

**EFEKTIVITAS EKSTRAK RUMPUT LAUT (*Glacilaria verrucosa*) PADA
UDANG VANNAME (*Litopenaeus vannamei*) YANG TERINFEKSI *WHITE
SPOT SYNDROME VIRUS* (WSSV) DITINJAU DARI *TOTAL HAEMOCYTE
COUNT* (THC) DAN *DIFFERENTIAL HAEMOCYTE COUNT* (DHC)**

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

Oleh :

ACHMAD SOHIR

NIM. 125080101111047



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

EFEKTIVITAS EKSTRAK RUMPUT LAUT (*Glacilaria verrucosa*) PADA UDANG VANNAME (*Litopenaeus vannamei*) YANG TERINFEKSI WHITE SPOT SYNDROME VIRUS (WSSV) DITINJAU DARI TOTAL HAEMOCYTE COUNT (THC) DAN DIFFERENTIAL HAEMOCYTE COUNT (DHC)

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

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

Oleh :
**ACHMAD SOHIR
NIM. 125080101111047**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

LAPORAN SKRIPSI

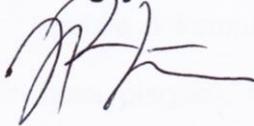
EFEKTIVITAS EKSTRAK RUMPUT LAUT (*Glacilaria verrucosa*) PADA UDANG VANNAME (*Litopenaeus vannamei*) YANG TERINFEKSI *WHITE SPOT SYNDROME VIRUS* (WSSV) DITINJAU DARI TOTAL HAEMOCYTE COUNT (THC) DAN DIFFERENTIAL HAEMOCYTE COUNT (DHC)

Oleh:

ACHMAD SOHIR

NIM. 12508010111047

Dosen Penguji I



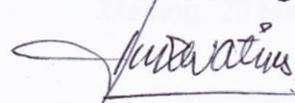
Nanik Retno Buwono., S. Pi, MP
NIP. 19840420 2014404 2 002
Tanggal: 10 AUG 2016

**Menyetujui
Dosen Pembimbing I**



Dr. Yuni Kilawati, S. Pi, M. Si
NIP. 19730702 20051 2 001
Tanggal: 10 AUG 2016

Dosen Pembimbing II



Ir. Herwati Umi S., MS
NIP. 19520402 198003 2 001
Tanggal: 10 AUG 2016

**Mengetahui,
Ketua Jurusan**



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

Tanggal: 10 AUG 2016



PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Achmad Sohir

NIM : 125080101111047

Prodi : Manajemen Sumberdaya Perairan

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

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Skripsi ini adalah hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 20 Mei 2016

Achmad Sohir
NIM. 125080101111047

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam penulisan laporan penelitian skripsi ini tidak lepas dari segala bentuk dukungan yang penulis peroleh dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Orang tua tercinta dan keluarga atas setiap dukungan baik moril maupun materil yang telah diberikan.
2. Dr. Yuni Kilawati., S.Pi., M. Si dan Ir. Herwati Umi S, MS selaku dosen pembimbing, terima kasih atas bimbingan serta nasehat yang telah diberikan.
3. Nanik Retno Buwono, S. Pi, MP selaku penguji, terima kasih atas atas bimbingan serta nasehat yang telah diberikan
4. Sahabat MSP 2012 dan teman-teman se-angkatan senasib seperjuangan atas waktu, dukungan serta doa yang telah diberikan.
5. Kakak tingkat MSP dari berbagai angkatan yang telah bersedia berbagi ilmu dan pengalaman.
6. SATMENWA 803 Universitas Brawijaya, telah memberikan pendidikan moral selama berada di bangku perkuliahan.
7. Shita Fitriana sudah memberikan semangat selama penelitian.

Semoga Allah SWT senantiasa membalas segala kebaikan yang telah diberikan oleh pihak-pihak tersebut dengan pahala dan ilmu yang bermanfaat.

Semoga apa yang kita kerjakan dapat menjadi berkah.

Malang, 21 April 2016

Penulis

RINGKASAN

ACHMAD SOHIR. Penelitian tentang Efektivitas Ekstrak Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* Terhadap Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Ditinjau dari *Total Haemocyte Count* (THC) dan *Differential Haemocyte Count* (DHC) (dibawah bimbingan **Dr. Yuni Kilawati., S.Pi, M. Si** dan **Ir. Herwati Umi S, MS**).

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu komoditas perikanan ekonomis penting. Pada dasarnya udang merupakan komoditi ekspor andalan pemerintah (Amri dan Kanna, 2008 dalam Yustianti *et al.*, 2012). Dewasa ini muncul beberapa penyakit yang menyerang udang. Telah diketahui adanya infeksi penyakit oleh virus komoditas udang di Indonesia, terutama oleh penyakit bercak putih atau *White Spot Syndrome Virus* (WSSV). Salah satu upaya dalam penanggulangan dan pencegahan penyakit udang adalah melalui peningkatan sistem pertahanan tubuh udang, yaitu dengan menggunakan imunostimulan (Johny *et al.*, 2005 dalam Ridlo dan Pramesti, 2009). *Gracilaria verrucosa* merupakan bahan alami yang dapat digunakan sebagai imunostimulan karena memiliki kandungan berupa komponen agar yang di dalamnya terdapat senyawa polisakarida (Anggadiredja, 2006 dalam Puspasari, 2010). Uji efektivitas rumput laut *Gracilaria verrucosa* sebagai imunostimulan pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dapat dilakukan dengan menganalisa pengamatan jumlah *Total haemocyte Count* (THC) dan *Defferential Haemocyte Count* (DHC).

Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui efektivitas *Gracilaria verrucosa* sebagai imunostimulan pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) serta mengetahui dosis ekstrak *Gracilaria verrucosa* yang dicampurkan pada pakan udang ditinjau dari jumlah *Total haemocyte Count* (THC) dan *Defferential Haemocyte Count* (DHC) yang terinfeksi WSSV. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan April 2016 di Laboratorium Nutrisi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, serta UPT PBAP Bangil Pasuruan Jawa Timur.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap. Penelitian menggunakan 4 perlakuan serta 3 kali pengulangan dan menggunakan teknik analisis data dengan cara deskriptif. Sampel darah yang akan diamati diperoleh dari udang uji pada bak-bak percobaan dengan perlakuan yang berbeda. Perlakuan Kontrol (-) yaitu udang diberi pakan tanpa percampuran ekstrak (0g/kg), Perlakuan A udang diberi pakan dengan percampuran ekstrak 5g/kg, Perlakuan B udang diberi pakan dengan percampuran ekstrak 10g/kg, sedangkan perlakuan C udang diberi pakan dengan percampuran ekstrak 15g/kg. Udang uji diberi pakan selama 14 hari kemudian diuji tantang dengan WSSV selama 6 hari, untuk pengambilan darah udang dilakukan sebanyak 2 kali yaitu pada akhir hari perlakuan (hari ke 14) dan pada akhir hari uji tantang (hari ke 6), selanjutnya di uji F untuk mengetahui efektivitas ekstrak rumput laut *Gracilaria verrucosa*.

Pada pengamatan udang kontrol (+) didapatkan THC sebesar 54.000 sel/ml, perlakuan nilai THC sebelum infeksi menunjukkan bahwa pada perlakuan Kontrol (-), didapat *Total Haemocyte Count* (THC) dengan rata-rata 42.000 sel/ml. Perlakuan A (5g/kg) didapat THC dengan rata-rata 54.000 sel/ml, sedangkan pada perlakuan B (10g/kg) didapat THC dengan rata-rata 100.000 sel/ml, serta pada perlakuan C (15g/kg) didapatkan nilai rata rata 70.000 sel/ml.

Pada hasil THC sesudah infeksi didapat hasil bahwa Kontrol (-) dengan rata-rata 36.000 sel/ml, perlakuan A (5g/kg) didapat THC dengan rata-rata 48.000 sel/ml, sedangkan pada perlakuan B (10g/kg) didapat THC dengan rata-rata 84000 sel/ml, serta pada perlakuan C (15g/kg) didapatkan nilai rata-rata 56.000 sel/ml.

Pengamatan DHC udang kontrol (+) memiliki jumlah rata-rata sel Granular sebesar 44.44 %, nilai sel Semi Granular sebesar 22.22 %, serta nilai Hialin sebesar 33.33 %. Hasil pengamatan sel granular pada darah udang vaname sebelum dan sesudah infeksi didapatkan data bahwa sebelum infeksi rata-rata sel granular pada perlakuan kontrol (-) sebesar 34.92 %, perlakuan A sebesar 38.88 %, perlakuan B sebesar 50 %, perlakuan C sebesar 43.18 % sedangkan pada darah udang vaname sesudah infeksi WSSV didapatkan nilai rata-rata perlakuan kontrol (-) sebesar 28.41 %, perlakuan A sebesar 37.77 %, perlakuan B sebesar 48.33 %, serta perlakuan C sebesar 42.5 %. Hasil pengamatan sel semi granular pada darah udang vaname sebelum dan sesudah infeksi didapatkan data bahwa sebelum infeksi nilai rata-rata sel semi granular pada perlakuan kontrol (-) sebesar 34.92 %, perlakuan A sebesar 28.88 %, perlakuan B sebesar 14.42 %, perlakuan C sebesar 23.88 % sedangkan pada darah udang vaname sesudah infeksi WSSV didapatkan nilai rata-rata perlakuan kontrol (-) sebesar 44.28 %, perlakuan A sebesar 27.77 %, perlakuan B sebesar 12.09 %, serta perlakuan C sebesar 21.66 %. Hasil pengamatan sel hialin pada darah udang vaname sebelum dan sesudah infeksi didapatkan data bahwa sebelum infeksi rata-rata sel hialin pada perlakuan kontrol (-) sebesar 30.15 %, perlakuan A sebesar 32.22 %, perlakuan B sebesar 35.57%, perlakuan C sebesar 32.93 % sedangkan pada darah udang vaname sesudah infeksi WSSV didapatkan nilai rata-rata perlakuan kontrol (-) sebesar 27.30 %, perlakuan A sebesar 34.44 %, perlakuan B sebesar 39.56 %, serta perlakuan C sebesar 35.83 %

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ekstrak *Gracilaria verrucosa* efektif dalam meningkatkan sistem imun udang dilihat dari peningkatan THC dan DHC udang vaname, dengan dosis optimal 10 g/kg pakan. Saran yang dapat diberikan dari penulis yaitu untuk penelitian yang serupa dengan penelitian ini sebaiknya menggunakan ekstrak *Gracilaria verrucosa* dengan aplikasi yang berbeda sehingga ekstrak *Gracilaria verrucosa* dapat dimanfaatkan dengan maksimal.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayah Nya-lah penulis dapat menyelesaikan laporan Skripsi yang berjudul “Efektivitas Ekstrak Rumput Laut (*Glacilaria Verrucosa*) pada Udang vannamei (*Litopenaeus Vannamei*) yang Terinfeksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) Ditinjau dari *Total Haemocyte Count* (THC) dan *Differential Haemocyte Count* (DHC)”. Laporan skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan dalam meraih gelar Sarjana Perikanan (S.Pi) di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Dalam penulisan Laporan Skripsi ini tentunya tidak sedikit hambatan yang penulis hadapi. Penulis menyadari bahwa masih banyak terdapat kekurangan baik dari ketelitian pada penulisan maupun kesalahan penyampaian kata, karena semua itu tidak lepas dari keterbatasan kemampuan yang dimiliki oleh penulis. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun agar laporan skripsi ini selanjutnya lebih sempurna. Semoga Skripsi ini dapat diterima dengan baik dan bermanfaat bagi para pembaca.

Malang, 20 Mei 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Maksud dan Tujuan	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Tempat dan Waktu	5
1.6 Hipotesis Penelitian	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	6
2.1.1 Klasifikasi Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	6
2.1.2 Morfologi Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	7
2.1.3 Daur Hidup Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	7
2.1.4 Habitat Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	9
2.1.5 Kebiasaan Makan	9
2.1.6 Sistem pertahanan Tubuh Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	10
2.2 Penyakit <i>White Spot Syndrome Virus</i> (WSSV)	11
2.3 Rumput Laut (<i>Gracilaria verrucosa</i>)	14
2.3.1 Klasifikasi <i>Gracilaria verrucosa</i>	14
2.3.2 Morfologi <i>Gracilaria verrucosa</i>	15
2.3.3 Habitat dan Penyebaran <i>Gracilaria verrucosa</i>	16
2.3.4 Bahan Aktif <i>Gracilaria verrucosa</i>	17
2.4 Ekstraksi <i>Gracilaria verrucosa</i>	19
2.4.1 Maserasi	19
2.4.2 Perkolasi	20
2.4.3 Soxhlet	20
2.4.4 Reflux dan Destilasi Uap	20
2.5 Pelarut Ekstraksi	21
2.6 Imunostimulan	23
2.6.1 Mekanisme Masuknya Imunostimulan	24
2.6.2 <i>Haemocyte</i>	25
2.6.3 <i>Total Haemocyte Count</i> (THC)	26



2.6.4	<i>Differential Haemocyte Count (DHC)</i>	27
2.7	Hubungan Haemocyte dan Imunitas Udang.....	28
2.8	Kualitas Air	30
2.8.1	Suhu	30
2.8.2	Derajat Keasaman (pH)	31
2.8.3	Oksigen Terlarut (DO).....	31
2.8.4	Salinitas	32
2.8.5	Ammonia	33
3.	MATERI DAN METODE	34
3.1	Materi Penelitian	34
3.2	Metode Penelitian	34
3.2.1	Rancangan Percobaan RAL	35
3.3	Alat dan Bahan Penelitian.....	36
3.4	Teknik Pengumpulan Data.....	37
3.4.1	Data Primer	37
3.4.2	Data Sekunder.....	37
3.5	Tahapan Penelitian.....	38
3.5.1	Ekstraksi <i>Gracilaria verrucosa</i>	38
3.5.2	Persiapan Udang Uji.....	39
3.5.3	Perlakuan Pakan	40
3.5.4	Penyediaan Larutan Inokulum WSSV	40
3.5.5	Bagan Alir Perlakuan Hewan Uji.....	42
3.5.6	Pemeliharaan Hewan Uji	42
3.5.7	Perhitungan THC dan DHC.....	43
3.5.8	Survival Rate (SR)	44
3.6	Metode Pengukuran Kualitas Air.....	44
3.6.1	Suhu	44
3.6.2	Derajat Keasaman (pH)	45
3.6.3	Oksigen Terlarut (DO).....	45
3.6.5	Salinitas	46
3.6.6	Amonia	46
3.6.7	Analisa Data RAL	46
4.	HASIL DAN PEMBAHSAN	49
4.1	Gambaran Umum UPT PBAP Bangil	49
4.2	Hasil Ekstraksi <i>Gracilaria verrucosa</i>	50
4.3	Kualitas Air	52
4.3.1	Parameter Fisika.....	53
4.3.2	Parameter Kimia	53
4.4	Pengamatan Makroskopik Udang Vaname	56
4.4.1	Pengamatan Udang Kontrol (+)	57
4.4.2	Pengamatan Udang Kontrol (-)	58
4.4.3	Pengamatan Udang Uji A	59
4.4.4	Pengamatan Udang Uji B	60
4.4.5	Pengamatan Udang Uji C	60
4.5	Pengamatan Mikroskopik pada Udang Uji	62
4.5.1	Total Haemocyte Count (THC).....	65
4.5.2	Differential Haemocyte Count (DHC)	70
4.5.3	Analisa Sidik Ragam DHC Sebelum dan Sesudah Infeksi	77
4.6	<i>Survival Rate (SR)</i>	82
5	KESIMPULAN DAN SARAN.....	83

5.1	Kesimpulan.....	83
5.2	Saran.....	83
	DAFTAR PUSTAKA.....	84
	Lampiran	94

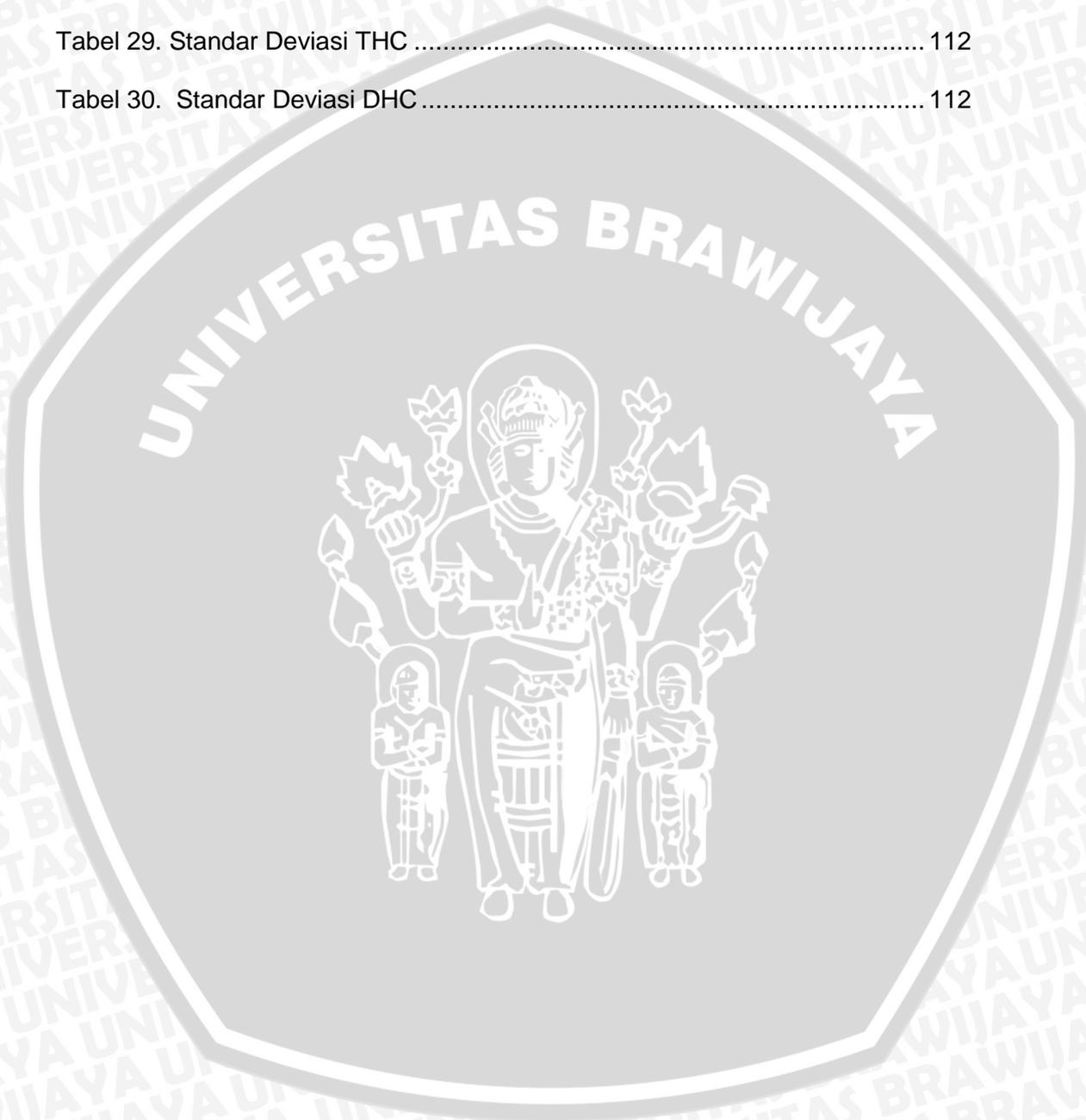


DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Konstanta dielektrikum pelarut organik	22
Tabel 2. Alat dan Bahan Penelitian	36
Tabel 3. Hasil pengukuran kualitas air	53
Tabel 4. Ciri-ciri tingkah laku dan morfologi udang kontrol (-)	58
Tabel 5. Ciri-ciri tingkah laku dan morfologi udang uji A.....	59
Tabel 6. Ciri-ciri tingkah laku dan morfologi udang uji B.....	60
Tabel 7. Ciri-ciri tingkah laku dan morfologi udang uji C.....	61
Tabel 8. Hasil Pengamatan THC	62
Tabel 9. Nilai sidik Ragam THC sebelum infeksi.....	69
Tabel 10. Nilai Sidik Ragam THC Sesudah Infeksi	69
Tabel 11. Sidik Ragam Sel Granular Sebelum Infeksi.....	77
Tabel 12. Sidik Ragam Sel Semi Granular Sebelum Infeksi.....	77
Tabel 13. Sidik Ragam Sel Hialin Sebelum Infeksi.....	78
Tabel 14. Sidik Ragam Sel Granular Sesudah Infeksi.....	79
Tabel 15. Sidik Ragam Sel Semi Granular Sesudah Infeksi.....	80
Tabel 16. Sidik Ragam Sel Semi Hialin Sesudah Infeksi.....	80
Tabel 17. Perhitungan THC Sebelum Infeksi	94
Tabel 18. Perhitungan THC Sebelum Infeksi	94
Tabel 19. Perhitungan DHC Sebelum Infeksi.....	95
Tabel 20. Perhitungan DHC Sesudah Infeksi.....	95
Tabel 21. Normalitas THC Sesudah Infeksi	100
Tabel 22. Perhitungan Granular Sebelum Infeksi.....	101
Tabel 23. Perhitungan Semi Granular Sebelum Infeksi.....	101
Tabel 24. Perhitungan Hialin Sebelum Infeksi.....	102



Tabel 25. Perhitungan Granular Sesudah Infeksi.....	102
Tabel 26. Perhitungan Semi Granular Sesudah Infeksi.....	103
Tabel 27. Perhitungan Hialin Sesudah Infeksi.....	103
Tabel 28. Survival rate udang percobaan	111
Tabel 29. Standar Deviasi THC	112
Tabel 30. Standar Deviasi DHC.....	112



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Udang vaname.....	6
Gambar 2. Siklus Hidup Udang (Braak, 2002 dalam Manoppo, 2011).....	9
Gambar 3. Morfologi WSSV (Feriza, 2010).....	11
Gambar 4. Gejala Klinis WSSV (Feriza, 2010).....	13
Gambar 5. <i>Gracilaria verrucosa</i> (Googleimage, 2016).....	14
Gambar 6. Morfologi <i>Gracilaria verrucosa</i>	16
Gambar 7. Mekanisme Kerja Immunostimulan	25
Gambar 8. Rancangan Percobaan RAL.....	35
Gambar 9. Bagan Alir Penelitian.....	42
Gambar 10. Morfologi dan tingkah laku udang vaname	57
Gambar 11. Histogram THC Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	66
Gambar 12. Data DHC udang kontrol (+).....	71
Gambar 13. Histogram DHC Sel Granular Udang vaname	73
Gambar 14. Histogram DHC Sel Semi Granular Udang vaname	74
Gambar 15. Histogram DHC Sel Hialin Udang vaname	76
Gambar 16. Kurva substansial positif skewness	98
Gambar 17. Kurva normal.....	99



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan THC Sebelum dan Sesudah Infeksi.....	94
Lampiran 2. Data Perhitungan DHC Sebelum dan Sesudah Infeksi.....	95
Lampiran 3. Data Perhitungan Uji Normalitas THC Sebelum Infeksi.....	96
Lampiran 4. Perhitungan Uji Normalitas Data THC Sesudah Infeksi.....	100
Lampiran 5. Data Perhitungan Uji Normalitas DHC.....	101
Lampiran 6. Perhitungan Uji F THC Sebelum dan sesudah Infeksi.....	104
Lampiran 7. Perhitungan Nilai DHC Sevelum da Sesudah Infeksi	106
Lampiran 8. Survival rate	111
Lampiran 9. Standard Deviasi.....	112
Lampiran 10. Dokumentasi Kegiatan	113



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu komoditas perikanan ekonomis penting. Pada dasarnya udang merupakan komoditi ekspor andalan pemerintah (Amri dan Kanna, 2008 dalam Yustianti *et al.*, 2012). Udang vaname berasal dari perairan Amerika dan mulai masuk ke Indonesia pada tahun 2001. Saat ini komoditas vaname sudah menyebar ke seluruh wilayah Indonesia dan telah berhasil dikembangkan oleh para pembudidaya (Yustianti *et al.*, 2012). Keunggulan yang dimiliki oleh udang vaname antara lain responsif terhadap pakan yang diberikan atau nafsu makan yang tinggi, lebih tahan terhadap serangan penyakit dan lingkungan yang kurang baik. Udang vaname juga memiliki pasaran yang pesat di tingkat internasional (Ariawan, 2005 dalam Arifin *et al.*, 2005). Usaha budidaya udang vaname terdapat faktor yang harus diperhatikan yaitu penyakit yang menyerang pada hewan budidaya.

Sistem budidaya udang mengalami penurunan produksi. Dewasa ini muncul beberapa penyakit yang menyerang udang. Telah diketahui adanya infeksi penyakit oleh virus komoditas udang di Indonesia, terutama oleh *White Spot Baculo Virus* (WSBV) dan *Monodon Baculo Virus* (MBV), yang saat ini sering disebut dengan penyakit bercak putih atau *White Spot Syndrome Virus* (WSSV). Kematian udang pada usia satu sampai dua bulan di tambak sudah menjadi hal yang umum sebagai akibat serangan virus bercak putih, yang mengakibatkan ribuan hektar tambak tidak bisa berproduksi lagi (Kilawati dan Maimunah, 2014).

White Spot Syndrome Virus menjadi semakin sulit diatasi karena banyaknya inang jenis krustasea yang dapat berfungsi sebagai reservoir alami (Hossain *et al.*, 2001 dalam Anshary dan Sriwulan, 2009). Kemampuannya yang



cukup lama untuk bertahan dilingkungan, serta minimnya pengetahuan tentang virus ini pada level molekuler. Dampak ekonomi yang ditimbulkan oleh penyakit bintik putih sangat besar dan diperkirakan kerugian mencapai lebih dari 300 juta US\$ atau lebih dari 3 triliun rupiah per tahun (Wahyono, 1999 *dalam* Rukyani, 2000). Kerugian yang diderita negara-negara lain akibat infeksi WSSV diperkirakan kurang lebih sama seperti yang dialami Indonesia, atau total kerugian dunia akibat infeksi virus ini mencapai 20-30 milyar US\$.

Salah satu upaya dalam penanggulangan dan pencegahan penyakit udang adalah melalui peningkatan sistem pertahanan tubuh udang, yaitu dengan menggunakan imunostimulan, vitamin dan hormon (Johny *et al.*, 2005 *dalam* Ridlo dan Pramesti, 2009). Udang mempunyai daya tahan alami yang bersifat non spesifik terhadap organisme patogen berupa pertahanan fisik (mekanik), kimia, seluler dan humoral. Daya tahan alami ini dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan, sehingga terdapat tingkatan yang berbeda-beda tergantung *strain*, lingkungan pemeliharaan, spesies maupun famili (Bellanti, 1989 *dalam* Ridlo dan Pramesti, 2009).

Sistem imun udang tergantung pada proses pertahanan non spesifik sebagai pertahanan terhadap infeksi (Lee dan Shiau, 2004 *dalam* Ridlo dan Pramesti, 2009). Pertahanan pertama terhadap penyakit pada udang dilakukan oleh hemosit melalui fagositosis. Aktifitas fagositosis dapat ditingkatkan dengan mengaktifkan sistem prophenol oksidase (Pro-PO) yang berada dalam hemosit semigranular dan granular (Selvin *et al.*, 2004 *dalam* Ridlo dan Pramesti, 2009). Imunostimulasi biasa dilakukan dengan pemberian komponen mikrobia seperti β -glukan dan lipopolisakarida (LPS) atau sel bakteri yang telah dimatikan (Smith *et al.*, 2003 *dalam* Ridlo dan Pramesti, 2009). Kelemahan dari imunostimulan ini adalah harganya relatif mahal, sehingga diperlukan usaha pencarian sumber



alternatif imunostimulan yang murah dan mudah penanganannya, salah satunya adalah dari rumput laut.

Gracilaria verrucosa merupakan bahan alami yang dapat digunakan sebagai imunostimulan karena memiliki kandungan berupa komponen agar yang di dalamnya terdapat senyawa polisakarida (Anggadiredja, 2006 dalam Puspasari, 2010). Bahan ini dinilai aman dalam penggunaannya karena tidak berbahaya bagi kesehatan manusia dan lingkungan serta bahan ini mudah diperoleh. Uji efektivitas rumput laut *Gracilaria verrucosa* sebagai imunostimulan pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dapat dilakukan dengan menganalisa pengamatan jumlah *Total Haemocyte Count* (THC) dan *Defferential Haemocyte Count* (DHC) akibat infeksi WSSV.

1.2 Rumusan Masalah

Kandungan ekstrak kasar polisakarida *Gracilaria verrucosa* diduga dapat digunakan sebagai imunostimulan pada udang vaname yang terserang WSSV yang saat ini merupakan penyakit paling berbahaya bagi budidaya udang vaname. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebagai imunostimulan alami sehingga tidak menimbulkan bahaya bagi organisme budidaya dan lingkungan, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah *Gracilaria veerucosa* efektif digunakan sebagai imunostimulan pada udang vaname yang terinfeksi WSSV ditinjau dari *otal Haemocyte Count* (THC) dan *Defferential Haemocyte Count* (DHC) ?
2. Pada dosis berapa ekstrak *Gracilaria verrucosa* dapat meningkatkan respon imun pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) ?

1.3 Maksud dan Tujuan

Maksud dari pelaksanaan penelitian ini adalah sebagai prasyarat penyelesaian jenjang sarjana Strata I serta sebagai bentuk aplikasi teori ilmu akademik yang diperoleh selama kuliah.

Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui Efektivitas *Gracilaria verrucosa* sebagai imunostimulan pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) serta mengetahui dosis optimal ekstrak *Gracilaria verrucosa* yang dicampurkan pada pakan udang vaname.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini tentang Efektivitas Ekstrak Rumpuk Laut (*Gracilaria verrucosa*) pada Udang Vaname (*Litopenneus vannamei*) yang Terinfeksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) Ditinjau Dari *Total Haemocyte Count* (THC) Dan *Differential Haemocyte Count* (DHC) antara lain sebagai berikut:

- a. Bagi mahasiswa penelitian ini dapat menambah wawasan tentang penyakit udang khususnya *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) dan system pertahanan tubug udang serta *Total Haemocyte Count* (THC) dan *Differential Haemocyte Count* (DHC)
- b. Memberikan informasi tentang potensi *Gracilaria verrucosa* sehingga dapat digunakan sebagai pedoman dalam pengembangan ilmu bioteknologi kelautan lebih lanjut.
- c. Bagi petambak, hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam menentukan kebijakan tentang pengelolaan dan upaya pencegahan penyakit udang.

1.5 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, serta UPT PBAP Bangil, Pasuruan, Jawa Timur, pelaksanaan penelitian ini dari bulan Maret sampai dengan April 2016.

1.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini antara lain:

H_0 = Pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* tidak berpengaruh terhadap jumlah THC dan DHC pada hemolim udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)

H_1 = Pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* berpengaruh terhadap jumlah THC dan DHC pada hemolim udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)

2. TINJAUAN PUSTAKA

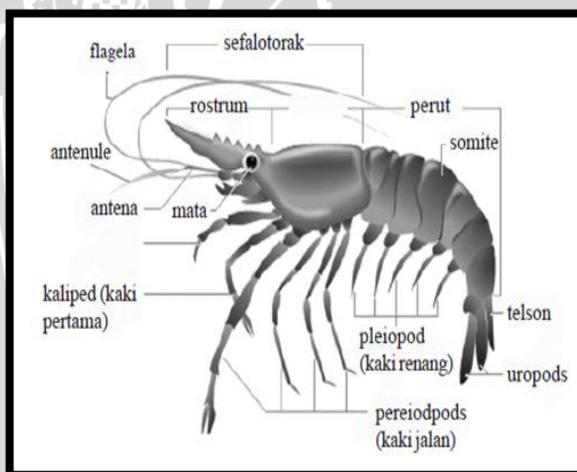
2.1 Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Udang vaname merupakan jenis udang yang potensial untuk dikembangkan mendampingi udang windu yang sampai saat ini masih dihadapkan dengan masalah penyakit (**Gambar 1**). Karakter spesifik dari udang vaname ini adalah mempunyai kemampuan adaptasi yang relatif tinggi terhadap perubahan lingkungan seperti perubahan suhu dan salinitas serta laju pertumbuhan yang cepat (Adiwijaya *et al.*, 2008 dalam Hendrajat *et al.*, 2010).

2.1.1 Klasifikasi Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Udang vaname termasuk krustase dalam ordo dekapoda dimana di dalamnya juga termasuk udang, lobster dan kepiting. Klasifikasi udang vaname adalah sebagai berikut (Wyban dan Sweeney, 1991 dalam Manoppo, 2011).

- Phylum : Arthropoda
- Subphylum : Crustasea
- Class : Malacostraca
- Subclass : Eumalacostraca
- Superorder : Eucarida
- Order : Decapoda
- Suborder : Dendrobranchiata
- Super Family : Penaeidea
- Family : Penaeidae
- Genus : *Litopenaeus*
- Spesies : *Litopenaeus vannamei*



Gambar 1. Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Nama umum udang vaname adalah *Pasific white shrimp*, *West Coast white shrimp*, *Camaron blanco*, *Langostino*. Nama FAO adalah *whiteleg shrimp*, *Crevette pattes blanches*, *Camaron patiblanco* (Elovaara, 2001; Rosenberri, 2006 dalam Manoppo, 2011).

2.1.2 Morfologi Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Salah satu ciri udang vaname memiliki rostrum yang bergerigi, biasanya 2-4 buah (kadang-kadang 5-8 buah) pada bagian ventral yang cukup panjang dan pada udang muda melebihi panjang *antennular peduncle*. Pada udang jantan dewasa, petasma *symmetrical*, *semi-open*, dan tidak tertutup. Udang betina dewasa memiliki *open thelycum* dan *sternit ridges*, yang merupakan pembeda utama udang vaname betina (Elovaara, 2001 dalam Manoppo, 2011).

Tubuh sering berwarna kebiruan karena lebih dominannya kromatofor biru. Panjang tubuh dapat mencapai 23 cm. Udang vaname dapat dibedakan dengan spesies lainnya berdasarkan pada eksternal genitalnya. Distribusi udang vaname tersebar di bagian timur pantai Pasifik Amerika Tengah dan Selatan dari Mexico sampai Peru (Elovaara, 2001; Rosenberry, 2006 dalam Manoppo, 2011), dimana daerah-daerah tersebut memiliki suhu di atas 20°C sepanjang tahun (Wyban dan Sweeney, 1991 dalam Manoppo, 2011). Karena spesies ini relatif mudah dibudidayakan, maka udang ini telah tersebar ke seluruh dunia.

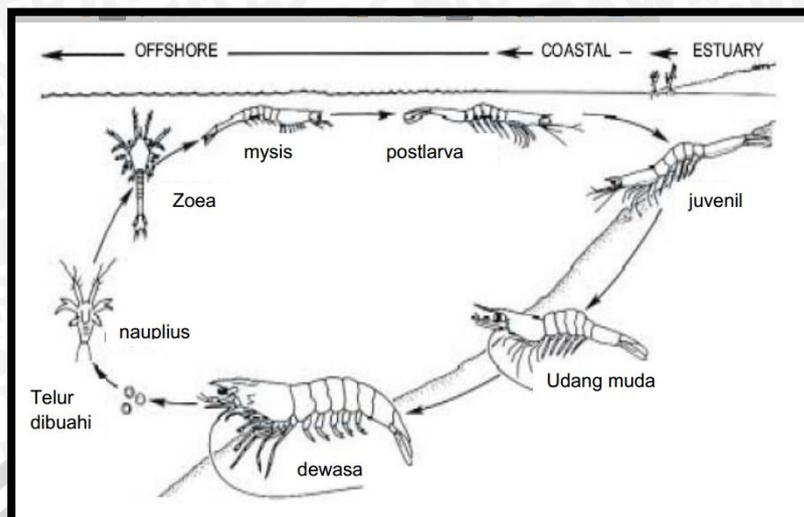
2.1.3 Daur Hidup Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Tingkah laku kawin dimulai pada sore hari dimana hal ini berkaitan dengan ketersediaan intensitas cahaya. Proses pemijahan dimulai dengan lompatan secara tiba-tiba dan udang betina aktif berenang. Seluruh proses pemijahan berakhir selama sekitar satu menit. Jumlah telur yang dapat dilepaskan seekor induk betina bervariasi menurut ukuran individu. Udang berukuran berat 30-45 gram dapat melepaskan 100.000-250.000 butir telur.

Ukuran diameter telur sekitar 0,22 mm. Udang betina memiliki *open thelycum* dan inilah yang membedakannya dengan dengan udang penaeid lainnya (Elovaara, 2001 dalam Manoppo, 2011).

Udang jantan melekatkan spermatophora berjeli (berisi sperma) pada *open thelycum* pada saat kawin. Perkawinan terjadi pada saat udang betina berada pada fase intermolt pada saat ovari telah mencapai kematangan. Pelepasan telur terjadi pada malam hari beberapa jam setelah perkawinan, biasanya kurang dari tiga jam. Proses pelepasan telur berlangsung selama 1-3 menit dimana selama proses pelepasan telur, induk betina melindungi telur yang baru dilepaskan. Hal ini memungkinkan sperma untuk membuahi telur sebanyak mungkin. Segera setelah semua bahan genetik dari jantan maupun betina bersatu maka pembuahan selesai (Manoppo, 2011).

Telur akan menetas menjadi naupli dalam waktu sekitar 16-17 jam setelah pembuahan. Jika diamati dibawah mikroskop, naupli secara fisik nampak seperti laba-laba air. Selama beberapa hari naupli makan dari makanan cadangan dari telur sampai nauplii bermetamorfosa menjadi zoeae sebagai tahap larva yang kedua. Zoeae makan mikroalga selama 3-5 hari sebelum berkembang menjadi mysis. Pada fase mysis, larva sudah mulai nampak seperti bentuk udang dewasa. Selain mikro algae, mysis memakan diatom dan zooplankton, terutama di alam. Fase Mysis berlangsung selama 4 hari sampai mysis bermetamorfosa kembali menjadi post larva. Post larva telah berbentuk seperti udang dewasa, memakan zooplankton, detritus dan berbagai formula makanan buatan jika dipelihara dalam hatchery. Setelah menetas, larva berkembang di perairan lepas pantai dan setelah mencapai post larva, udang bermigrasi ke perairan pantai dan menetap di dasar estuari yang dangkal (Manoppo, 2011). Daur hidup udang vaname (**Gambar 2**).



Gambar 2. Siklus Hidup Udang (Braak, 2002 dalam Manoppo, 2011).

2.1.4 Habitat Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Hewan ini juga ditemukan menempati daerah mangrove yang masih belum terganggu. Udang ini tampaknya dapat beradaptasi dengan perubahan suhu dan tekanan di alam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa udang vaname dapat beradaptasi dengan baik pada level salinitas yang sangat rendah sehingga menjadikan udang ini sebagai udang yang paling banyak dibudidayakan di kolam air tawar dengan salinitas sangat rendah dimana udang ini dapat beradaptasi (Elovaara, 2001 dalam Manoppo, 2011).

2.1.5 Kebiasaan Makan

Di alam udang penaeid bersifat karnivor yang memangsa krustase kecil, amipoda, policaeta. Di tambak, udang vaname makan makanan tambahan atau detritus. Udang vaname bersifat nokturnal. Udang muda tetap membenamkan diri dalam substrat selama siang hari dan tidak makan atau tidak mencari makanan. Tingkah laku makan ini dapat diubah dengan pemberian pakan ke dalam tambak. Hasil penelitian di Ocean Institute Honolulu menunjukkan bahwa udang yang diberi pakan beberapa kali sehari tumbuh

lebih cepat dibandingkan dengan udang yang hanya diberi pakan sekali dalam satu hari (Wyban dan Sweeney, 1991 *dalam* Manoppo, 2011).

2.1.6 Sistem pertahanan Tubuh Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Sistem pertahanan kekebalan tubuh (*immune defense*) adalah sistem yang dimiliki tubuh (inang) untuk menghentikan penyusup (benda asing) yang dapat menyebabkan penyakit dan akhirnya membunuh inangnya, meliputi: (1) pengenalan terhadap material asing, (2) transmisi pesan yang akan menginduksi pelepasan dan produksi zat – zat yang akan menonaktifkan penyusup, dan (3) mengarahkan zat – zat tersebut ke penyusup dan mengkoordinasi tindakan untuk membuatnya tidak berbahaya (Holmbald dan Soderhall, 1999 *dalam* Saraswati, 2013).

Berbeda dengan vertebrata, imunitas avertebrata tidak berdasarkan pada imunoglobulin dan interaksi subpopulasi limfosit. Dalam hal ini tidak memproduksi antibodi spesifik atau antibodi sangat sedikit pada krustasea. Namun imunitas avertebrata efisien dan adanya interaksi komponen selular dan humoral. Sejak dulu dikatakan bahwa imunitas avertebrata dipengaruhi oleh interaksi sel fagositosis dengan patogen, bersamaan dengan sejumlah faktor humoral seperti lisosim (Jasmanindar, 2009).

Udang merupakan hewan arthropoda yang memiliki eksoskeleton yang terdiri atas kitin dan merupakan perlindungan terhadap berbagai jenis bahaya. Eksoskeleton adalah pertahanan tubuh pertama udang dalam mencegah infeksi penyakit melalui lendir yang dihasilkan oleh sel-sel epitel terluar. Apabila eksoskeleton ini gagal menangkal patogen yang masuk dalam tubuh, maka selanjutnya mengandalkan pertahanan internal dalam merespon infeksi tersebut melalui respon seluler dan humoral (Supamattaya *et al.*, 2000 *dalam* Saraswati, 2013).

Menurut Sritunyalucksana (2001), Sistem pertahanan tubuh udang vannamei tidak memiliki kemampuan mengingat antigen yang disebut dengan sistem kekebalan nonspesifik. Udang vannamei tidak memiliki antibody dan karena itu mekanisme pertahanannya sangat mengandalkan sistem imunitas bawaan (*innate immunity*) dalam membasmi patogen yang masuk ke dalam tubuhnya

2.2 Penyakit *White Spot Syndrome Virus* (WSSV)

White Spot Syndrome Virus termasuk kedalam Family *Nimaviridae* dan Genus *Whispovirus*. Genomnya berupa DNA utas ganda yang berbentuk batang dan sekuen DNA genomnya berbentuk sirkular dengan ukuran 292.967 pasang basa. Virus ini memiliki membran luar berupa lipid bilayer dan kadangkala terdapat apendik menyerupai ekor pada ujung virionnya. Secara alami, WSSV yang ditemukan bersifat infeksi terhadap *L. monodon*, *L. japonicus*, *L. chinensis* (*L. orientalis*), *L. indicus*, *L. merguensis*, dan *L. setiferus*. Studi laboratorium menunjukkan bahwa *Whispovirus* strain *SEMBV* yang berasal dari Thailand ditemukan bersifat infeksi terhadap *L. vannamei*, *L. stylirostris*, *L. aztecus*, dan *L. duorarum* (Feriza, 2010). Morfologi virus WSSV dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Morfologi WSSV (Feriza, 2010).

Berdasarkan literatur setidaknya ada empat jenis virus penyebab penyakit virus *white spot syndrome* (WSS). Masing-masing virus tersebut memiliki kemiripan yang sangat tinggi. Virus penyebab WSS tersebut adalah *HHNBV* (*Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Baculoviral*), *RV-PJ* (*Rod-Shape Nuclear Virus of Penaeus japonicus*), *SEMBV* (*Systemic Ectodermal and Mesodermal Baculovirus*), dan *WSBV* (*White Spot Baculovirus*) atau *WSSV* (*White Spot Syndrome Virus*). *HHNBV* adalah penyakit eksplisif pada epidermis yang tersebar di kawasan Cina. *RV-PJ* adalah penyakit yang berkembang di kawasan Jepang, Cina, dan Korea. *SEMBV* adalah penyakit bintik putih dan kemerahan pada tubuh udang yang tersebar di Thailand. *WSBV* (*White Spot Baculovirus*) atau *WSSV* (*White Spot Syndrome Virus*) adalah penyakit bintik putih yang banyak terdapat di Indonesia, Taiwan, Vietnam, Malaysia, India, dan Texas (Lightner, 1996 dalam Feriza, 2010).

Masa inkubasi penyakit WSSV berlangsung selama 3 sampai 10 hari (Lightner 1996). Infeksi virus WSSV pada hari pertama menyebabkan udang mengalami penurunan nafsu makan dan berenang menepi dipermukaan air. Pada hari kedua atau ketiga, kutikula mulai melunak yang akhirnya terlepas dan muncul bintik putih pada bagian dalam karapas dengan diameter 0.5-2.0 mm. Bintik putih ini merupakan representasi deposit abnormal dari komposisi garam kalsium pada epidermis kutikulanya. Pada banyak kasus, muncul warna kemerahan hingga merah kecoklatan pada kutikulanya. Pada kondisi akut terjadi penurunan konsumsi pakan secara tiba-tiba yang diikuti kematian masal. Populasi udang dengan gejala klinis tersebut diatas akan mengalami tingkat kematian mencapai 100% selama 3 hingga 10 hari setelah terinfeksi (Lightner, 1996 dalam Feriza, 2010). Gejala klinis WSSV pada udang vaname dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Gejala Klinis WSSV (Feriza, 2010).

Transmisi WSSV dapat terjadi secara horizontal maupun vertikal. Transmisi WSSV secara horizontal dapat terjadi melalui suplai air terkontaminasi, pakan terkontaminasi, peralatan terkontaminasi, tanah atau lumpur terkontaminasi, dan kohabitasi dengan udang *carrier* seperti burung, keong, dan cacing. Transmisi vertikal terjadi pada lokasi pembenuran melalui reproduksi, yaitu dari *broodstock* (induk) yang terinfeksi virus kepada larvanya (Feriza, 2010).

White Spot Syndrome Virus menginfeksi sel ektodermal dan mesodermal inangnya, kemudian menyebabkan perubahan sel epitel insang, jaringan otot, kelenjar antena, jaringan hematopoetik, jaringan syaraf, dan jaringan epitel usus. Replikasi virus terjadi pada nukleus, selanjutnya virion terbentuk dan menyebar dari sel yang terinfeksi ke sel lain (Vlak *et al.*, 2002 dalam Feriza, 2010). Fase akut menunjukkan diskolorasi pada bagian hepatopankreas (lambung) yang berubah menjadi kemerahan. *Inclusion bodies* berupa titik-titik putih berdiameter 1-2 mm akan terbentuk pada sel terinfeksi dengan perubahan warna dari eosinofil menjadi basofil (menggunakan teknik pewarnaan Hematoxilin dan Eosin).

2.3 Rumput Laut (*Gracilaria verrucosa*)

Gracilaria verrucosa merupakan jenis alga yang mudah dibudidayakan dan banyak tersebar terutama di daerah tropis. Jenis ini banyak ditemukan di daerah pesisir dangkal, kedalaman antara 2-5 m, seperti kawasan kepulauan Seribu di Teluk Jakarta, sekitar Pulau Tikus, daerah Takalar (Sulawesi Selatan), Pulau Samaringa (Sulawesi Tengah), Bali, dan daerah pantai berkarang yang berair jernih lainnya (FAO, 2005 dalam Ariyanti dan Nurcahyani, 2012)

2.3.1 Klasifikasi *Gracilaria verrucosa*

Klasifikasi *Gracilaria verrucosa* menurut Dawes (1981), mempunyai taksonomi sebagai berikut:

Divisio	: Rhodophyta
Classis	: Rhodophyceae
Ordo	: Gigartinales
Familia	: Gracilariaceae
Genus	: Gracilaria
Species	: <i>Gracilaria verrucosa</i>

Berikut merupakan gambar dari *Gracilaria verrucosa* yang dapat dilihat pada **Gambar 5**.



Gambar 5. *Gracilaria verrucosa* (Googleimage, 2016)

2.3.2 Morfologi *Gracilaria verrucosa*

Rumput laut (*seaweed*) adalah ganggang berukuran besar (*macroalgae*) yang merupakan tanaman tingkat rendah dan termasuk dalam divisi *thallophyta*. Gambaran umum rumput laut adalah macrobentik (besar dan melekat), organisme autotrofik membutuhkan cahaya untuk keberlangsungan hidupnya sehingga rumput laut tidak dapat hidup pada kedalaman laut yang tidak ada penetrasi cahaya. Ukuran, bentuk dan warna rumput laut bervariasi. Rumput laut dapat ditemukan di beberapa variasi habitat sepanjang pantai dan melekat pada banyak jenis substrat seperti pasir, lumpur, batu, cangkang hewan laut, karang, kayu dan jenis rumput laut lainnya (Guanzon, 2003). Dari segi morfologinya, rumput laut tidak memperlihatkan adanya perbedaan antara akar, batang dan daun. Secara keseluruhan, tanaman ini mempunyai morfologi yang mirip, walaupun sebenarnya berbeda (**Gambar 6**). Proses metabolisme alga memerlukan kesesuaian faktor-faktor fisika dan kimia seperti perairan, gerakan air, suhu, kadar garam, nutrisi atau zat hara seperti nitrat dan fosfat, dan pencahayaan sinar matahari (Amalia, 2013).

Gracilaria verrucosa merupakan salah satu jenis rumput laut yang mempunyai batang daun semu sehingga dimasukkan dalam golongan *Thallophyta*. Talus *Gracilaria verrucosa* tersusun oleh jaringan yang kuat, warna merah ungu kehijau-hijauan, bercabang-cabang mencapai tinggi 1-3 dm dengan garis tengah cabang antara 0,5-2,0 mm. Percabangan "*alternate*". Kadang-kadang hampir dikotom dengan perulangan lateral. Bentuk cabang silindris dan meruncing di ujung cabang (Irvine dan Price, 1978).

Gracilaria verrucosa hidup sebagai fitobentos, melekat pada substrat dengan holdfast. Substrat yang baik untuk pertumbuhannya adalah batu-batuan, karang mati, kayu, kulit kerang atau hidup menempel dengan alga lainnya (Bold dan Wynne, 1978). *Gracilaria* merupakan jenis makroalga laut yang paling

banyak digunakan dalam produksi agar. Hal ini karena *Gracilaria* mudah diperoleh, murah harganya dan juga lebih mudah dalam proses pengolahannya. Jenis ini berperan cukup dominan dalam pembentukan gel agar pada saat ekstraksi. *Gracilaria* memiliki kandungan agarosa dan agaroptin yang cukup baik sehingga dapat menentukan kekuatan gel agar yang kuat dan kokoh dibandingkan dengan hasil ekstraksi dari *Gelidium* (Winarno, *et al.*, 1990).



Gambar 6. Morfologi *Gracilaria verrucosa* (Milchacova, 1998 dalam Amalia, 2013)

2.3.3 Habitat dan Penyebaran *Gracilaria verrucosa*

Gracilaria verrucosa hidup dengan cara menempel pada substrat dasar perairan atau benda lainnya pada daerah pasang surut. Bahkan di daerah Sulawesi pada musim-musim tertentu rumput laut jenis ini banyak terdampar di pantai karena hempasan gelombang dalam jumlah yang sangat besar dan berakibat over produksi. *Gracilaria verrucosa* tersebar luas di sepanjang pantai daerah tropis. (Anggadiredja *et al.*, 2006 dalam Febriko *et al.*, 2008). *Gracilaria* umumnya tumbuh di perairan yang mempunyai rataan terumbu karang melekat pada substrat karang mati atau kulit kerang ataupun batu gamping di daerah intertidal dan subtidal. Tumbuh tersebar hampir diseluruh perairan Indonesia.

Di Indonesia umumnya yang dibudidayakan di tambak adalah jenis *Gracilaria verrucosa* dan *G. gigas*. Jenis ini berkembang di perairan Sulawesi Selatan (Jeneponto, Takalar, Sinjai, Bulukumba, Wajo, Paloppo, Bone, Maros); Pantai utara Pulau Jawa (Serang, Tangerang, Bekasi, Karawang, Brebes, Pemalang, Tuban dan Lamongan), Lombok Barat. *Gracilaria verrucosa* selain dipanen dari hasil budidaya juga dipanen dari alam. Panen dari alam kualitasnya kurang baik karena tercampur dengan jenis lain (Febriko *et al.*, 2008).

2.3.4 Bahan Aktif *Gracilaria verrucosa*

Ridlo dan Pramesti (2009), menyatakan rumput laut merupakan alga multiselular yang mengandung substansi yang aktif secara imunologi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa rumput laut mempunyai prospek yang masih terbuka bagi pengembangannya dalam bidang pengendalian penyakit. Menurut Mardiyah *et al.* (2014), alga merah mempunyai beberapa jenis bahan aktif diantaranya flavonoid, alkaloid, steroid/terpenoid. Alga merah termasuk juga didalamnya *G. verrucosa* mengandung beberapa zat yang penting antara lain: floridin starch, mannoglycerate, dan floridosida. Alga merah menghasilkan komponen utama kimianya yaitu karagenan dan agar. *G. verrucosa* merupakan penghasil agar, setiap jenis *Gracilaria spp.* menghasilkan agar dengan persentase kandungan dan kekuatan gelnya yang berbeda (Jasmanindar, 2009). Menurut Naidu (2000), 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.

Alga merah diketahui mengandung senyawa phenol dari golongan florotannin yang memiliki kemampuan antibakteri dan antifungi. Senyawa fenolik

adalah zat bioaktif secara luas pada tanaman. Senyawa fenolik terdiri dari berbagai macam senyawa flavonoid (anthocyanin, flavonol, flavol) dan beberapa kelas non flavonoid (asam fenola, lignins, stilbenes). 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

Polisakarida dari alga merah (karageenan) dapat meningkatkan aktivitas *phagocytic makrophag* dan mampu melawan infeksi bakteri setelah disuntik secara intraperitoneal pada ikan *Cyprinus carpio* (Castro *et al.*, 2006). Polisakarida diketahui merupakan komponen esensial bagi semua organisme dan mempunyai berbagai fungsi vital biologis diantaranya adalah sebagai antitumor, antiinflamasi, antikoagulan, antikomplementer, imunologi dan antivirus (Ridlo dan pramesti, 2009). Rumput laut mempunyai kandungan polisakarida (karageenan) dapat meningkatkan aktivitas *phagocytic macrophage* dan mampu melawan infeksi bakteri setelah disuntik secara intraperitoneal pada ikan *Cyprinus carpio* (Castro *et al.*, 2004 dalam Ridlo dan Pramesti, 2009).

Kartika *et al.* (1999), menyatakan bahwa alga merah *Gracilaria verrucosa* memiliki kandungan bahan aktif hemagglutinin. Terdapat 4 jenis hemagglutinin yang terkandung di dalam *G. verrucosa*, yaitu: (1) GVA-1 yang merupakan protein atau glycoprotein dengan kandungan karbohidrat yang rendah, (2) proteo-glycan dengan berat 49 kDs, (3) H-GVH, polisakarida sulfat dengan berat molekul yang besar, (4) L-GVH dengan berat molekul yang rendah. Jenis pertama dan jenis kedua memiliki berat molekul rendah, struktur oligomer dan tidak memiliki ikatan disulfide.

Flavonoid adalah senyawa yang digunakan sebagai antimikroba dan antivirus dan dapat bekerja sebagai inhibitor kuat pernafasan. Beberapa flavonoid menghambat *fosfodiesterase*, *aldoreduktase*, *monoamina oksidase*,

protein kinase, transkriptase balik, DNA polymerase dan lipooksigenase (Robinson, 1991 dalam Wahjuningrum *et al.*, 2006). Menurut Alwir (2001) dalam Wahjuningrum *et al.* (2006), menyatakan steroid berfungsi sebagai pembawa bagi senyawa lain untuk memudahkan masuk kedalam sel, karena memiliki molekul yang berukuran kecil sehingga dapat masuk keseluruh sel.

2.4 Ekstraksi *Gracilaria verrucosa*

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014). Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut.

2.4.1 Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industry (Agoes, 2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhriani, 2014). Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa

senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

2.4.2 Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

2.4.3 Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).

2.4.4 Reflux dan Destilasi Uap

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik

didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Seidel, 2006 *dalam* Mukhriani, 2014).

2.5 Pelarut Ekstraksi

Pada ekstraksi, pemilihan pelarut merupakan hal yang sangat penting. Hal utama yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah daya melarutkan, titik didih, kemudahan terbakar, sifat racun, dan sifat korosif pelarut terhadap peralatan ekstraksi. Pelarut yang digunakan harus memiliki daya melarutkan solute yang tinggi, dengan kata lain kepolaran pelarut harus sesuai dengan kepolaran bahan yang akan diekstrak (Prasetyo *et al.*, 2011). Pelarut organik berdasarkan konstanta dielektrik dapat dibedakan menjadi dua yaitu pelarut polar dan pelarut non-polar. Konstanta dielektrik dinyatakan sebagai gaya tolak menolak antara dua partikel yang bermuatan listrik dalam suatu molekul. Semakin tinggi konstanta dielektriknya maka pelarut bersifat semakin polar (Sudarmadji *et al.*, 1989 *dalam* Rosihan, 2015). Salah satu parameter yang dapat digunakan untuk menilai kepolaran suatu pelarut adalah konstanta dielektrik (ϵ). Semakin besar harga ϵ suatu pelarut, maka semakin polar sifat pelarut tersebut (Buchari, 2003 *dalam* Era *et al.*, 2012).

Sifat dielektrik adalah karakteristik suatu bahan yang mencirikan potensinya dalam memberi respon bahan tersebut untuk menyimpan, menyalurkan dan memantulkan energi gelombang elektromagnetik. Pemanfaatan sifat dielektrik ini cenderung meningkat di bidang instrumentasi. Pada tingkat

energi yang lebih rendah, sifat dielektrik dapat dimanfaatkan untuk pengukuran kadar air secara non destruktif. Informasi mengenai sifat dielektrik bahan biologi serta berbagai faktor yang mempengaruhinya, seperti pengaruh frekuensi, kadar air, suhu, densitas, komposisi kimia, geometri dan ke homogenan bahan sangat penting untuk meningkatkan pemanfaatannya (Prabowo, 2010). Tingkat konstanta dielektrikum pelarut organik dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Konstanta dielektrikum pelarut organik

No	Pelarut	Besar Konstanta
1	n-Heksan	2,0
2	Etil Asesat	6,0
3	Khloroform	4,8
4	Asam asetat	6,2
5	Benzen	2,3
6	Etanol	24,3
7	Metanol	33,1
8	Air	80,4

Sumber : Sudarmadji *et al.*, 1989 dalam Rosihan, 2015

Ekstraksi dapat menggunakan pelarut tunggal dan pelarut campuran. Pelarut campuran yang biasa digunakan yaitu campuran air dan etanol, campuran air dan metanol, campuran air dan eter (Agoes, 2007). Menurut Guenther (1987), syarat pelarut yang digunakan pertama harus bersifat selektif artinya pelarut harus dapat melarutkan semua senyawa dengan cepat. Syarat kedua harus mempunyai titik didih yang cukup rendah. Hal ini supaya pelarut mudah dapat diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi, namun titik didih pelarut tidak boleh terlalu rendah karena akan mengakibatkan kehilangan akibat penguapan. Syarat ketiga bersifat *inert* artinya pelarut tidak bereaksi dengan komponen minyak. Syarat keempat carilah pelarut yang murah dan mudah didapatkan.

