan ARM11, seperjuangan, senasib, selama berjuang di FPIK UB untuk tujuan yang sama
12. Partner yang selama ini menemani, mendukung, menjadi penyemangat, pengingat dalam kondisi apapun. Thanks EL

RINGKASAN

RIZKA AYU PRASTUTI. Skripsi tentang Aktivitas *Hipertrofi Epithelia* Dan *Inclusion Bodies Cell* Pada Saluran Pencernaan Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) Yang Terinfeksi WSSV (White Spot Syndrome Virus) Dan Telah Diberi Ekstrak *Gracilaria Verrucosa*.

(dibawah bimbingan **Dr. Yuni Kilawati, S.Pi., M.Si.** dan **Ir. Kusriani, MP**)

Budidaya udang di Indonesia perlu dikembangkan karena dari waktu ke waktu mengalami peningkatan untuk memenuhi kebutuhan pasar ekspor. Komoditas ini merupakan salah satu peluang potensial sumberdaya alam Indonesia untuk menambah nilai devisa negara dari sektor budidaya. Salah satu komoditas budidaya yang sedang dikembangkan adalah udang *vannamei* (*Litopenaeus vannamei*). Udang *vannamei* dapat bersaing dengan udang windu dan menghasilkan manfaat besar bagi pembudidaya. Komoditas udang pernah menjadi primadona perikanan budidaya tetapi saat ini sangat susah dipertahankan karena adanya gangguan lingkungan dan ancaman penyakit. Salah satu penyakit yang disebabkan virus yang menyerang udang *vannamei* adalah *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) atau bintik putih. Organ yang diserang oleh virus ini adalah sel-sel epidermal dan mesodermal seperti sel usus (pencernaan), sel epitel insang, sel mata udang, sel limfoid, sel epidermis pada alat gerak (kaki), sel epidermis kulit atau kutikula dan sel hepatopankreas. Kerusakan organ yang diakibatkan virus ini diantaranya *hipertrofi epithel* dan *inclusion bodies cell* atau badan inklusi. Penggunaan imunostimulan dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh sehingga resisten terhadap pathogen selama periode stress. Imunostimulan dapat menggunakan bahan alami seperti ekstrak rumput laut *Gracilaria verrucosa*. Jenis rumput laut ini mengandung agar dan karagenan yang didalamnya terdapat senyawa polisakarida yang dimanfaatkan sebagai imunostimulan.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari - Juli 2015 di Laboratorium Bioteknologi dan Lingkungan Perairan, Laboratorium Reproduksi, FPIK UB, dan Laboratorium Patologi dan Anatomi RSSA Malang. Dalam penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan analisis statistik uji One Way Anova dengan 3 perlakuan dan 3 ulangan yaitu udang sehat (K+), udang diinfeksi WSSV (K-), dan udang diinfeksi WSSV dan perendaman ekstrak 250 ppm. Parameter utama yang diamati yaitu struktur jaringan saluran pencernaan (usus) sedangkan parameter pendukungnya yaitu kualitas air parameter fisika dan kimia.

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* sangat berpengaruh terhadap aktivitas *hipertrofi epithel* dan *inclusion bodies cell* pada jaringan saluran pencernaan (usus) udang *vannamei* yang terinfeksi WSSV. Berdasarkan penelitian ini, saran yang bisa diberikan oleh penulis adalah dengan menggunakan metode lain dalam pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* sehingga dapat diketahui secara pasti apakah ekstrak tersebut berpengaruh terhadap kerusakan sel.

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayah Nya lah saya dapat menyelesaikan Laporan Skripsi yang berjudul **Aktivitas Hipertrofi Epithelia Dan Inclusion Bodies Cell Pada Saluran Pencernaan Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Yang Terinfeksi WSSV (White Spot Syndrome Virus) Dan Telah Diberi Ekstrak *Gracilaria Verrucosa***. Dalam penyusunan ini tentunya tidak sedikit hambatan yang saya hadapi. Namun saya menyadari bahwa penyusunan Laporan Skripsi dapat berjalan dengan baik atas dorongan dan bimbingan orang terkasih maupun dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Oleh karena itu saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang yang memberikan fasilitas dalam menunjang kegiatan penelitian.
2. Dr. Yuni Kilawati, S.Pi. M.Si selaku dosen pembimbing I dan Ir. Kusriani, MP selaku dosen pembimbing II yang memberikan bimbingan serta nasehat selama proses kegiatan penelitian.
3. Ir. Putut Widjanarko, MP selaku dosen penguji I dan Nanik Retno Buwono, S.Pi., MP selaku dosen penguji II yang telah memberikan kritik dan saran untuk perbaikan laporan ini.

Malang, Agustus 2015

DAFTAR ISI

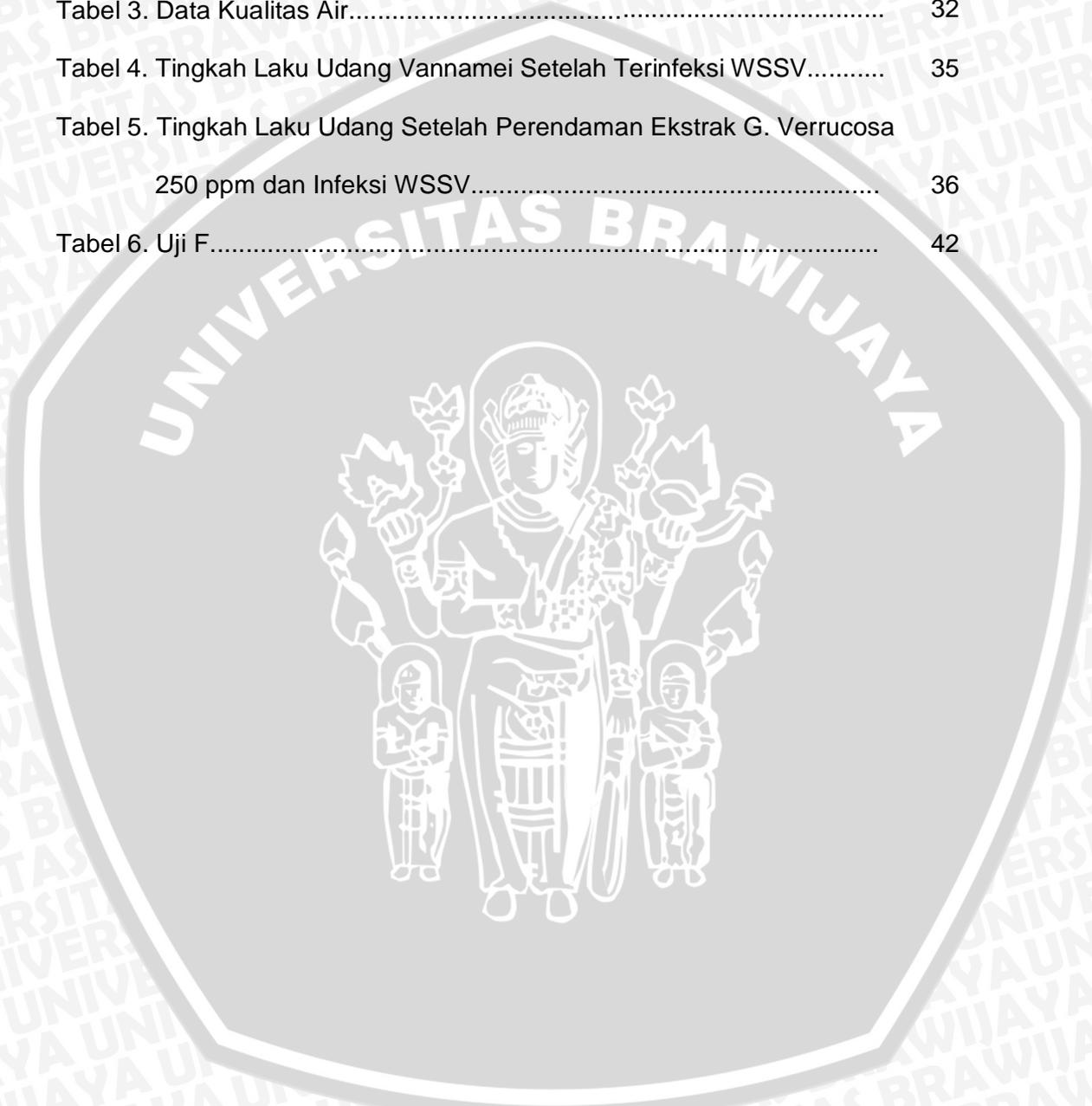
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
RINGKASAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Kegunaan	4
1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Udang Vannamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	6
2.1.1 Klasifikasi Udang Vannamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	6
2.1.2 Morfologi Udang Vannamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	6
2.1.3 Siklus Hidup Udang Vannamei.....	7
2.1.4 Fisiologi Udang Vannamei.....	8
2.1.4.1 Sistem Imun.....	8
2.1.4.2 Tingkah Laku.....	9
2.1.5 Ciri-ciri Udang Vannamei yang Terserang Virus WSSV (White Spot Virus Syndrome)	9
2.2 Penyakit Udang Vannamei	9
2.2.1 WSSV (<i>White Spot Syndrome Virus</i>)	10
2.2.2 Infeksi Virus WSSV	10
2.2.3 Gejala Klinis WSSV.....	11
2.3 Immunostimulan	12
2.3.1 Metode Pemberian Immunostimulan.....	12
2.3.2 Mekanisme Kerja Immunostimulan	12
2.4 Alga Merah (<i>Gracilaria verrucosa</i>)	13
2.4.1 Bahan Aktif Alga Merah <i>Gracilaria verrucosa</i>	14
2.5 Histopatologi Saluran Pencernaan (Usus).....	15
2.6 Parameter Kualitas Air.....	16



2.6.1 Parameter Fisika.....	17
2.6.2 Parameter Kimia.....	17
2.6.2.1 Salinitas.....	17
2.6.2.2 pH.....	17
2.6.2.3 DO (<i>Dissolved Oxygen</i>).....	18
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	19
3.1.1 Alat Penelitian	20
3.1.1 Bahan Penelitian.....	22
3.2 Metode Penelitian	23
3.3 Teknik Pengumpulan Data	24
3.4 Prosedur Penelitian.....	24
3.4.1 Persiapan Penelitian	24
3.4.1.1 Pembuatan ekstrak <i>G. verrucosa</i>	24
3.4.1.2 Persiapan Alat.....	25
3.4.1.3 Penyediaan larutan inokulum WSSV.....	25
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian	26
3.4.2.1 Infeksi Virus WSSV dan Pemberian Ekstrak <i>Gracilaria Verrucosa</i>	26
3.4.2.3 Pemeliharaan dan pengamatan harian udang uji.....	27
3.4.2.4 Preparasi pengamatan histologi.....	27
3.4.2.5 Pengukuran Kualitas Air.....	29
3.4.2.5.1 Suhu dan pH.....	29
3.4.2.5.2 Salinitas.....	30
3.4.2.5.3 Oksigen Terlarut (DO).....	30
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Parameter Kualitas Air.....	32
4.1.1 Suhu.....	32
4.1.2 Salinitas.....	33
4.1.3 pH.....	33
4.1.4 DO (<i>Dissolved Oxygen</i>)	33
4.2 Pengamatan Makroskopik Udang Vannamei.....	34
4.2.1 Udang sehat (K+).....	34
4.2.2 Udang terinfeksi WSSV (K-).....	35
4.2.3 Perendaman ekstrak <i>G.verrucosa</i> 250 ppm dan infeksi WSSV.....	36
4.3 Pengamatan Mikroskopik Udang Vannamei.....	37
4.3.1 Analisis Histopatologi Saluran Pencernaan (Usus).....	37
4.3.1.1 Badan Inklusi (<i>Inclusion Bodies Cell</i>).....	37
4.3.1.2 <i>Hipertrofi epithelia</i>	38
4.3.1.3 Udang Sehat (K+).....	39
4.3.1.4 Udang Sakit (K-).....	39
4.3.1.5 Perendaman ekstrak 250 ppm dan infeksi WSSV.....	40
4.4 Analisis statistik uji F	42
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	45
5.2 Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA	46

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Alat Penelitian.....	20
Tabel 2. Bahan Penelitian.....	22
Tabel 3. Data Kualitas Air.....	32
Tabel 4. Tingkah Laku Udang Vannamei Setelah Terinfeksi WSSV.....	35
Tabel 5. Tingkah Laku Udang Setelah Perendaman Ekstrak <i>G. Verrucosa</i> 250 ppm dan Infeksi WSSV.....	36
Tabel 6. Uji F.....	42



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Udang vannamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	6
Gambar 2. Morfologi udang vanname	7
Gambar 3. Daur Hidup Udang Vaname.....	8
Gambar 4. <i>Gracilaria verrucosa</i>	14
Gambar 5. Bagian organ udang vannamei.....	15
Gambar 6. Denah Penelitian.....	20
Gambar 7. Pengamatan Makroskopik Udang vannamei.....	34
Gambar 8. Pengamatan Makroskopik Udang vannamei yang terinfeksi ...	35
Gambar 9. Pengamatan Makroskopik Udang vannamei yang direndam ekstrak <i>Gracilaria verrucosa</i> dan terinfeksi WSSV.....	36
Gambar 10. <i>Hipertrofi</i> dan <i>Inclusion Bodies</i> pada saluran pencernaan Udang vannamei.....	38
Gambar 11. Struktur Jaringan usus udang vannamei (K+).....	39
Gambar 12. Struktur Jaringan usus udang vannamei yang terinfeksi WSSV (K-).....	39
Gambar 13. Struktur jaringan usus udang vannamei dengan perlakuan Perendaman ekstrak 250 ppm.....	40
Gambar 14. Grafik Rata-rata kerusakan sel.....	43



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Foto Penelitian.....	51
Lampiran 2. Hasil Uji Menggunakan Aplikasi SPSS.....	60



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kegiatan budidaya udang di Indonesia terus dikembangkan karena permintaan konsumen dari waktu ke waktu terus mengalami peningkatan, terutama untuk memenuhi kebutuhan pasar ekspor. Adanya kebutuhan pasar dunia terhadap komoditas ini merupakan satu peluang potensial yang dimiliki oleh sumberdaya alam Indonesia untuk menambah nilai devisa negara dari sektor budidaya. Akan tetapi kenyataannya dalam proses budidaya udang windu, para petambak dihadapkan beberapa kendala yang dapat menghambat produktivitas budidaya.

Mc Intosh dan Akiyama (2002) dalam Priatna (2004) menyatakan, bahwa saat ini terdapat species alternatif yaitu udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang dapat bersaing dengan udang windu dan menghasilkan manfaat besar bagi pengelola budidaya. Lebih lanjut juga dinyatakan, bahwa terdapat beberapa keunggulan dari udang vannamei, antara lain lebih tahan terhadap stress yang disebabkan perubahan lingkungan, masa budidayanya relative lebih pendek (antara 2-3 bulan), kandungan protein pakan yang dibutuhkan hanya 23 – 32 %, memiliki derajat kelangsungan hidup yang cukup bagus, menghasilkan produksi yang cukup besar.

Komoditas udang pernah menjadi primadona perikanan budidaya, tetapi keadaan tersebut sekarang sulit untuk dipertahankan. Bahkan keadaan tersebut bertambah parah dengan adanya gangguan lingkungan, dan ancaman penyakit (Haliman dan Dian, 2006).