2.6 Imunostimulan

Menurut Sakai (1999), imunostimulan merupakan zat kimia, obat-obatan, atau aksi yang meningkatkan system imun non spesifik/bawaan baik melalui mekanisme pertahanan humoral maupun seluler. Imunostimulan merupakan strategi untuk menyiagakan sistem imun udang sehingga meningkatkan kemampuannya dalam melawan pathogen seperti bakteri, virus, atau organisme pengganggu lainnya. Salah satu upaya dalam pencegahan penyakit udang adalah melalui peningkatan sistem pertahanan tubuh udang menggunakan imunostimulan, vitamin dan hormon (Johny *et al.*, 2005).

Imunostimulan berhubungan langsung dengan sel sistem imun yang membuat sel tersebut lebih aktif. Sistem imun seluler terdiri dari Hemosit dan *fixed phagocytes* (sel yang tidak bergerak yang tersebar pada insang, jantung, dan jaringan pengikat). Faktor pertahanan humoral seperti protein penggumpalan, aglutinin (seperti lektin), enzim hidrolitik dan peptide antimikroba yang dihasilkan oleh dan akibat aksi sel imun (Prajitno, 2009). Pemberian immunostimulan secara luas dilakukan dengan maksud untuk mengaktifkan sistem imun non-spesifik sel seperti makrofag pada vertebrata dan haemocyte pada avertebrata (Dugger dan Jory, 1999). Menurut Dugger dan Jory (1999) dalam Jasmanindar (2009), pemberian imunostimulan dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu : a. Penyuntikan beta glucan dan stimulant imun lainnya dapat memberikan respon non spesifik yang kuat, tetapi biasa tidak praktis dan efektif dalam hal biaya dalam usaha budidaya, kecuali untuk juvenile yang besar dan dewasa untuk tujuan memperbaiki individu seperti induk atau genetik. b. Perendaman, memberikan respon imun non spesifik yang sedikit, tetapi lebih efektif dalam hal biaya daripada dengan penyuntikan. Namun dapat menimbulkan stress pada udang karena meningkatnya penanganan dan kepadatan dalam perendaman. Makrofag dan haemocyte dapat diaktifkan pada

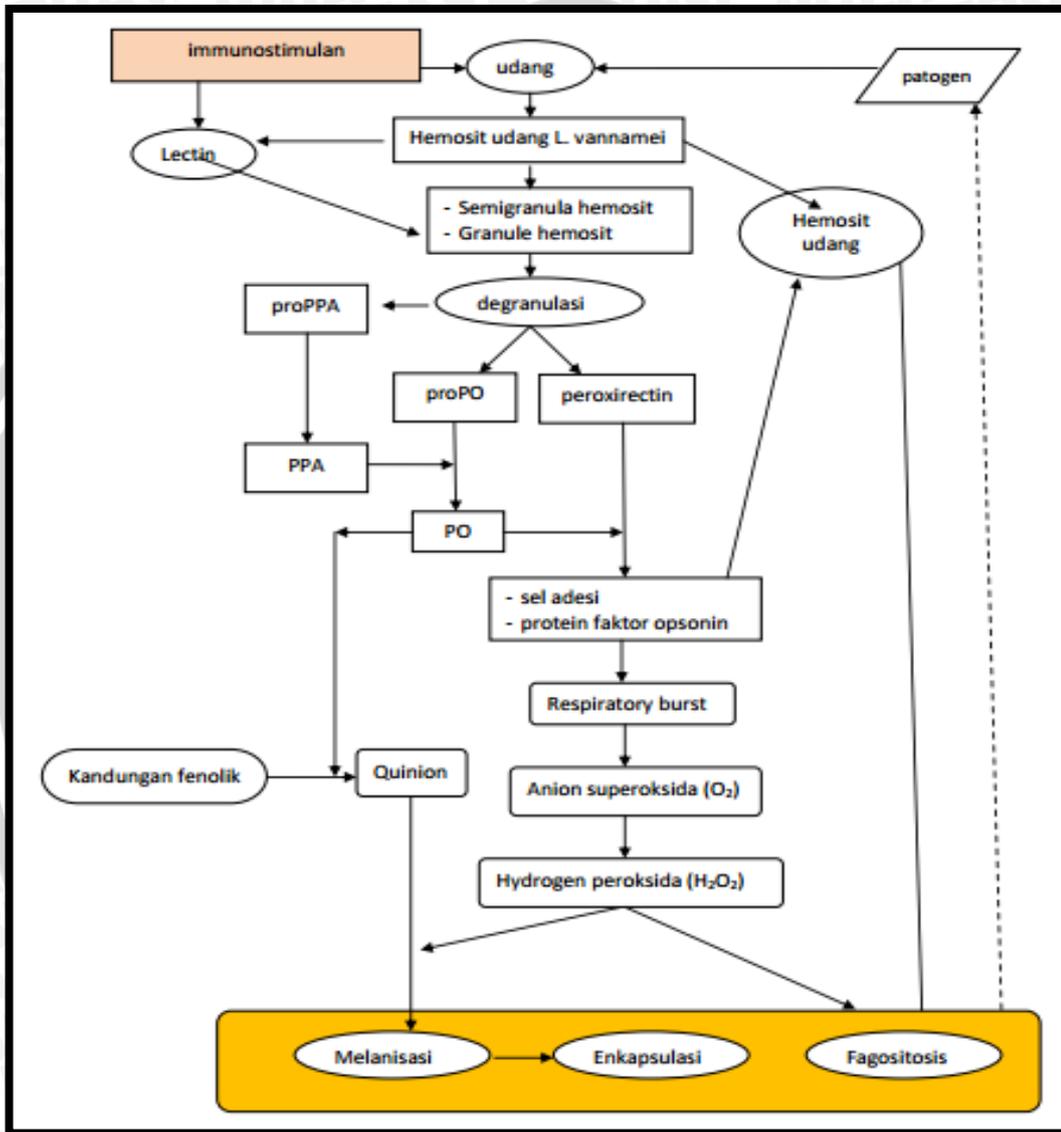
fase larva ikan, dan ini sama juga pada udang muda. c) Oral, memberikan respon imun non spesifik yang baik dan merupakan metode yang lebih efektif. Namun *beta glucan* yang diberikan secara oral memiliki jalur dan fungsi yang berbeda dengan bahan pakan. Konfigurasi *beta glucan* merupakan *acid resistant*, jadi lewat begitu saja dalam saluran pencernaan tanpa melalui perubahan. Sehingga penyerapan *beta glucan* pada dinding usus menggunakan mekanisme *phagocytic transport*.

2.6.1 Mekanisme Masuknya Imunostimulan

Jasmanindar (2009), pemberian imunostimulan dapat dilakukan dengan cara pencampuran dengan pakan yang nantinya kandungan *beta glucan* dalam imunostimulan akan menempel pada dinding usus sehingga penyerapannya menggunakan transport fagositik. Menurut Alifuddin (2002), aktivitas fagositik ini merupakan manifestasi peningkatan respon seluler dan pada akhirnya akan meningkatkan respon humoral. Adapun cara masuknya bahan aktif kedalam tubuh organisme melalui dinding tubuh, saluran pernafasan dan alat pencernaan. Dinding tubuh merupakan bagian yang dapat menyerap bahan aktif seperti acetogenin dalam jumlah besar. Dinding tubuh ini memiliki lapisan membran dasar yang bersifat semipermeabel sehingga dapat memilih jenis senyawa yang dapat melewatinya. Saluran pernafasannya disebut trakea. Udara dan oksigen memasuki trakea secara difusi dibantu dengan pergerakan abdomen. Oksigen akan langsung berhubungan dengan jaringan. Penyerapan bahan aktif pada alat pencernaan sama dengan penyerapan pada dinding tubuh (Pangaribuan *et al.*, 2012).

Menurut Tizard (1982), proses terbentuknya sistem kekebalan tubuh adalah sebagai berikut: bila antigen memasuki tubuh, maka antigen tersebut akan dijerat oleh makrofage sedemikian rupa sehingga dapat diketahui sebagai

bahan asing yang akan diproses menjadi antibodi. Sistem kekebalan (imunitas) juga harus menyimpan ingatan tentang kejadian tersebut sehingga pada kesempatan berikutnya dengan antigen yang sama tanggapannya akan jauh lebih efisien. Mekanisme kerja imunostimulan terdapat pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Mekanisme Kerja Imunostimulan (Sarawati , 2013)

2.6.2 Haemocyte

Haemocyte merupakan salah satu bentuk sistem pertahanan tubuh yang bersifat seluler dan memainkan peranan penting dalam respon kekebalan tubuh (Setyati, 2007 dalam Ermantianingrum *et al.*, 2013). Haemocyte penting dalam menghilangkan partikel asing yang masuk tubuh udang. Terdapat tiga tipe

haemocyte pada hemolim udang (krustasea) yaitu sel hialin, semi granular dan granular. Ketika sel ini mempunyai morfologi dan fungsinya masing-masing (Söderhäll dan Cerenius, 1992 *dalam* Jasmanindar, 2009). Menurut Ekawati *et al.* 2012), haemocyte memegang peranan penting dalam respon seluler pertahanan tubuh udang yang meliputi fagositosis, enkapsulasi, melanisasi, cytotoksitas dan komunikasi antar sel. Berdasarkan ada tidaknya granula sitoplasma, haemocyte dibagi menjadi 3 jenis yaitu sel hialin, sel semi granular dan sel granular, selanjutnya hemolim ini digunakan untuk pengamatan terhadap Total Haemocyte (*Total Haemocyte Count* (THC), *Differential Haemocyte Count* (DHC) yang terdiri dari sel hialin (H), sel semi granular (SG) dan sel granular (G).

2.6.3 *Total Haemocyte Count* (THC)

Salah satu parameter suatu zat atau senyawa mampu menstimulasi sistem pertahanan non-spesifik udang adalah meningkatnya jumlah haemocyte (Smith *et al.*, 2003 *dalam* Ermantianingrum *et al.*, 2013). Tipe sel haemocyte berperan penting dalam mekanisme sistem pertahanan tubuh udang. Tiap tipe sel mempunyai fungsi yang berbeda dalam meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang (Andrade, 2011 *dalam* Ermantianingrum *et al.*, 2013). Haemocyte pada udang sama pentingnya seperti halnya sel darah merah dan putih pada ikan. Pentingnya total haemocyte count (THC) pada krustasea dalam resistensi patogen, dimana bila terjadi penurunan THC maka bisa terjadi infeksi akut yang dapat menyebabkan kematian (Rondriguez dan Le Moullac, 2000 *dalam* Jasmanindar, 2009). THC meningkat maka akan meningkatkan kemampuan untuk memfagositosis karena diproduksi banyak sel haemocyte untuk melakukan fungsi tersebut, misalnya sel hialin dan sel semi granular (Jasmanindar, 2009).

Perubahan jumlah haemocyte sampai batas tertentu, biasanya diikuti dengan perubahan komposisi diferensiasi sel-sel haemocyte (Hartinah, 2012). Selanjutnya Hartinah *et al.* (2014) menyatakan bahwa perubahan jumlah haemocyte dan perubahan komposisi diferensiasi sel dapat menjadi indikator awal bagi kondisi vitalitas juvenile udang secara dini. Hemolimfe merupakan salah satu parameter sistem imun pada udang windu yang dapat menjadi indikator untuk mengetahui aktivitas fagositanya. Selanjutnya dinyatakan bahwa haemocyte fagositosis berbanding lurus dengan jumlah haemocyte (Direkbusarakom dan Danayadol, 1998).

2.6.4 Differential Haemocyte Count (DHC)

Pengamatan *differential haemocyte count* (DHC) meliputi pengamatan sel granular, semi granular, dan sel hialin (Ermantianingrum *et al.*, 2013). Sel hialin pada pengamatan udang vaname ini dikarakteristikkan oleh tidak adanya granul (agranular) (Jasmanindar, 2009). Sel semi granular memiliki sejumlah granul kecil. Sel ini bertanggung jawab untuk mengenal dan merespon molekul asing atau bakteri patogen yang masuk ke dalam tubuh krustasea (Söderhäll dan Cerenius, 1992 *dalam* Jasmanindar, 2009).

Berdasarkan bentuk, warna, ukuran relative dan rasio sitoplasma serta inti selnya, haemocyte dapat dibedakan atas tiga jenis yaitu hialin, granular dan semi granular. Hialin merupakan sel dengan perbandingan inti sel yang lebih tinggi dibandingkan sitoplasma, granulosit memiliki perbandingan inti sel yang lebih mudah dibandingkan sitoplasmanya, dan semi granulosit merupakan sel haemocyte dengan perbandingan inti sel yang lebih rendah dibandingkan sitoplasma dan beberapa granul submicron dan micron (Pebrianto, 2009).

Soderhal dan Cerenius (1992) *dalam* Pebrianto (2009), menjelaskan bahwa sebagian besar haemocyte krustasea tidak membelah sehingga

kemungkinan besar terjadi proses pergantian sel tua ke sel yang dilepas kedalam hemolim. Granulosit merupakan tahap terakhir dari suatu perkembangan sel dalam hemolim. Sel healin merupakan sel termuda dibandingkan dengan sel semi granulosit maupun granulosit dan merupakan *cell line* yang dilepas dari *hepatopoeietik* (Van de Break, 1992 dalam Pebrianto, 2009)

2.7 Hubungan Haemocyte dan Imunitas Udang

Haemocyte merupakan faktor yang sangat penting dalam sistem pertahanan seluler yang bersifat non spesifik. Kemampuan haemocyte dalam aktivitas fagositosis yang dapat meningkat pada kejadian infeksi, menunjukkan pertahanan tubuh yang bersifat seluler. Meningkatnya ketahanan tubuh udang dapat diketahui dari meningkatnya aktivitas fagositosis sel-sel haemocyte. Fagositosis merupakan mekanisme pertahanan non spesifik yang secara umum dapat melindungi adanya serangan pathogen (Fontaine dan Lightner, 1974).

Mekanisme pertahanan tubuh krustasea sebagian besar bergantung pada sel-sel darah dan proses hemolim (Maynard, 1960 dalam Syahailatua, 2009). Haemocyte merupakan faktor yang sangat penting dalam system pertahanan seluler yang bersifat non spesifik. Smith *et al.* (2003), menyebutkan bahwa haemocyte menyimpan immune reactive (seperti peroxinectin, antibacterial peptide, dan clotting components) dalam tubuh udang, sehingga kenaikan jumlah haemocyte (THC) merupakan salah satu indikator peningkatan daya tahan tubuh udang. Karakteristik yang digunakan untuk mengetahui pengaruh penambahan immunostimulan pada udang adalah jumlah total haemocyte, differensial haemocyte, dan aktifitas fagositosis (Kajita *et al.*, 1990).

Udang mempunyai daya tahan alami yang bersifat non spesifik terhadap organisme patogen berupa pertahanan fisik (mekanik), kimia, seluler dan humoral. Daya tahan alami ini dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan,

sehingga terdapat tingkatan yang berbeda-beda tergantung strain, lingkungan pemeliharaan, spesies maupun famili (Bellanti, 1989 *dalam* Ridlo dan Pramesti, 2009). Sistem pertahanan pada udang masih sangat primitif dan tidak memiliki sel memori, tidak sama halnya dengan hewan vertebrata lainnya yang sudah mempunyai antibodi spesifik dan komplemen. Sistem kekebalan tubuh pada udang tidak mempunyai immunoglobulin yang berperan dalam mekanisme kekebalan, udang hanya mempunyai sistem kekebalan alami. Sistem imun udang tergantung pada proses pertahanan non spesifik sebagai pertahanan terhadap infeksi (Lee dan Shiau, 2004). Pertahanan pertama terhadap penyakit pada udang dilakukan oleh haemocyte melalui fagositosis, enkapsulasi dan *nodule formation*. Aktifitas fagositosis dapat ditingkatkan dengan mengaktifkan sistem prophenol oksidase (Pro-PO) yang berada dalam haemocyte semigranular dan granular (Selvin *et al.*, 2004 *dalam* Ridlo dan Pramesti, 2009).

Haemocyte merupakan faktor yang sangat penting dalam sistem pertahanan seluler yang bersifat non spesifik. Kemampuan haemocyte dalam aktivitas fagositosis yang dapat meningkat pada kejadian infeksi, menunjukkan pertahanan tubuh yang bersifat seluler. Meningkatnya ketahanan tubuh udang dapat diketahui dari meningkatnya aktivitas fagositosis sel-sel haemocyte. Fagositosis merupakan mekanisme pertahanan non spesifik yang secara umum dapat melindungi adanya serangan pathogen (Fontaine dan Lightner, 1974).

2.8 Kualitas Air

Kualitas air mempunyai dampak yang sangat berpengaruh terhadap kesehatan udang. Rendahnya kualitas air pada media pemeliharaan dapat mengakibatkan rendahnya tingkat pertumbuhan, sintasan dan frekuensi ganti kulit, serta peningkatan bakteri yang merugikan. Kualitas air media pemeliharaan selama penelitian masih berada pada kisaran yang layak bagi pertumbuhan dan sintasan udang vaname. Harefa (1996) menyatakan bahwa faktor yang paling mempengaruhi tingkat kelulushidupan larva udang vaname yaitu kualitas air pada media pemeliharaan dan kualitas pakan. Faktor pertama yaitu kualitas air, kualitas air yang baik pada media pemeliharaan akan mendukung proses metabolisme dalam proses fisiologi.

Pengecekan kualitas air dilakukan setiap hari. Usaha – usaha yang dapat dilakukan selama prses ini antara lain persiapan air yang steril, pengaturan ketinggian air, pemberian pakan dengan jumlah yang tepat, pengaturan aerasi, salinitas, suhu dan jika terdapat sisa makanan maka dilakukan penyiponan secara hati - hati. Parameter - parameter kualitas air yang diukur dalam pelaksanaan penelitian ini di adalah: suhu, salinitas, pH, oksigen terlarut, amonia.

2.8.1 Suhu

Menurut Suwoyo (2009), Suhu air dapat mempengaruhi kelangsungan hidup, pertumbuhan, morfologi, reproduksi, tingkah laku, pergantian kulit dan metabolisme udang. Disamping itu suhu juga berpengaruh terhadap kelarutan gas-gas, kecepatan reaksi unsur dan senyawa yang terkandung dalam air. Haliman dan Adijaya (2005), menambahkan bahwa suhu optimal pertumbuhan udang vaname antara 26-32 °C. Jika suhu lebih dari angka optimum maka metabolisme dalam tubuh udang akan berlangsung cepat sehingga kebutuhan

oksigen terlarut meningkat. Menurut Boyd (1990), bahwa temperatur yang umum untuk spesies daerah tropik yang memberikan pertumbuhan optimal berkisar 29–31°C, sedangkan suhu yang dapat menyebabkan pertumbuhan rendah < 26–28 °C dan batas tingkat lethal <10–15°C. Temperatur juga sangat mempengaruhi pertumbuhan.

2.8.2 Derajat Keasaman (pH)

Wyban dan Sweeny (1991) mengemukakan bahwa kisaran pH air yang cocok untuk budidaya udang vaname sebesar 7,4-8,9 dengan nilai optimum 8,0. Buwono (1993), menyatakan bahwa pH 6,4 dapat menurunkan laju pertumbuhan sebesar 60%. Sebaliknya pH tinggi 9,0-9,5 menyebabkan peningkatan kadar amoniak sehingga secara tidak langsung membahayakan udang, sedangkan Purba (2012) dalam Yustianti *et al.*, (2012), bahwa derajat keasaman (pH) air media pemeliharaan Larva udang vaname selama penelitian adalah 7,7-8,7. Elovaara (2001). Yustianti *et al.*, (2012), menambahkan bahwa untuk stadia larva pH yang layak untuk udang vaname berkisar antara 7,8-8,4, dengan pH optimum 8,0. Wyban dan Sweeny (1991), mengemukakan bahwa kisaran pH air yang cocok untuk budidaya udang vaname secara intensif sebesar 7,4 – 8,9 dengan nilai optimum 8,0. Nilai pH air tambak bagi pertumbuhan udang berkisar antara 7,5 – 8,7 dengan batas optimum antara 8,0 – 8,5 (Poernomo 1989). Perairan dengan pH ekstrim dapat membuat udang tertekan, pelunakan karapaks, 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 % (Law 1988).

2.8.3 Oksigen Terlarut (DO)

Udang merupakan salah satu organisme perairan yang membutuhkan oksigen untuk metabolismenya. Ketersediaan oksigen terlarut di dalam air sangat

menentukan kelangsungan hidup dan pertumbuhan udang. Kualitas air perairan sangat penting artinya untuk pertumbuhan dan kesehatan udang. Air yang berkualitas baik untuk budidaya perairan adalah air yang cukup mengandung oksigen, kadar garam yang sesuai kebutuhan, sifat fisik dan kimianya memadai dan sebagainya. Dari beberapa penelitian yang pernah dilakukan, diketahui bahwa kandungan oksigen terlarut yang baik bagi kehidupan dan pertumbuhan udang adalah 4-8 ppm, dan salinitas optimum adalah 15-30‰, perubahan salinitas air yang mendadak dapat menyebabkan angka kematian tinggi bagi udang (Darmono, 1993). Sedangkan Suprpto (2005), berpendapat bahwa nilai DO optimal untuk budidaya vannamei > 3 mg/L dengan toleransi 2 mg/L. Dari data yang diperoleh selama pemeliharaan menunjukkan konsentrasi oksigen terlarut yang semakin menurun pada akhir penelitian. Hal ini diduga disebabkan karena biomassa udang vaname semakin tinggi sehingga lebih banyak membutuhkan oksigen. Selain itu salinitas yang semakin tinggi akan memacu laju metabolisme di dalam tubuh udang untuk proses osmoregulasi sehingga disatu sisi udang lebih banyak membutuhkan oksigen, disisi lain konsentrasi oksigen di dalam air semakin menurun karena difusi oksigen dari udara terhambat hingga menyebabkan kelarutan oksigen semakin berkurang

2.8.4 Salinitas

Haliman dan Adijaya (2005), mengemukakan bahwa udang vanname memiliki sifat *euryhalin*. udang muda yang berumur 1–2 bulan memerlukan kadar garam 15–25 ppt agar pertumbuhannya dapat optimal, setelah umurnya lebih dari 2 bulan, pertumbuhan relatif baik pada kisaran salinitas 5 –30 ppt. Lebih lanjut dikatakan bahwa salinitas yang tinggi (diatas 40 ppt) sering terjadi pada musim kemarau menyebabkan pertumbuhan udang menjadi lambat karena proses osmoregulasi terganggu. Pada salinitas yang tinggi pertumbuhan udang

akan melambat karena energi lebih banyak terserap untuk proses osmoregulasi.

Kisaran salinitas optimal untuk udang vaname berkisar 15 – 30 ppt.

2.8.5 Ammonia

Amonia merupakan hasil katabolisme protein yang diekskresikan oleh organisme dan merupakan salah satu hasil dari penguraian zat organik oleh bakteri. Amonia di dalam air terdapat dalam bentuk tak terionisasi (NH_3) atau bebas, dan dalam bentuk terionisasi (NH_4) atau ion amonium (Dinas Perikanan, 1997). Sumber utama amonia di media budidaya akuatik adalah bahan organik dalam bentuk sisa pakan, kotoran hewan air maupun dalam bentuk plankton dan bahan organik tersuspensi (Ahmad *et al.*, 1988). Sebagian besar pakan yang dikonsumsi dirombak menjadi daging atau jaringan tubuh, sedang sisanya dibuang berupa kotoran padat (faeces) dan terlarut (amonia).

Menurut Samocha dan Lawrence (1993), bahwa kandungan amonia untuk juvenil udang vaname berkisar antara 0,4–2,31 mg/L. Lin dan Chen (2001), melaporkan bahwa nilai LC_{50} amonia untuk juvenil udang vaname pada perendaman 24, 48, 72 dan 96 jam, salinitas 35 ppt yakni 2,78; 2,18; 1,82 dan 1,60 mg/L. Suprpto (2005), mengemukakan bahwa kadar amonia yang masih dapat ditoleransi oleh udang vaname berkisar 0,1 – 0,5 mg/L.

3. MATERI DAN METODE

3.1 Materi Penelitian

Materi penelitian ini adalah haemocyte pada udang vaname (*Litopenneus vannamei*) dianalisis total haemocyte dan diferensial haemocyte yang telah terinfeksi WSSV dan pengaruh imunostimulan dengan perbedaan dosis ekstrak *Gracilaria verrucosa* yang diberikan, untuk mengetahui dosis yang optimal dilakukan perhitungan total haemocyte dan diferensial haemocyte pada udang vaname, serta pengamatan kualitas air yang berpengaruh terhadap habitat udang vaname. Pengamatan kualitas air meliputi suhu, pH, DO, salinitas dan ammonia.

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental di dalam laboratorium. Penelitian ini menggunakan desain rancangan acak lengkap (RAL) serta analisis statistik parametrik dengan uji F sederhana menggunakan Anova One way untuk mengetahui daya efektivitas pemberian ekstrak pada campuran pakan dengan dosis yang berbeda. Menurut Borg dan Gall (1983) dalam Jaedun (2011), menyatakan bahwa penelitian eksperimen merupakan penelitian yang paling dapat diandalkan keilmiahannya (paling valid), karena dilakukan dengan pengontrolan secara ketat terhadap variable-variabel pengganggu di luar yang dieksperimenkan.

Metode eksperimen pada penelitian ini mencakup perlakuan pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* terhadap infeksi WSSV dengan indikator THC dan DHC pada haemocyte udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Menurut Nazir (2014), RAL sering digunakan jika percobaan bersifat homogeny seperti percobaan dalam labolatorium dimana dapat dikontrol.

Penelitian ini menggunakan 4 (empat) perlakuan yang berbeda dan 3 (tiga) kali pengulangan. Tiga perlakuan tersebut merupakan jumlah pemberian dosis ekstrak rumput laut *Gracilaria verrucosa* yaitu mengacu pada penelitian Ermantianingrum *et al.* (2012), dengan perlakuan K (-) dengan dosis (0 gram) dosis A (5 gram) dengan ulangan 3 kali (1, 2, 3), B (10 gram) dengan ulangan 3 kali (1, 2, 3) dan C (15 gram) dengan ulangan 3 kali (1, 2, 3), selanjutnya dilakukan uji BNT untuk mengetahui perbedaan jumlah THC dan DHC untuk mengetahui daya efektivitas ekstrak rumput laut *Gracilaria verrucosa* terhadap darah udang yang terinfeksi WSSV.

3.2.1 Rancangan Percobaan RAL

Penelitian menggunakan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan sehingga dapat digambarkan rancangan percobaan secara RAL sebagai berikut:

K(-)1	A1	B1	C2
C1	K(-)2	A2	B2
B3	C3	K(-)3	A3

Gambar 8. Rancangan Percobaan RAL

Keterangan gambar:

- K (-) yaitu udang terinfeksi WSSV tidak diberi pakan yang bercampur ekstrak *Gracilaria verrucosa*.
- A yaitu udang terinfeksi WSSV diberi pakan yang bercampur ekstrak *Gracilaria verrucosa* dengan dosis 5 gram/Kg.
- B yaitu udang terinfeksi WSSV diberi pakan yang bercampur ekstrak *Gracilaria verrucosa* dengan dosis 10 gram/Kg.

d. C yaitu udang terinfeksi WSSV diberi pakan yang bercampur ekstrak *Gracilaria verrucosa*. dengan dosis 15 gram/Kg.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

Alat maupun bahan sangat dibutuhkan dalam suatu penelitian agar dapat mempermudah kita dalam melakukan suatu pekerjaan/penelitian. Daftar alat-alat dan bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Alat dan Bahan Penelitian

NO	Parameter	Alat	Bahan
1	Suhu	➤ Termometer	➤ Akuades ➤ Tisu ➤ air sampel
2	pH	➤ pH meter	➤ Akuades ➤ Tisu ➤ air sampel
2	Oksigen Terlarut	➤ DO Meter	➤ Akuades ➤ Tisu ➤ air sampel
3	Salinitas	➤ Refraktometer ➤ pipet tetes	➤ Akuades ➤ Tisu ➤ air sampel
4	Pemeliharaan udang uji	➤ Akuarium ➤ Sesar ➤ ember	➤ Air media salnitas 20 ppt ➤ udang vaname PL 60
5	Pengambilan sampel darah	➤ Syringe 1ml ➤ Appendorf ➤ Nampan	➤ Udang vaname PL60 ➤ Tissue ➤ Kertas label ➤ Metil alkohol
6	THC	➤ Syringe 1 ml ➤ Eppendorf ➤ Cover glass ➤ Haemocytometer ➤ Mikroskop ➤ Washing bottle	➤ Haemocyte udang vaname ➤ Na-sitrat ➤ <i>Thripanblue</i> ➤ Tissue ➤ Aquades
7	DHC	➤ Preparat haemocyte ➤ Mikroskop ➤ Washing bottle	➤ Metil alcohol ➤ Larutan giemsa ➤ Tissue, akuades

3.4 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini terbagi menjadi menjadi dua bagian yaitu data primer dan data sekunder. Menurut Suryani (2010), data menurut sumbernya terbagi menjadi dua yaitu data primer dan data sekunder.

3.4.1 Data Primer

Menurut Surakhmad (1985), data primer adalah data yang langsung diperoleh dari sumbernya, diamati dan dicatat pertama kali dari sumbernya. Data sekunder merupakan informasi yang dikumpulkan bukan untuk kepentingan studi yang sedang dilakukan saat ini tetapi untuk beberapa tujuan lain.

Data primer pada penelitian ini meliputi morfologi udang yang sudah terinfeksi WSSV, rumput laut *Gracilaria verrucosa*, Ekstrak rumput laut *Gracilaria verrucosa* sebagai imunostimulan yang dilihat dari THC dan DHC, serta parameter kualitas air yang diamati pada saat penelitian. Data primer diperoleh dengan cara observasi

3.4.1.1 Observasi

Observasi adalah pengamatan dan pencatatan secara sistematis terhadap gejala yang diselidiki (Surakhmad, 1985). Pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengamatan morfologi udang yang sudah terinfeksi WSSV, morfologi *Gracilaria verrucosa* sebagai imunostimulan yang dilihat dari THC dan DHC, serta pengukuran kualitas air sebagai penunjang kehidupan udang.

3.4.2 Data Sekunder

Menurut Darmawan (2013), data sekunder adalah data yang diperoleh dari dokumen atau publikasi maupun laporan penelitian dari dinas atau instansi yang menunjang penelitian. Data sekunder dalam penelitian ini diperoleh melalui

laporan laporan terdahulu, serta studi kepustakaan yang berkaitan dengan *Gracilaria verrucosa*, pengelolaan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*), kualitas air, WSSV.

3.5 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian merupakan tahap yang dilakukan saat penelitian, yang meliputi persiapan media, penyediaan bahan ekstraksi *Gracilaria verrucosa*, pemberian ekstrak, pemeliharaan udang yang terinfeksi WSSV, pengamatan THC dan DHC.

3.5.1 Ekstraksi *Gracilaria verrucosa*

Gracilaria verrucosa diperoleh dari Keraton, Pasuruan. *Gracilaria verrucosa* sebanyak 10 Kg dicuci lalu dikeringan dengan cara diangin anginkan dibawah teras tanpa terkena sinar matahari secara langsung selama 4 hari. Menurut Winarno (1995), tujuan pengeringan ini untuk meminimalisir kadar air yang terkandung dalam alga merah dan untuk menghambat aktivitas mikroorganisme (jamur maupun bakteri) agar dapat disimpan dalam jangka waktu yang cukup lama. *Gracilaria verrucosa* yang sudah kering kemudian di iris kecil-kecil kemudian digiling menggunakan mesin penggiling, setelah itu diayak menggunakan ayakan dengan ukuran 50 mesh artinya setiap 1 inchi persegi terdapat 50 lubang bila dikonversi 50 mesh sama dengan $0,297 \text{ mm}^2$, sehingga didapatkan hasil simplisia yang halus dari *G. verrucosa*. Tujuan penghalusan sampel yaitu untuk memperbesar ukuran permukaan sampel sehingga proses ekstraksi berjalan optimal karena semakin luas permukaan sampel maka interaksi antara pelarut dan sampel semakin besar.

Simplisia dari *G. verrucosa* selanjutnya diekstraksi menggunakan cara maserasi. Perbandingan ekstraksi yang digunakan adalah 1:5. Simplisia halus sebanyak 600 gram dimaserasi menggunakan 3 liter pelarut metanol dengan

konsentrasi 96 % selama 24 jam. Ekstrak yang sudah dimaserasi kemudian disaring dan di rotary menggunakan mesin rotary selama 8 jam, sehingga didapatkan hasil ekstrak kental *G. verrucosa* sebanyak 30 g. Metanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Thompson, 1985). Penelitian Suryanto dan Wehantouw (2009) dalam Astarina *et al.* (2013), menunjukkan bahwa metanol mampu menarik lebih banyak jumlah metabolit sekunder yaitu senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin dalam daun *Artocarpus altilis* dibandingkan dengan etanol.

3.5.2 Persiapan Udang Uji

Udang uji diperoleh dari UPT PBAP Bangil pada stadia PL 30. Udang uji dipelihara di bak ukuran 20 L, dengan kepadatan 15 ekor per bak. Dengan jumlah bak yang digunakan adalah 12 bak untuk percobaan yang terdiri dari 4 perlakuan dan 3 kali ulangan, dan 3 bak untuk kontrol (+). Setiap bak diisi air dengan volume 18 liter, dan setiap bak diberi aerasi, serta bek ditutupi dengan waring agar udang tetap berada dalam bak dan tidak melompat keluar. Ember tersebut ditutup dengan waring agar udang uji tidak lompat (Prawira, 2014). Penataan bak percobaan disesuaikan dengan RAL, bak sebelum digunakan diserilkan dahulu dengan menggunakan kaporit konsentrasi 100 ppm (Jasmanindar, 2009).

Penyediaan air untuk percobaan yang pertama dilakukan adalah mengukur salinitas air tambak tempat udang uji diambil, kemudian membuat campuran salinitas air tawar dan air laur steril dengan persamaan $n_1 \times v_1 = n_2 \times v_2$, air laut steril diperoleh dari UPT PBAP Bangil dengan cara pemberian kaporit pada air lau dengan konsentrasi 60 ppm ditunggu selama 48 jam, setelah itu diberi Na-thiosulfat untuk menetralkan kandungan kaporit pada air setelah itu air siap digunakan. Pemeliharaan udang uji diberikan pakan sesuai dengan

perlakuan yang diperoleh dari UPT PBAP Bangil, jumlah pemberian pakan sebanyak 3 % dari total biomassa, sedangkan pakan diberikan setiap 6 jam. Menurut Ermantianingrum *et al.* (2013), udang uji diberi pakan sebanyak 3 % dari berat total udang. Nuhman (2009), menyatakan bahwa waktu pemberian pakan: 07.00 WIB, 11.00 WIB, 17.00 WIB, dan 22.00 WIB, dengan pertimbangan kebiasaan petambak memberi pakan adalah pada jam-jam tersebut.

3.5.3 Perlakuan Pakan

Metode percampuran pakan ada penelitian ini menggunakan percampuran pakan dengan Sprayer. Langkah pertama yang dilakukan adalah menimbang pakan yang akan digunakan yaitu seberat 1 kg. Langkah kedua menimbang ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebanyak perlakuan yaitu 5 g, 10 g, dan 15 g. Langkah selanjutnya adalah menyiapkan akuades sebanyak yang diperlukan. Akuades yang sudah disiapkan dimasukkan kedalam gelas beker volume 500 ml, kemudian ekstrak *Gracilaria verrucosa* yang sudah ditimbang sesuai perlakuan dihomogenkan. Langkah berikutnya menuangkan larutan (campuran ekstrak dengan akuades) kedalam sprayer kemudian ujung keluarannya air pada sprayer dikecilkan agar pada saat mengenai pakan merata dan pakan tidak hancur. Sprayer disemprotkan secara merata selanjutnya pakan disimpan ke dalam ruangan dan diangin-anginkan agar cepat kering.

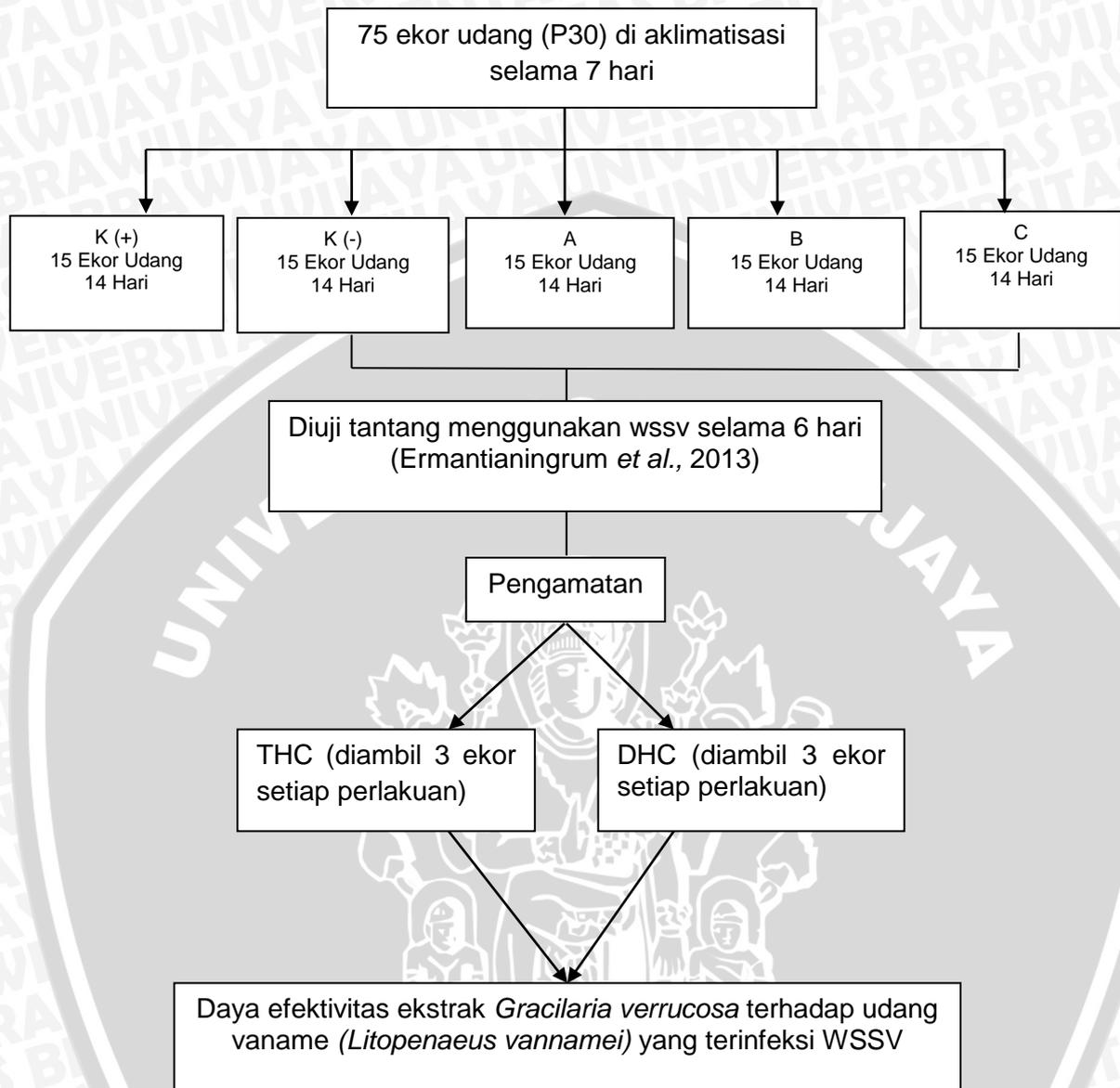
3.5.4 Penyediaan Larutan Inokulum WSSV

Udang vaname yang terserang WSSV diinokulum sebagai sumber virus, udang yang digunakan adalah udang yang sudah mati berasal dari BBPAP Situbondo. Inokulum virus dibuat sesuai dengan metode Hameed *et al.* (1998) dalam Rahma *et al.* (2014) yaitu mengambil insang dari udang yang terinfeksi WSSV sebanyak 1 g dan digerus sampai halus, kemudian disuspensikan dalam

9 ml air laut steril, lalu disentrifuse dengan kecepatan 3.000 rpm selama 30 menit pada suhu 4 °C, kemudian supernatant diambil dimasukkan dalam appendorf dihomogenkan kembali dengan sentrifuse dengan kecepatan 18.000 rpm selama 20 menit pada suhu 4 °C, kemudian Semua supernatan yang dihasilkan dimasukkan dalam valcon agar homogen. Sehingga siap diinfeksi pada udang uji.

Metode yang digunakan untuk penginfeksi virus WSSV pada udang uji adalah metode perendaman dalam 1 liter larutan virus dengan pengenceran 10^{-3} (dosis 20 µg/ml). Untuk mendapatkan virus dengan dosis 20 µg/ml digunakan metode Amrillah *et al.* (2015), yaitu dengan menyiapkan 2 tabung reaksi, pada tabung 1, ambil 1 ml larutan virus 20 mg/ml ditambahkan dengan 9 ml air laut kemudian dihomogenisasi dengan menggoyang-goyangkan tabung reaksi. Ambil 10 ml larutan virus 2 mg/ml dan tambahkan 90 ml air laut. Ambil 100 ml larutan virus 0,2 mg/ml ditambahkan 900 ml air laut. 1000 ml larutan virus 0,02 mg/ml yang digunakan sebagai perendam penginfeksi WSSV pada udang uji.

3.5.5 Bagan Alir Perlakuan Hewan Uji



Gambar 9. Bagan Alir Penelitian

3.5.6 Pemeliharaan Hewan Uji

Pemeliharaan udang uji meliputi pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, pH, DO, salinitas, dan Amonia, serta pergantian air dengan cara penyiponan. Pengamatan harian meliputi udang yang terserang WSSV, serta dicatat total biomassa udang di bak percobaan. Udang yang terinfeksi WSSV akan mengalami perubahan tingkah laku yaitu menurunnya aktivitas berenang, berenang tidak terarah, dan sering kali berenang pada salah satu sisinya saja.

Pada fase akut terdapat bercak-bercak putih pada karapas dengan diameter 0.5-3.0 mm, dan bercak putih ini pertama kali muncul pada cephalothorak, segmen ke 5 dan ke 6 dari abdominal dan terakhir menyebar keseluruh kutikula tubuhnya. Pada kasus WSSV adanya bintik atau spot putih pada bagian karapas sudah menjadi tanda umum, tetapi pada induk udang warnanya menjadi merah. Udang yang terserang penyakit ini dalam waktu singkat dapat mengalami kematian (Mahardika *et al.*, 2004 dalam Kilawati dan Maimunah, 2014).

3.5.7 Perhitungan THC dan DHC

Menurut Ekawati *et al.* (2012), *total Haemocyte Count* (THC) dihitung menggunakan *haemocytometer* dengan bantuan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 x sebagai berikut:

$$\text{THC} = \frac{\text{Jumlah Sel yang dihitung}}{\text{Jumlah bidang pandang}} \times 104 \times \text{Faktot pengencer}$$

Pengamatan jumlah sel differensial haemocyte (hyalin, semi granular dan granular) dalam persentase berdasarkan criteria morfologi dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 1.000 X. Diferensiasi haemocyte atau differensial haemosit count (DHC) dilakukan dengan mengacu pada Martin dan Graves (1995) dalam Tampanggalo *et al.* (2012), hemolim ditetaskan pada gelas obyek dan dibuat ulasan, kemudian dikeringkan di udara. Selanjutnya preparat difiksasi dengan metanol selama 5-10 menit kemudian dikeringkan di udara kembali. Diferensiasi haemocyte kemudian dihitung dengan mengelompokkan sel haemocyte kedalam 3 tipe sel (granular, semigranular dan hialin) di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Total tipe sel haemocyte yang dihitung adalah 100 sel lalu persentase tiap jenis sel dihitung dengan menggunakan rumus:

$$DHC = \frac{\text{Jumlah tiap sel haemocyte}}{\text{Jumlah haemocyte yang diamati}} \times 100 \%$$

3.5.8 Survival Rate (SR)

Indikator kelulus hidupan udang dihitung pada akhir pengamatan dengan menghitung jumlah udang yang masih hidup pada setiap wadah percobaan dibandingkan dengan jumlah udang pada awal penelitian dinyatakan dalam persen (%) (Saraswati, 2014). Perhitungan nilai *survival rate* (SR) udang vanname dilakukan dengan rumus Effendi (1997) sebagai berikut:

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100 \%$$

Keterangan :

N_t = Sisa udang pada akhir percobaan (ekor)

N_0 = Jumlah awal udang percobaan (ekor)

SR = Survival rate (%)

3.6 Metode Pengukuran Kualitas Air

3.6.1 Suhu

Menurut BSN (2005), suhu diukur dengan menggunakan termometer dan dilakukan langsung di lapangan pada stasiun pengamatan. Nilai suhu diperoleh dengan cara termometer direndam di dalam air selama 1 sampai 5 menit kemudian dicatat pembacaan skala termometer tanpa mengangkat lebih dahulu termometer dari air, kemudian hasil dicatat dengan satuan °C.

3.6.2 Derajat Keasaman (pH)

Menurut Kordi (2010), pengukuran pH dapat dilakukan dengan pH meter yaitu dengan cara sebagai berikut:

- 1) Tekan tombol *switch* ke posisi on. Tekan pula tombol baterai ke posisi *batt*.
- 2) Setelah pengecekan baterai, tombol cek / kontrolnya harus dikembalikan ke posisi *meas*.
- 3) Kemudian buka penutup elektroda, lalu elektroda tersebut di cuci dengan air mengalir kemudian dibilas dengan tisu yang bersih.
- 4) Kemudian celupkan elektroda ke dalam air sampel dan jarum akan bergerak menunjukkan nilai pH air yang sedang diukur.

3.6.3 Oksigen Terlarut (DO)

Menurut Kordi (2010), prosedur pengukuran oksigen terlarut dengan DO meter sebagai berikut:

- 1) Tombol "ON" ditekan pada DO meter.
- 2) Ujung batang dikalibrasi menggunakan aquades agar tidak terkontaminasi dengan sample sebelumnya.
- 3) Batang dicelupkan pada DO meter ke air sampel.
- 4) Angka yang ditunjukkan pada layar dilihat dan dicatat menggunakan alat tulis.
- 5) Ujung batang dikalibrasi menggunakan aquades agar netral kembali.
- 6) Tombol "OFF" ditekan pada DO meter.
- 7) Hasil dicatat dengan satuan mg/l.

3.6.5 Salinitas

Menurut Arief (1984), salinometer adalah alat untuk mengukur salinitas dengan cara mengukur kepadatan dari air yang akan dihitung salinitasnya. Bekerjanya berdasarkan daya hantar listrik, semakin besar salinitas semakin Besar pula daya hantar listriknya. Alat ini digunakan di laboratorium, berbeda dengan refraktometer yang biasa digunakan di lapangan atau outdoor cara penggunaan Refraktometer yaitu:

1. Ambil gelas ukur yang panjang, isi dengan air sampel yang akan diukur salinitasnya
2. Salinitas akan terbaca pada skalanya

3.6.6 Amonia

Prosedur pembuatan pereaksi amonia mengacu pada APHA akuades bebas amonia dibuat dari 15 ml natrium hidroksida dan 1 g kalium peroksodisulfat yang dilarutkan dalam 500 ml akuades. Larutan alkalin dibuat dari 100 g asam sitrat dan 5 g natrium hidroksida yang dilarutkan ke dalam 500 ml akuades. Larutan hipoklorit dibuat dari 2,5 g natrium nitroprusit dihidrat dilarutkan kedalam 500 ml akuades. Larutan fenol dibuat dari 11,1 ml fenol dan 95 ml etil alkohol dilarutkan dalam 100 ml akuades. Larutan stok amonia dibuat dari 3,819 g amonium klorida dilarutkan dalam 1000 ml akuades. Ukur 25 ml air laut lalu ditambahkan 1 ml larutan fenol, 1 ml larutan hipoklorit dan 2,5 ml larutan alkalin, dan ukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 640 nm (Alianto *et al.*, 2009).

3.6.7 Analisa Data RAL

Data yang diperoleh dari hasil penelitian, dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis sidik keragaman (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yakni Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut

distribusi F, sehingga disebut juga sebagai Uji F. Perlakuan berbeda nyata jika H_0 ditolak dan H_1 diterima ($F_{hitung} > F_{tabel} 5\%$) dan perlakuan tidak berbeda nyata jika H_0 diterima dan H_1 ditolak ($F_{hitung} < F_{tabel} 5\%$). Data analisis sidik keragaman yang didapat apabila diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata atau berbeda sangat nyata, maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Menurut Mattjik dan Sumertajaya (2011), analisis ragam peubah ganda satu arah merupakan pengembangan dari analisis ragam satu peubah satu arah. Oleh sebab itu, sebelum membahas analisis ragam peubah ganda satu arah perlu dikemukakan tentang analisis ragam satu peubah satu arah. Model yang sering digunakan dalam analisis ragam satu arah adalah model *Rancangan Acak Lengkap (RAL)*.

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij},$$

dimana $i=1,2 \dots, t$ dan $j=1,2, \dots, n$

Y_{ij} = nilai pengamatan (respon tunggal) dari ulangan ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i.

μ = nilai rata-rata umum.

τ_i = pengaruh dari perlakuan ke-i terhadap respon.

ε_{ij} = pengaruh galat yang timbul pada ulangan ke-j dan perlakuan ke-i.

Proses selanjutnya setelah mengetahui nilai F hitung $>$ F table maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) atau Least Significant Difference (LSD). Menurut Suhaemi (2011), Uji ini adalah prosedur perbandingan dari nilai tengah perlakuan (rata-rata perlakuan) dengan menggunakan gabungan kuadrat tengah sisa (KTG/S) dari hasil Sidik ragam. Nilai uji menggunakan nilai-nilai pada Tabel t. Rumus yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$B_{Nt} = (t_{\alpha, dfe}) \sqrt{\frac{2 KTG}{u}}$$

Keterangan:

$t_{\alpha, dfe}$ = nilai Tabel t pada tingkat kepercayaan (α) 0.05 pada uji satu arah atau 0.025 pada uji dua arah, pada derajat bebas sisa sesuai yang dihasilkan pada Tabel Sidik Ragam, dengan dfe = derajat bebas galat

KTG = Kuadrat tengah galat

U = Rata-rata umum perlakuan

Langkah-langkah pengujian adalah sebagai berikut :

1. Hitunglah rata-rata perlakuan untuk tiap taraf perlakuan jika hasil uji F nya adalah berbeda nyata (* atau **).
2. Urutlah rata-rata perlakuan tersebut berdasarkan rangking (dari yang besar ke yang kecil atau sebaliknya).
3. Carilah selisih dari rata-rata antara dua pasangan perlakuan yang hendak diuji, selisih yang dicari adalah yang berjarak 1 rangking, misalnya rangking I dengan II, rangking II dengan III, dst.
4. Bandingkan selisih tersebut dengan nilai uji $B_{Nt\alpha}$.
5. Jika rata-rata perlakuan lebih kecil (<) dibanding nilai uji, maka dikatakan bahwa antara kedua perlakuan tidak ada pengaruh yang nyata (tidak berbeda nyata), jika rata-rata perlakuan lebih besar (>) dibanding nilai uji, maka dikatakan bahwa antara kedua perlakuan ada pengaruh yang nyata (berbeda nyata).
6. Hasil uji lanjut kemudian ditampilkan dalam skripsi dengan tanda superskrip disebelah kanan dari rata-rata perlakuan yang diuji.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Gambaran Umum UPT PBAP Bangil

UPT PBAP Bangil berdiri dengan bantuan dana APBD Jawa Timur tahun anggaran 1977/1978. Berdasarkan keputusan Gubernur Kepala Daerah Tingkat I Jawa Timur No. 23 tahun 1987 tanggal 29 Januari 1987 tentang susunan organisasi dan tata usaha kerja UPT Dinas Perikanan Propinsi Tingkat I Jawa Timur. UPT Bangil ini berganti nama sudah 3 kali hingga sekarang. Yang berawal pada tahun 1980 bernama Unit Pelaksana Teknis Unit Pengembangan Budidaya Air Payau (UPT UPBAP). Dan pada tahun 1994 berubah menjadi BPBAP (Balai Pengembangan Budidaya Air Payau). Pada tahun 2000 hingga sekarang adalah UPT BPBAP (Unit Pelaksana Teknis Balai Pengembangan Budidaya Air Payau) (Handaryono dan Faqih, 2013).

Berdasarkan surat keputusan Gubernur Jawa Timur nomor 48 tahun 2001 tanggal 21 Desember 2001 tentang tugas dan fungsi Unit Pelaksanaan Teknis Dinas Perikanan Dan Kelautan Propinsi Jawa Timur, UPT PBAP melaksanakan tugas operasional di bidang pengembangan budidaya air payau dengan tugas pokok melaksanakan pengelolaan, pengadaan dan pendistribusian benih, pengendalian mutu, budidaya ikan serta pelatihan ketrampilan budidaya air payau. Fungsi dari UPT PBAP Bangil adalah menyusun rencana dan program kegiatan pengembangan budidaya air payau, pelaksana pembenihan air payau, pelaksana distribusi/pemasaran benih dan induk ikan air payau, pelaksana budidaya air payau, pelaksana dan perawatan dan pemeliharaan bahan, sarana dan prasarana pendukung pengembangan budidaya ikan air payau, pelaksana pengembangan dan penerapan teknologi perikanan air payau, pelaksana pengujian kualitas air, hama dan penyakit ikan air payau, pelaksana dan pengawasan standar mutu hasil perikanan air payau, pelaksana pelatihan dan

ketrampilan pembudidaya air payau, pelaksana ketata usahaan dan rumah tangga (Handaryono dan Faqih, 2013).

4.2 Hasil Ekstraksi *Gracilaria verrucosa*

Sampel *Gracilaria verrucosa* diekstraksi dengan metode maserasi yaitu dengan cara perendaman, metode ini dipilih karena dinilai mudah dan sederhana. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhriani, 2014). Pelarut yang digunakan adalah methanol dengan konsentrasi 96 %. Methanol digunakan karena memiliki nilai konstanta dielektrik yang tinggi sebesar 33.1 sehingga mudah menarik bahan aktif yang berada dalam *Gracilaria verrucosa*. Semakin tinggi nilai konstanta dielektrikum maka pelarut tersebut bersifat polar (sumardamadji *et al.*, 1989).

Metanol merupakan senyawa polar yang disebut sebagai pelarut universal karena selain mampu mengekstrak komponen polar juga dapat mengekstrak komponen nonpolar seperti lilin dan lemak (Houghton dan Raman 1998 *dalam* Susanti *et al.*, 2012). Maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana, yaitu dengan cara merendam bahan dalam pelarut organik pada suhu ruangan (Gritter *et al.*, 1985). Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung metabolit primer maupun sekunder, sehingga metabolit tersebut akan larut. Perbedaan dosis antara larutan di dalam sel dan di luar sel mengakibatkan larutan yang pekat didesak keluar. Ekstrak yang didapatkan adalah 30 gram dari berat simplisia 600 gram dan pelarut 3 liter.

Rumput laut *G. verucosa* merupakan salah satu komoditas perikanan Indonesia, dimana merupakan salah satu rumput laut komersial yang bernilai ekonomis tinggi (Anggadiredja *et al.* 1996). Pemanfaatan rumput laut ini sudah banyak dilakukan baik sebagai obat, bahan makanan dan industri. Salah satu manfaat yang kini diperhatikan adalah pemanfaatan *G. verrucosa* sebagai bahan imunostimulan pada budidaya udang. Kandungan utama *G. verrucosa* (alga merah) adalah polisakarida agar-agar yang biasa disebut dengan agarofit dan karaginoFit (polisakarida karagin) (Dirjen, 2005 dalam Jasmanindar, 2009). Bahan dalam rumput laut yang mempunyai kemampuan menstimulasi adalah adanya polisakarida bersulfat dimana dalam agar terdapat tiga tipe molekular salah satunya yaitu *sulfated galactan* (agaropektin). Dengan adanya kelompok sulfat ini maka terbentuknya sejumlah molekul dengan fungsinya masing-masing salah satunya sebagai *immunomodulatory activities* pada mamalia (Castro *et al.* 2006). Kandungan sulfat dari ekstrak *G. verrucosa* berkisar antara 3,25 – 4,79%. Selain itu pula beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa polisakarida rumput laut dapat menstimulasi sistem imun ikan dan juga dapat memodifikasi resistensi ikan terhadap penyakit.

Dikemukakan oleh Castro *et al.* (2006) bahwa dinding sel rumput laut berisi matrix polisakarida yang berlimpah yang dibentuk oleh gula netral dan gula asam yang juga ditemukan pada tumbuhan darat. Namun rumput laut juga 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 antiviral, antikoagulasi, antitumor dan aktifitas *immunomodulatory* pada mamalia (Castro *et al.* 2006). Winarno *et al.*, (1990), mengemukakan komponen kimia ini mengandung polisakarida bersulfat, yang formasinya dengan senyawa lainya dalam agar membentuk sejumlah molekul yang salah satunya berperan

dalam *imunostimulan*. Kandungan senyawa kimia secara umum dengan berat molekul terdiri dari unit D-galaktosa-4-sulfat dan 3,6-anhydro-D-galaktosa.

Menurut Shinta (2011), rumput laut memproduksi berbagai senyawa yang terdiri dari senyawa primer yaitu senyawa yang dihasilkan oleh makhluk hidup dan bersifat esensial bagi proses metabolisme sel seperti fikoloid, vitamin, dan karbohidrat. Senyawa sekunder adalah senyawa metabolit non esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang berbeda seperti terpenoid, steroid, kumarin, flavonoid dan alkaloid. Fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang baik. Selain itu rumput laut dapat digunakan sebagai imunostimulan yang mengandung polisakarida lebih aman karena tidak bersifat racun maupun patogenik bagi udang (Dugger and Jory, 1999). Terdapat sejumlah laporan yang berhubungan dengan aktifitas dari makroalga dalam melawan penyakit pada manusia dan pada hewan darat lainnya dan juga sebagai imunostimulan. Beberapa bahan yang diperoleh dari rumput laut, terutama polisakarida dapat memodifikasi beberapa komponen sistem imun pada ikan dan meningkatkan proteksi terhadap infeksi bakteri (Castro *et al.* 2006). Menurut Castro *et al.* 2006 bahwa polisakarida dari rumput laut dapat menstimulasi sistem imun non spesifik dalam hal ini fagositosis.