Penyakit merupakan suatu proses hasil interaksi antar inang (udang), jasad penyakit (patogen), dan lingkungan. Jika hubungan antara ketiga faktor tersebut seimbang, tidak akan timbul penyakit. Sebaliknya, interaksi yang tidak

serasi akan menyebabkan stress pada udang, sehingga mekanisme pertahanan diri yang dimilikinya akan lemah dan akhirnya mudah terserang penyakit. Beberapa penyakit, terutama virus dan bakteri merupakan jenis penyakit yang sangat berbahaya bagi kelulushidupan udang vannamei. Penyebaran virus dapat berlangsung secara vertikal (dari induk kepada benih), horizontal (udang yang terserang ke udang lain) dan gabungan dari keduanya (Kordi, 2007).

Salah satu penyakit yang disebabkan virus yang menyerang udang vannamei adalah *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) atau bintik putih. Virus merupakan ancaman yang serius karena dapat menyebabkan kematian udang vannamei secara masal. Menurut Taslihan *et al* (2005), penyakit WSSV merupakan jenis penyakit yang paling populer dan paling ganas dibandingkan dengan virus lainnya. Penyakit ini ditandai dengan adanya bintik putih pada bagian karapaks dan bagian tubuh lainnya serta dapat mengakibatkan kematian masal mencapai 100% dalam waktu yang sangat singkat yaitu 2 hari sejak gejala pertama tampak. Udang yang terserang biasanya berenang ke tepi pematang, lemah, dan kehilangan nafsu makan dan akhirnya mati.

Organ yang dideteksi terserang WSSV yakni limfoid, usus, insang, epidermis kulit dan alat gerak (pleopod) merupakan organ asal ektodermal yang merupakan target dari infeksi WSSV. Infeksi WSSV juga ditemukan pada hepatopankreas dengan frekuensi kejadian sangat jarang. Hal ini dapat terjadi karena organ tersebut berfungsi dalam sistem pencernaan, jadi ada kemungkinan terjadi interaksi dengan organ lain (usus) yang merupakan organ target WSSV (Chang *dalam* Moore and Poss, 1999; Lighner, 1996; Wang *et al*, 1999). Kerusakan organ yang diakibatkan virus WSSV ini diantaranya *hipertrofi epithel* dan *inclusion bodies cell* atau badan inklusi.

Penggunaan imunostimulan sebagai pakan suplemen dapat meningkatkan pertahanan alami ikan atau udang sehingga resisten terhadap patogen selama

periode stress. Imunostimulan tidak memperlihatkan efek samping yang negatif sebagaimana yang terjadi pada penggunaan antibiotik terhadap lingkungan dan konsumen. Imunostimulan meningkatkan daya tahan terhadap penyakit infeksi, dengan meningkatkan mekanisme pertahanan non spesifik. Beberapa bahan dari ekstrak rumput laut dapat berperan sebagai imunostimulan. Salah satu jenis rumput laut seperti *Gracilaria verrucosa* mengandung komponen utama berupa agar dan karagenan yang di dalamnya terdapat senyawa polisakarida yang dapat dimanfaatkan sebagai imunostimulan. Rumput laut mengandung polisakarida bersulfat, yang tidak terdapat pada tumbuhan darat. Dengan demikian gula terbentuk dan dengan adanya kelompok sulfat diikuti pembentukan sejumlah molekul dengan bentuk dan fungsi biologis yang berbeda termasuk pada aktivitas *immunomodulatory* (Castro *et al.*, 2006). Selain itu, penggunaan rumput laut jenis ini dinilai ramah lingkungan, memiliki kandungan nutrisi yang baik bagi ikan karena terdapat kandungan senyawa bioaktif, serta mudah diperoleh karena telah banyak dibudidayakan. (Anggadiredja, 2006 *dalam* Puspasari, 2010).

Penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui tingkat kerusakan sel udang vannamei yang terinfeksi virus dan diberikan perlakuan ditinjau dari struktur jaringan saluran pencernaan (usus).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak *Gracilaria verrucosa* berpengaruh terhadap aktivitas *Hipertrofi Epithelia* dan *Inclusion Bodies Cell* pada saluran pencernaan (usus) udang vannamei yang terinfeksi WSSV?
2. Apakah pemberian imunostimulan ekstrak *Gracilaria verrucosa* melalui perendaman bisa menurunkan aktivitas *Hipertrofi Epithelia* dan *Inclusion Bodies Cell* pada saluran pencernaan (usus) udang vannamei yang terinfeksi

WSSV ?

1.3 Maksud dan Tujuan

Maksud dari pelaksanaan penelitian ini adalah sebagai prasyarat menyelesaikan pendidikan untuk jenjang sarjana serta sebagai bentuk pengaplikasian ilmu akademis yang diperoleh selama perkuliahan.

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian imunostimulan dari ekstrak rumput laut *Gracilaria verrucosa* terhadap aktivitas *hipertropi epithel* dan *inclusion bodies cell* pada saluran pencernaan (usus) udang vannamei yang terinfeksi oleh WSSV (*White Spot Syndrome Virus*).

1.4 Hipotesis

H₀ : Pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* tidak berpengaruh terhadap aktifitas *hipertrofi epithelia* dan *inclusion bodies cell* pada saluran pencernaan udang vannamei yang terinfeksi WSSV.

H₁ : Pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* berpengaruh terhadap aktifitas *hipertrofi epithelia* dan *inclusion bodies cell* pada saluran pencernaan udang vannamei yang terinfeksi WSSV.

1.5 Kegunaan

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat :

1. Pemerintah, dapat digunakan sebagai sumber informasi pendukung dan bahan pertimbangan perumusan kebijakan dalam rangka perbaikan komoditas udang vannamei.
2. Pembudidaya udang vannamei, diharapkan dapat digunakan sebagai sumber informasi ilmiah yang digunakan untuk dasar pertimbangan dalam manajemen kualitas air.
3. Mahasiswa, diharapkan sebagai tambahan sumber pengetahuan dan

pengalaman kerja dalam memahami permasalahan yang ada di lapang dengan memadukan teori yang didapat di bangku perkuliahan.

1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – Juli 2015. Lokasi pengambilan rumput laut *Gracilaria verrucosa* di tambak daerah Jabon, Sidoarjo. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan serta uji pengaruh ekstraksi rumput laut *Gracilaria verrucosa* terhadap *L. vannamei* dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang dan uji histopatologi di Laboratorium Patologi dan Anatomi RSSA, Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*)

2.1.1 Klasifikasi Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*)

Penggolongan udang vannamei menurut Tseng (1987) dalam Yuniasari (2009) adalah sebagai berikut :

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

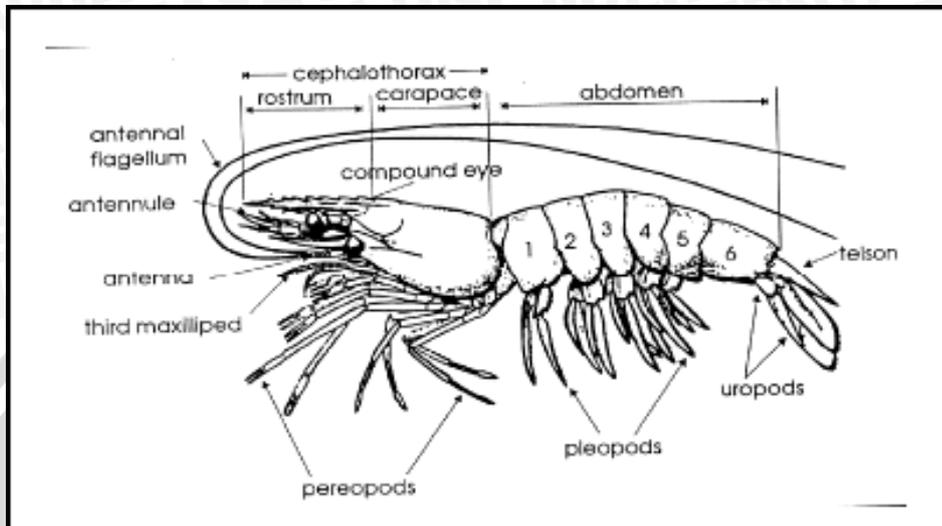


Gambar 1. (a) Udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) (sumber: Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan, 2011). (b) Dokumentasi Pribadi

2.1.2 Morfologi Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*)

Menurut Haliman dan Adijaya (2006) dalam Yuniasari (2009), bagian tubuh udang vannamei terdiri dari kepala (thorax) dan perut (abdomen). Kepala udang vannamei terdiri dari antenula, antenna, mandibula, dan sepasang maxillae. Kepala udang vannamei juga dilengkapi dengan 5 pasang kaki jalan (periopod).

Perut udang vannamei terdiri dari 6 ruas dan juga terdapat 5 pasang kaki renang (pleopod) serta sepasang ekor (uropod) yang membentuk kipas bersama-sama telson.



Gambar 2. Morfologi udang vannamei (Primavera, 1994 dalam Risaldi, 2011)

2.1.3 Siklus Hidup Udang Vannamei

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

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

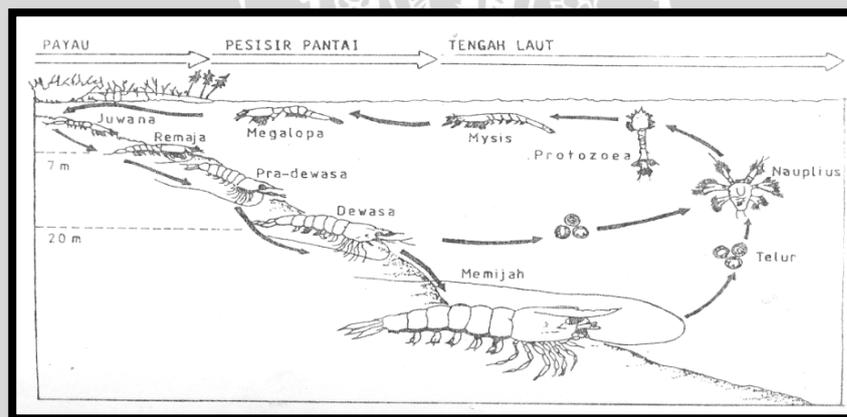
a. Fase di tengah laut

Fase ini lebih dikenal dengan fase peneluran. Seekor induk udang dewasa dapat menghasilkan telur sebanyak 248.000 – 811.000 dengan diameter telur 0,29 mm. Telur ini biasanya dilepas pada malam hari. Telur yang telah dibuahi akan menetas dalam waktu 12 jam setelah dilepaskan. Telur menetas menjadi

anakan udang yang disebut *nauplius*. Setelah mengalami pergantian kulit beberapa kali berubah menjadi *zoea*. Anakan udang pada stadia *zoea* ini mulai menangkap makanan dari sekelilingnya. Stadia berikutnya adalah stadia *mysis*. Setelah *mysis* mengalami metamorfose maka berubah menjadi post larva. Pada stadia terakhir ini anakan udang yang masih planktonik mulai migrasi ke perairan pantai khususnya ke muara sungai.

b. Fase di perairan payau

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



Gambar 3. Daur hidup udang *vannamei* (Susetiono, 1987)

2.1.4 Fisiologi Udang *Vannamei*

2.1.4.1 Sistem Imun

Menurut Treves-Brown (2000) dalam Jasmanindar (2008), imunostimulan merupakan bahan yang bisa meningkatkan resistensi organisme terhadap infeksi patogen. Imunostimulan digunakan untuk meningkatkan mekanisme pertahanan non spesifik pada hewan termasuk udang.

2.1.4.2 Tingkah Laku

Menurut Haliman dan Adijaya (2004) dalam Kusuma (2009), molting pada udang ditandai dengan seringnya udang muncul ke permukaan air sambil meloncat-loncat. Gerakan ini bertujuan untuk membantu melonggarkan kulit luar udang dari tubuhnya. Gerakan tersebut merupakan salah satu cara mempertahankan diri karena cairan molting yang dihasilkan dapat merangsang udang lain untuk mendekat dan memangsa (kanibalisme). Pada saat molting berlangsung, otot perut melentur, kepala membengkak, dan kulit luar bagian perut melunak. Dengan sekali hentakan, kulit luar udang dapat terlepas.

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

Udang vannamei yang terinfeksi WSSV mengalami gejala seperti nafsu makan menurun, udang tampak lemah (lethargy), sering kali terlihat malas berenang, udang yang dipelihara di tambak terlihat berenang di tepi tambak. Karapas udang yang sakit terlihat bercak putih, dan menjadi lunak, dan badan induk udang warnanya menjadi merah. Hal ini sesuai dengan pendapat Momoyama et al. (1997); Lo & Kou (1998); Sudha et al. (1998) dalam Mufidah et al. (2010) bahwa udang yang terinfeksi WSSV mengalami perubahan pada pola tingkah laku yaitu menurunnya aktivitas renang, berenang tidak terarah dan seringkali berenang pada salah satu sisi saja. Selain itu, udang cenderung bergerombol di tepi tambak dan berenang ke permukaan. Pada infeksi akut terdapat bercak-bercak putih pada karapas dengan diameter 0,5 – 3,0 mm.

2.2 Penyakit Udang Vannamei

Menurut Kordi dan Tancung (2007), kualitas air adalah faktor vital dalam mendukung serangan penyakit terhadap udang peliharaan. Semua udang budidaya telah membawa organisme patogen di dalam tubuhnya, disamping

itu organisme patogen juga telah berada di dalam suatu perairan. Organisme patogen akan berkembang lebih cepat pada kualitas air yang buruk. Di samping itu, penurunan kualitas air dapat menurunkan kekebalan tubuh udang peliharaan.

Virus merupakan ancaman serius bagi budidaya udang, karena dapat menyebabkan kematian udang secara masal dalam waktu singkat. Faktor pemicu munculnya virus yaitu faktor nutrisi, lingkungan dan genetika.

2.2.1 WSSV (*White Spot Syndrome Virus*)

WSSV atau *Syndrome Ectodermal dan Mesodermal Baculavirus* (SEMBV) merupakan jenis baculavirus yang baru dilaporkan telah menyebabkan berbagai macam penyakit dan mengakibatkan kematian di tambak udang 80 % - 100 % pada tahun 1992-1993 (Firmansyah, 2002).

WSSV yang menyerang crustacea termasuk udang tergolong dalam family Baculoviridae dan merupakan virus DNA beruntai ganda. Partikel virus mengandung 10-15 polypeptida, merupakan partikel bentuk batang dengan ukuran 40 – 110 nm x 200 – 400 nm dan mengandung 1 atau lebih nucleocapsid yang tertutup sampul (Huger and Krieg, 1991 *dalam* Baidi 2002). Menurut Wang et al., (2008) *dalam* Kilawati (2011), serangan penyakit WSSV ini menyerang sel-sel pada organ-organ vital seperti hepatopankreas, insang, usus, lambung dan juga sistem syaraf.

2.2.2 Infeksi Virus WSSV

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

2.2.3 Gejala Klinis WSSV

Menurut Priatni *et al.*, (2006), udang yang telah terinfeksi WSSV akan mengalami perubahan warna yang disebabkan oleh terjadinya pembesaran kromatofor kutikula. Kromatofor pada udang merupakan salah satu sistem pertahanan tubuh udang infeksi WSSV pada udang akan menyebabkan perubahan pada hepatopankreas dari coklat kemerahan menjadi kuning pucat dan membesar.

Gejala klinis udang yang terserang *White Spot Disease* antara lain ada bintik putih pada bagian karapas dan penurunan konsumsi makanan (Firmansyah, 2002). Bintik putih yang terlihat pada karapas tersebut merupakan lesi spesifik penyakit infeksi *white spot*. Bintik putih yang terjadi merupakan penyimpangan metabolisme kalsium yang mengumpul pada lapisan kutikula udang, umumnya diameter bintik putih berkisar antara 0,5 – 2,0 mm. Karakteristik perubahan seluler akibat infeksi virus *White Spot* adalah terjadinya pembengkakan inti sel (*hipertropi*) (Bower, 1996).