4.3 Kualitas Air

Kualitas air merupakan parameter penunjang dalam penelitian ini, maka dilakukan pengukuran kualitas air pada media hidup udang penelitian yang meliputi parameter fisika yaitu suhu, parameter kimia diantaranya derajat keasaman (pH), oksigen terlarut (DO), salinitas dan ammonia. Data hasil pengukuran dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil pengukuran kualitas air

Perlakuan	Kisaran nilai kualitas air				
	Suhu (°C)	pH	DO (mg/l)	Salinitas (ppt)	Ammonia
Kontrol (+)	28.1-31.8	8-9	6.87-7.74	7-13	0.01-0.02
Kontrol (-)	28.3-32	8-9	6.34-7.27	8-15	0.02-0.05
A	28.2-31.9	8-9	6.98-7.59	7-14	0.02-0.04
B	27-32	8-9	6.49-7.83	8-14	0.01-0.03
C	27.2-32	8-9	6.58-7.29	7-15	0.02-0.03
Standard baku mutu	27-32 (°C) (Suprpto, 2006)	7-9 (Amri dan Khana, 2008)	>5 mg/l	10-15 (Briggs <i>et al.</i> , 2004)	< 0.1 mg/l (Amri dan Khana, 2008)

4.3.1 Parameter Fisika

a. Suhu

Data hasil pengukuran suhu dapat dilihat pada Tabel 3 didapatkan nilai kisaran suhu yaitu 27-32 °C. Suhu berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan biota perairan karena mempengaruhi system metabolisme yang berada dalam tubuh biota perairan. Menurut Suprpto (2005), bahwa suhu optimal untuk budidaya udang vaname berkisar 27-32 °C. Pada beberapa penelitian menyebutkan bahwa suhu yang tinggi dapat menyebabkan kematian pada haemocyte, salah satunya oleh Gagnaire *et al.* (2006), pada percobaan *in vitro*, menunjukkan bahwa ketika suhu tinggi akan menyebabkan kematian haemocyte. Jumlah haemocyte juga bervariasi karena faktor lingkungan seperti salinitas dan suhu (Oliver dan Fisher, 1995 dalam Hartinah *et al.*, 2014), apabila suhu meningkat maka jumlah haemocyte yang beredar dalam hemolimfe meningkat karena kebutuhan dan kekuatan pompa jantung, selain itu ketersediaan pakan dan gizi serta infeksi penyakit juga berpengaruh.

4.3.2 Parameter Kimia

a. Derajat Keasaman (pH)

Data hasil pengukuran pH dapat dilihat pada Tabel 3 didapatkan nilai kisaran pH yaitu 8-9. Pada sistem budidaya udang vaname kisaran pH ini

termasuk normal dan disukai oleh udang. Menurut Suprpto (2005), bahwa kondisi pH air yang optimal untuk budidaya vaname berkisar 7,3 – 8,5 dengan torelansi 6,5 – 9. Menurut Gunalan *et al.* (2010), pada pH yang tinggi dan suhu air yang rendah merupakan tempat hidup yang sesuai bagi WSSV sehingga memicu kematian massal bagi udang vaname. Sahoo *et al.* (2005), menambahkan bahwa WSSV secara klinis akan menyerang udang pada pH yang tinggi bersamaan dengan udang yang sedang molting.

b. Oksigen Terlarut (DO)

Data hasil pengukuran DO dapat dilihat pada Tabel 3 didapatkan nilai kisaran DO yaitu 6.34-7.83 mg/l. Kisaran nilai DO tersebut masih dalam kondisi normal dan disukai oleh biota perairan. Clifford (1998), melaporkan bahwa level DO minimum untuk kesehatan udang 3,0 mg/L dan DO yang potensial menyebabkan kematian adalah < 2,0 mg/L. Menurut Ekawati *et al.* (2012), jumlah haemocyte udang dapat menurun apabila kondisi lingkungan memburuk, misalnya rendahnya kandungan oksigen terlarut, suhu dan salinitas, atau terdapatnya serangan pathogen.

c. Salinitas

Data hasil pengukuran salinitas dapat dilihat pada Tabel 3 didapatkan nilai kisaran salinitas yaitu 7-15 ppt. Pada kondisi ini udang vaname sudah dewasa dan menyukai salinitas yang lebih rendah. Bray *et al.* (1994), menyatakan bahwa udang vanname dapat dipelihara di daerah perairan pantai (*coastal*) dengan kisaran salinitas 1-40 ppt. Udang vaname dapat tumbuh baik/optimal pada kisaran kadar garam 15-25 ppt, bahkan beberapa penelitian menunjukkan bahwa pada salinitas 5 ppt masih layak untuk pertumbuhannya. Pengaruh langsung salinitas yaitu efek osmotiknya terhadap osmoregulasi dan pengaruh tidak langsung salinitas mempengaruhi organisme akuatik melalui

perubahan kualitas air. Pada salinitas 30 ppt infeksi WSSV pada udang windu lebih rendah dibandingkan salinitas 10 ppt, 15 ppt, 20 ppt, dan 25 ppt (Rahma *et al.*, 2014). Di samping itu, udang vaname memiliki sifat *euryhalin* atau mampu hidup pada kisaran salinitas yang lebar. Di habitat aslinya, udang ini ditemukan pada perairan dengan kisaran salinitas 0,5-40 ppt (Bray *et al.*, 1994). Ramos-Carreño *et al.*, (2014) dalam Amrillah *et al.* (2015), mempelajari kerentanan *L. vannamei* terhadap WSSV di beberapa tingkat salinitas. Salinitas rendah berkontribusi pada penurunan kinerja osmoregulasi *L. vannamei* dan peningkatan replikasi WSSV, sehingga tingkat kematian udang yang lebih tinggi.

d. Ammonia

Data hasil pengukuran ammonia dapat dilihat pada Tabel 3 didapatkan nilai kisaran ammonia yaitu 0.01 mg/l – 0.05 mg/l. Soetomo (2002), menyatakan bahwa jumlah ammonia ditambah akan bertambah sejalan dengan aktifitas proses perombakan dan meningkatnya suhu air. Mangampa (2010) dalam Kilawati dan Maimunah (2014), menyatakan bahwa pengaruh langsung dari kadar ammonia yang tinggi tapi belum mematikan adalah rusaknya jaringan insang. Lembaran insang akan membengkak (hiperplasia) sehingga fungsi insang sebagai alat pernapasan akan terganggu dalam hal pengikatan oksigen dari air. Level ammonia yang tinggi di perairan juga dapat meningkatkan konsentrasi ammonia dalam darah sehingga mengurangi aktifitas darah (hemocyanin) dalam mengikat oksigen. Selain itu tingginya kadar ammonia juga dapat meningkatkan kerentanan udang terhadap penyakit, dengan demikian, maka akumulasi ammonia pada substrat dasar tambak merupakan faktor pendorong perubahan kualitas lingkungan sehingga terjadi hambatan pertumbuhan dan kematian masal udang.

4.4 Pengamatan Makroskopik Udang Vaname

Pengamatan makroskopik merupakan pengamatan yang dilakukan dengan mata secara langsung. Uji tantang udang vanname yang direndam dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* dilakukan dengan penginfeksi WSSV melalui perendaman selama 3 jam. Untuk mengetahui perubahan tingkah laku dan gejala klinis udang yang diinfeksi WSSV, maka dilakukan pengamatan secara morfologi terhadap aktivitas, nafsu makan, gejala klinis dan kematian. Pengamatan ini dilakukan setelah uji tantang sampai dengan hari ke-6 setelah diinfeksi dengan virus WSSV. Pengamatan ini dilakukan untuk mengetahui keadaan morfologi dan fisiologi dari udang uji. Udang yang diamati yaitu udang kontrol (+), udang kontrol (-), udang perlakuan A, B dan C. Hasil pengamatan dapat dilihat pada gambar 10.





Gambar 10. Morfologi dan tingkah laku udang vaname selama uji tantang WSSV
Keterangan gambar :

- a. udang normal
- b. udang mati Karena WSSV
- c. Udang yang berenang miring
- d. Terdapat anggota tubuh udang yang hilang yaitu antenna
- e. Karapas udang vaname yang terinfeksi WSSV, sedangkan E¹ adalah kenampakan karapas udang vaname yang dilihat dari mikroskop perbesaran 100 x

4.4.1 Pengamatan Udang Kontrol (+)

Pada pengamatan udang Kontrol (+) menunjukkan perilaku yang normal yang ditandai dengan bergerak aktif jika diberikan makan. Pada pagi hari udang udang berkumpul ditepian bak, pada siang hari udang berdiam diri di

dasar bak, apabila dirangsang dengan sentuhan udang bergerak aktif melompat lompat. Pada malam hari udang aktif bergerak jika diberi makan. Perilaku udang ditunjukkan seperti respon terhadap rangsangan cahaya dan sentuhan, jika diberikan cahaya udang bergerak mendekati cahaya apabila diberikan sentuhan pada air udang bergerak aktif menjauhi rangsangan sentuhan yang diberikan.

4.4.2 Pengamatan Udang Kontrol (-)

Udang kontrol (-) merupakan udang yang diinfeksi dengan WSSV dengan konsenrasi 20 µg/ml yang direndam pada media pemeliharaan. Pengamatan dilakukan selama 6 hari setelah udang diinfeksi virus WSSV hasil pengamatan apat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Ciri-ciri tingkah laku dan morfologi udang kontrol (-)

No	Hari	Ciri-ciri tingkah laku dan morfologi
1	1	<ul style="list-style-type: none"> - Udang aktif bergerak, respon terhadap sentuhan masih agresif - Nafsu makan masih normal - Badan udang terlihat segar
2	2	<ul style="list-style-type: none"> Pergerakan udang terlihat aktif, respon terhadap sentuhan masih agresif Nafsu makan masih normal Badan udang masih terlihat normal dan segar
3	3	<ul style="list-style-type: none"> - Pergerakan udang terlihat lesu dan respon terhadap sentuhan sedikit berkurang - Nafsu makan normal tapi tersisa - Badan udang terlihat berwarna kemerahan
4	4	<ul style="list-style-type: none"> - Udang bergerak sedikit melambat jika dibandingkan dengan hari sebelumnya, respon terhadap sentuhan menurun - Nafsu makan menurun dilihat dari sisa pakan masih banyak yang tersisa - Tubuh sampai ekor udang berwarna kemerahan - Udang bergerak didadasr kolam secara lambat
5	5	<ul style="list-style-type: none"> - Udang bergerak melambat di dasar kolam, respon terhadap sentuhan semakin menurun - Nafsu makan udang berkurang, banyak sisa pakan - Warna merah pada udang terlihat jelas dari tubuh sampai ekor udang
6	6	<ul style="list-style-type: none"> - Udang tidak aktif bergerak, respon terhadap sentuhan

-
- rendah
 - Pakan yang diberikan banyak yang tersisa
 - Udang terlihat lemas, banyak mengalami kematian.
-

4.4.3 Pengamatan Udang Uji A

Udang uji A diperoleh dari udang yang diinfeksi WSSV yang diberi pakan bercampur dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* konsentrasi 5g/kg pakan.

Udang diberi pakan 5% dari total biomasa udang pada bak penelitian. Selama selang waktu 6 jam. Data ciri-ciri udang uji A dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Ciri-ciri tingkah laku dan morfologi udang uji A

No	Hari	Ciri-ciri tingkah laku dan morfologi
1	1	<ul style="list-style-type: none"> - Udang aktif bergerak, agresif terhadap respon sentuhan - Nafsu makan masih normal - Badan udang terlihat segar
2	2	<ul style="list-style-type: none"> - Pergerakan udang aktif, respon terhadap sentuhan agresif - Nafsu makan normal - Badan udang masih terlihat segar - Respon terhadap gangguan cepat menghindar
3	3	<ul style="list-style-type: none"> - Pergerakan udang aktif apabila diganggu udang melompat lompat - Nafsu makan masih normal - Badan udang masih segar
4	4	<ul style="list-style-type: none"> - Udang sedikit bergerak. - Nafsu makan udang normal - Warna udang cerah, dan segar - Apabila diberi gangguan udang mash menghindar menjauh dari sumber gangguan
5	5	<ul style="list-style-type: none"> - Pergerakan udang menurun lebih serung diam di dasar - Selalu menghindar apabila ada rangsangan sentuhan - Tubuh udang masih lengkap, dan warna masih segar - Udang pada siang hari tidak banyak bergerak dan berkumpul di dasar bak - Nafsu makan udang sedikit menurun
6	6	<ul style="list-style-type: none"> - Lebih banyak diam, masih respon terhadap gangguan - Nafsu makan menurun - Warna tubuh udang masih segar - Udang sering berkumpul di dasar bak pada siang dan malam hari

4.4.4 Pengamatan Udang Uji B

Udang uji B diperoleh dari udang yang diinfeksi WSSV yang diberi pakan bercampur dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* konsentrasi 10g/kg pakan. Udang diberi pakan 5% dari total biomasa udang pada bak penelitian. Selama selang waktu 6 jam. Data ciri-ciri udang uji B dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Ciri-ciri tingkah laku dan morfologi udang uji B

No	Hari	Ciri-ciri tingkah laku dan morfologi
1	1	<ul style="list-style-type: none"> - Udang aktif bergerak, agresif terhadap respon sentuhan maupun gangguan - Nafsu makan normal - Badan udang terlihat segar dan berwarna cerah
2	2,3	<ul style="list-style-type: none"> - Pergerakan udang aktif, respon terhadap sentuhan agresif - Nafsu makan normal - Badan udang masih terlihat segar dan berwarna cerah - Respon terhadap gangguan cepat menghindar
3	4	<ul style="list-style-type: none"> - Udang bergerak aktif, agresif terhadap gangguan yang diberikan - Nafsu makan udang normal - Warna udang cerah, dan segar - Apabila diberikan cahaya pada malam hari udang mendekati
4	5	<ul style="list-style-type: none"> - Udang bergerak aktif, agresif terhadap gangguan yang diberikan - Nafsu makan udang normal - Warna udang cerah, dan segar - Terjadi molting pada udang
5	6	<ul style="list-style-type: none"> - Pergerakan aktif, respon terhadap rangsangan baik - Nafsu makan masih baik - Warna tubuh udang masih segar

4.4.5 Pengamatan Udang Uji C

Udang uji C diperoleh dari udang yang diinfeksi WSSV yang diberi pakan bercampur dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* konsentrasi 15g/kg pakan. Udang diberi pakan 5% dari total biomasa udang pada bak penelitian. Selama selang waktu 6 jam. Data ciri-ciri udang uji C dapat dilihat pada tabel 7.

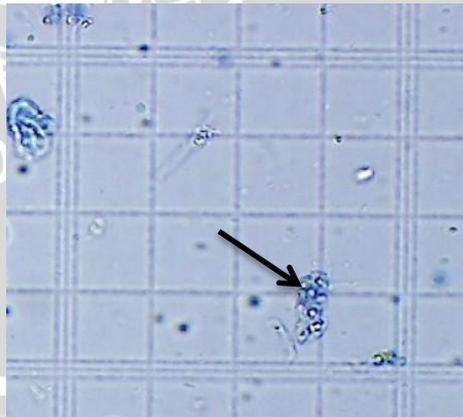
Tabel 7. Ciri-ciri tingkah laku dan morfologi udang uji C

No	Hari	Ciri-ciri tingkah laku dan morfologi
1	1	<ul style="list-style-type: none"> - Udang aktif bergerak, agresif terhadap respon sentuhan maupun gangguan - Udang lebih sering di dasar bak - Nafsu makan normal - Badan udang terlihat segar dan berwarna cerah
2	2	<ul style="list-style-type: none"> - Pergerakan udang aktif, respon terhadap sentuhan agresif - Nafsu makan normal - Badan udang masih terlihat segar dan berwarna cerah - Udang merespon dengan baik keika ada gangguan
3	3	<ul style="list-style-type: none"> - Udang bergerak normal, agresif terhadap gangguan - Nafsu makan udang sedikit menurun - Warna udang cerah, dan segar - diberikan cahaya pada malam hari udang mendekat
4	4,5	<ul style="list-style-type: none"> - Udang bergerak normal, menjauh apabila ada gangguan - Nafsu makan menurun, terlihat sisa pakan yang berada di dasar bak - Warna udang normal
5	6	<ul style="list-style-type: none"> - Tidak banyak bergerak terdiam di dasar bak, respon mulai berkurang - Nafsu makan turun, terlihat pakan tidak habis - Warna tubuh normal.

4.5 Pengamatan Mikroskopik pada Udang Uji

Pengamata mikroskopik merupakan pengamatan yang dilakukan dengan menggunakan mikroskop untuk mengamati darah THC dan DHC pada udang uji. Udang yang diamati THC dan DHC adalah udang kontrol (+), kontrol (-), udang perlakuan A, B, dan C, dimana kontrol (-), merupakan udang yang diinfeksi WSSV yang diberi pakan tanpa tambahan ekstrak *Gracilaria verrucosa*. A merupakan udang perlakuan yang diinfeksi WSSV dengan pemberian pakan yang dicampur ekstrak *Gracilaria verrucosa* dengan konsentrasi 5g/kg pakan. B merupakan udang perlakuan yang diinfeksi WSSV dengan pemberian pakan yang dicampur ekstrak *Gracilaria verrucosa* dengan konsentrasi 10g/kg pakan. C merupakan udang perlakuan yang diinfeksi WSSV dengan pemberian pakan yang dicampur ekstrak *Gracilaria verrucosa* dengan konsentrasi 15g/kg pakan. Berikut merupakan hasil pengamatan THC udang uji di mikroskop menggunakan hemositometer. Berikut merupakan pengamatan mikroskopik THC udang vaname dengan mikroskop perbesaran 400 x yang dapat dilihat pada Tabel 8.

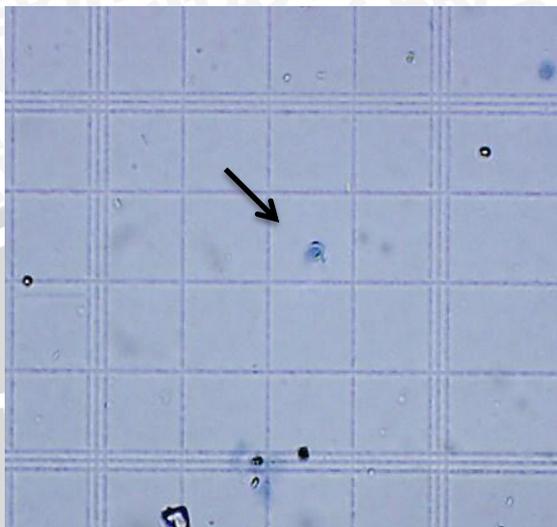
Tabel 8. Hasil Pengamatan THC

No	Perlakuan	Gambar
1	K (+)	

Lapang Pandang 5, Sel granular

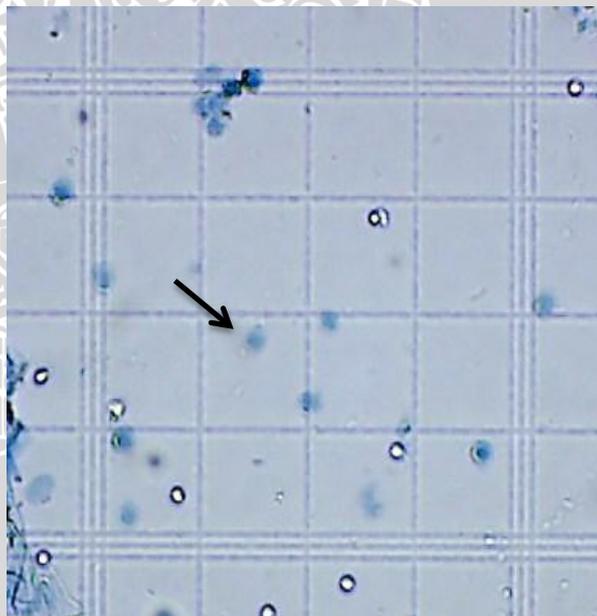
No	Perlakuan	Gambar
----	-----------	--------

2 K (-)



Lapang Pandang 3, Sel Hialin

3 A

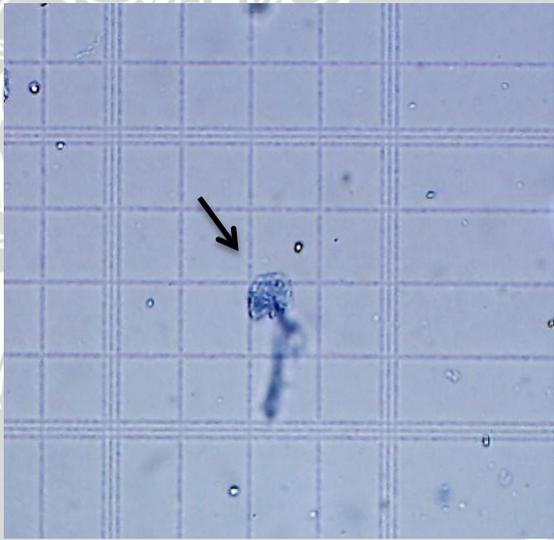


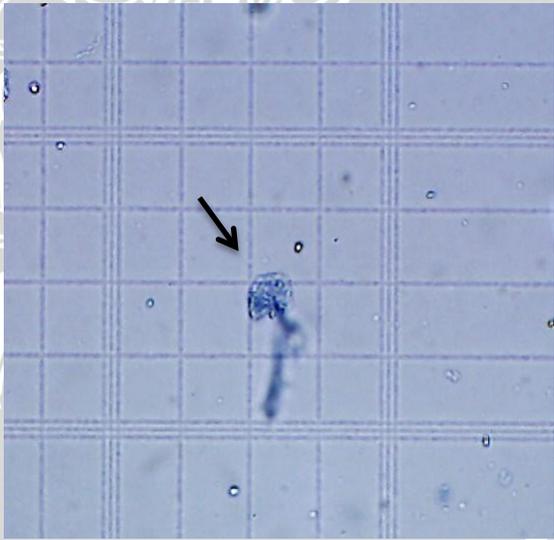
Lapang Pandang 1, Sel Hialin

No	Perlakuan	Gambar
4	B	



Lapang Pandang 5, Sel Semi Granular

5	C	
---	---	--



Lapang Pandang 3, Sel Semi Granular



4.5.1 Total Haemocyte Count (THC) Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Total haemocyte count merupakan indikator sistem pertahanan tubuh udang secara non spesifik. Sistem pertahanan tubuh udang dapat diketahui dengan aktivitas hemosit. Pengamatan THC dilakukan sebanyak dua kali untuk mengetahui efektivitas ekstrak *Gracilaria verrucosa* yang dilaksanakan sebelum dan sesudah udang uji diinfeksi dengan WSSV. Pengamatan udang sehat atau kontrol (+) juga dilakukan untuk dijasikan perbandingan antara pengamatan sebelum dan sesudah infeksi virus.

a. Pengamatan Darah Udang Sehat / Kontrol (+)

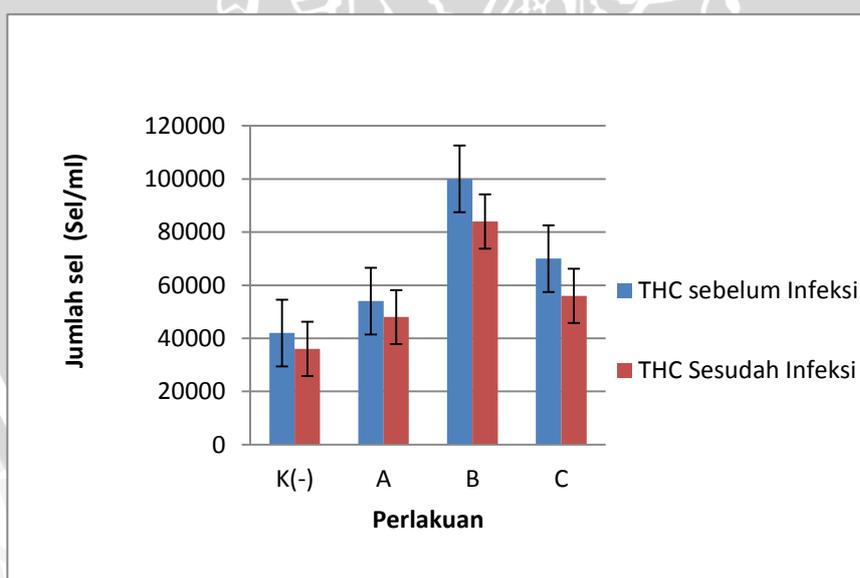
Pengamatan udang kontrol (+) dapat dijadikan perbandingan jumlah THC yang diamati yaitu sebelum dan sesudah infeksi. Udang kontrol (+) merupakan udang uji yang tidak diinfeksi virus dan diberi pakan tanpa bercampur dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa*. Perhitungan THC dilakukan untuk memeriksa status fisiologis spesies (Taylor dan Landman, 2009), termasuk juga untuk organisme akuatik udang vaname. selain itu nilai THC dapat menjadi indikator stress dalam beberapa spesies (Lorenzon *et al.*, 2001). Pada pengamatan THC yang dilakukan didapatkan hasil bahwa nilai THC udang kontrol (+) sebesar 54.000 sel/ml.

Kelimpahan hemosit yang beredar pada dasarnya dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah jenis kelamin, molting, status reproduksi dan nutrisi, ukuran, seks, dan berat badan. Selain itu pula, juga karena faktor musim. Sebagai contoh yakni spesies dari kelas krustasea lainnya, seperti udang galah (*M. rosenbergii*) menunjukkan jumlah THC tertinggi dan terendah di musim gugur dan musim dingin, masing-masing. Namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara jantan maupun betina. Sedangkan faktor ekstrinsik seperti suhu,

salinitas dan oksigen terlarut juga dilaporkan dapat mempengaruhi jumlah *THC* (*Total Haemocyte Count*) beberapa spesies dekapoda krustasea. Hasil studi pada udang *Penaeus stylirostris* pada suhu rendah sebesar 18°C terjadi penurunan yang signifikan terhadap jumlah THC sebesar 40% dibandingkan dengan udang yang dipelihara pada suhu 27°C (Sari *et al.*, 2014).

b. Pengamatan Darah Sebelum dan Sesudah Infeksi WSSV

Hasil perhitungan *Total Haemocyte Count* (THC) udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) selama perlakuan pemberian pakan bercampur ekstrak rumput laut *Gracilaria verrucosa* dimana terdapat perlakuan A (5g/kg), B (10g/kg), serta C (15g/kg) dapat dilihat pada Gambar 10, yang menunjukkan bahwa nilai THC terbanyak secara berturut-turut pada perlakuan B dosis pakan 10g/kg.



Gambar 11. Histogram THC Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Pada gambar diatas dapat dilihat bahwa nilai THC sebelum infeksi menunjukkan bahwa, pada perlakuan Kontrol (-), didapat *Total Haemocyte Count*

(THC) (Lampiran 1) dengan rata-rata 42.000 sel/ml. Perlakuan A (5g/kg) didapat THC dengan rata-rata 54.000 sel/ml, sedangkan pada perlakuan B (10g/kg) didapat THC dengan rata-rata 100.000 sel/ml, serta pada perlakuan C (15g/kg) didapatkan nilai rata rata 70.000 sel/ml. Hasil yang tinggi dipengaruhi oleh pemberian imunostimulan yaitu ekstrak *Gracilaria verrucosa* yang dapat meningkatkan imunitas udang vaname ditinjau dari THC. Le Moullac dan Haffner (2000), melaporkan bahwa udang dapat meningkatkan jumlah hemositnya untuk pertahanan tubuh. Smith *et al.* (2003), menyatakan bahwa parameter suatu senyawa dalam meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang yaitu meningkatnya jumlah hemosit. Kralovec (2003) dalam Yang *et al.* (2006) menyatakan bahwa polisakarida mempunyai kemampuan dalam menstimulasi sistem kekebalan tubuh. Peran polisakarida dalam meningkatkan sistem pertahanan tubuh dilaporkan oleh Manilal (2009) dan Jasminandar (2009), dimana polisa-karida dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang yang ditandai dengan peningkatan THC.

Pada hasil THC sesudah infeksi didapat hasil bahwa Kontrol (-) dengan rata-rata 36.000 sel/ml, perlakuan A (5g/kg) didapat THC dengan rata-rata 48.000 sel/ml, sedangkan pada perlakuan B (10g/kg) didapat THC dengan rata-rata 84.000 sel/ml, serta pada perlakuan C (15g/kg) didapatkan nilai rata rata 56.000 sel/ml. Pengamatan sesudah infeksi virus WSSV semua mengalami penurunan THC, tetapi perlakuan B mempunyai nilai yang tertinggi dibandingkan semua perlakuan. Braak *et al.* (2002) dimana THC udang yang terinfeksi menurun hingga lebih 40% jika dibandingkan dengan udang yang tidak terinfeksi virus. Lebih lanjut Zhang *et al.* (2004) menyatakan bahwa penurunan THC sering dikaitkan dengan respon yang terjadi setelah adanya infeksi. Pernyataan tersebut diperkuat dengan pendapat Lo *et al.* (2004), bahwa infeksi WSSV selalu menyebabkan perubahan parameter *haemolymph*, termasuk penurunan THC.