2.3 Imunostimulan

Imunostimulan merupakan bahan yang dapat meningkatkan kekebalan organisme terhadap suatu penyakit. Penggunaan imunostimulan sekarang ini banyak dikembangkan dalam dunia budidaya ikan. Selain itu, Imunostimulan juga dapat merangsang aktivitas pertahanan tubuh. Keistimewaan imunostimulan dibandingkan vaksinasi adalah sifatnya non spesifik, artinya bahan tersebut mampu merangsang peningkatan ketahanan ikan dan udang terhadap berbagai penyakit (Raa, 2000).

Menurut (Alifuddin, 2002) bahwa imunostimulan adalah peningkatan kekebalan spesifik dan non spesifik yang digunakan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit ikan dan udang pada sistem budidaya dari bahan alami

yang efektif, aman untuk manusia dan lingkungan. Immunostimulan tidak diresponkan ataupun udang dengan mensintesis antibodi, melainkan peningkatan aktivitas dan reaktivitas sel pertahanan seluler ataupun humoral sedangkan vaksinasi dilakukan dengan cara memasukkan antigen ke dalam tubuh dan akan memacu terbentuknya ketahanan spesifik. Sel-sel sistem imun tersebar di seluruh bagian tubuh diantaranya sumsum tulang, darah, kelenjar getah bening, limpa, saluran pernafasan, saluran pencernaan, saluran urin, dan jaringan.

2.3.1 Metode Pemberian Immunostimulan

Dugger dan Jory (1999) dalam Jasmanidar (2009) menyatakan bahwa pemberian immunostimulan dapat dilakukan melalui beberapa metode diantaranya:

- Penyuntikan : penyuntikan *beta glucant* dan stimulant imun lainnya dapat memberikan respon non spesifik yang kuat, tetapi tidak praktis dan tidak efektif dalam hal biaya usaha budidaya
- Perendaman : memberikan respon imun non spesifik yang sedikit, tetapi lebih efektif dibandingkan metode penyuntikan. Namun dapat menimbulkan stress karena meningkatnya penanganan dan kepadatan dalam perendaman
- Oral : memberikan respon imun non spesifik yang baik dan merupakan metode yang lebih efektif

Kondisi dan metode pemeliharaan yang berbeda telah memberikan cara berbeda dalam penerapan pemberian immunostimulan.

2.3.2 Mekanisme Kerja Immunostimulan

Respon imunitas dibentuk oleh jaringan limfoid. Pada udang, jaringan limfoid menyatu dengan jaringan myeloid, sehingga dikenal sebagai jaringan limfomioid. Produk jaringan limfomioid adalah sel-sel darah dan respon

imunitas baik seluler maupun humoral. Imunostimulan tidak direspon ikan ataupun udang dengan mensintesis antibodi melainkan peningkatan aktivitas dan reaktivitas sel pertahanan seluler ataupun humoral. Peningkatan ini didasarkan atas kemampuan imunostimulan menginduksi berlangsungnya transformasi limfoblastik yang ditunjukkan dengan memakai isotop tritium (H^3). Aktivitas fagositik ini merupakan manifestasi peningkatan respon seluler dan pada akhirnya akan meningkatkan respon humoral (Alifuddin, 2002).

Mekanisme kerja ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebagai imunostimulan adalah melalui sistem imunitas non spesifik, yaitu dengan meningkatkan aktivitas dan jumlah sel darah putih (leukosit) serta melalui sistem imunitas spesifik terutama pada sistem imun spesifik seluler dengan cara meningkatkan rasio antara sel T helper (Th) dengan sel T suppressor (Ts) (El Kadi dan Kandil, 1987 dalam Sari, 2009).

2.4 Alga Merah (*Gracilaria verrucosa*)

Secara taksonomi rumput laut digolongkan ke dalam Divisi Thallophyta dengan empat kelas besar, yaitu Chlorophyceae (alga hijau), Phaeophyceae (alga coklat), Rhodophyceae (alga merah), dan Cyanophyceae (alga biru- hijau). Jenis rumput laut yang dibudidayakan di Indonesia seperti *Gracilaria verrucosa* dan *Sargassum* sp. yang terdapat berlimpah tetapi masih kurang pemanfaatannya (Angadiredja et al., 1996 dalam Jasmanidar., 2009)

Penerapan teknologi ekstraksi, memberikan kemungkinan melakukan isolasi metabolit sekunder dari rumput laut. Ekstraksi *Gracilaria verrucosa* dapat menstimulasi fagositosis dan *respiratory burst* pada makrofage tikus baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Yoshizawa et al. 1996 dalam Jasmanidar, 2009).

Klasifikasi *Gracilaria verrucosa* menurut Dawes (1981) adalah sebagai berikut :

Divisi	:	Rhodophyta
Class	:	Rhodophyceae
Ordo	:	Gracilariales
Family	:	Gracilariaceae
Genus	:	Gracilaria
Species	:	<i>Gracilaria verrucosa</i>



Gambar 4. *Gracilaria verrucosa* (Milchacova, 1998)

2.4.1 Bahan Aktif Alga Merah (*Gracilaria verrucosa*)

Polisakarida dapat meningkatkan komponen sistem imun pada ikan dan meningkatkan proteksi terhadap infeksi bakteri. Rumput laut mengandung metabolit primer dan sekunder yang bersifat hidrokoloid seperti karagenan, agar dan alginat yang digunakan sebagai additive dalam industri farmasi (Anggadiredja *et al.*, 2006 dalam Puspasari, 2010)

Gracilaria verrucosa merupakan penghasil agar, setiap jenis *Gracilaria* spp. menghasilkan agar dengan persentase kandungan dan kekuatan gel nya yang berbeda. Agar merupakan koloid hidropilik yang diekstrak dari alga merah. Komponen kimia ini mengandung polisakarida bersulfat, yang formasinya

dengan senyawa lainnya dalam agar membentuk sejumlah molekul yang salah satunya berperan dalam *immunomodulatory*. Polisakarida pada alga merah biasanya berisi galaktosa maupun galaktan bersulfat (Naidu, 2000 dalam Jasmanidar, 2009).

Senyawa fenolik adalah zat bioaktif secara luas pada tanaman. Senyawa fenolik terdiri dari berbagai macam senyawa seperti flavonoid (anthocyanin, flavonol, flavol) dan beberapa kelas non flavonoid (asam fenola, lignins, stillbenes). Oleh karena itu, senyawa ini telah dianggap sebagai calon potensial yang menjanjikan sebagai pelindung terhadap oksidasi lipid dan biologis penuaan jaringan (Maqsood, 2010 dalam Samad, 2010).

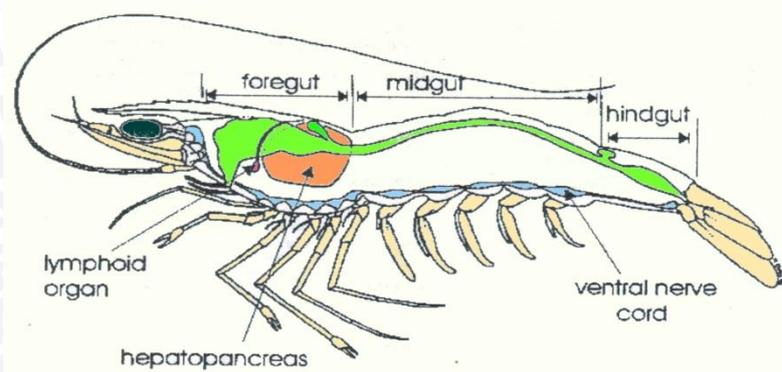
Menurut Trisnawati dan susanto 2003 dalam Wiyanto (2010), golongan senyawa kimia utama yang mempunyai sifat antibakteri adalah fenol, alkohol, halogen, logam berat, zat warna, detergen, senyawa kuartar, asam dan basa.

Anwariyah (2011), mengatakan bahwa senyawa fenol merupakan senyawa yang banyak terdapat pada hampir semua jenis rumput laut. Senyawa fenol dapat menangkap radikal – radikal peroksida dan dapat mengkelat logam besi yang mengkatalisa peroksida lemak. Sebagian besar senyawa fenol merupakan senyawa aromatik yang dapat diidentifikasi dengan menggunakan sinar UV.

2.5 Histopatologi Saluran Pencernaan (Usus)

Secara umum memang ditemukan beberapa penyakit udang yang disebabkan oleh berbagai jenis jamur, bakteri maupun virus. Organ lain yang merupakan sasaran dari WSSV adalah usus. Sel-sel lapisan usus bagian lingkaran dalam mudah sekali rusak dan ikut aliran pakan dan feses keluar tubuh udang. Dengan demikian feses akan menjadi perantara penularan *white spot* pada udang-udang lain dan menyebabkan infeksi cepat dan akut karena mampu menginfeksi lewat mulut (Rochman, 1995 dalam Priatni et al., 2006). Pengamatan yang dilakukan pada histopatologi jaringan usus berupa kerusakan

inti sel diantaranya *hipertrofi epithelia* dan *inclusion bodies cell*.



Gambar 5. Bagian organ udang vannamei

Infeksi WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) pada organ udang dilakukan pengamatan pada jaringan udang atau preparat histologi. Kerusakan sel yang terjadi adalah adanya pembengkakan pada inti sel (*hipertropi*) akibat perkembangan dan penumpukan virion yang berkembang dalam nukleus. Inti sel bersifat eosinofilik dan basofilik. Inti sel yang tidak terinfeksi maupun yang telah terinfeksi ringan terlihat berwarna kemerahan, hal ini karena inti sel tersebut bersifat eosinofilik sehingga menyerap pewarna eosin sedangkan pada sel yang telah terinfeksi parah, terlihat biru gelap, karena bersifat basofilik sehingga menyerap pewarna hematoksilin (Moore dan Poss, 1999 dalam Priatni *et al.*, 2006).

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

2.6 Parameter Kualitas Air

Kualitas air merupakan sifat air dan kandungan makhluk hidup, zat, energi atau komponen lain di dalam air. Dalam penelitian ini beberapa parameter kualitas air yang diamati yaitu parameter fisika (suhu), parameter kimia (pH, DO,

dan salinitas).

2.6.1 Parameter fisika

Dalam penelitian ini parameter fisika yang digunakan adalah suhu. Menurut Effendi (2003), suhu berpengaruh terhadap proses fisika, kimia, dan biologi badan air. Suhu juga sangat berperan mengendalikan kondisi perairan. Peningkatan suhu perairan menyebabkan peningkatan kecepatan metabolisme dan respirasi organisme air, dan selanjutnya mengakibatkan peningkatan konsumsi oksigen.

Udang dapat hidup pada suhu 14 – 40 °C, namun baru aktif pada suhu 18 – 36 °C. Kisaran optimum untuk pertumbuhan udang antara 26 – 32 °C (Dinas Perikanan Propinsi Jawa Tengah, 1997 *dalam* Raharjo, 2003).

2.6.2 Parameter Kimia

2.6.2.1 Salinitas

Menurut Effendi (2003), salinitas adalah konsentrasi total ion yang terdapat di perairan. Salinitas dinyatakan dalam satuan g/kg atau promil (‰). Salinitas menggambarkan padatan total dalam air, setelah semua karbonat dikonversi menjadi oksida, semua bromida dan iodida digantikan oleh klorida, dan semua bahan organik telah dioksidasi.

Menurut Stickney (1979), salinitas air tawar biasanya kurang dari 0,5 ‰, dan air mulai terasa asin pada salinitas sekitar 2 ‰. Salinitas bukan merupakan hal yang menjadi pertimbangan pada budidaya air tawar namun sangat penting bagi budidaya laut (*mariculture*). Salinitas air yang cocok untuk digunakan mengisi tambak udang windu berkisar antara 15 – 20 ‰.

2.6.2.2 pH

Menurut Pescod (1973) *dalam* Raharjo (2003), bahwa derajat keasaman

atau pH adalah logaritma negative dari kepekaan ion-ion hidrogen (H^+) yang terlepas dalam suatu perairan, merupakan indikator baik buruknya lingkungan air. Batas toleransi organisme air terhadap derajat keasaman (pH) sangat bervariasi tergantung berbagai faktor antara lain temperatur, oksigen terlarut, alkalinitas.

Sebagian besar biota akuatik sensitif terhadap perubahan pH dan menyukai nilai pH sekitar 7 – 8,5. Nilai pH sangat mempengaruhi proses biokimiawi perairan, misalnya proses nitrifikasi akan berakhir jika pH rendah (Effendi, 2003).

2.6.2.3 DO (*Dissolved Oxygen*)

DO atau oksigen terlarut adalah gas untuk respirasi yang merupakan faktor pembatas dalam lingkungan hidup perairan. Kadar oksigen terlarut akan menentukan kecepatan metabolisme dan respirasi dari keseluruhan ekosistem, karena kadar oksigen sangat penting bagi kelangsungan dan pertumbuhan biota air (Soedarsono dan Sumito, 1989 *dalam* Raharjo, 2003).

Menurut Boyd (1982), penurunan kadar oksigen di perairan hingga mencapai kadar yang sangat rendah berbahaya bagi organisme akuatik. Kadar oksigen terlarut <1 mg/l maka organisme akan mengalami kematian, jika kadar oksigen terlarut antara 1,0 – 5,0 mg/l maka organisme dapat bertahan hidup tetapi reproduksi dan pertumbuhan terganggu, jika kadar oksigen terlarut >5 mg/l maka organisme dapat bereproduksi dan tumbuh dengan normal.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana. RAL digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang homogen, sehingga RAL banyak digunakan untuk penelitian laboratorium, karena media homogen maka media tidak mempengaruhi pada respon yang diamati (Sastrosupadi, 2000).

Perlakuan pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* dengan dosis 250 ppm sebagai imunostimulan. Udang uji dengan perlakuan 250 ppm ini lebih mampu bertahan dari serangan WSSV dari pada kontrol dan kelompok perlakuan lainnya sehingga dengan dosis 250 ppm membuat kekebalan tubuh udang meningkat serta virus menjadi lemah (tidak virulen) walaupun udang tetap terinfeksi tetapi mampu meningkatkan imunitas tubuhnya. Dengan demikian, perlakuan 250 ppm merupakan perlakuan yang paling baik/ideal untuk digunakan (Wahjuningrum *et al.*, 2006). Dalam penelitian ini menggunakan dosis ekstrak 250 ppm, sedangkan 1 ppm sama dengan 0,001 ml/l sehingga pada perlakuan perendaman ekstrak ini digunakan sebanyak 0,25 ml/l.

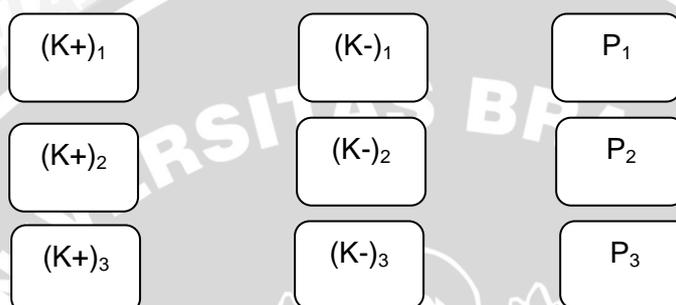
Untuk mempermudah dalam menganalisa diperlukan kontrol-kontrol sebagai pembanding yaitu kontrol negatif perlakuan sampel dengan penginfeksi WSSV tanpa pemberian ekstrak sedangkan kontrol positif yaitu udang sehat tanpa perlakuan. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali sehingga jumlah sampel yang diamati sebanyak 9 sampel.

Rancangan perlakuan dapat dilihat pada tabel 1 berikut :

Tabel 1. Rancangan perlakuan uji imunostimulan

Ulangan	Perlakuan		
	Kontrol positif (K+)	Kontrol negative (K-)	Perendaman ekstrak 250 ppm (P)
1	(K+) ₁	(K-) ₁	(P) ₁
2	(K+) ₂	(K-) ₂	(P) ₂
3	(K+) ₃	(K-) ₃	(P) ₃

Denah penelitian disajikan pada gambar 6.



Gambar 6. Denah Penelitian

Keterangan :

(K+)_n : Akuarium dengan perlakuan udang tanpa diinfeksi WSSV dan tanpa pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* dengan ulangan ke-n

(K-)_n : Akuarium dengan perlakuan udang yang diinfeksi WSSV tanpa pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* dengan ulangan ke-n

(P)_n : Akuarium dengan perlakuan udang yang diinfeksi WSSV dan perendaman ekstrak *Gracilaria verrucosa* 250 ppm dengan ulangan ke-n

3.1.1 Alat Penelitian

Alat beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian disajikan pada

Tabel 2 dibawah ini :

Tabel 2. Alat Penelitian

No	Alat	Fungsi
1	Timbangan analitik	Sebagai alat untuk menimbang bahan

No	Alat	Fungsi
2	Plastik	Sebagai tempat bahan
3	Gunting	Sebagai alat pemotong bahan
4	Beaker Glass	Sebagai tempat bahan dalam proses maserasi
5	Gelas ukur	Sebagai alat untuk mengukur bahan larutan
6	Corong	Sebagai alat pembantu penuangan larutan
7	Nampan	Sebagai tempat untuk meletakkan alat dan bahan pada proses waterbath
8	Spatula	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
9	Waterbath	Sebagai alat pemanas
10	Rotary evaporator	Sebagai alat untuk mendapatkan ekstrak
11	Akuarium	Sebagai wadah air dan pemeliharaan udang
12	Aerator dan batu aerasi	Sebagai alat bantu penghasil oksigen
13	Selang aerator	Sebagai alat bantu aerasi
14	Seser	Sebagai alat bantu untuk memindahkan udang uji
15	Alat pengukur suhu, pH digital	Sebagai alat untuk mengukur suhu dan pH
16	DO meter	Sebagai alat untuk mengukur kandungan oksigen terlarut
17	Mikroskop	Sebagai alat untuk mengamati jaringan hepatopankreas udang
18	Sectio set	Sebagai alat bedah pada jaringan
19	Botol film	Sebagai wadah jaringan yang diamati
20	Tissue Proccesor	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan
21	Wadah embedding	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan (embedding)
22	Embedding Machine'LEICA EG 1120	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan`
23	Mikrotom rotary	Sebagai alat untuk pemotongan jaringan

No	Alat	Fungsi
24	Pisau mikrotom	Sebagai alat untuk pemotongan jaringan
25	Pinset	Sebagai alat untuk mengambil sampel jaringan
26	Tissue Floath Bath	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan
27	Objek glass	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan
28	Cover glass	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan
29	Water bath	Sebagai alat untuk memanaskan sampel
30	Oven	Sebagai alat untuk memanaskan sampel
31	Fotomikroskop	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan
32	Cetakan es	Sebagai alat untuk meletakkan blok paraffin

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 3 dibawah ini :

Tabel 3. Bahan Penelitian

No	Bahan	Fungsi
1	Gracilaria verrucosa	Sebagai bahan imunostimulan
2	Kertas label	Sebagai penanda
3	Kertas saring	Sebagai bahan untuk menyaring ekstrak
4	Tissue	Sebagai bahan pembersih
5	Udang vannamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	Sebagai hewan uji
6	Inokulasi WSSV	Sebagai bahan penginfeksi
7	Air media	Sebagai media hidup hewan uji
8	Pakan udang	Sebagai nutrisi hewan uji
9	Akuades	Sebagai bahan sterilisasi awal
10	Formalin 10%	Sebagai bahan pengawet jaringan saluran pencernaan (usus)

No	Bahan	Fungsi
11	Aceton	Sebagai bahan pengawet jaringan saluran pencernaan (proses dehidrasi)
12	Xyol	Sebagai bahan pengawet jaringan saluran pencernaan (proses cleaning)
13	Parafin cair	Sebagai bahan pengawet jaringan saluran pencernaan (proses impregnasi)
14	Parafin blok	Sebagai bahan pengawet jaringan saluran pencernaan (proses embedding)
15	Gelatin	Sebagai bahan campuran saat pemanasan sampel
16	Etanol 96 %	Sebagai bahan pengawet jaringan saluran pencernaan (proses deparafinisasi)
17	Hematoksilin	Sebagai bahan pewarna pada jaringan saluran pencernaan
18	Eosin	Sebagai bahan pewarna pada jaringan saluran pencernaan
19	Polylisin	Sebagai bahan perekat sampel pada cover glass

3.2 Metode Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan analisis uji F dengan 2 perlakuan dan 1 kontrol terhadap *Litopenaeus vannamei*. Metode ini merupakan metode penelitian yang memungkinkan peneliti memanipulasi variabel dan meneliti akibatnya. Menurut Setyanto (2005), penelitian eksperimen bertujuan untuk meneliti kemungkinan sebab akibat dengan menggunakan satu atau lebih kondisi perlakuan pada satu atau lebih kontrol yang tidak diberi perlakuan. Definisi eksperimen secara lebih singkat, merupakan cara mengatur kondisi suatu eksperimen untuk mengidentifikasi variabel-variabel dan menentukan sebab akibat suatu kejadian.

Dalam menganalisa gejala klinis menggunakan metode deskriptif. Menurut Hartoto (2009), penelitian deskriptif merupakan metode penelitian yang

menggambarkan objek dari hasil yang diamati. Penggunaan metode deskriptif memungkinkan untuk melakukan hubungan antar variabel, menguji hipotesis, mengembangkan generalisasi, dan mengembangkan teori yang memiliki validitas universal.

3.3 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung, yaitu peneliti melakukan pengamatan terhadap gejala-gejala subyek yang diselidiki baik secara langsung dalam situasi yang sebenarnya maupun dalam situasi buatan atau dengan perantara sebuah alat, baik alat yang sudah ada maupun yang sengaja dibuat untuk keperluan khusus (Surachmad, 1998).

3.4 Prosedur Penelitian

Penelitian ini melalui beberapa tahapan diantaranya pembuatan ekstrak *Gracilaria verrucosa*, pemeliharaan udang vannamei, penginfeksi WSSV, dan pengambilan organ saluran pencernaan (usus) uji histopatologi.

3.4.1 Persiapan Penelitian

3.4.1.1 Pembuatan ekstrak *G. verrucosa*

Proses pembuatan ekstrak *Gracilaria verrucosa* disajikan pada lampiran 1. Rumput laut *G. verrucosa* diperoleh dari tambak bandeng di Sidoarjo, Jawa Timur sebanyak 10 kg. Rumput laut dicuci sampai bersih, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sampai kering selama 7 hari, setelah kering dipotong kecil-kecil dan diblender sampai halus.

Pembuatan ekstrak dilakukan secara maserasi dengan cara melarutkan serbuk simplisia sebanyak 700 gram ke dalam 2,1 liter etanol 96 % lalu ditutup dengan alumunium foil dan dibiarkan selama 48 jam. Setelah 48 jam,

sampel yang direndam tersebut disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat dan ampas. Filtrat dievaporasi dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental *G. verrucosa*. Dilanjutkan pemekatan ekstrak dengan pemanas air (*waterbath*) dengan suhu 50°C sampai hampir kering untuk menghilangkan kadar air (Dayanti, 2012).

3.4.1.2 Persiapan alat dan bahan

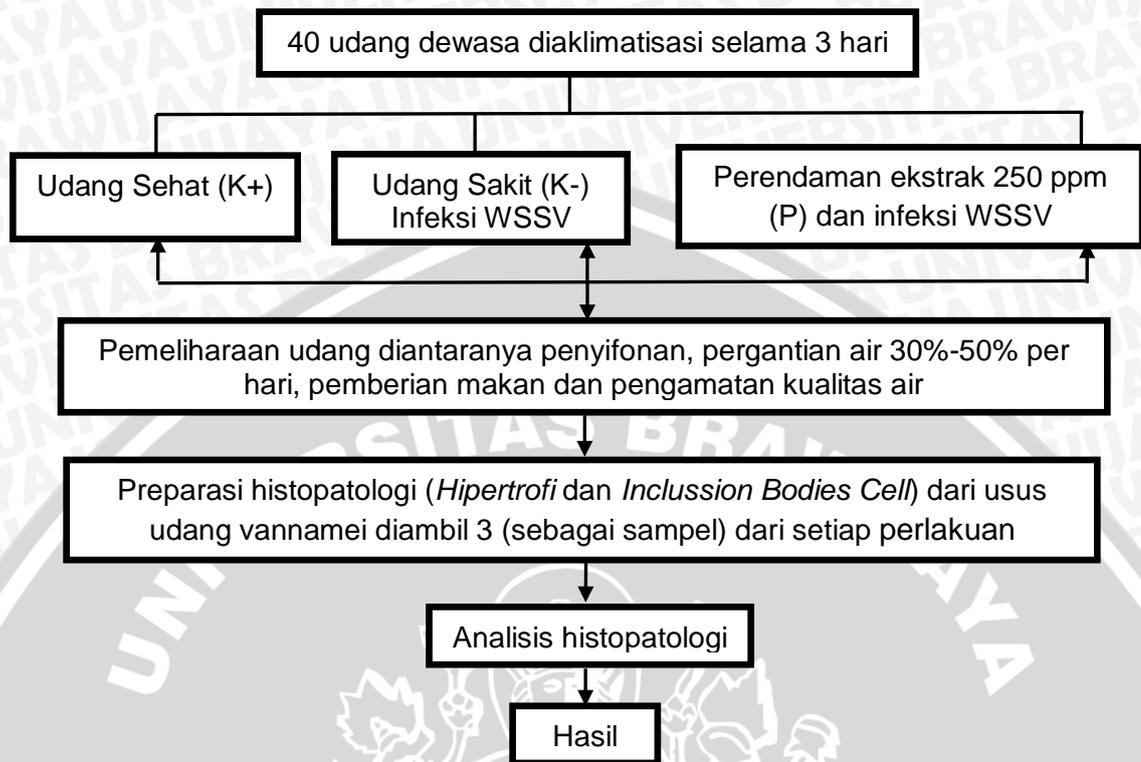
- Pencucian akuarium
- Persiapan alat-alat (aerasi, termometer, timbangan, seser, dan lain-lain)
- Pengisian air pada akuarium

Dalam penelitian ini menggunakan akuarium sebanyak 9 buah yaitu 2 perlakuan, 3 ulangan, dan kontrol serta hewan uji udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) sebanyak 4 ekor untuk masing-masing akuarium. Tiap akuarium diisi air sebanyak 10 liter, dipasang aerator terlebih dahulu untuk meningkatkan kadar oksigen terlarut, dan heater untuk mengatur suhu yang sesuai bagi pertumbuhan udang.

3.4.1.3 Penyediaan larutan inokulum WSSV

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

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian



3.4.2.1 Infeksi Virus WSSV dan Pemberian Ekstrak *Gracilaria verrucosa*

Pemeliharaan udang vannamei selama 8 hari dengan perlakuan pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* di wadah pemeliharaan. Infeksi virus WSSV terhadap udang vannamei dilakukan pada hari ke 8 penelitian selama 4 jam dengan cara merendam udang pada 0,22 mg/l larutan inokulum virus WSSV. Menurut (Baidi, 2002) bahwa dengan lama kontak yang panjang, kemungkinan udang terinfeksi akan semakin besar. Dikatakan bahwa waktu kontak akan menentukan tingkat penginfeksian WSSV terhadap inang. Udang pada akuarium pertama (K+) yang digunakan untuk menunjukkan gambaran histologi usus udang normal tidak diinfeksi WSSV maupun ekstrak *Gracilaria verrucosa*. Sedangkan udang pada akuarium kedua yang merupakan perlakuan kontrol (K-) diinfeksi dengan virus WSSV tetapi tidak diberi ekstrak *Gracilaria verrucosa*. Akuarium ketiga (P) diinfeksi virus WSSV dengan dosis yang sama kemudian

diberi ekstrak *Gracilaria verrucosa* dengan cara perendaman (P). Menurut Taslihan *et al.*, (2005), Penyakit WSSV merupakan jenis penyakit yang paling populer dan paling ganas dibandingkan dengan virus lainnya. Penyakit ini ditandai dengan adanya bintik putih pada bagian karapaks dan bagian tubuh lainnya dan dapat mengakibatkan kematian massal mencapai 100% dalam waktu yang sangat singkat yaitu 2 hari sejak gejala pertama tampak. Udang yang terserang biasanya berenang ke tepi pematang, lemah, dan kehilangan nafsu makan dan akhirnya mati.

3.4.2.2 Pemeliharaan dan pengamatan harian udang uji

Pemeliharaan dan pengamatan harian udang uji disajikan pada Lampiran 1. Pemeliharaan dan pengamatan harian dilakukan baik pada udang uji yang diberi perlakuan perendaman dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* maupun udang pada perlakuan kontrol dan udang sehat. Pemberian pakan selama perlakuan dilakukan 4 kali sehari, yaitu pagi (05.30), siang (11.30), sore (17.30), dan malam hari (23.00) sebanyak 5% dari berat badan udang (Esteban *et al.*, 2001).

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

3.4.2.3 Preparasi pengamatan histopatologi

Langkah awal untuk preparasi pengamatan histologi adalah memisahkan antara udang yang hidup dan udang yang mati selama proses pemeliharaan. Udang yang mati difiksasi dalam wadah tersendiri. Sedangkan untuk udang yang

masih hidup difiksasi dalam larutan formalin 10 % selama 24 jam (Wahjuningrum, 2006).

Preparasi meliputi proses fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, pemotongan serta pewarnaan berdasarkan metode Lightner (1996). Preparat histologi diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 x, 600x dan 1000x. Adapun prosedur preparasi histologi adalah sebagai berikut :

- Tahap Fiksasi

Sampel usus udang yang akan diamati jaringannya diambil. Jaringan tersebut kemudian direndam dalam larutan buffer yaitu formalin 10 % selama 24 jam.

- Tahap Dehidrasi

Tahap dehidrasi dilakukan dengan penarikan air secara bertahap menggunakan alat *auto technicon* selama 20 jam. Tabung *auto technicon* terdiri atas alkohol 70 % selama 1 jam, alkohol 80 % selama 1 jam, alkohol 90 % selama 2 jam alkohol 96 % selama 2 jam, alkohol absolute 1 selama 2 jam dan alkohol absolute 2 selama 2 jam.

- Tahap Clearing

Tahap clearing untuk mentrasparankan serta menggantikan larutan alkohol dari jaringan. Dilakukan dengan mencelupkan ke dalam larutan xylol 1 selama 1 jam, xylol 2 selama 2 jam, dan xylol 3 selama 2 jam.