Penurunan THC diduga dipengaruhi oleh WSSV yang menginfeksi hemosit udang sehingga menyebabkan hilangnya keberadaan hemosit dalam *haemolymph*. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Van de Braak *et al.* (2002) bahwa penurunan THC setelah infeksi WSSV merupakan salah satu dampak dari respon hemosit atau dari infeksi yang terjadi, karena hemosit merupakan target WSSV. Saat terjadinya serangan patogen, sel hemosit akan melakukan proses degranulasi, *cytotoxicity* dan lisis terhadap material tersebut. Dengan demikian jumlah sel hemosit yang beredar dalam hemolim akan terlihat menurun. Hasil proses degranulasi adalah pelepasan *peroxinectin* yang akan memicu munculnya fagositosis (Ekawati *et al.*, 2012). Faktor lain yang diduga mempengaruhi turunnya THC setelah infeksi adalah tingkat patogenitas dan virulensi WSSV yang tinggi terhadap udang (Lo *et al.*, 2004). Diduga, hal tersebut menyebabkan THC udang vaname menjadi kurang mampu melawan infeksi WSSV sehingga menyebabkan THC menurun. Le Moullac dan Haffner (2000), melaporkan bahwa udang dapat meningkatkan jumlah hemositnya untuk pertahanan tubuh.

Dalam hal ini, diduga kemampuan senyawa aktif yang terkandung dalam *Gracilaria verrucosa* hanya dapat mempertahankan jumlah total hal ini dibuktikan dengan jumlah penurunan THC yang tidak terlalu jauh antara sebelum dan sesudah infeksi virus WSSV hasil dari pemberian imunostimulan. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Anderson (1992), bahwa dengan pemberian imunostimulan, maka status kesehatan ikan dapat lebih terjaga, sehingga dapat meningkatkan produksi melalui peningkatan ketahanan tubuh terhadap penyakit infeksi.

c Analisa Sidik Ragam THC Sebelum dan Sesudah Infeksi WSSV

Berikut merupakan tabel sidik ragam nilai THC pada udang vaname sebelum diinfeksi WSSV yang disajikan pada tabel 9.

Tabel 9. Nilai sidik Ragam THC sebelum infeksi

Sidik Ragam	Db	JK	KT	F Hit	F tabel	KK
Perlakuan	3	5.673.000.000	1.891.000.000	4.70	4.06	2.5
Galat	8	3.216.000.000	402.000.000			
Total	11	8.889.000.000				

Berdasarkan hasil pada analisa ragam (ANOVA) dari perhitungan rancangan acak lengkap didapatkan hasil nilai F hitung lebih besar dari F tabel sehingga dilanjutkan dengan Uji lanjutan yaitu uji BNT. Berdasarkan uji lanjutan menunjukkan bahwa pada perlakuan percampuran pakan dengan ekstrak pada dosis kontrol (-) tidak berbeda dengan perlakuan A maupun perlakuan C, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan B sehingga dapat disimpulkan dari hipotesis yang ada bahwa H_0 ditolak dan menerima H_1 artinya pemberian ekstrak *G. verrucosa* berpengaruh terhadap THC udang vaname (*Litopenaeus vannamei*).

Nilai THC udang sesudah infeksi mengalami penurunan dibandingkan dengan nilai THC sebelum infeksi. Berikut merupakan data hasil nilai sidik ragam THC sesudah infeksi pada tabel 10.

Tabel 10. Nilai Sidik Ragam THC Sesudah Infeksi

Sidik Ragam	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel	KK
Perlakuan	3	3.744.000.000	1.248.000.000	4.89	4.06	2.3
Galat	8	2.040.000.000	255.000.000			
Total	11	5.784.000.000				

Berdasarkan hasil pada analisa ragam (ANOVA) dari perhitungan rancangan acak lengkap, didapatkan hasil nilai F hitung lebih besar dari F tabel sehingga dilanjutkan dengan Uji lanjutan yaitu uji BNT. Berdasarkan uji lanjutan menunjukkan bahwa pada perlakuan percampuran pakan dengan ekstrak pada dosis kontrol (-) tidak berbeda dengan perlakuan A maupun perlakuan C, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan B sehingga dapat disimpulkan dari hipotesis

yang ada bahwa H_0 ditolak dan menerima H_1 artinya pemberian ekstrak *G. verrucosa* berpengaruh terhadap THC udang vaname (*Litopenaeus vannamei*).

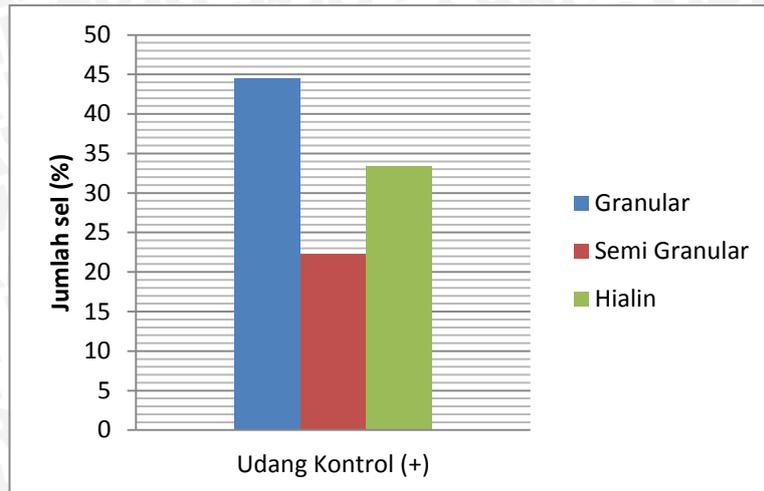
Pemberian imunostimulan yang baik harus memperhatikan dosis pemberian yang optimal, dimana dosis aplikasi pemberian imunostimulan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi peningkatan respon imun pada udang. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Couso *et al.* (2003) dalam Putri *et al.* (2013), yang menyatakan bahwa dosis pemberian imunostimulan yang tinggi dapat menekan mekanisme pertahanan, sedangkan dosis pemberian yang rendah tidak cukup atau kurang efektif untuk memberikan respon imun.

Sakai (1999), menyatakan bahwa kemampuan imunostimulan untuk meningkatkan respon imun dan mengembangkan proteksi terhadap infeksi patogen dipengaruhi oleh dosis aplikasi. Pemberian imunostimulan pada konsentrasi dibawah nilai minimal untuk terjadinya respon imun tidak akan memberikan pengaruh terhadap peningkatan jumlah hemosit. Ketepatan dosis imunostimulan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi peningkatan THC setelah pemberian *Gracilaria verrucosa*. Efek dari pemberian imunostimulan dipengaruhi oleh dosis dan waktu pemberian pakan (Bairwa *et al.*, 2012).

4.5.2 Differential Haemocyte Count (DHC)

a. Nilai DHC Udang Kontrol (+)

Data hasil pengamatan menunjukkan bahwa udang kontrol (+) memiliki jumlah rata-rata sel Granular sebesar 44.44 %, nilai sel Semi Granular sebesar 22.22 %, serta nilai Hialin sebesar 33.33 %.



Gambar 12. Data DHC udang kontrol (+)

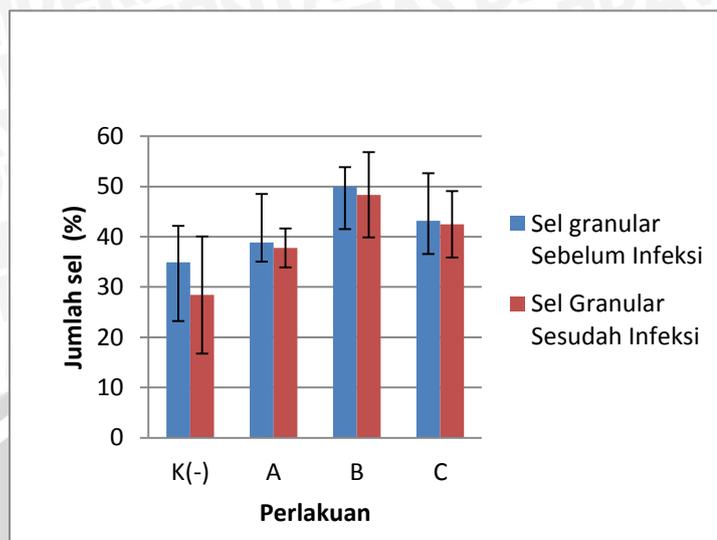
Secara umum, ada tiga jenis haemocyte berbeda pada darah udang seperti sel-sel hialin, semigranular, dan granular. Sel hialin ditandai dengan sedang tidak memiliki sitoplasma yang sebagai agranular dan memiliki ukuran terkecil di antara sel haemocyte. Sel ini dapat kehilangan partikel asing pada tubuh krustasea air melalui aktivitas fagositosis atau enkapsulasi. Sel semi granular ditandai oleh sejumlah granular kecil. Sel ini memiliki kemampuan untuk mengetahui dan merespon partikel yakin atau molekul asing dan responding polisakarida dari dinding sel bakteri atau β -glukan yang berasal dari jamur atau dikenal sebagai sel aktif dalam enkapsulasi. Namun, sel granular memiliki sejumlah besar granul dan difungsikan pada memproduksi, menyimpan, dan secreting senyawa antimikroba (Saraswati *et al.*, 2013).

Secara morfologi, hemosit dibedakan atas tiga jenis menurut ukuran dan kuantitas granulanya yaitu : hialinosit (*hyalinocyte*), granulosit (*granulocyte*) dan semi granulosit (*semi-granulocyte*) (Van de Braak *et al.*, 2000). Beberapa peneliti melaporkan bahwa sel hemosit mempunyai fungsi yang berbeda-beda sesuai dengan tipe selnya. Sel hialin berperan dalam proses fagositosis dan aktivitas seperti halnya makrofage pada ikan dan binatang berdarah panas lainnya.

Sel ini memiliki sedikit granula pada sitoplasmanya (Lio Po *et al*, 2001). Sel hialin berperan dalam proses fagositosis dan aktivitas seperti halnya makrofage pada ikan dan binatang berdarah panas lainnya. Sel ini memiliki sedikit granula pada sitoplasmanya (Lio-Po *et al*, 2001). Sel granular dan semi granular memiliki fungsi sebagai tempat penyimpanan protein antibakteri maupun enzim-enzim yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh udang. Salah satu enzim tersebut adalah enzimprotease yang tersimpan dalam keadaan tidak aktif yang disebut inactive serine proteinase (proppA). Dalam keadaan aktif, enzim protease ini berperan sebagai aktivator pembentukan enzim Phenoloksidase (PO) yang merupakan salah satu komponen penting dalam sistem imun udang (Van de Braak, 2002).

b Nilai Sel Granular Udag Vaname

Hasil pengamatan sel granular pada darah udang vaname sebelum dan sesudah infeksi didapatkan data bahwa sebelum infeksi rata-rata sel granular pada perlakuan kontrol (-) sebesar 34.92 %, perlakuan A sebesar 38.88 %, perlakuan B 50 %, perlakuan C 43.18 % sedangkan pada darah udang vaname sesudah infeksi WSSV didapatkan nilai rata-rata perlakuan kontrol (-) sebesar 28.41 %, perlakuan A sebesar 37.77 %, perlakuan B sebesar 48.33 %, serta perlakuan C sebesar 42.5 %. Sel Granular merupakan sel dengan perbandingan inti sel lebih rendah dari sitoplasma. Sel ini berfungsi dalam menyimpan dan melepaskan sistem proPO maupun sebagai sitotoksis bersama-sama dengan sel semi granular (Johansson *et al.*, 2000). Persentase sel granular berkisar 34.03 – 39.57 %.

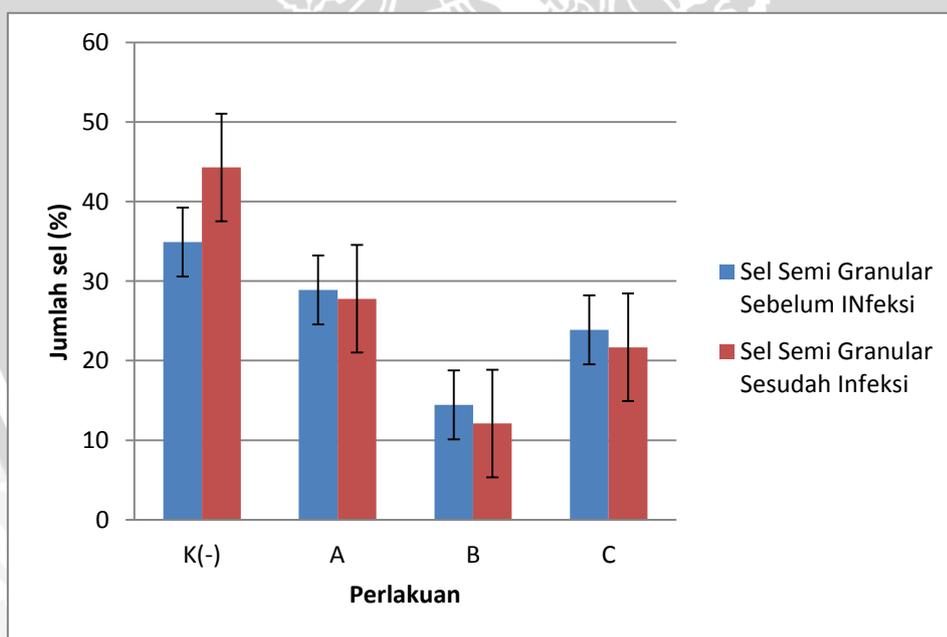


Gambar 13. Histogram DHC Sel Granular Udag vaname

Sel granular yang teramati mengalami penurunan sesudah diinfeksi dengan WSSV hal ini menunjukkan bahwa sel granular berperan dalam menjaga ketahanan tubuh udang dari serangan petogen yaitu WSSV. Fungsi sel granular lebih pada proses menghasilkan enzim phenoloksidase yang memiliki peranan penting dalam sistem pertahanan non spesifik. Supamattaya menjelaskan granula pada sel granular hemosit terdiri dari prophenoloksidase. Dalam aktivasi prophenoloksidase (proPO) akan membebaskan suatu enzim dari sel granular. Sistem ini juga dipacu oleh adanya komponen mikrobial seperti β -glucan. Proses prophenoloksidase bertanggung jawab terhadap produksi dan sekresi metabolit toksik seperti *quinon*. Produk akhir dari sistem ini adalah munculnya *blackish nodules* yang biasanya berada di sekitar insang atau eksoskeleton. Saat terjadinya serangan patogen, sel granular dan semi granular akan melakukan proses degranulasi, *cytotoxicity* dan lisis terhadap material tersebut dengan demikian jumlah sel granular yang beredar dalam hemolim akan mengalami penurunan (Ekawati *et al.*, 2012)

c Nilai Sel Semi Granular Udang Vaname

Hasil pengamatan sel semi granular pada darah udang vaname sebelum dan sesudah infeksi didapatkan data bahwa sebelum infeksi nilai rata-rata sel semi granular pada perlakuan kontrol (-) sebesar 34.92 %, perlakuan A sebesar 28.88 %, perlakuan B sebesar 14.42 %, perlakuan C sebesar 23.88 % sedangkan pada darah udang vaname sesudah infeksi WSSV didapatkan nilai rata-rata perlakuan kontrol (-) sebesar 44.28 %, perlakuan A sebesar 27.77 %, perlakuan B sebesar 12.09 %, serta perlakuan C sebesar 21.66 %. Sel semigranular merupakan sel dengan jumlah inti sel yang lebih rendah dibandingkan sitoplasmanya. Sel semigranular berperan dalam enkapsulasi, sitotoksik dan melepaskan sistem proPO (Johansson *et al.*, 2000). Persentase sel semigranular berkisar pada 23.63 – 38.73 %.



Gambar 14. Histogram DHC Sel Semi Granular Udang vaname

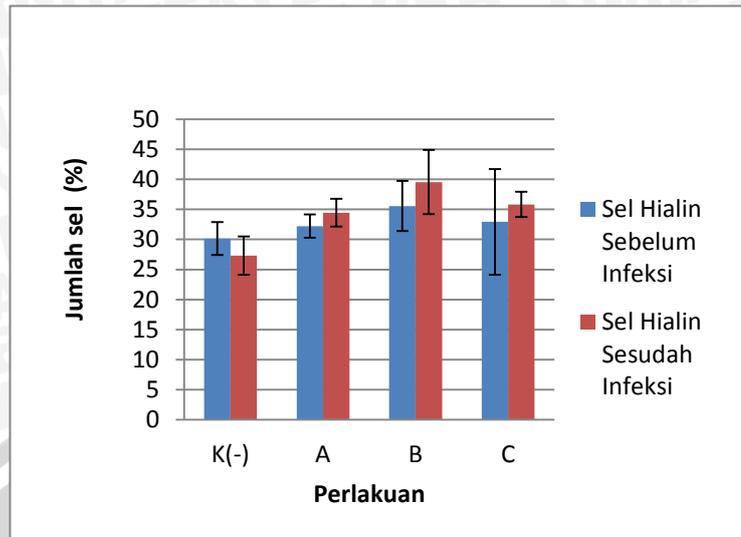
Hasil pengamatan menunjukkan sel semi granular mengalami penurunan sesudah infeksi kecuali pada perlakuan kontrol (-), hal ini berarti bahwa sel semi granular hanya sedikit berperan dalam proses ketahanan tubuh udang, karena sejatinya sel semi granular hanya pematangan dari sel hialin yang berperan



dalam proses enkapsulasi patogen diduga sel hialin berpera lebih banyak dibandingkan dengan sel semi granular sehingga jumlah sel semi granular menurun. Sel semi granular merupakan pematangan dari sel hialin yang ketika terjadi serangan patogen maka yang berperan pertama adalah sel hialin, sehingga sel ini tidak berkembang menjadi sel semi granular dan terlihat penurunan jumlah sel semi granular yang terdapat dalam hemosit Sel semi granular dikarakteristikan dengan terdapatnya granula pada sitoplasma. Sel ini mampu merespon polisakarida dari dinding sel bakteri atau β -glucan yang berasal dari jamur. Sel semi granular ini dapat melakukan proses enkapsulasi dan sedikit berperan dalam proses fagositosis. Enkapsulasi adalah merupakan reaksi pertahanan melawan partikel dalam jumlah yang besar dan tidak mampu difagosit oleh sel hemosit (Ekawati *et al.*, 2012)

d Nilai Sel Hialin Udag Vaname

Hasil pengamatan sel hialin pada darah udang vaname sebelum dan sesudah infeksi didapatkan data bahwa sebelum infeksi rata-rata sel hialin pada perlakuan kontrol (-) sebesar 30.15 %, perlakuan A sebesar 32.22 %, perlakuan B sebesar 35.57 %, perlakuan C sebesar 32.93 % sedangkan pada darah udang vaname sesudah infeksi WSSV didapatkan nilai rata-rata perlakuan kontrol (-) sebesar 27.30 %, perlakuan A sebesar 34.44 %, perlakuan B sebesar 39.56 %, serta perlakuan C sebesar 35.83 %. Sel hialin merupakan sel dengan perbandingan inti sel lebih tinggi dari sitoplasma dan memiliki sedikit granula. Sel hialin melakukan fungsi dalam imunitas sebagai fagositosis (Johansson *et al.*, 2000). Persentase sel hialin berkisar antara 27.23 – 36.90 %.



Gambar 15. Histogram DHC Sel Hialin Udang vaname

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa nilai sel hialin mengalami peningkatan setiap perlakuan kecuali perlakuan kontrol (-), hal ini menunjukkan bahwa sel hialin berperan lebih aktif dibandingkan dengan sel semi granular. Sel hialin merupakan sel utama dalam ketahanan tubuh udang, apabila udang terserang pathogen maka sel hialin yang berperan secara langsung sehingga dari total THC yang ada sel hialin akan meningkat selanjutnya akan membentuk sel semi granular.

Jasiminandar (2009), pada percobaannya melaporkan bahwa sel hialin pada udang vaname meningkat setelah diberi imunostimulan *G. verrucosa* yang mengindikasikan bahwa sel hialin bekerja dengan baik. Ekawati *et al.* (2012), menambahkan bahwa apabila terjadi serangan pathogen sel hialin merupakan Sel yang berperan lebih besar daripada sel lainnya. Sel hialin menjadi sel utama dalam proses fagositosis dan sel semi granular lebih berperan dalam proses enkapsulasi yang mengindikasikan adanya penggabungan beberapa sel hemosit untuk menghalangi partikel asing dalam peredaran darah (Soderhall and Cerenius, 1992).

4.5.3 Analisa Sidik Ragam DHC Sebelum dan Sesudah Infeksi
a. Analisa Sidik Ragam Sel Granular Sebelum Infeksi

Berikut merupakan tabel sidik ragam nilai DHC sel granular pada udang vaname sebelum diinfeksi WSSV yang disajikan pada tabel 10.

Tabel 11. Sidik Ragam Sel Granular Sebelum Infeksi

Sidik Ragam	Db	JK	KT	F Hit	F tabel (5%)	KK
Perlakuan	3	374.89	124.96	1.99	4.066181	1.5
Galat	8	500.68	62.58			
Total	11	875.58				

Berdasarkan hasil pada analisa ragam (ANOVA) dari perhitungan rancangan acak lengkap didapatkan hasil nilai F hitung lebih kecil dari F tabel sehingga tidak dilanjutkan dengan Uji lanjutan yaitu uji Bnt. Sel granular sebelum infeksi menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata pada setiap perlakuan hal ini dikarenakan jumlah sel granular pada setiap perlakuan hampir sama, tetapi pada perlakuan B didapatkan hasil tertinggi dapat disimpulkan bahwa pada perlakuan B terdapat peningkatan sistem ketahanan tubuh udang vaname. Menurut Arifudin *et al* 2004), sel granular merupakan sel-sel matang dari kedua sel yang lainnya. Peningkatan sel-sel granular dalam hemosit merupakan salah satu parameter peningkatan status kesehatan atau ketahanan tubuh udang yang tentunya tidak lepas dari peran dan fungsi dari jenis sel lain dalam hemosit.

b. Analisa Sidik Ragam Sel Semi Granular Sebelum Infeksi

Berikut merupakan tabel sidik ragam nilai DHC sel semi granular pada udang vaname sebelum diinfeksi WSSV yang disajikan pada tabel 11.

Tabel 12. Sidik Ragam Sel Semi Granular Sebelum Infeksi

Sidik Ragam	Db	JK	KT	F Hit	F tabel (5%)	KK
Perlakuan	3	676.59	225.53	6.74	4.066181	1.8
Galat	8	267.43	33.42			
Total	11	944.02				

Berdasarkan Tabel 11 dapat diketahui bahwa nilai F hitung lebih besar daripada F tabel, sehingga diteruskan ke uji BNT. Berdasarkan uji BNT didapatkan hasil bahwa perlakuan A, B dan C tidak berbeda, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan Kontrol (-) sehingga dapat disimpulkan dari hipotesis yang ada bahwa H_0 ditolak dan menerima H_1 artinya pemberian ekstrak *G. verrucosa* berpengaruh terhadap jumlah sel DHC udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Sel semi granular sebelum infeksi menunjukkan terdapat perbedaan, hal ini dikarenakan jumlah sel semi granular pada setiap perlakuan mempunyai perbedaan jumlah setiap perlakuan pada perlakuan B terdapat jumlah yang paling sedikit dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Semi granular memperlihatkan kapasitas mengenali dan merespon partikel unsur atau molekul asing atau dikenal sebagai sel aktif dan enkapsulasi (Johansson *et al.*, 2000). Sel semi granular dan granular melakukan fungsi system proPO sedangkan sel hialin melakukan fagositosis dalam imunitas krustase (Wang dan Chen, 2006).

c. Analisa Sidik Ragam Sel Hialin Sebelum Infeksi

Berikut merupakan tabel sidik ragam nilai DHC sel hialin pada udang vaname sebelum diinfeksi WSSV yang disajikan pada tabel 12.

Tabel 13. Sidik Ragam Sel Hialin Sebelum Infeksi

Sidik Ragam	Db	JK	KT	F Hit	F tabel (5%)	KK
Perlakuan	3	45.01	15	0.56	4.066181	1.8
Galat	8	212.64	26.58			
Total	11	257.65				

Berdasarkan Tabel 12 dapat diketahui bahwa nilai F hitung lebih kecil daripada F tabel, sehingga tidak diteruskan ke uji BNT. Sel hialin sebelum infeksi dapat dilihat bahwa tidak ada perbedaan, hal ini dikarenakan sel hialin pada setiap perlakuan tidak mempunyai perbedaan jumlah yang signifikan. Sel hialin

merupakan sel yang bertanggungjawab terhadap serangan pathogen yang pertama kali. Ermantianingrum *et al.* (2013), menyatakan bahwa sel hialin merupakan sel utama yang berperan terhadap serangan pathogen.

d. Analisa Sidik Ragam Sel Granular Sesudah Infeksi

Berikut merupakan tabel sidik ragam nilai DHC sel granular pada udang vaname sesudah infeksi diinfeksi WSSV yang disajikan pada tabel 13.

Tabel 14. Sidik Ragam Sel Granular Sesudah Infeksi

Sidik Ragam	Db	JK	KT	F Hit	F tabel (5%)	KK
Perlakuan	3	636.93	212.31	3.17	4.066181	1.7
Galat	8	534.32	66.79			
Total	11	1.171.25				

Berdasarkan hasil pada analisa ragam (ANOVA) dari perhitungan rancangan acak lengkap didapatkan hasil nilai F hitung lebih kecil dari F tabel sehingga tidak dilanjutkan dengan Uji lanjutan yaitu uji BNt. Sel granular pada udang vanamae sesudah infeksi didapatkan hasil tidak berbeda nyata dikarenakan jumlah pafda setiap perlakuan yang nilainya tidak berbeda jauh, akan tetapi pada setiap perlakuan mengalami penurunan akibat infeksi WSSV. Fungsi lain dari sel hemosit dalam sistem pertahanan tubuh yaitu berperan dalam pengaktifan sistem proPO yang dilakukan oleh sel semi granular dan sel granular (Andrade, 2011). Pengaktifan sistem proPO ini merupakan salah satu asepek penting dalam sistem pertahanan tubuh udang. Sritunyalucksana dan Soderhall (2000), menyatakan bahwa proPO mempunyai peran penting dalam respon imun krustasea yang sering disertai dengan adanya proses melanisasi. Begitu pula dengan Das dan Sethi (2009), yang mengungkapkan bahwa PO yang diaktifkan oleh proPO bertindak sebagai sistem pengenalan utama dan jalur pertahanan pada krustasea.

e. **Analisa Sidik Ragam Sel Semi Granular Sesudah Infeksi**

Berikut merupakan tabel sidik ragam nilai DHC sel Semi granular pada udang vaname sesudah infeksi diinfeksi WSSV yang disajikan pada tabel 14.

Tabel 15. Sidik Ragam Sel Semi Granular Sesudah Infeksi

Sidik Ragam	Db	JK	KT	F Hit	F tabel (5%)	KK
Perlakuan	3	1.646.34	548.78	22.12	4.066181	1.5
Galat	8	198.34	24.80			
Total	11	1.844.79				

Berdasarkan hasil pada analisa ragam (ANOVA) dari perhitungan rancangan acak lengkap didapatkan hasil nilai F hitung lebih besar dari F tabel sehingga dilanjutkan dengan Uji lanjutan yaitu uji Bnt. Berdasarkan uji lanjutan menunjukkan bahwa pada hasil analisa sel semi granular perlakuan A, B dan C tidak berbed, akan tetapi perlakuan A, B dan c berbeda dengan perlakuan kontrol (-) sehingga dapat disimpulkan dari hipotesis yang ada bahwa H_0 ditolak dan menerima H_1 artinya pemberian ekstrak *G. verrucosa* berpengaruh terhadap jumlah sel DHC udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Sel granular sesudah infeksi menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada setiap perlakuan, sel semi granular membantu proses enkapsulasi pathogen. Sel semi granular memiliki sejumlah granul kecil. Sel ini bertanggung jawab untuk mengenal dan merespon molekul asing atau bakteri patogen yang masuk ke dalam tubuh krustasea (Söderhäll dan Cerenius, 1992).

f. **Analisa Sidik Ragam Sel Hialin Sesudah Infeksi**

Berikut merupakan tabel sidik ragam nilai DHC sel Semi hialin pada udang vaname sesudah infeksi diinfeksi WSSV yang disajikan pada tabel 15.

Tabel 16. Sidik Ragam Sel Semi Hialin Sesudah Infeksi

Sidik Ragam	Db	JK	KT	F Hit	F tabel (5%)	KK
Perlakuan	3	237.22	79.07	2.10	4.066181	1.4
Galat	8	300.27	37.53			
Total	11	537.49				

Berdasarkan hasil pada analisa ragam (ANOVA) dari perhitungan rancangan acak lengkap didapatkan hasil nilai F hitung lebih kecil dari F tabel sehingga tidak dilanjutkan dengan Uji lanjutan yaitu uji BNT. Jumlah sel semi granular terutama granular lebih tinggi disbanding sel hialin, peningkatan granular secara drastis terjadi karena produksi haemocyte yang dilakukan melalui proses mitosis oleh jaringan haematopoetic. Proses mitosis tersebut akan dilakukan secara cepat untuk mencapai keadaan homeostasis pasca introduksi β -Glukan. Penurunan jumlah granular berhubungan erat dengan respon terhadap β -Glukan terutama pada saat degranulasi, cytotoxicity dan lisis, dimana akan diproduksi peroxinectin oleh granular. Material ini akan melakukan stimulasi terhadap hialin dan yang akan timbul sebagai respon dari material tersebut adalah phagocytosis. (Johansson *dkk.*, 2000 ; Rodriguez dan Le Moullac., 2000 *dalam* Ammas, 2013).