- Tahap Impregnasi

Tahap impregnasi bertujuan untuk menyamakan keadaan jaringan dengan bahan pengeblokan (*embedding*). Dilakukan dengan mencelupkan bahan ke paraffin cair dengan suhu 56-60°C selama 2 jam, kemudian dilanjutkan dengan mencelupkan kembali ke dalam paraffin cair dengan suhu 56- 60°C selama 2 jam.

- Tahap Embedding (pengeblokan)

Tahapan ini bertujuan untuk memudahkan penyayatan dengan menggunakan mikrotom. Setelah penyayatan bahan yang sudah diblok selesai, langkah berikutnya adalah memasukkan hasil sayatan ke dalam *waterbath* (suhu 40°C), kemudian pilih hasil sayatan yang terbaik dan siapkan obyek glass (untuk persiapan pewarnaan HE), sebelumnya obyek glass harus diolesi dengan perekat *polyisin*. Berikutnya, keringkan pada oven dengan suhu 50-60°C kurang lebih selama 30 menit.

- Teknik pewarnaan jaringan dengan menggunakan HE

Pewarnaan dengan menggunakan HE dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu deparafinisasi, hidrasi, cat utama, dehidrasi dan clearing

- Tahap Mounting

Preparat dilem dengan menggunakan DPX mounting, kemudian ditutup dengan cover glass jaringan sampai tidak terjadi gelembung. Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai lem mengering, kemudian diamati dibawah mikroskop. Dengan pewarnaan HE, inti yang bersifat asam akan berwarna ungu tua oleh *Hematoksilin* yang bersifat basa, sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan berwarna merah oleh *eosin* yang bersifat asam.

3.4.2.4 Pengukuran Kualitas Air

Kualitas air yang diamati dalam penelitian ini terdiri dari beberapa parameter fisika dan kimia, yaitu sebagai berikut :

3.4.2.5.1 Suhu dan pH (Balai Penelitian Tanah, 2006)

Pengukuran suhu dan pH perairan dapat diukur secara langsung dengan pengukur suhu dan pH digital. Cara kerjanya yaitu sebagai berikut :

- Mengatur tombol suhu pada alat dan disesuaikan dengan suhu larutan yang

diperiksa;

- Mengkalibrasi alat tersebut dengan larutan penyangga pH 7
- Membilas elektrode dengan air bebas ion kemudian keringkan dengan tisu sebelum pengukuran setiap sampel;
- Memasukkan elektrode ke dalam sampel (kira-kira 25 ml);
- Membilas elektrode dengan air bebas ion dan keringkan dengan tissue sebelum pengukuran setiap sampel

3.4.2.5.2 Salinitas

Menurut Alaert (1987), kadar garam perairan dapat diukur dengan menggunakan refraktometer yaitu dengan cara :

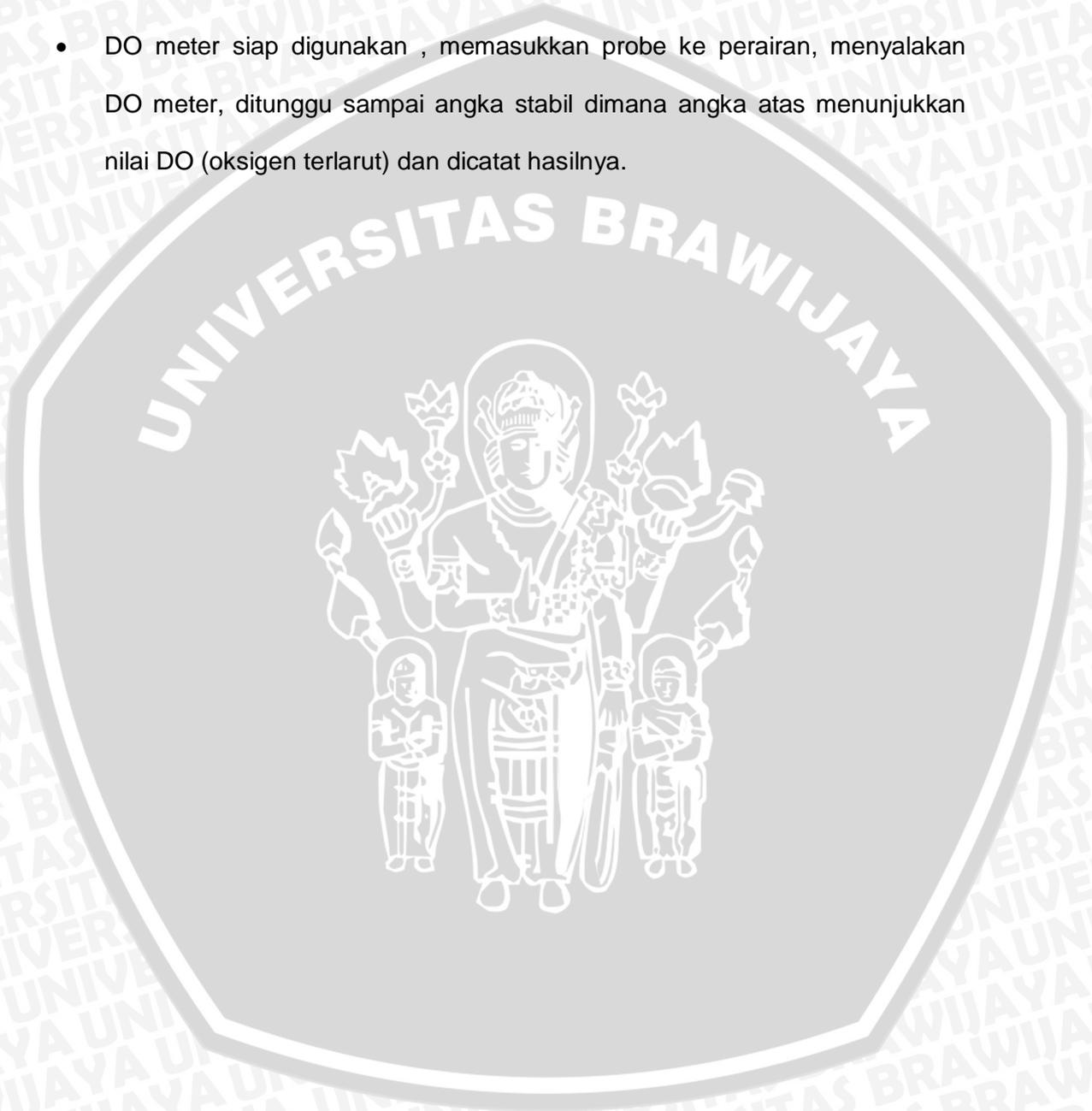
- Dibuka penutup kaca prisma refraktometer;
- Dikalibrasi dengan aquadest;
- Dibersihkan dengan tissue secara searah;
- Ditetaskan 1-2 tetes air yang akan diukur salinitasnya;
- Ditutup kembali dengan hati-hati agar tidak terjadi gelembung udara di permukaan kaca prisma;
- Diarahkan ke sumber cahaya;
- Dilihat nilai salinitasnya dari air yang diukur melalui kaca pengintai.

3.4.2.5.3 Oksigen Terlarut (DO) (Suprpto, 2011)

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 $\%_{00}$ 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.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Parameter Kualitas Air

Dari penelitian diperoleh hasil pengukuran parameter kualitas air fisika dan kimia seperti suhu, salinitas, pH, oksigen terlarut (DO), adalah sebagai berikut :

Tabel 4. Data Kualitas Air

No	Hari ke-	Suhu (°C)	Salinitas (ppt)	pH	DO (mg/l)
1	1	28 – 29,7	15 – 18	6 – 7	7,24 – 7,35
2	2	28 – 29,9	15 – 20	6 – 7	7,27 – 7,34
3	3	29 – 29,7	15 – 20	6 – 7	7,25 – 7,42
4	4	29,3 – 30,9	15 – 20	6 – 8	7,24 – 8,48
5	5	28,5 – 29,8	15 – 22	6 – 7	7,18 – 7,27
6	6	28,6 – 30,6	15 – 23	6 – 7	7,21 – 7,29
7	7	28 – 29,5	15 – 23	6 – 7	7,25 – 7,32
8	8	28 – 29	15 – 23	6 – 7	7,19 – 7,34
	Standart Baku Mutu*	28-32 °C	s/d 34 ppt	7-8.5	>5 mg/l

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

4.1.1 Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor yang sangat penting dalam kehidupan dan pertumbuhan organisme perairan. Data hasil pengukuran suhu didapatkan suhu terendah 28°C dan suhu tertinggi 30,9°C. Hal ini sesuai dengan pendapat Bader (1970) dalam Raharjo (2003), bahwa kisaran optimal suhu yang disyaratkan yaitu antara 25 – 31,8°C, sehingga dapat disimpulkan bahwa kisaran suhu diatas memungkinkan suatu organisme hidup di perairan.

4.1.2 Salinitas

Salinitas sangat mempengaruhi pola osmoregulasi udang dan juga berhubungan erat dengan tekanan osmotik dan ionik air. Perubahan salinitas akan menyebabkan perubahan tekanan osmotik, dimana semakin rendah salinitas maka akan semakin rendah tekanan osmotiknya (Vernberg and Vernberg, 1972).

Dari hasil penelitian didapatkan nilai salinitas terendah yaitu 15 ppt dan salinitas tertinggi yaitu 23 ppt. Hal ini sesuai dengan pendapat Saoud *et al.* (2003) dalam Aziz (2010), bahwa udang vannamei mampu mentolerir pada kisaran salinitas yang lebar berkisar 0,5 – 60 ppt.

4.1.3 pH

Tingkat keasaman (pH) merupakan parameter kualitas air yang penting dalam perairan karena berpengaruh terhadap produksi udang. Dari hasil penelitian didapatkan nilai pH terendah yaitu 6,15 dan pH tertinggi yaitu 7,07. Hal ini sesuai dengan pernyataan Boyd (1990), bahwa pH perairan yang sesuai untuk pertumbuhan udang windu adalah antara 6,5 hingga 9,0.

Menurut Law (1988) dalam Budiardi (2008), perairan dengan pH yang ekstrim dapat membuat udang tertekan, pelunakan karapas serta kelangsungan hidup rendah. Mortalitas tinggi pada udang terjadi pada pH perairan dibawah 6,0 sedangkan pada pH 3,0 dalam 20 jam terjadi kematian 100%.

4.1.4 DO (*Dissolved Oxygen*)

DO atau oksigen terlarut adalah gas untuk respirasi yang merupakan faktor pembatas dalam lingkungan hidup perairan. Kadar oksigen terlarut akan menentukan kecepatan metabolisme dan respirasi dari keseluruhan ekosistem, karena kadar oksigen sangat penting bagi kelangsungan dan pertumbuhan biota air (Soedarsono dan Sumito, 1989 dalam Raharjo, 2003).

Dari hasil pengukuran kualitas air didapatkan nilai DO terendah yaitu 7,18 mg/l dan DO tertinggi yaitu 8,48 mg/l. Hal ini sesuai menurut Boyd (1982), penurunan kadar oksigen di perairan hingga mencapai kadar yang sangat rendah berbahaya bagi organisme akuatik. Kadar oksigen terlarut <1 mg/l maka organisme akan mengalami kematian, jika kadar oksigen terlarut antara 1,0 – 5,0 mg/l maka organisme dapat bertahan hidup tetapi reproduksi dan pertumbuhan terganggu, jika kadar oksigen terlarut >5 mg/l maka organisme dapat bereproduksi dan tumbuh dengan normal.

4.2 Pengamatan Makroskopik Udang Vannamei

4.2.1 Udang sehat (K+)

Udang sehat digunakan sebagai kontrol positif yang tidak diberi perlakuan ekstrak *G. verrucosa* maupun infeksi WSSV. Berdasarkan pengamatan, udang vannamei sangat aktif pada malam hari dibandingkan siang hari karena udang termasuk hewan nokturnal.



Gambar 7. Udang vannamei tanpa perlakuan (udang sehat)

Pengamatan di akuarium pertama ini menunjukkan respon makan udang normal, cara berenang juga aktif, warna tubuhnya cerah dan anggota tubuhnya lengkap. Hal ini sesuai dengan pendapat Adiwijaya (2004) bahwa udang yang sehat dicirikan dengan tingkah laku yang normal (tidak terjadi penyimpangan) yaitu jika diamati secara visual maka akan menunjukkan ciri-ciri: nafsu makan berjalan normal, gerakannya aktif, berenang normal dan melompat bila anco diangkat, respon positif terhadap arus, cahaya, bayangan dan sentuhan, tubuh

bewarna cerah berbelang putih yang jelas, tubuh bersih licin tidak ada kotoran atau lumut yang menempel, tubuh tidak keropos dan anggota tubuh lengkap.

4.2.2 Udang terinfeksi WSSV (K-)

Udang vannamei pada perlakuan K- ini diinfeksi WSSV tanpa ekstrak *G. verrucosa*. Pasca perlakuan udang diamati dari hari pertama sampai hari keempat dan diperoleh data morfologi dan tingkah laku yang disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Tingkah laku udang vannamei setelah terinfeksi WSSV

No	Hari ke-	Tingkah laku
1	1	Respon makan normal, cara berenang gerakannya masih aktif, warna tubuh cerah, tidak ada bintik putih pada karapas
2	2	Respon makan normal, gerakannya kurang aktif, warna tubuh cerah, tidak ada bintik putih pada karapas
3	3	Respon makan berkurang, gerakannya lemah, warna tubuh kemerahan, tidak ada bintik putih pada karapas
4	4	Respon makan berkurang, gerakannya lemah, warna tubuh kemerahan, udang mendekati aerasi, tidak ada bintik putih

Dari hasil pengamatan morfologi dan tingkah laku diatas menunjukkan bahwa pada hari pertama sampai hari kedua, tingkah laku seperti respon makan normal, cara berenang masih aktif, warna tubuh normal dan tidak ada bintik putih pada karapas sedangkan pada hari ketiga dan keempat terlihat respon makan berkurang, gerakannya lemah, warna tubuh kemerahan, dan tidak ada bintik putih pada karapas. Hal ini sesuai dengan pendapat Supriatna (2004), bahwa perubahan tingkah laku (respon makan dan aktifitas berenang) pada perlakuan K(-) diduga terkait dengan tingginya kerusakan alat gerak yang menyebabkan terganggunya pergerakan udang baik dalam mencari makan atau berenang.



Gambar 8. Udang vannamei dengan perlakuan diinfeksi WSSV

4.2.3 Perendaman ekstrak *G.verrucosa* 250 ppm dan infeksi WSSV (P)

Udang pada perlakuan (P) ini diperoleh dari udang yang direndam dengan ekstrak *G. verrucosa* 250 ppm selama 8 hari. Pasca perlakuan udang diamati dari hari pertama sampai keempat dan diperoleh data morfologi yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Tingkah laku udang setelah perendaman ekstrak *G.verrucosa* 250 ppm dan infeksi WSSV

No	Hari ke-	Tingkah laku
1	1	Respon makan normal, cara berenang gerakannya aktif, warna tubuh cerah, tidak ada bintik putih pada karapas
2	2	Respon makan normal, gerakannya aktif, warna tubuh cerah, tidak ada bintik putih pada karapas
3	3	Respon makan normal, gerakannya aktif, warna tubuh cerah, tidak ada bintik putih pada karapas, mendekati aerasi
4	4	Respon makan rendah, gerakannya lemah, warna tubuh cerah, tidak ada bintik putih, mendekati aerasi

Hasil pengamatan morfologi dan tingkah laku udang vannamei didapatkan bahwa hari pertama sampai hari ketiga, morfologi dan tingkah laku seperti respon makan normal, cara berenang aktif, warna tubuh masih cerah, tetapi pada hari keempat mulai menunjukkan gejala seperti respon makan rendah, gerakannya lemah, warna tubuh kemerahan, dan perlahan gerakannya mendekati aerasi. Hal ini sesuai dengan pendapat (Wahjuningrum et al., 2006) bahwa perlakuan

perendaman ekstrak 250 ppm baik untuk digunakan karena senyawa aktif fenol yang terkandung di dalam ekstrak *Gracilaria verrucosa* dapat berfungsi sebagai antibakteri bagi tubuh udang dan dapat melemahkan virus *white spot* yang menyerang udang



Gambar 9. Udang vannamei yang direndam ekstrak *Gracilaria verrucosa* dan diinfeksi WSSV

4.3 Pengamatan Mikroskopik Udang Vannamei

Pengamatan mikroskopik udang vannamei disajikan pada Lampiran 1. Pengamatan mikroskopik ini digunakan mengamati analisa histopatologi jaringan untuk mengetahui struktur jaringan usus karena pengaruh perlakuan yang diberikan yaitu dilihat perubahan sel hipertrofi dan badan inklusi.

4.3.1 Analisis Histopatologi Saluran Pencernaan (Usus)

Organ yang digunakan dalam analisis histopatologi adalah saluran pencernaan (usus). Organ ini merupakan salah satu organ target yang terinfeksi WSSV dan juga sel imun yang terdapat pada usus sehingga dapat diketahui tingkat kerusakannya.

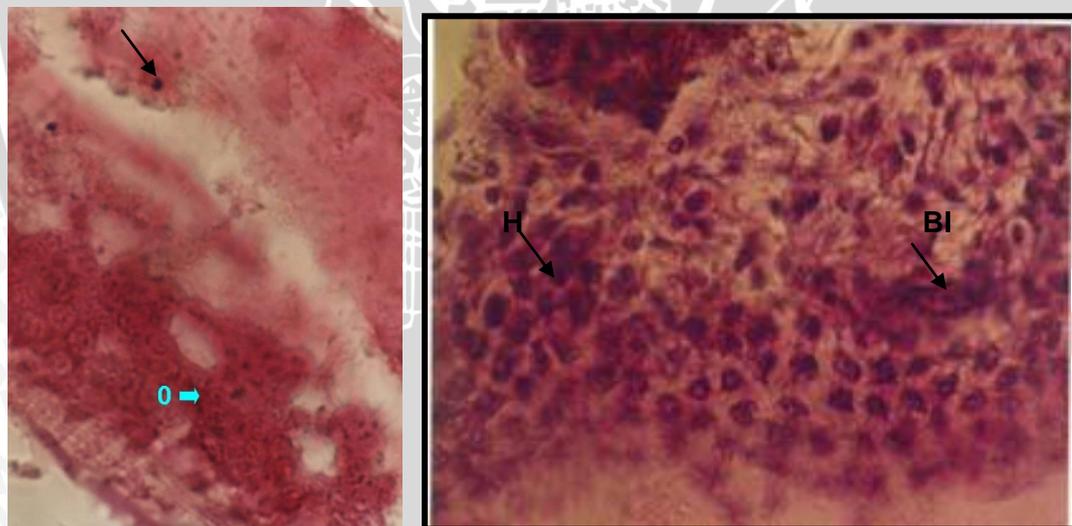
4.3.1.1 Badan Inklusi (*Inclusion Bodies Cell*)

Kerusakan jaringan secara histopatologis yang diakibatkan oleh virus WSSV pada akhir pemeliharaan terlihat sangat jelas. Terdapat badan inklusi virus dan kerusakan lumen pada jaringan serta kerusakan inti sel (lisis). Perbedaan yang terlihat pada preparat histopatologis untuk virus tersebut secara

umum adalah keberadaan inti sel dan badan inklusi serta kerusakan sitoplasma dari sel. Kerusakan tersebut terdiri dari inti sel yang mengalami pembesaran, nekrosis pada sitoplasma dan badan inklusi yang menekan inti sel (Sukenda *et al.*, 2009)

4.3.1.2 Hipertrofi epithelia

WSSV menginfeksi sel-sel penghasil mesodermal dan ektodermal seperti epitel subkutikula, organ limfoid, hemosit, jaringan hematopoietik, epidermis kutikula perut dan jaringan penghubung. Indikasi terinfeksi jaringan ditunjukkan oleh adanya titik nekrosis yang tersebar (Wongteerasupaye *et al.*, 1995 dalam Sukenda *et al.*, 2009). Sel-sel yang terdegenerasi ditandai dengan adanya inti yang mengalami hipertrofi (membesar) dengan kromatin yang terpinggirkan dan inklusi intranuklear eosinofil sampai basofil (Wongteerasupaya *et al.*, 1995 dalam Sukenda *et al.*, 2009).



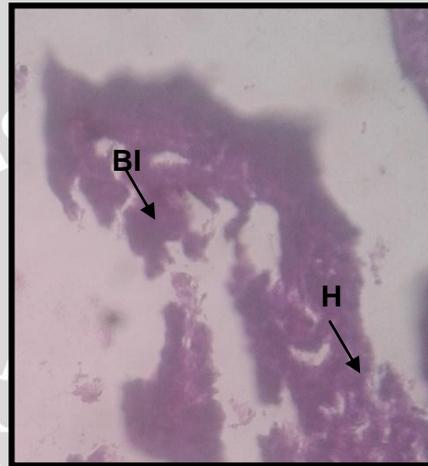
(a)

(b)

Gambar 10. (a) Jaringan usus udang sehat (Subkhan *et al.*, 2005); (b) Hipertrofi dan Inclusion Bodies Pada Usus Udang Vannamei Yang terinfeksi WSSV (Hendryanto, 2006)

4.3.1.3 Udang sehat (K+)

Udang vannamei tanpa perlakuan (K+) diperoleh dari udang sehat tanpa diberi perlakuan infeksi WSSV ataupun ekstrak *G.verrucosa*. Pemeliharaan udang yang harus dilakukan yaitu dengan penyiponan, pergantian air 30-50%/hari, dan pengamatan kualitas airnya. Pemberian pakan yaitu 5% dari berat tubuh udang sebanyak 0,6 gram sebanyak 4 kali sehari selama 8 hari.



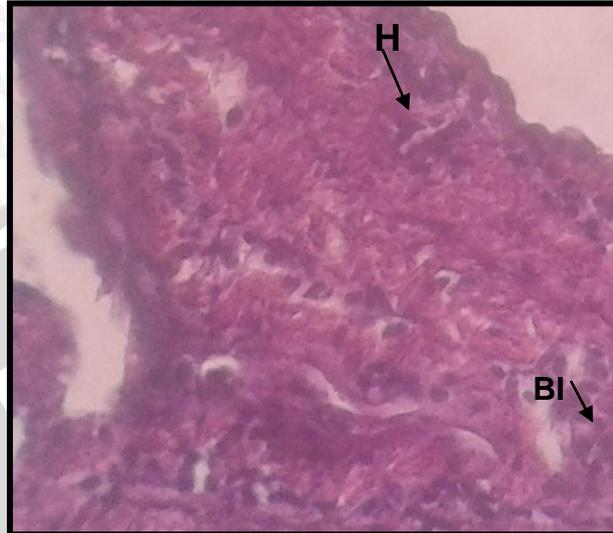
Gambar 11. Struktur jaringan usus udang vannamei (K+) Keterangan : Hipertrofi (H); Badan inklusi (BI)

Gambaran struktur jaringan usus udang vannamei yang masih normal maupun yang telah terinfeksi ringan terlihat inti sel udang berwarna kemerahan, hal ini karena inti sel tersebut eosinofilik sehingga menyerap pewarna eosin (Baidi, 2002).

4.3.1.4 Udang sakit (K-)

Udang vannamei perlakuan (K-) diperoleh dari udang yang diberi perlakuan infeksi WSSV tanpa ekstrak *G.verrucosa*. Pemeliharaan udang yang harus dilakukan yaitu dengan penyiponan, pergantian air 30-50%/hari, dan pengamatan kualitas airnya. Pemberian pakan yaitu 5% dari berat tubuh udang sebanyak 0,6 gram sebanyak 4 kali sehari selama 8 hari. Pada perlakuan (K-) terlihat hasilnya sel yang telah terinfeksi parah terlihat berwarna biru gelap

karena bersifat basofilik sehingga menyerap pewarna hematoksilin (Baidi, 2002)

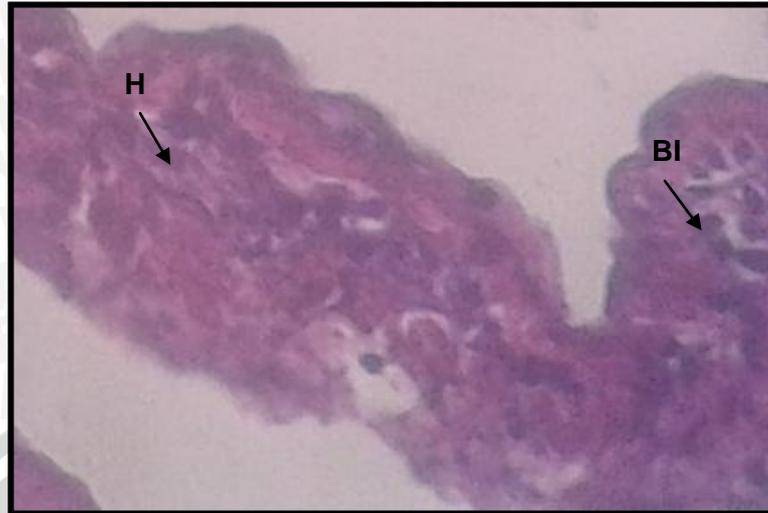


Gambar 12. Struktur jaringan usus udang vannamei yang terinfeksi WSSV (K-)
Keterangan : Hipertrofi (H); Badan Inklusi (BI)

Kerusakan sel yang terlihat melalui pengamatan histologi adalah adanya pembengkakan yang terjadi pada inti sel (hipertrofi). Keadaan ini disebabkan perkembangan dan penumpukan virion yang berkembang dalam nukleus (Moore and Poss, 1999 dalam Baidi, 2002)

4.3.1.5 Perendaman ekstrak 250 ppm dan infeksi WSSV

Udang vannamei perlakuan (P) diperoleh dari udang yang diberi perlakuan infeksi WSSV dan ekstrak *G.verrucosa*. Pemeliharaan udang yang harus dilakukan yaitu dengan penyiponan, pergantian air 30-50%/hari, dan pengamatan kualitas airnya. Pemberian pakan yaitu 5% dari berat tubuh udang sebanyak 0,6 gram sebanyak 4 kali sehari selama 8 hari. Setelah itu dilihat tingkat kerusakan sel dengan membedah udang dan mengambil organ usus dan kemudian dilakukan uji histopatologi untuk mengetahui struktur jaringan usus udang vannamei setelah diberi perlakuan. Gambaran struktur jaringan usus dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 13. Struktur jaringan usus udang vannamei dengan perlakuan perendaman ekstrak 250 ppm
Keterangan : Hipertrofi (H); Badan Inklusi (BI)

Pada gambar diatas terlihat bahwa pada perlakuan perendaman ekstrak *Gracilaria verrucosa* 250 ppm dan penginfeksi WSSV terdapat kerusakan sel seperti *hipertrofi* dan badan inklusi. Dalam perlakuan ini terlihat jumlah kerusakannya menurun karena diberi imunostimulan. Hal ini sesuai dengan pendapat Wahjuningrum et al., (2006) bahwa senyawa yang terdapat di dalam ekstrak tersebut berperan sebagai imunostimulan bagi tubuh udang dan dapat melemahkan virus *white spot*.

4.4 Analisis statistik uji F

Analisis statistik uji F menggunakan aplikasi disajikan pada Lampiran 2. Dalam penelitian ini, perumusan hipotesis yang diuji yaitu apakah pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* berpengaruh terhadap jumlah kerusakan sel pada jaringan saluran pencernaan (usus) udang vannamei yang terinfeksi WSSV atau tidak berpengaruh. Perumusan hipotesisnya adalah sebagai berikut :

F hitung > 5% = berbeda sangat nyata

F hitung < 5% = tidak berbeda nyata

Berdasarkan hasil pengamatan, didapatkan bahwa jumlah kerusakan sel pada udang vannamei, perhitungan dengan menggunakan uji F dapat dilihat dibawah ini :

Tabel 6. Jumlah Kerusakan Sel Pada Jaringan Saluran Pencernaan Udang Vannamei

Ulangan	Σ Kerusakan Sel (sel/mm ³)			Total
	K+	K-	P	
1	80	548	120	748
2	102	625	118	845
3	94	520	136	750
Total	276	1693	374	2343
Rata-rata	92	564	125	

Keterangan :

K + : udang vannamei tanpa perlakuan (sehat)

K - : udang vannamei dengan perlakuan infeksi WSSV

P : udang vannamei dengan perlakuan infeksi WSSV dan perendaman ekstrak *G.verrucosa* 250 ppm

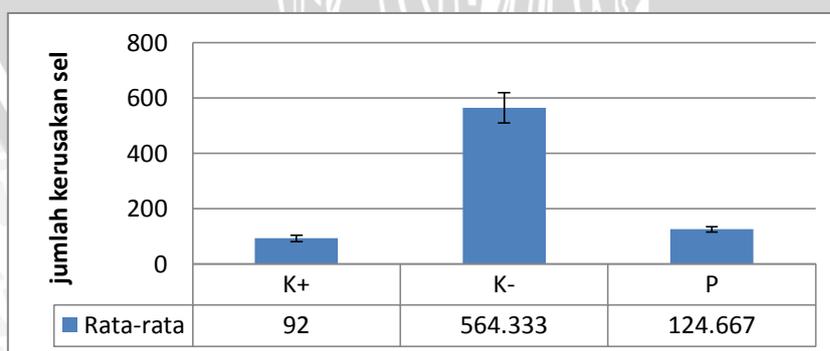
Perhitungan :

$$\text{Faktor Koreksi} : \frac{(\sum \text{Kerusakan})^2}{b \times n}$$

$$\begin{aligned}
 & : \frac{(80 + 548 + \dots + 136)^2}{3 \times 3} \\
 & : \frac{(2.343)^2}{9} = \frac{5.489.649}{9} = 609.961 \\
 JK \text{ Total} & : (80^2 + 548^2 + \dots + 136^2) - FK \\
 & : 1.033.789 - 609.961 = 423.828 \\
 JKP & : ((92^2 \times 3) + (564,33^2 \times 3) + (124,67^2 \times 3)) - FK \\
 & : ((8464 \times 3) + (318.472,11 \times 3) + (15.541,78 \times 3)) - 609.961 \\
 & : ((25.392) + (955.416,33) + (46.625,33)) - 609.961 \\
 & : 1.027.433,66 - 609.961 = 417.472,67 \\
 JKG & : JKT - JKG = 423.020 - 417.472,667 = 6.355,333
 \end{aligned}$$

Sumber varian	Df	Jumlah Kuadrat	Rata-rata Jumlah	F Hitung	F Tabel
Perlakuan	2	417472,667	208736,333	197,065	5,143
Galat	6	6355,333	1059,222		
Total	8	423828,000			

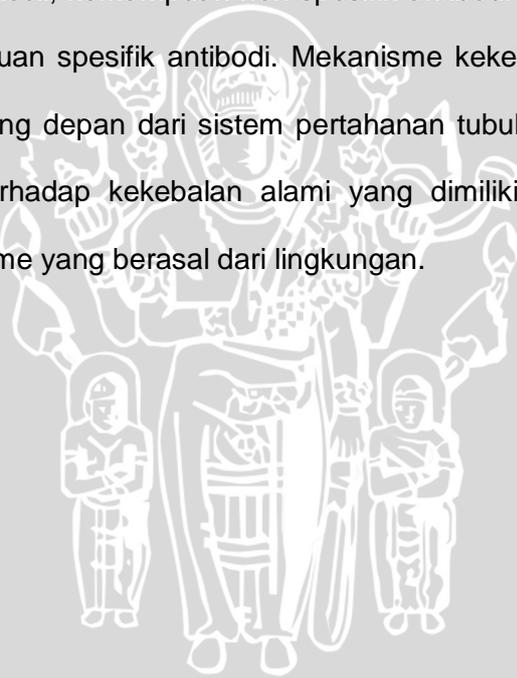
Dari perhitungan diatas, dapat disimpulkan bahwa F hitung > F tabel (5%), hal ini berarti tolak H0 dan terima H1 yang artinya pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* berpengaruh terhadap aktifitas *Hipertrofi epithel* dan *Inclusion Bodies Cell* atau badan inklusi. Selain itu pemberian ekstrak tersebut juga dapat menurunkan tingkat kerusakan sel pada jaringan saluran pencernaan (usus) udang vannamei. Dari setiap perlakuan memiliki perbedaan yang nyata.