Perubahan lingkungan yang terjadi terus menerus di luar batas kemampuan udang untuk beradaptasi akan menurunkan fungsi system kekebalan tubuh. Hal ini terjadi karena stres merupakan faktor penekan (*immunosuppression*) terhadap aktifitas sistem kekebalan tubuh dan menyebabkan penurunan jumlah sirkulasi haemosit serta aktifitas fagositosis dan Phenol Oksidase (PO) (Le Moullac *et al.*, 2000; Almendras, 2001 *dalam* Ammas, 2013). Untuk krustase warna haemolim merupakan salah satu factor dalam penentuan status kesehatan (Song *et al.*, 2003). Selain haemolimf, komposisi dan jumlah haemosit merupakan salah satu indikator status kesehatan krustase. Penurunan jumlah haemocyte dapat terjadi melalui degranulasi sel semigranular dan granular.

4.6 **Survival Rate (SR)**

Tingkat kelulushidupan atau *Survival Rate* (SR) udang vaname selama penelitian terbesar pada perlakuan B yaitu 33.33 % dari jumlah semua perlakuan 45 dan setelah diuji tantang WSSV smenyisakan 15 ekor, diikuti dengan perlakuan C sebesar 26.267 % dari jumlah semua perlakuan 45 dan setelah diuji tantang WSSV smenyisakan 12 ekor , kemudian perlakuan A sebesar 20 % dari jumlah semua perlakuan 45 dan setelah diuji tantang WSSV smenyisakan 9 ekor dan perlakuan Kontrol (-) sebesar 6.67 % dari jumlah semua perlakuan 45 dan setelah diuji tantang WSSV smenyisakan 3 ekor.

Survival rate berkaitan dengan kelimpahan THC pada udang karena dengan niali SR yang tinggi diduga udang mempunyai respon Imun yang tinggi begitu pun sebaliknya, hal ini didasarkan pada system imun udang vaname yang bersifat non spesifik. Kenaikan THC diduga akan meningkatkan kemampuan sistem imun dan juga diasumsikan sebagai bentuk dari peningkatan respon imun seluer tubuh udang (Van de Braak, 2002). Tidak seperti hewan vertebrata yang memiliki sel memori dan memiliki antibody spesifik. Pertahanan pertama udang terhadap infeksi dilakukan oleh hemosit melalui fagositosis, enkapsulasi dan formasi nodul (Selvin *et al.*, 2000).

5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan bahwa:

- a. Ekstrak *Gracilaria verrucosa* dapat meningkatkan jumlah THC sebelum diinfeksi virus WSSV dibandingkan dengan perlakuan kontrol (+), tetapi menurun setelah diinfeksi WSSV hal ini diperkuat dengan Uji F pada analisa ragam THC yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan nilai F hitung $>$ F Tabel (selang kepercayaan 5 %), maka dapat diartikan bahwa H_0 ditolak dan menerima H_1 .
- b. Pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* melalui pakan didapatkan bahwa dosis 10g/kg adalah dosis terbaik atau perlakuan B. hal ini didukung dengan hasil peningkatan nilai THC dan DHC tertinggi dari semua perlakuan, sementara itu uji F menunjukkan bahwa perlakuan B berbeda signifikan pada selang kepercayaan 5 %, sehingga membuktikan bahwa perlakuan B yang terbaik.

5.2 Saran

Salah satu kegiatan u=budidaya adalah manajemen penyakit pada penelitian ini menunjukkan bahwa *Gracilaria verrucosa* efektif digunakan sbegai imunostimulan maka perlu diaplikasikan segera untuk menekan kerugian karena WSSV dan perlu adanya kajian lebih lanjut tentang kandungan senyawa aktif *G. verrucosa* sehingga dapat diaplikasikan selain menjadi imunostimulan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, T., E. Ratnawati, M. Jamil, Jakob. 1988. *Budidaya Bandeng Secara Intensif*. Penebar Swadaya. Jakarta. 78 hlm.
- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. ITB press : Bandung.
- Alianto, Enan M. Adiwilaga, Ario Damar, dan Enang Harris. 2009. Pengukuran Nutrien Inorganik Terlarut Di Zona Eufotik Perairan Teluk Banten. *Indo. J. Chem.* : 9 (2), 217 – 225
- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulasi Pada Hewan Akuatik. FPIK IPB : Bogor. *Akuakultur Indonesia*. 1(2) : 87-92
- Amalia, D. R. N. 2013. Efek Temperatur Terhadap Pertumbuhan *Gracilaria Verrucosa*. *Skripsi*. UNEJ
- Ammas, S. 2013. Analisis Peningkatan Haemosit Post Larva Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei* Linnaeus) Pasca Perendaman Ekstrak Ragi Roti (*Saccharomyces cerevisiae*) Pada Konsentrasi Berbeda Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*. *Pasca Sarjana Unhas*. Makassar.
- Amri, K dan I. Kanna. 2008. *Budidaya Udang Vanname Secara Intensif*. Agromeda Pustaka: Jakarta.
- Amrillah, A.A., Widyarti, S., Kilawati, Y. 2015. *Dampak Stres Salinitas Terhadap Prevalensi White Spot Syndrome Virus (WSSV) dan Survival Rate Udang Vaname (Litopenaeus vannamei) pada Kondisi Terkontrol*. Fmipa : UB. *Research Journal Of Life Science*. 2 (1) : 34-47
- Anderson, D.P. 1992. Immunostimulant, adjuvant and vaccine carrier in fish: Applications to aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases*. 21: 281-307.
- Andrade, A.J. 2011. Shrimp Immunological Reactions Against WSSV: Role of Haemocytes on WSSV Fate. [Thesis]. Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University.
- Anshary, H dan Sriwulan. 2009. Deteksi White Spot Syndrome Virus (WSSV) Dan Monodon Baculo Virus (Mbv) Secara Simultan Pada Induk Udang Windu (*Penaeus monodon*) Dari Perairan Makassar Dan Sekitarnya dengan Teknik Duplex PCR. Fpik Unhas : Makassar.
- Arief,Dharma. 1984. Pengukuran Salinitas Air Laut Dan Peranannya Dalam Ilmu Kelautan. *Oseana*, Volume IX, No1 : 3-10
- Arifin. Z, Andrat. K dan Subiyanto. 2005. Teknik Produksi Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Secara Sederhana.

- Arifudin, Sukenda, dan Dana, D. 2004. Pengaruh Bahan Aktif Hidrokuinon dari Buah *Sonneratia Caseolaris* Terhadap Parameter Hemolimph Udang Windu, *Penaeus Monodon* Fab. yang Diinfeksi Secara Buatan dengan *Vibrio Harveyi*. *IPB Bogor. Akukultur Indonesia*. 3(1): 23-28
- Ariyanti, D dan Nurcahyani, I. 2012. Studi Karakteristik Biopolimer *Gracilaria Verrucosa* Sebagai Bahan Penjerap. Undip. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. Vol. 10 (2) : 85-88
- Astarina, N. W. G., Astuti, K. W., Warditiani, N. K. 2013. SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK METANOL RIMPANG BANGLE (*Zingiber purpureum* Roxb.). FMIPA : UDAYANA.
- Bairwa, M.K, J.K Jakhar, Y Satyanarayana, and A.D Reddy. 2012. Animal and Plant Originated Immunostimulants Used in Aquaculture. *J. Natural Product and Plant Resource*, 2(3):397-400.
- Baratawidjaja, K.G. 2006. *Imunologi Dasar*. 7th ed. Balai Penerbit FKUI. Jakarta.
- Bold, H.C. and Wynne, M.J., 1978, *Introduction to The Algae*, Prentinne, Hall, Incn EngewoodCliffs, New Jersey.
- Bray, W.A., Lawrence, A.L., and LeungTrujillo, J.R. 1994. The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observations on the interaction of IHHN virus and salinity. *Aquaculture* 122: 133-146.
- Briggs, M., S. F Smith, R. Subasinghe dan M. Philip. 2004. *Introductions And Movement Of *Panaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* In Asia And The Pacific*. Food Agriculture Organization Of The United Nations, Regional Office For Asia And The Pacific. Bangkok. Thailand
- BSN. 2005. *Air dan Air Limbah – Bagian 23. Cara Uji Suhu dengan Termometer*. BSN : Jakarta
- Buwono ID. 1993 *Tambak Udang Windu; Sistem Pengelolaan Berpola Intensif*. Kanisius, Yogyakarta. 151 hal.
- Castro, R. I. Zarrab, & J. Lamas. 2006, *Water-soluble Seaweed Extracts Modulate the *Pantoea agglomerans* lipopolysaccharide (LPS)*. *Fish Shellfish Immunol*, 10: 555–558.
- Chang, C.F, Su, M.S, Chen, H.Y,. 1999. A Rapid Method to Quantify Tota Haemocyte Count of *Penaeus monodon* Using ATP Analysis. *Fish Patology*. 34: 211-121.
- Clifford HC. 1998. Management of ponds stocked with Blue Shrimp *Litopenaeus stylirostris*. In Print, *Proceedings of the 1st Latin American Congress on Shrimp Culture*, Panama City, Panama, 101- 109 p.
- Darmawan, D. 2013. *Metode Penelitian Kuantitatif*. Cetakan 1. Remaja Rosdakarya : Bandung.

- Darmono, 1993. *Budidaya Udang Penaeus*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- Das, B.K and S.N Sethi. 2009. *Immune Functions in Crustaceans. Application of Molecular and Serological Tools in Fish Disease Diagnosis (CIFA)*. Orisaa, India.
- Dawes, C.J., 1981. *Marine Botany*. John Wiley Dawson University of South Florida New York.
- Dinas Perikanan. 1997. *Pengelolaan Air pada Budidaya Udang*. Bagian Proyek Pembinaan Perikanan. Semarang. Hlm : 4-14.
- Direkbusarakom, S. and Y. Danayadol. 1998. Effect of Oxygen Depletion on Some Parameters of the Immune system in black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). In Flegel TW (ed) *Advances in Shrimp Biotechnology*. National Centre for Genetic Engeneering and Biotechnology, Bangkok
- Direktorat Pembudidayaan, Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan (1990). *Petunjuk Teknis Budidaya Rumput Laut*. Direktorat Pembudidayaan, Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan.
- Djajali dan P. Muljono. 2008. *Pengukuran dalam Bidang Pendidikan*. Grasindo : Jakarta.
- Dugger, D.M. and Jory, D.E. 1999. Biomodulation of the non-specific immune response in marine shrimp with beta-glucan. *Aquaculture Magazine*. 25 (1): 81– 89
- Ekawati, A. W., Nursyam, H., Wijayanto, E., Marsoedi. 2012. Diatome Chaetoceros dalam Formula Pakan Meningkatkan Respon Imun Seluler Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) FPIK : UB.
- Elovaara AK. 2001. *Shrimp farming manual: practical technology for intensive shrimp production*. Caribbean Press, LTD, USA.
- Era, S. Y., Eka, L., Wijaya, I.N.K. 2012. Pengaruh Variasi Fase Gerak Aseton-Diklomeratana : Metanol Asam Asetat Terhadap % Distribusi (+) –Katekin dari Gambir dengan Metode Kromatografi Cair Vakum. FMIPA : Univ, Udayana
- Ermantianingrum, A. A., Sari, R., Prayitno, S. B. 2013. Potensi *Chlorella* sp. Sebagai Imunostimulan untuk Pencegahan Penyakit Bercak Putih (White Spot Syndrome Virus) pada Udang Windu (*Penaeus monodon*). FPIK : UNDIP. *Aquaculture Management and Technology*. 1 (1) : 206-221.
- Febriko S.D, Suriawan. A, Sofiati, Rahman, M. A. 2008. Peningkatan Produksi Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* Di Tambak Dengan Penambahan Pupuk. BBPAP Situbondo.
- Feriza, D. 2010. Prospek Pemberian Imunoglobulin Y (Igy) Secara Peroral Pada Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*) Sebagai Imunisasi Pasif Terhadap

Penyakit White Spot Syndrome Virus (WSSV). Tesis. Sekolah Pascasarjana. IPB : Bogor

Fontaine, C. T. and Lightner, D.V. 1974. Observation on Phagocytosis and Elimination of Carmine Particle Injected into the Abdominal Musculature of the White Shrimp. *J. Invertebrate Pathology*. 5: 11-40.

Gagnaire, B. H. Frouin, K. Moreau, H. Thomas-Guyon, T. Renault. 2006. Effect of temperature and salinity on haemocyte activities of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Fish & Shellfish Immunology*. 20 547.–(4): 536

Googleimage. 2016. Udang Vaname. <https://www.google.co.id/> (diakses pada tanggal 16 Ferbruari 2016, pukul 08:15 WIB)

Gritter, R. J. Bobbit, J. M. Schwatting. 1985. Introduction of chromatography. Penerjemah: Kosasih Pamawinata. 1992. Pengantar Kromatografi. Edisi ke-3. Bandung. Penerbit ITB. Hal:36-39.

Guanzon, N.G.Jr., 2003. *Seaweed Biology and Ecology*. Lecture Note. Responsible Aquaculture Development Training Programe. Aquaculture Department. SEAFDEC. Tingbauan. Iloilo. Philipines.

Guenther, E. 1987. Minyak Astiri Jilid 1. UI Press : Jakarta

Gunalan, B., Soundarapandian, P., Dinakaran, G.K., 2010. The effect of temperature and pH on WSSV infection in cultured marine shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius). *Middle East J. Sci. Res*. 5, 28–33.

Haliman, R.W., dan D. Adijaya S. 2005. Udang vaname Pembudidayaan dan Prospek Pasar Udang Putih yang Tahan Penyakit. Penebar Swadaya. Jakarta. 75 hal.

Handaryono, P. S Dan Faqih, A. R. 2013. Teknik Pembesaran Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) dengan Udang Vannamei (*Litopenaeus Vannamei*) Secara Polikultur Tradisional di UPT PBAP Bangil Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. Bp Fpik Ub : Malang.

Harefa, F., 1996. Pembudidayaan Artemia Untuk Pakan Udang dan Ikan. PT. Penebar Swadaya, Jakarta

Hartinah. 2012. Respon Fisiologi Juvenil Udang windu, enaeus monodon, Fabricius, pada Bobot dan Densitas Pemeliharaan yang Berbeda. *Disertasi*. Universitas Hasanuddin, Makassar.

_____, A.Tahir, D.D. Trijuno dan M.I.Djawad. 2013. Respon Selluler Juvenil Udang windu, *Penaeus monodon*, Fabricius pada densitas pemeliharaan yang berbeda dalam wadah terkontrol. *Jurnal Ilmiah Lutjanus POLITANI Pangkep*. Volume 18 nomor 2, Tahun 2013, ISSN 0853-7658.

_____, Senung, L.P.L., Hamal, R. 2014. Performa Jumlah Dan Diferensiasi Sel Haemocyte Juvenil Udang Windu (*Penaeus Monodon* Fabr.) Pada

Pemeliharaan Dengan Tingkat Teknologi Budidaya Yang Berbeda.
Politeknik Negeri Pangkep.

Hendrajat, E. A, Pantjara, B. Mangampa, M. 2010. Polikultur Udang Vaname (*Litopenneues vannamei*) dan Rumput Laut (*Gracilaria verrucosa*). Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau. Sulsel

Indraswati, V. O, Supono, Saefulloh, A. 2014. Suplementasi Minyak Ikan Untuk Peningkatan Imunitas Non Spesifik Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Budidaya Perairan, UNILA : Lampung. *AQUASAINS*.

Irvine, D. E. G. and Price. J. H., 1978. Modern Approaches to The Taxonomy of Red and Brown Algae. Academic Press, London.

Jaedun, A. 2011. Metodologi Penelitian Eksperimen. FT UNY : Jogjakarta.

Jasmanindar, Y. 2009. Penggunaan Ekstrak *Gracilaria verrucosa* untuk Meningkatkan Sistem Ketahanan Udang *Litopenaeus vannamei*. Tesis. IPB : Bogor

Johansson M, Keyser P, Sritunyalucksana K, Soderhall K. 2000. Crustacean haemocytes and haemotopoiesis. *Aquaculture* 191 : 45- 52

Johny, F. Roza, D. K. Mahardika. Zafran & A. Prijono. 2005. Penggunaan Immunostimulan Untuk Meningkatkan Kekebalan Nonspesifik Benih Ikan kerapu Lumpur, *Epinephelus coiodes* Terhadap infeksi Virus irido. *Jurnal*

Juwitanti, E., C. Ain dan P. Soedarsono. 2013. Kandungan Nitrat Dan Fosfat Air Pada Proses Pembusukan Eceng Gondok (*Eichhornia sp.*) (Skala Laboratorium). *Journal of Maquares*. 2 (4) : 46-52

Kajita, Y.M. Sakai, S.D. Atsuta, dan M. Kobayashi. 1990. *The Immunomodulatory Effects of Levamisole on Rainbow Trout Onchorhyncus Mykiss*. *Fish Pathol.* 25: 93-98.

Kartika, H., F. Satoshi, O. Hideki And K. Hiroshi. 1999. Isolation And Characterisation of A Fourth Hemagglutinin From The Red Alga, *Gracilaria verrucosa* From Japan. *Journal Of Applied Phycology* 11: 49-56.

Kilawati, Y. Maimunah, Y. 2014. *Kualitas Lingkungan Tambak Intensif Litopenaeus vannamei Dalam Kaitannya Dengan Prevalensi Penyakit White Spot Syndrome Virus*. FPIK Unibraw : Malang. *Journal Of Life Science*. VOI 01 NO. 02 (127-136)

Kordi K. G. M. H, dan Tancung A, B. 2010. Pengelolaan Kualitas Air dalam Budidaya Perairan. Rineka Cipta : Jakarta

Lee, M. H. and S. Y Shiau. 2004. Vitamin E Requirements of Juvenile Grass Shrimp, *P. monodon* and Effects on Nonspecific Immune Responses, *Fish & Shellfish Immunology*. 16:475 – 485

- Le Moullac, G. And Haffner, P. 2000. Enviromental Factors Affecting Immune Responses in Crustacea. *Aquaculture* 191 : 121 – 131
- Lio-Po, G.D, R.L Celia and R.C.L. Erlinda. 2001. Health management in aquaculture. *Aquaculture Department.Southeast Asian Fisheries Development Center. Philippines.*
- Lin YC, Chen JC. 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* boone juveniles at different salinity levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.* Elsevier Science Ltd. ISSN 0022-0981.259 (1) : 109 – 119
- Lo, C.F, J.L Wu, Y.S Chang, H.C Wang, J.M Tsai and G.H Kou. 2004. Molecular Characterization and Pathogenicity of White Spot Syndrome Virus. In: Leung, K.Y (ed.). *Current Trends in the Study of Bacterial and Viral Fish and Shrimp Disease.* World Scientific Publishing, Singapura
- Lorenzon, S., M. Francese, V. J. Smith and E. A. Ferrero. 2001. Heavy metals affect the circulating haemocyte number in the shrimp *Palaemon*
- Manilal, A., S. Sujith, J. Selvin, G.S Kiran, and C. Shakir. 2009. In vivo Antiviral Activity of Polysaccharide from the Indian Green Alga, *Acrosiphonia orientalis* (J. Agardh): Potential Implication in Shrimp Disease Management. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 1(4):278-282.
- Manoppo, H. 2011. Peran Nukleotida Sebagai Imunostimulan Terhadap Respon Imun Nonspesifik Dan Resistensi Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*). *TESIS.* Sekolah Pascasarjana. IPB : Bogor.
- Mardiyah. U, Fasya. G. A, Fauziyah. B, Amalia. A. 2014. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Euचेuma Spinosum* dari Perairan Banyuwangi. Jurusan Kimia. Uin Maulana Malik Ibrahim : Malang. *Alchemy*, Vol. 3 No. 1 Hal 39 – 46
- Mattjik, A. A dan Sumertajaya, I. M. 2011. Sidik Peubah Ganda dengan Menggunakan SAS. *Statistika IPB : Bogor.*
- Mukhriyani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa akif. UIN Alauddin : Makassar. *Jurnal Kesehatan.* Vol VII. No. 2 (361-367)
- Naidu As. 2000. *Natural Food Antimicrobial System.* Crc Press. P 417-427.
- Nazir, M. 2014. *Metode Penelitian.* Ghalia Indonesia : Bogor.
- Nuhan. 2009. Pengaruh Prosentase Pemberian Pakan Terhadap Kelangsungan Hidup Dan Laju Pertumbuhan Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*). FPIK Hangtuh : Surabaya. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* Vol. 1, No. 2,

- Pangaribuan, M., Pribadi, T. A., dan Indriyanti, D. R. 2012. Uji Ekstrak Daun Sirsak Terhadap Mortalitas Ektoparasit Benih Udang *Penaeus Monodon*. Unnes. Unnes J. Life sci. (1)
- Pebrianto, C. A. 2009. Potensi *Trichoderma sp.* Sebagai Bahan Antibakterial dan Immunostimulan Pada Udang Vaname, (*Litopenaeus vannamei*). IPB : Bogor
- Prabowo, D. 2010. Pengukuran Nilai Konstanta Dielektrik Padat dengan Alat Microwave Test Bench. Tesis. FMIPA : UI
- Prajitno, A. 2008. Virus Penyakit Ikan/Udang: Virus. Penerbit Universitas Negeri Malang: Malang. 106 Hlm.
- Prawira, A. M. 2014. Penggantian Tepung Ikan dengan Tepung Kepala Lele dalam Pakan terhadap Efisiensi Pemanfaatan Pakan dan Pertumbuhan Juvenil Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Journal of Aquaculture Management and Technology. 3 (4) : 1-8.
- Putri, F. M., Sarjito, dan Suminto. 2013. Pengaruh Penambahan *Spirulina sp.* dalam Pakan Buatan Terhadap Jumlah Total Hemosit dan Aktivitas Fagositosis Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). FPIK. UNDIP. Aquaculture Management and Technology. No.1 Vol.2 : 102-112
- Puspasari, N. 2010. Efektivitas Ekstrak Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* Sebagai Immunostimulan Untuk Pencegahan Infeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Pada Ikan Lele Dumbo *Clarias Sp.* Skripsi. IPB : Bogor
- Rahma, H. N, Slamet B. P, Alfabetian Harjuno Condro Haditomo. 2014. Infeksi white spot syndrom virus (WSSV) pada udang windu (*Penaeus monodon fabr.*) yang dipelihara pada salinitas media yang berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. Volume 3, Nomor 3, Tahun 2014, Halaman 25-34.
- Raa, J. 2001. The Mode of Action and Use of Immunostimulants in Fish and Shellfish Farming. In: Coimbra, J (ed.). Proceedings of the NATO Advanced Research Workshop on Modern Aquaculture in the Coastal Zone : Lesson and Opportunities
- Raj, P.R. & Raj, P.J.S. 1982. Effect of salinity on growth and survival of three species of penaeid prawns. Proc. Symp. Coastal Aquaculture, I: 236–243.
- Ratcliffe NA. 1985. Avertebrata immunity-a primer for the specialist. Immunology letters 10:253-270.
- Ridlo, A dan Pramesti, R. 2009. Aplikasi Ekstrak Rumput Laut Sebagai Agen Immunostimulan Sistem Pertahanan Non Spesifik Pada Udang (*Litopenaeus vannamei*). FPIK UNDIP. ILMU KELAUTAN. Vol. 14 (3): 133-137

- Rohyani, I. S. Ariyani, E dan Suropto. 2015. Kandungan Fitokimia Beberapa Jenis Tumbuhan Lokal yang Sering Dimanfaatkan Sebagai Bahan Baku Obat di Puaa Lombok. FMIPA : UNRAM. *Prosiding Bidiv Indo*. 1:(2): 388-391.
- Rosihan, R. 2015. *Efikasi Ekstrak Lengkuas pada Mikroba Indigenous Buah Salak (Salaca edulis Reinw)*. Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah : Jakarta.
- Rukyani, 2000. Masalah penyakit udang dan harapan solusinya. Sarasehan Akuakultur Nasional. Bogor.
- Sahoo, A.K., Patil, P., Shakar, K.M., 2005. White spots? A loaded question for shrimp farmers. *Curr. Sci*. 88, 1914–1917.
- Sakai, M. 1999. Current Research Status of Fish immunostimulants. *Aquaculture* 172 : 63 – 92
- Samad, M. S. F. 2010. Pengaruh Senyawa Fenolik Ubur-Ubur (*Aureia* sp) Terhadap Hematologi Dan Aktivitas Fagositosis Ikan Mas (*Ciprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Tesis. Fpik: Ub. 109 Hal.
- Samocha TM, Lawrence DL, Bray WA. 1993. Design and operation of an intensive nursery raceway system for penaeid shrimp. James P. McVey (ed) CRC Hand Book of Mariculture 2nd edition Vol 1 . *Crustacean Aquaculture. Fishery Biologist*. National Sea Grant College Program Silver Spring, Maryland. pp113-210.
- Saraswati, E., Prayitno, A., Yanuhar, U., Abadi, A.L. 2013. Immune Response of White Shrimp *Litopenaeus vannamei* that Injected with the Extract of *Diatomae Chaetoceros ceratosporum*. *FPIK : UB*.
- Sari, A. H. W. 2014. Efek Konsentrasi Sublethal Fenol Terhadap *Total Haemocyte Count* (THC) dan Histologi Insang Kepiting Bakau (*Scylla serata*). *Life Science*. Vol. 2 No. 2, : 82-89. ISSN. 2087-2852
- Selvin J., Huxleya A.J., and Lipton A.P. 2004. Immunomodulatory Potential of Marine Secondary Metabolites Against Bacterial Diseases of Shrimp, *Aquaculture* 230: 241– 248
- Smith V J., J H. Brown, and C. Hauton , 2003. *Immunostimulation in Crustaceans: Does it Really Protect Against Infection*. *Fish & Shellfish Immunology* 15 : 71–90
- Söderhäll K., and L. Cerenius. 1992. Crustacean immunity. *Annual. Rev. of Fish Diseases*. p 3-23
- Soegiarto, A., Sulistijo, Atmadja, W.S., Mubarak, H. 1978. Rumput Laut (Algae) Manfaat, Potensi dan Usaha Budidayanya. LON-LIPI, Jakarta.
- Soetomo MHA. 2002. *Teknik Budidaya Udang Windu*. Penerbit Sinar Baru Algensindo. Bandung
- Suhaemi, Z. 2011. Metode Penelitian dan Rancangan Percobaan. FP Universitas Taman Siswa : Padang.

- Sudarmadji S, B. Haryono, dan suhardi. 1989. Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian. `Yogyakarta : Liberty : 171 halm.
- Sulistyowati, D. 2009. Efek Diet Rumput Laut *Eucheuma Sp.* Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar yang Disuntik Aloksan. *Skripsi.* UNDIP : Semarang.
- Suprpto. 2005. Petunjuk teknis budidaya udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). CV Biotirta. Bandar Lampung. 25 hal.
- Surakhmad, W. 1985. Pengantar Penelitian Ilmiah. Penerbit Tarsito : Bandung.
- Susanti, D, A. Ardiana D. Gumlar. P. G. bening G. P. 2012. Polaritas Pelarut Sebagai Pertimbangan Dalam Pemilihan Pelarut Untuk Ekstraksi Minyak Bekatul Dari Bekatul Varietas Ketan (*Oriza Sativa Glatinosa*). UNS : Surakarta.
- Suwoyo, H. S. 2009. Tingkat Konsumsi Oksigen Sedimen pada Dasar Tambak Intensif Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Thesis.* IPB : Bogor
- Syahailatua, D.Y. 2009. Seleksi Bakteri Probiotik sebagai Stimulator Sistem Imun pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Thesis.* Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Tampangalo, B.R., Pakidi, C.S., Rantetondok, A. 2012. RESPON IMUN UDANG WINDU (*Penaeus monodon*) YANG DIPAPAR BAKTERI *Vibrio harveyi*. Prosiding Insinas.
- Tizard, I. 1982. Vateriaary Immunology. An Introduction. Third Ed. W. B. Saunders co Masduki Partodirejo, Penerjemah. 1988. Airlangga Universiti Press. Surabaya. 90 hlm.
- Taylor, S., and M. J. Landman. 2009. Flow cytometric characterization of freshwater crayfish haemocytes for the examination of physiological status in wild and captive animal. *Journal of Aquatic Animal Health*, 21 (1) : 195 – 203
- Thompson, E. B. 1985. Drug Bioscreening. America: Graceway Publishing Company, Inc. Pp. 40, 118.
- Van de Braak, C.B.T., M.H.A. Botterblom, E.A. Huisman, J.H.W.M. Rombout, W.P. W. Van der Knaap. 2002. Preliminary Study on Haemocyte Response to White Spot Syndrome Virus Infection in Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon*. *Disease of Aquatic Organism*, 51(2):149–155.
- Wahjuningrum, D, Sholeh, H., Nuryati, S. 2006. Pencegahan Infeksi Virus White Spot Syndrome Virus (WSSV) dengan Cairan Ekstrak Pohon Mangrove (CEPM) *Avicennia Sp.* Dan *Sonneratia Sp.* IPB : Bogor. *Akuakultur Indonesia*. 5 (1) : 65-75.

Widiastuti, H.N. 2003. Uji aktivitas metabolit sekunder dari rumput laut *Halimeda macroloba* sebagai senyawa bioaktif antijamur *Candida albicans* dan *Torula histolutica*. *Ilmu Kelautan*,₈(2): 114-118.

Winarno, F. G., S. Fardiaz dan D. Fardiaz. 1990. *Pengantar Teknologi Pangan*. PT. Gramedia Jakarta.