Gambar 14. Grafik Jumlah Kerusakan Sel dari jaringan usus *Litopenaeus vannamei* (sel/mm³)

Dari grafik rata-rata kerusakan sel diatas dapat disimpulkan bahwa tingkat kerusakan tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol negatif (K-), sedangkan perlakuan 3 (P) dengan perendaman ekstrak *G.verrucosa* 250 ppm dan infeksi WSSV terlihat tingkat kerusakannya menurun. Perlakuan perendaman bisa menurunkan aktivitas *hipertrofi epithel* dan *inclusion bodies cell* dikarenakan senyawa aktif fenol yang terkandung di dalam ekstrak *Gracilaria verrucosa* dapat berfungsi sebagai antibakteri bagi tubuh udang dan dapat melemahkan virus *white spot* yang menyerang udang (Wahjuningrum *et al.*, 2006).

. Sesuai dengan pernyataan Hobart *and* Mc Connel (1975) bahwa udang merupakan krustacea kecil, kemampuan non spesifik antibodi lebih berkembang dibandingkan kemampuan spesifik antibodi. Mekanisme kekebalan non-spesifik menempati bagian paling depan dari sistem pertahanan tubuh dan secara luas bertanggung jawab terhadap kekebalan alami yang dimiliki hewan terhadap sebagian mikroorganisme yang berasal dari lingkungan.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Dari penelitian tersebut didapatkan kesimpulan bahwa :

- Ekstrak *Gracilaria verrucosa* berpengaruh terhadap aktifitas *Hipertrofi epithelia* dan *Inclusion Bodies Cell* atau badan inklusi
- Pemberian imunostimulan terhadap udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang terinfeksi WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) dengan metode perendaman ekstrak *Gracilaria verrucosa* 250 ppm bisa menurunkan aktifitas *Hipertrofi epithelia* dan *Inclusion Bodies Cell*.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, saran yang bisa diberikan oleh penulis adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode lain dalam pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* dan juga menggunakan perbandingan dosis sehingga dapat diketahui secara pasti apakah ekstrak tersebut berpengaruh terhadap kerusakan sel.

DAFTAR PUSTAKA

- Alaert, G.1987. *Metode Penelitian Air*. Usaha Nasional. Surabaya. 309.
- Adiwijaya. 2004. *Budidaya Udang Vannami (Liptopenaeus Vannameii) Intesif Yang Berkelanjutan*. Departemen Kelautan dan Perikanan.Jepara.
- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulasi Pada Hewan Akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 1(2): 87-92
- _____, D. Dana, M. Eidman, M.B. Malole & F.H. Pasaribu. 2003. *Patogenesis Infeksi Virus White Spot (Wsv) Pada Udang Windu (Penaeus Monodon Fab.)*. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 2(2) : 85-92
- Anwariyah, S. 2011. Kandungan fenol, komponen fitokimia dan aktivitas antioksidan Cymodoceae rotundata. Skripsi. IPB. Bogor. 79. hal
- Aziz, R. 2010. Kinerja Pertumbuhan Dan Tingkat Kelangsungan Hidup Udang Vannamei Litopenaeus vannamei Pada Salinitas 30 ppt, 10 ppt, 5 ppt, dan 0 ppt. Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Baidi, B. 2002. *Uji Patogenitas White Spot Syndrome Virus (WSSV) Terhadap Udang Windu (Penaeus monodon Fabricus) Pada Konsentrasi 20 µg/ml Secara Perendaman Selama 30, 60, dan 90 Menit*. Bogor : Institut Pertanian Bogor
- Balai Penelitian Tanah, 2006. *Sifat Fisik Tanah dan Metode Analisisnya*. Bogor: Balai Penelitian Tanah, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian
- Bower, S.M. 1996. Synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish: white spot syndrome baculovirus complex of penaeid shrimp. bower@dfo-mpo.gc.ca
- Boyd, C. E. 1982. *Water Quality Management for Pond Fish Culture*. Amsterdam : Elsevier Scientific Publishing Company.
- _____. 1990. *Water Quality In Pond For Aquaculture*. Binningham Publishing Co.
- Castro R., MC. Piazzon, I.Zarra, J.Leiro, M.Noya, and J.Lamas. 2006. Stimulation of turbot phagocytes by *Ulva rigida* C. Agardh polysaccharides. *Aquaculture* 254: 9-20
- Dayanti, R. 2012. Ketahanan Non-Spesifik Ikan Mas(Cyprinus carpio) yang diberi Larutan Temulawak (curcuma xanthorrhiza roxb) Terhadap Aeromonas hydrophila
- Dawes, C.J., 1981. *Marine Botany*. John Wiley Dawson University of South Florida New York.
- Effendi H., 2003. *Telaah Kualitas Air*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius

- Esteban MA, Cuesta A, Ortuno J, & Meseguer J. 2001. *Immunomodulatory Effects of Dietary Intake of Chitin in Gilthead Seabream (Sparus aurata L.) Innate Immune Response*. Fish & Shellfish Immunology, 11:303–15.
- Firmansyah, Adi. 2002. *Uji Patogenitas White Spot Syndrome Virus SSV Pada Udang Windu (Penaeus monodon)*. FPIK.IPB
- Haliman dan Dian. 2006. *Budidaya Udang Vannameii*. Swadaya. Jakarta
- Hameed, A.S.S, M. Anilkumar, M.L.S.Raj and K.Jayaraman.1998. *Studies on the pathogenicity of systemic ectodermal and mesodermal baculovirus and its detection in shrimp by immunological methods*. Aquaculture 160:31-45
- Hartoto, 2009. Penelitian deskriptif. <http://www.penalaran-unm.org.pdf> Diakses 13 Mei 2015
- Hobart, M.J. and Mc. Connel. 1975. *The Immune system: a course on the molecular and cellular basis on immunity*. Blackwell Scientifi Publications Alden Press, Oxford. Great Britain. P:317-318
- Jasmanidar, Yudiana. 2009. *Penggunaan ekstrak Gracilaria verrucosa untuk Meningkatkan Sistem Ketahanan Udang Vannamei Litopenaeus vannamei* Tesis. Institut Pertanian Bogor. 97 hal
- Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 51 Tahun 2004. *Baku Mutu Air Laut*
- Kilawati, Y. 2011. *Pengaruh Serangan WSSV Terhadap Morfologi, Tingkah Laku dan Kelulushidupan SPF Udang Vannamei Indonesia Yang Dipelihara Dalam Lingkungan Terkontrol*. Journal of Biological Researchers. ISSN: 0852 – 6834 No. 7F,hlm. 105-109
- _____ dan D. Win. 2009. *Karakter Protein ICP11 pada DNA Udang Vannamei (Penaeus vannamei) Yang Terinfeksi White Spot Syndrome Virus (WSSV)*. Berk. Penelitian Hayati 15 (21-24)
- Kordi, M.G.H. 2007. *Pemeliharaan Udang Vannameii*. Penerbit Indah. Surabaya. 99. Hal
- _____ K, M.Ghufran H dan A.B. Tancung. 2007. *Pengelolaan Kualitas Air Dalam Budidaya Perairan*. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta. 194. Hal
- Kusuma, R.V.S.2009.*Pengaruh Tiga Cara Pengolahan Tanah Tambak Terhadap Pertumbuhan Udang Vannamei Litopenaeus vannamei*. Bogor: IPB.
- Manoppo, Henky.2011.*Peran Nukleotida sebagai Imunostimulan*
- Lightner, D.V.1996. *A Handbook of shrimp pathology and diagnostic procedurs for disease of culture penaeid shrimp in Asia*. World Aquaculture Society. Baton Rounge, L.A.USA.350p
- Milchacova, N. 1998. *Seaweed of Black Sea Gracilaria verrucosa*. <http://www.lbss.iuf.net/BlackSea/Species/flora/seaweed/gracver.html>.

- Moore, A.M and S.G.Poos.1999. White Spot Syndrom Virus. <http://www.Lionfish.lms.Usm.edu/musweb/nis/White-spot-Baculovirus-compleks.Htm.Tanggal> kunjungan 21 Juli 2015
- Mufidah, T., I.Koesharyani. 2010. *Histopatologi Kasus Multi Infeksi Alami White Spot Syndrome Virus (WSSV) Dan Inveictious Hypodermal Haematopoetic Necrosis (IHHNV) Pada Penaeus monodon*. Jurnal Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. 921-926 hal.
- Murtidjo, B.A. 1989. *Budidaya udang dan bandeng*. Kanisius, Yogyakarta. 138 hal
- Nazaruddin., D.Aliza., S.Aisyah., Zainuddin., Syafrizal. 1978. *Gambaran Histopatologis Hepatopankreas Udang Windu (Penaeus Monodon) Akibat Infeksi Virus Hepatopancreatica Parvovirus (HPV)*. Jurnal Kedokteran Hewan. ISSN : 1978-225X
- Priatna, H. 2004. *Hubungan Parameter Kualitas Air Terhadap Produksi Udang Vannamei (Litopenaeus vannamei) Pada Tambak Biocrete PT. Bimasena Segara, Sukabumi, Jawa Barat. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor*
- Priatni, D., M. Alifuddin dan D. Djokosetiyanto. 2006. *Pengaruh Pemanasan Pada Temperatur Berbeda Selama 30 Menit Terhadap Patogenitas White Spot Syndrome Virus (WSSV) Pada Udang Windu (Penaeus monodon Fabr.)*. Jurnal Akuakultur Indonesia. 5 (1) : 5-12.
- Pusat Penyuluhan kelautan dan Perikanan. 2011. *Budidaya udang vaname (Litopenaeus vannamei)*. Pusat Penyuluhan kelautan dan Perikanan. Jakarta
- Puspasari, N. 2010. *Efektivitas Ekstrak Rumput Laut Gracilaria Verrucosa Sebagai Immunostimulan Untuk Pencegahan Infeksi Bakteri Aeromonas Hydrophila Pada Ikan Lele Dumbo Clarias Sp.* Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Raa. 2000. *The Use of Immune-stimulants in Fish and Shellfish Feeds*. Memorias del V. Simposium International de Nutricion Acuicola. 19-22. Noviembre. 2000. Merida, Yucatan Mexico
- Raharjo, A.B. 2003. *Pengaruh Kualitas Air Pada Tambak Tidak Bermangrove Dan Bermangrove Terhadap Hasil Udang Alam Di Desa Grinting Kabupaten Brebes*. Tesis. Universitas Diponegoro: Semarang
- Risaldi, Ahmad. 2011. *Teknik Pembesaran Udang Vannamei*. Badan Pengembangan Sumber Daya Perikanan dan Kelautan. Kementerian Kelautan Dan Perikanan. Bone. Sulawesi Selatan.
- Samad, M.S.F. 2010. *Pengaruh Senyawa Fenolik Ubur-ubur (Aurelia sp.) Terhadap hematologi dan aktivitas fagositosis ikan mas (Cyprinus carpio) yang diinfeksi bakteri Aeromonas hydrophilla*. Tesis 109. hal

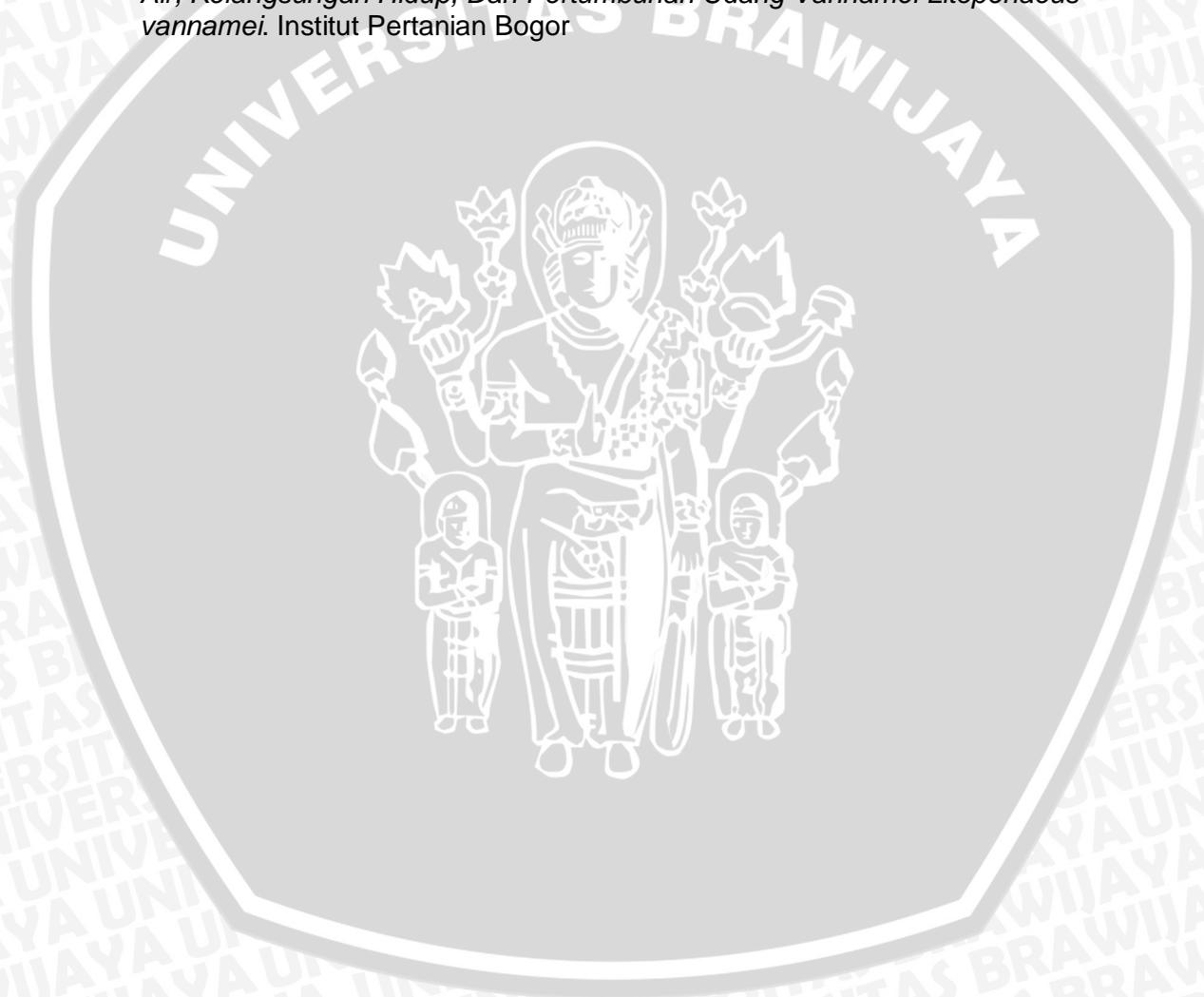
- Sari, A.I.P. 2009. Pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam (*nigella sativa*) terhadap produksi no makrofag mencit balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*. Skripsi. Universitas Diponegoro (tidak dipublikasikan)
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian Edisi Revisi. Kanisius. Yogyakarta. 276 hlm.
- Setyanto, A. Eko. 2005. Memperkenalkan Kembali Metode Eksperimen dalam Kajian Komunikasi. Jurnal Ilmu Komunikasi. 3(1):37-48
- Stickney, R.R. 1979. Principle of Warm Water Aquaculture. John Wiley and Sons, New York
- Subkhan, M. Alifuddin, Taslihan. 2005. Efek Radiasi Ultraviolet Terhadap Patogenitas White Spot Syndrome Virus Pada Udang Windu (*Penaeus Monodon* Fab.). Jurnal Akuakultur Indonesia, 4 (1): 79–87
- Sukenda, S. H. Dwinanti dan M. Yuhana. 2009. Keberadaan White Spot Syndrome Virus (Wssv), Taura Syndrome Virus (Tsv) Dan Infectious Hypodermal Haematopoitic Necrosis Virus (Ihhnv) Di Tambak Intensif Udang Vannamei *Litopenaeus Vannamei* Di Bakauheni, Lampung Selatan. Jurnal Akuakultur Indonesia 8(2) : 1-8
- Suprpto. 2011. Metode Analisis Parameter Kualitas Air Untuk Budidaya Udang. Shrimp Club Indonesia.
- Supriatna, A. 2004. *Pengaruh Perendaman White Spot Syndrome Virus (WSSV) Dalam Ekstrak Biji Mangrove (Xylocarpus granatum) Terhadap Patogenitasnya Pada Udang Windu (Penaeus monodon Fabr.)*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor : Bogor
- Surachmad, W. 1998. Pengantar Penelitian Ilmiah Dasar. Penerbit Tarsito. Bandung. 118 hal.
- Susetiono. 1987. Kehidupan Udang Windu *Panaeus monodon* Fabricius. Majalah Semi Populer Lonawarta. ISSN 0126 – 068 No. 3. Lembaga Ilmu Penelitian Indonesia (LIPI). Balai Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Laut. Ambon.
- Taslihan, Supito, Erik, Richard. 2005. *Teknik Budidaya Udang Secara Benar*. Departemen kelautan dan perikanan. Jepara
- Vernberg, W.B., Vernberg, F.J.,. 1972. *Enviromental Physiology of Marine Animal*. Springer-Verlag, New York.
- Wahjuningrum,D., S.H. Sholeh dan S.Nuryati. 2006. *Pencegahan Infeksi Virus White Spot Syndrome Virus (WSSV) Pada Udang Windu Penaeus monodon Dengan Cairan Ekstrak Pohon Mangrove (CEPM) Avicenna sp. Dan Sonneratia sp.* Jurnal Akuakultur Indonesia 5(1):65-75
- Wang, Y.G., M.Shariff, P.M.Sudha, P.S. Srinivasa Rao, M.D.Hassan and L.T. Tan. 1998. *Managing white spot disease in shrimp*, Infofish International.p :30-36

_____. Q, B.L. White, R.M Redman and D.V Lightner. 1999. Per os Challenge of *Litopenaeus vannamei* Post Larvae and *Farfantepenaeus duorum* Juvenile with Six Geographic Isolate of White Spot Syndrome Virus. *Aquaculture* 170 (1999). P : 179-194, Elsevier Science B.V

Wiyanto, D.B. 2010. Uji aktivitas antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappa alvarezii* dan *Euchema denticullatum* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan *Vibrio harveyii*. *Jurnal Kelautan*. 3(1):1-17

Wyban, J.A., dan Sweeney, J.N., 1991. *Intensive Shrimp Production Technology*. Hawaii: The Oceanic Institute.

Yuniasari, D. 2009. *Pengaruh Pemberian Bakteri Nitrifikasi Dan Denitrifikasi Serta Molase Dengan C/N Rasio Berbeda Terhadap Profil Kualitas Air, Kelangsungan Hidup, Dan Pertumbuhan Udang Vannamei Litopenaeus vannamei*. Institut Pertanian Bogor



LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan Ekstrak *Gracilaria Verrucosa*, Pemeliharaan Udang Vannamei, Hasil Pengamatan Mikroskopik.

No.	Keterangan	Gambar
1.	<i>Gracilaria verrucosa</i> dicuci dan dibersihkan	
2.	<i>Gracilaria verrucosa</i> diangin-anginkan	
3.	<i>Gracilaria verrucosa</i> ditimbang	

Lanjutan Lampiran 1. Pembuatan Ekstrak *Gracilaria Verrucosa*, Pemeliharaan Udang Vannamei, Hasil Pengamatan Mikroskopik.

No.	Keterangan	Gambar
4.	<i>Gracilaria verrucosa</i> kering dan digiling	
5.	<i>Gracilaria verrucosa</i> halus dimasukkan ke beaker glass untuk proses maserasi	
6.	Pencampuran bubuk <i>Gracilaria verrucosa</i> dan etanol 96% ke beaker glass	

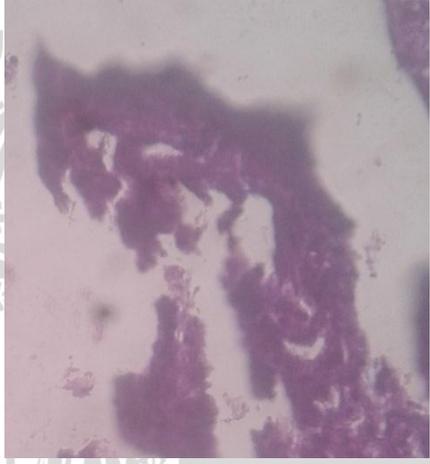
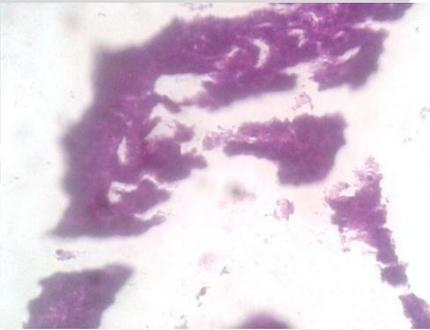
Lanjutan Lampiran 1. Pembuatan Ekstrak *Gracilaria Verrucosa*, Pemeliharaan Udang Vannamei, Hasil Pengamatan Mikroskopik.

No.	Keterangan	Gambar
7.	Maserasi ekstrak <i>Gracilaria verrucosa</i>	
8.	Udang dibedah dan diambil organ usus	
9.	Infeksi WSSV ke udang vannamei	

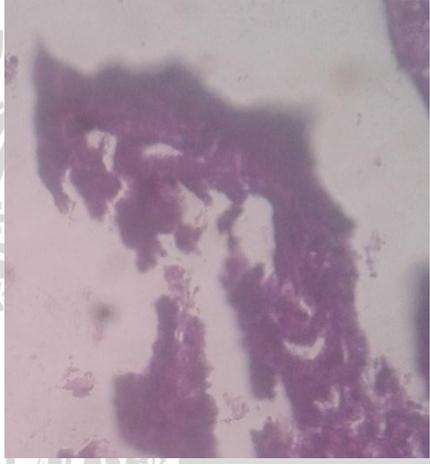
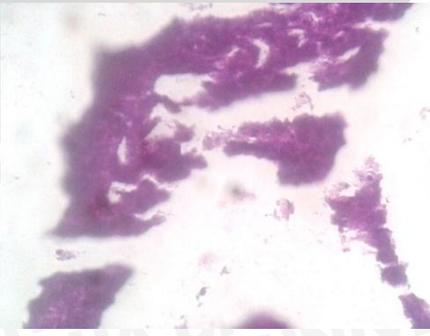
Lanjutan Lampiran 1. Pembuatan Ekstrak *Gracilaria Verrucosa*, Pemeliharaan Udang Vannamei, Hasil Pengamatan Mikroskopik.

No.	Keterangan	Gambar
10.	Perlakuan perendaman ekstrak 250 ppm	
11.	Perlakuan K+ (udang sehat)	
12.	Udang vannamei setelah perlakuan	

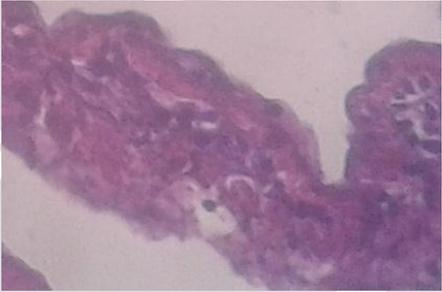
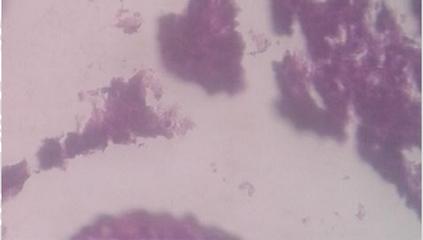
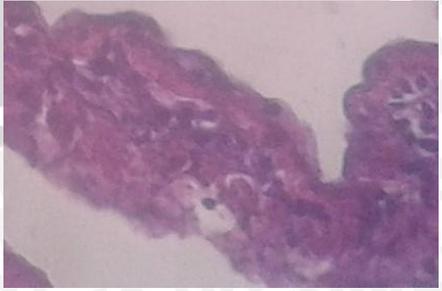
Lanjutan Lampiran 1. Pembuatan Ekstrak *Gracilaria Verrucosa*, Pemeliharaan Udang Vannamei, Hasil Pengamatan Mikroskopik.

No.	Keterangan	Gambar
13.	Perlakuan K-(infeksi WSSV)	
14.	Struktur jaringan usus udang vannamei (K+)	
15.	Struktur jaringan usus udang vannamei (K+)	

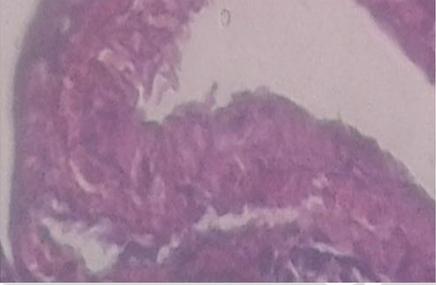
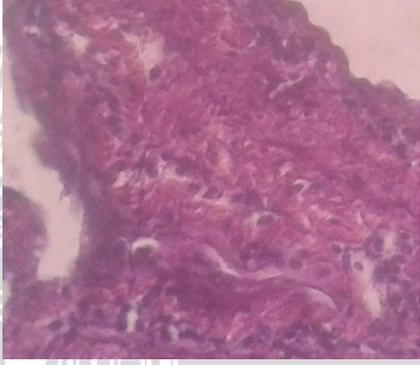
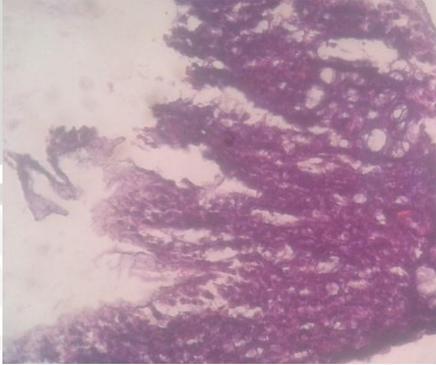
Lanjutan Lampiran 1. Pembuatan Ekstrak *Gracilaria Verrucosa*, Pemeliharaan Udang Vannamei, Hasil Pengamatan Mikroskopik.

No.	Keterangan	Gambar
16.	Perlakuan K-(infeksi WSSV)	
17.	Struktur jaringan usus udang vannamei (K+)	
18.	Struktur jaringan usus udang vannamei (K+)	

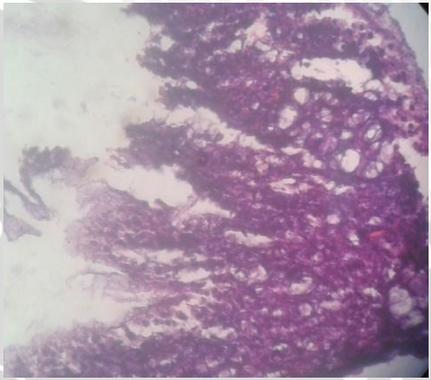
Lanjutan Lampiran 1. Pembuatan Ekstrak *Gracilaria Verrucosa*, Pemeliharaan Udang Vannamei, Hasil Pengamatan Mikroskopik.

No.	Keterangan	Gambar
19.	Struktur jaringan usus udang vannamei (K+)	
20.	Struktur jaringan usus udang vannamei dengan perlakuan perendaman ekstrak 250 ppm	
21.	Struktur jaringan usus udang vannamei dengan perlakuan perendaman ekstrak 250 ppm	

Lanjutan Lampiran 1. Pembuatan Ekstrak *Gracilaria Verrucosa*, Pemeliharaan Udang Vannamei, Hasil Pengamatan Mikroskopik.

No.	Keterangan	Gambar
22.	Struktur jaringan usus udang vannamei dengan perlakuan perendaman ekstrak 250 ppm	
23.	Struktur jaringan usus udang vannamei yang terinfeksi WSSV (K-)	
24.	Struktur jaringan usus udang vannamei yang terinfeksi WSSV (K-)	

Lanjutan Lampiran 1. Pembuatan Ekstrak *Gracilaria Verrucosa*, Pemeliharaan Udang Vannamei, Hasil Pengamatan Mikroskopik.

No.	Keterangan	Gambar
25.	Struktur jaringan usus udang vannamei yang terinfeksi WSSV (K-)	



Lampiran 2. Hasil Uji Menggunakan Aplikasi ANOVA (*Analysis Of Variance*)

Hipotesis yang diuji adalah :

H_0 :Pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* tidak berpengaruh terhadap aktifitas *hipertrofi epithelia* dan *inclusion bodies cell* pada saluran pencernaan udang vannamei yang terinfeksi WSSV.

H_1 :Pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* berpengaruh terhadap aktifitas *hipertrofi epithelia* dan *inclusion bodies cell* pada saluran pencernaan udang vannamei yang terinfeksi WSSV.

Taraf signifikansi : 5%

Statistik Uji:

Ulangan	Σ Kerusakan Sel (sel/mm ³)			Total
	K+	K-	P	
1	80	548	120	748
2	102	625	118	845
3	94	520	136	750
Total	276	1693	374	2343
Mean	92	564	125	

ANOVA

Reaksi

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	417.472,667	2	208.736,333	197,066	,000
Within Groups	6.355,333	6	1.059,222		
Total	423.828,000	8			

Dari perhitungan uji One Way Anova terlihat nilai signifikan 0,00 maka dapat disimpulkan bahwa nilai sig < 0,05; maka tolak H_0 dan dari perlakuan K+, K-, dan P ada pengaruh dan ada perbedaan di setiap perlakuan. Jadi pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* berpengaruh terhadap aktivitas *hipertrofi epithel* dan *inclusion bodies cell* pada jaringan saluran pencernaan udang vannamei yang terinfeksi wssv dan dari ketiga perlakuan tersebut memiliki perbedaan yang nyata.