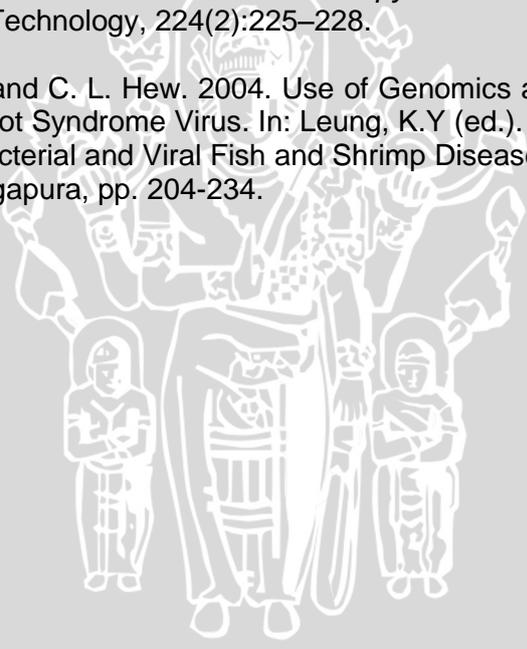
Winarno F.G. 1995. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT, Gramedia Pustaka Utama.

Wyban JA, Sweeny JN. 1991 *Intensive Shrimp Production Technology*. The Oceanic Institute Makapuu Point. Honolulu, Hawaii USA. 158 p

Yustianti, Moh. Noh Ibrahim, dan Ruslaini. 2012. Pertumbuhan dan Sintasan Larva Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Melalui Substitusi Tepung Ikan dengan Tepung Usus Ayam. FPIK Haluoleo : Kendari. *Mina Laut Indonesia*. Vol. 01 No. 01. (93 – 103). ISSN : 2303-3959

Yang, F., Y. Shi, J. Sheng and Q. Hu. 2006. In Vivo Immunomodulatory Activity Of Polysaccharides Derived from *Chlorella pyrenoidosa*. *European Food and Research Technology*, 224(2):225–228.

Zhang, X., C. Huang, and C. L. Hew. 2004. Use of Genomics and Proteomics to Study White Spot Syndrome Virus. In: Leung, K.Y (ed.). *Current Trends in the Study of Bacterial and Viral Fish and Shrimp Disease*. World Scientific Publishing, Singapura, pp. 204-234.



Lampiran 1. Perhitungan THC Sebelum dan Sesudah Infeksi

THC dihitung menggunakan rumus:

$$\text{THC} = \frac{\text{Jumlah sel Hemosit}}{5} \times 10^4 \times \text{FP}$$

Tabel 17. Perhitungan THC Sebelum Infeksi

No	Perlakuan	Jumlah	Rumus	Hasil (sel/ml)
1	k (-)1	8	$= \frac{8}{5} \times 10^4 \times 3$	48.000
2	k (-)2	6	$= \frac{6}{5} \times 10^4 \times 3$	36.000
3	k (-)3	7	$= \frac{7}{5} \times 10^4 \times 3$	42.000
4	a1	9	$= \frac{9}{5} \times 10^4 \times 3$	54.000
5	a2	10	$= \frac{10}{5} \times 10^4 \times 3$	60.000
6	a3	9	$= \frac{9}{5} \times 10^4 \times 3$	54.000
7	b1	13	$= \frac{13}{5} \times 10^4 \times 3$	78.000
8	b2	24	$= \frac{24}{5} \times 10^4 \times 3$	144.000
9	b3	13	$= \frac{13}{5} \times 10^4 \times 3$	78.000
10	c1	14	$= \frac{14}{5} \times 10^4 \times 3$	84.000
11	c2	10	$= \frac{10}{5} \times 10^4 \times 3$	60.000
12	c3	13	$= \frac{13}{5} \times 10^4 \times 3$	78.000

Tabel 18. Perhitungan THC Sebelum Infeksi

No	Perlakuan	Jumlah	Rumus	Hasil (sel/ml)
1	k (-)1	5	$= \frac{5}{5} \times 10^4 \times 3$	30.000
2	k (-)2	7	$= \frac{7}{5} \times 10^4 \times 3$	42.000
3	k (-)3	6	$= \frac{6}{5} \times 10^4 \times 3$	46.000
4	a1	5	$= \frac{5}{5} \times 10^4 \times 3$	30.000
5	a2	9	$= \frac{9}{5} \times 10^4 \times 3$	54.000
6	a3	10	$= \frac{10}{5} \times 10^4 \times 3$	60.000
7	b1	11	$= \frac{11}{5} \times 10^4 \times 3$	66.000
8	b2	12	$= \frac{12}{5} \times 10^4 \times 3$	72.000
9	b3	19	$= \frac{19}{5} \times 10^4 \times 3$	114.000
10	c1	10	$= \frac{10}{5} \times 10^4 \times 3$	60.000
11	c2	8	$= \frac{8}{5} \times 10^4 \times 3$	48.000
12	c3	10	$= \frac{10}{5} \times 10^4 \times 3$	60.000

Lampiran 2. Data Perhitungan DHC Sebelum dan Sesudah Infeksi

DHC udang vaname dihitung dengan rumus

$$\text{DHC} = \frac{\text{Jumlah jenis sel Hemosit}}{\text{JUmlah sel teramati}} \times 100 \%$$

Tabel 19. Perhitungan DHC Sebelum Infeksi

perlakuan	h	sg	g	jml	H (%)	sg (%)	g (%)
k (-)1	2	2	3	7	$2/7 \times 100 = 28.57$	$2/7 \times 100 = 28.57$	$3/7 \times 100 = 42.85$
k (-)2	2	2	2	6	$2/6 \times 100 = 33.33$	$2/6 \times 100 = 33.33$	$2/6 \times 100 = 33.33$
k (-)3	2	3	2	7	$2/7 \times 100 = 28.57$	$3/7 \times 100 = 42.85$	$2/7 \times 100 = 28.57$
a1	3	3	3	9	$3/9 \times 100 = 33.33$	$3/9 \times 100 = 33.33$	$3/9 \times 100 = 33.33$
a2	3	2	5	10	$3/10 \times 100 = 30$	$2/10 \times 100 = 20$	$5/10 \times 100 = 50$
a3	3	3	3	9	$3/9 \times 100 = 33.33$	$3/9 \times 100 = 33.33$	$3/9 \times 100 = 33.33$
b1	5	2	6	13	$5/13 \times 100 = 38.46$	$5/13 \times 100 = 15.38$	$6/13 \times 100 = 46.15$
b2	9	3	12	24	$9/24 \times 100 = 37.5$	$3/24 \times 100 = 12.5$	$12/24 \times 100 = 50$
b3	4	2	7	13	$4/13 \times 100 = 30.76$	$2/13 \times 100 = 15.38$	$7/23 \times 100 = 53.84$
c1	5	4	5	14	$5/14 \times 100 = 35.71$	$4/14 \times 100 = 28.57$	$5/14 \times 100 = 35.71$
c2	4	2	4	10	$4/10 \times 100 = 40$	$2/10 \times 100 = 20$	$4/10 \times 100 = 40$
c3	3	3	7	13	$3/13 \times 100 = 23.07$	$3/13 \times 100 = 23.07$	$7/13 \times 100 = 53.84$

Tabel 20. Perhitungan DHC Sesudah Infeksi

perlakuan	h	sg	g	jml	h (%)	sg (%)	g (%)
k (-)1	1	2	2	5	$1/5 \times 100 = 20$	$2/5 \times 100 = 40$	$2/5 \times 100 = 40$
k (-)2	2	3	2	7	$2/7 \times 100 = 28.57$	$3/7 \times 100 = 42.85$	$2/7 \times 100 = 28.57$
k (-)3	2	3	1	6	$2/6 \times 100 = 33.33$	$3/6 \times 100 = 50$	$2/6 \times 100 = 16.67$
a1	2	1	2	5	$2/5 \times 100 = 40$	$1/5 \times 100 = 20$	$2/5 \times 100 = 40$
a2	3	3	3	9	$3/9 \times 100 = 33.33$	$3/9 \times 100 = 33.33$	$9/24 \times 100 = 33.33$
a3	3	3	4	10	$3/10 \times 100 = 30$	$3/10 \times 100 = 30$	$4/10 \times 100 = 40$
b1	5	1	5	11	$5/11 \times 100 = 45.45$	$1/11 \times 100 = 9.09$	$5/11 \times 100 = 45.45$
b2	5	2	5	12	$5/12 \times 100 = 41.67$	$2/12 \times 100 = 16.67$	$5/12 \times 100 = 41.67$
b3	6	2	11	19	$6/19 \times 100 = 31.57$	$2/19 \times 100 = 10.52$	$11/19 \times 100 = 57.89$
c1	3	2	5	10	$3/10 \times 100 = 30$	$2/10 \times 100 = 20$	$5/10 \times 100 = 50$
c2	3	2	3	8	$3/8 \times 100 = 37.5$	$2/8 \times 100 = 25$	$3/8 \times 100 = 37.5$
c3	4	2	4	10	$4/10 \times 100 = 40$	$2/10 \times 100 = 20$	$4/10 \times 100 = 40$

Lampiran 3. Data Perhitungan Uji Normalitas THC Sebelum Infeksi

Tujuan dilakukan uji normalitas adalah untuk mengetahui kenormalan data yang akan kita olah, apabila data normal maka dapat dilanjutkan pengujian data dengan tes parametrik kalau data tidak normal maka dilanjutkan dengan transformasi data menggunakan spss. Apabila tranformasi data tetap tidak normal maka tidak dapat dilanjutkan pada uji parametrik dan harus diolah dengan uji non parametrik. Uji normalitas data menggunakan metode liliefors, berikut merupakan langkah uji normalitas data.

1. Membuat hipotesis

H_0 = jika $lv < lt$ maka data dikatakan normal, signifikan 5 %

H_1 = jika $lv > lt$ maka data dikatakan tidak normal, signifikan 5 %

Membuat tabel distribusi, yaitu mengurutkan data dari yang terkecil sampai dengan data yang terbesar (x = data THC sebelum infeksi)

No	X	X-Xbar	(X-Xbar) ²	Z	F(x)	F(z)	F(z)-F(x)
1	36000						
2	42000						
3	48000						
4	48000						
5	54000						
6	60000						
7	60000						
8	72000						
9	78000						
10	78000						
11	78000						
12	144000						

2. Menghitung rata-rata (Xbar) data

$$= \frac{36.00 + \dots + 114.000}{12} = \frac{768.000}{12} = 64.000$$

3. Menghitung kolom 2 dan kolom 3

No	X	X-Xbar	(X-Xbar)2	Z	F(x)	F(z)	F(z)-F(x)
1	36000	-28000	784000000				
2	42000	-22000	484000000				
3	48000	-16000	256000000				
4	48000	-16000	256000000				
5	54000	-10000	100000000				
6	60000	-4000	16000000				
7	60000	-4000	16000000				
8	72000	8000	64000000				
9	78000	14000	196000000				
10	78000	14000	196000000				
11	78000	14000	196000000				
12	114000	50000	2500000000				

4. Menghitung standart deviasi untuk melengkapi nilai z

$$S^2 = \frac{\sum(X-Xbar)^2}{n} = \frac{8889000000}{12} = 740750000$$

$$S = \sqrt{740750000} = 27216.7228$$

5. Nilai z diperoleh dari $= \frac{x-xbar}{SD}$

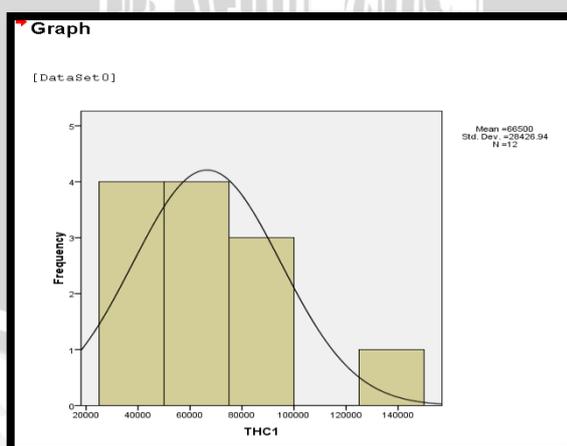
No	X	X-Xbar	(X-Xbar)2	Z	F(x)	F(z)	F(z)-F(x)
1	36000	-28000	784000000	-1.36302			
2	42000	-22000	484000000	-1.07094			
3	48000	-16000	256000000	-0.77887			
4	48000	-16000	256000000	-0.77887			
5	54000	-10000	100000000	-0.48679			
6	60000	-4000	16000000	-0.19472			
7	60000	-4000	16000000	-0.19472			
8	72000	8000	64000000	0.389434			
9	78000	14000	196000000	0.681509			
10	78000	14000	196000000	0.681509			
11	78000	14000	196000000	0.681509			
12	114000	50000	2500000000	2.433962			

6. Nilai f(x) dan f(z) dapat dilihat pada tabel f dan z, untuk mempermudah bias dilakukan dengan Ms. Excel. Diasumsikan No=a1, x=b1, dan F(z)-

$F(x)=g1$. Perhitungan $f(x)$ dapat dilakukan dengan memasukkan rumus $=\text{NORMSDIST}(b2)$ sampai seterusnya, sedangkan nilai $f(z)$ dapat dihitung dengan $=\text{if}(b2=b3,f2,a2/12)$ sampai dengan data terakhir.

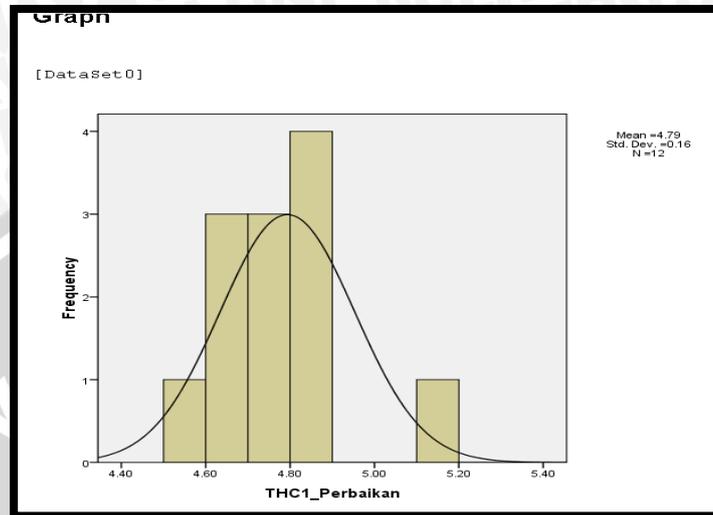
No	X	X-Xbar	(X-Xbar)2	Z	F(x)	F(z)	F(z)-F(x)
1	36000	-28000	784000000	-1.36302	0.086438	0.083333	-0.0031
2	42000	-22000	484000000	-1.07094	0.142097	0.166667	0.024569
3	48000	-16000	256000000	-0.77887	0.218029	0	0.007199
4	48000	-16000	256000000	-0.77887	0.218029	0.333333	0.115305
5	54000	-10000	100000000	-0.48679	0.313203	0.416667	0.103464
6	60000	-4000	16000000	-0.19472	0.422807	0	0
7	60000	-4000	16000000	-0.19472	0.422807	0.583333	0.160526
8	72000	8000	64000000	0.389434	0.651522	0.666667	0.015144
9	78000	14000	196000000	0.681509	0.752225	0.75	0.158255
10	78000	14000	196000000	0.681509	0.752225	0.833333	0.233646
11	78000	14000	196000000	0.681509	0.752225	0.916667	0.164441
12	114000	50000	2500000000	2.433962	0.992533	1	0.007467

- Perhitungan L tabel adalah 0.242, sedangkan nilai L hitung tertinggi adalah 0.234 sehingga dapat disimpulkan L hitung < L tabel artinya data tidak tersebar dengan normal, sehingga dilakukan transformasi data untuk mengetahui kenormalan data.
- Karena data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan transformasi data, pertama dibuat tampilan histogram



Gambar 16. Kurva substansial positif skewness

Berdasarkan gambar histogram diatas termasuk jenis substansial positif skewness, data pada umumnya berbentuk lonceng atau kurva kurtosis oleh karena itu perlu dilakukan transformasi data menggunakan lg10.



Gambar 17. Kurva normal

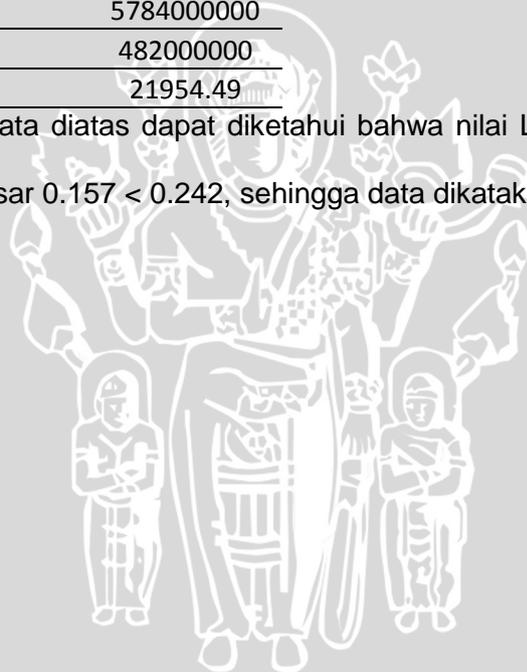
Berdasarkan gambar histogram diatas maka data sudah berdistribusi normal dan dapat dilanjutkan ke uji parametrik, setelah dimasukkan dalam uji parametrik data transformasi tidak berbeda dengan data asli, maka yang dipakai dalam pembahasan laporan menggunakan data asli.

Lampiran 4. Perhitungan Uji Normalitas Data THC Sesudah Infeksi

Tabel 21. Normalitas THC Sesudah Infeksi

No	X	X-Xbar	(X-Xbar) ²	Z	F(x)	F(z)	F(z)-F(x)
1	30000	-26000	676000000	-1.184	0.118	0	0
2	30000	-26000	676000000	-1.184	0.118	0.167	0.049
3	36000	-20000	400000000	-0.911	0.181	0.25	0.069
4	42000	-14000	196000000	-0.638	0.262	0.333	0.071
5	48000	-8000	64000000	-0.364	0.358	0.417	0.059
6	54000	-2000	4000000	-0.091	0.464	0.5	0.036
7	60000	4000	16000000	0.182	0.572	0.583	0.111
8	60000	4000	16000000	0.182	0.572	0	0
9	60000	4000	16000000	0.182	0.572	0.75	0.178
10	66000	10000	100000000	0.456	0.676	0.833	0.1578
11	72000	16000	256000000	0.729	0.767	0.917	0.15
12	114000	58000	3364000000	2.642	0.996	1	0.004
Jumlah	672000		5784000000				
Rerata	56000		482000000				
S			21954.49				

Berdasarkan data diatas dapat diketahui bahwa nilai L hitung < L tabel, dilihat pada nilai terbesar $0.157 < 0.242$, sehingga data dikatakan normal.



Lampiran 5. Data Perhitungan Uji Normalitas DHC Sebelum dan Sesudah infeksi

Tabel 22. Perhitungan Granular Sebelum Infeksi

No	X	X-Xbar	(X-Xbar) ²	Z	F(x)	F(z)	F(z)-F(x)
1	28.57	-13.177	173.625	-1.543	0.062	0.083	0.022
2	33.33	-8.417	70.84	-0.985	0.162	0.167	0.018
3	33.33	-8.417	70.84	-0.985	0.162	0.25	0.033
4	33.33	-8.417	70.84	-0.985	0.162	0.333	0.171
5	35.7	-6.047	36.562	-0.708	0.24	0.417	0.177
6	40	-1.747	3.051	-0.205	0.419	0.5	0.081
7	42.85	1.103	1.217	0.129	0.551	0.583	0.032
8	46.15	4.403	19.389	0.516	0.697	0.667	-0.030
9	50	8.253	68.118	0.966	0.833	0	0
10	50	8.253	68.118	0.966	0.833	0.833	0.0003
11	53.84	12.093	146.249	1.416	0.923	0.917	-0.005
12	53.86	12.113	146.733	1.418	0.922	1	0.078
Jumlah	500.96		875.58				
Rerata	41.74		72.96				
S			8.54				

Berdasarkan data diatas dapat diketahui bahwa nilai L hitung < L tabel, yaitu $0.203 < 0.242$ sehingga data dikatakan normal

Tabel 23. Perhitungan Semi Granular Sebelum Infeksi

No	X	X-Xbar	(X-Xbar) ²	Z	F(x)	F(z)	F(z)-F(x)
1	12.5	-13.026	169.672	-1.469	0.071	0.083	0.012
2	15.38	-10.146	102.937	-1.144	0.126	0.167	0.063
3	15.38	-10.146	102.937	-1.144	0.126	0.25	0.124
4	20	-5.526	30.535	-0.623	0.267	0.333	0.115
5	20	-5.526	30.535	-0.623	0.267	0.417	0.15
6	23.07	-2.456	6.031	-0.277	0.391	0.5	0.109
7	28.57	3.044	9.267	0.343	0.634	0.583	-0.024
8	28.57	3.044	9.267	0.343	0.634	0.667	0.032
9	33.33	7.804	60.905	0.88	0.811	0.75	0.017
10	33.33	7.804	60.905	0.88	0.811	0.833	-0.022
11	33.33	7.804	60.905	0.88	0.811	0.917	0.106
12	42.85	17.324	300.127	1.953	0.975	1	0.025
Jumlah	306.31		944.02				
Rerata	25.52		78.66				
S			8.86				

Berdasarkan data diatas dapat diketahui bahwa nilai L hitung < L tabel, yaitu $0.106 < 0.242$ sehingga data dikatakan normal

Tabel 24. Perhitungan Hialin Sebelum Infeksi

No	X	X-Xbar	(X-Xbar) ²	Z	F(x)	F(z)	F(z)-F(x)
1	23.07	-9.649	93.106	-2.082	0.019	0.083	0.065
2	28.57	-4.149	17.216	-0.895	0.185	0.167	0.048
3	28.57	-4.149	17.216	-0.895	0.185	0.25	0.065
4	30	-2.719	7.394	-0.587	0.279	0.333	0.055
5	30.76	-1.959	3.838	-0.423	0.336	0.417	0.081
6	33.33	0.611	0.373	0.132	0.552	0	0
7	33.33	0.611	0.373	0.132	0.552	0.583	0.071
8	33.33	0.611	0.373	0.132	0.552	0.667	0.114
9	35.71	2.991	8.945	0.645	0.741	0.75	0.009
10	37.5	4.781	22.856	1.032	0.849	0.833	-0.015
11	38.46	5.741	32.957	1.239	0.892	0.917	0.024
12	40	7.281	53.01	1.571	0.942	1	0.058
Jumlah	392.65		257.65				
Rerata	32.71		21.47				
S			4.63				

Berdasarkan data diatas dapat diketahui bahwa nilai L hitung < L tabel, yaitu $0.11 < 0.242$ sehingga data dikatakan normal

Tabel 25. Perhitungan Granular Sesudah Infeksi

No	X	X-Xbar	(X-Xbar) ²	Z	F(x)	F(z)	F(z)-F(x)
1	16.67	-22.581	509.894	-2.286	0.011	0.083	0.0722
2	28.57	-10.681	114.08	-1.0811	0.139	0.167	0.027
3	33.33	-5.921	35.056	-0.599	0.275	0.25	-0.025
4	37.5	-1.751	3.065	-0.177	0.429	0.333	-0.097
5	40	0.749	0.561	0.076	0.53	0.417	-0.007
6	40	0.749	0.561	0.076	0.53	0.5	0.002
7	40	0.749	0.561	0.076	0.53	0.583	-0.002
8	40	0.749	0.561	0.076	0.53	0.667	0.136
9	41.6	2.349	5.519	0.238	0.594	0.75	0.156
10	45.45	6.199	38.43	0.628	0.735	0.833	0.099
11	50	10.749	115.545	1.088	0.862	0.917	0.055
12	57.89	18.639	347.419	1.887	0.97	1	0.03
Jumlah	471.01		1171.25				
Rerata	39.25		97.04				
S			9.8				

Berdasarkan data diatas dapat diketahui bahwa nilai L hitung < L tabel, yaitu $0.17 < 0.242$ sehingga data dikatakan normal



Tabel 26. Perhitungan Semi Granular Sesudah Infeksi

No	X	X-Xbar	(X-Xbar) ²	Z	F(x)	F(z)	F(z)-F(x)
1	9.09	-17.365	301.543	-1.401	0.081	0.083	0.003
2	10.52	-15.935	253.924	-1.285	0.099	0.167	0.067
3	16.67	-9.785	95.746	-0.789	0.215	0.25	0.035
4	20	-6.455	41.667	-0.521	0.301	0.333	0.067
5	20	-6.455	41.667	-0.521	0.301	0.417	-0.007
6	20	-6.455	41.667	-0.521	0.301	0.5	0.197
7	25	-1.455	2.117	-0.117	0.453	0.583	0.130
8	30	3.545	12.567	0.286	0.613	0.667	0.054
9	33.33	6.875	47.266	0.556	0.71	0.75	0.040
10	40	13.545	183.467	1.092	0.863	0.833	-0.029
11	42.85	16.395	268.796	1.322	0.907	0.917	0.009
12	50	23.545	554.367	1.899	0.971	1	0.0288
Jumlah	317.46		1844.79				
Rerata	26.45		153.73				
S			12.39				

Berdasarkan data diatas dapat diketahui bahwa nilai L hitung < L tabel, yaitu 0.236 < 0.242 sehingga data dikatakan normal

Tabel 27. Perhitungan Hialin Sesudah Infeksi

No	X	X-Xbar	(X-Xbar) ²	Z	F(x)	F(z)	F(z)-F(x)
1	20	-14.285	204.061	-2.134	0.016	0.083	0.067
2	28.57	-5.715	32.661	-0.854	0.197	0.167	-0.029
3	30	-4.285	18.361	-0.64	0.261	0.25	0.006
4	30	-4.285	18.361	-0.64	0.261	0.333	0.072
5	31.57	-2.715	7.371	-0.406	0.342	0.417	0.074
6	33.33	-0.955	0.912	-0.143	0.443	0.5	-0.084
7	33.33	-0.955	0.912	-0.143	0.443	0.583	0.14
8	37.5	3.215	10.336	0.48	0.685	0.667	-0.018
9	40	5.715	32.661	0.854	0.803	0.75	0.062
10	40	5.715	32.661	0.854	0.803	0.833	0.029
11	41.67	7.385	54.538	1.104	0.865	0.917	0.052
12	45.45	11.165	124.657	1.668	0.952	1	0.048
Jumlah	411.42		537.49				
Rerata	34.28		44.79				
S			6.69				

Hasil menunjukkan bahwa data berdistribusi normal karena L hitung < L tabel.



Lampiran 6. Perhitungan Uji F THC Sebelum dan sesudah Infeksi

Perhitungan Uji F THC Sebelum Infeksi

ulangan	perlakuan				jumlah
	K	A	B	C	
1	48000	54000	78000	72000	252000
2	36000	60000	144000	60000	300000
3	42000	48000	78000	78000	246000
jumlah	126000	162000	300000	210000	798000

Berdasarkan data diatas dapat ditentukan:

DBT = 11, DBP = 3 dan DBG = 8 F tabel = 4.06

- $F_k = \frac{(798000)^2}{12} = 53067000000$
- $JKT = (36000^2) + (48000^2) + \dots + (78000^2) - 53067000000 = 8889000000$
- $JKP = \frac{(126000)^2 + (162000)^2 + (300000)^2 + (210000)^2}{3} - 53067000000 = 5673000000$
- $JKG = 8889000000 - 5673000000 = 3216000000$
- $KTP = \frac{5673000000}{3} = 1891000000$
- $KTG = \frac{3216000000}{8} = 402000000$
- $F \text{ hitung} = \frac{1891000000}{402000000} = 4.703$
- $KK = \frac{\sqrt{402000000}}{798000} \times 100 = 2.5$

Karena nilai F Hitung > dari F tabel maka dilanjutkan ke uji BNT.

Langkah pertama adalah menentukan nilai LSD.

$$\text{Rumus} = t(0.05, 8) \sqrt{\frac{2 \times KTG}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 402000000}{3}} = 37750.914$$

Perlakuan					notasi	Rata Rata
	K	A	C	B		
K	42000	0			a	79750.91
A	54000	12000	0		a	91750.91
C	70000	28000	16000	0	a	107750.9
B	90000	48000	36000	20000	0	127750.9

Perhitungan Uji F THC Sesudah Infeksi

Ulangan	Perlakuan				jumlah
	K	A	B	C	
1	30000	30000	66000	60000	186000
2	42000	54000	72000	48000	216000
3	36000	60000	114000	60000	270000
jumlah	108000	144000	252000	168000	672000

Berdasarkan data diatas dapat ditentukan:

DBT = 11, DBP = 3 dan DBG = 8 F tabel = 4.06

- $F_k = \frac{(672000)^2}{12} = 37632000000$
- $JKT = (30000^2) + (42000^2) + \dots + (60000^2) - 37632000000 = 5784000000$
- $JKP = \frac{(108000)^2 + (144000)^2 + (252000)^2 + (168000)^2}{3} - 37632000000 = 3744000000$
- $JKG = 5784000000 - 3744000000 = 2040000000$
- $KTP = \frac{3744000000}{3} = 1248000000$
- $KTG = \frac{2040000000}{8} = 255000000$
- $F \text{ hitung} = \frac{1248000000}{255000000} = 4.89$
- $KK = \frac{\sqrt{255000000}}{672000} \times 100 = 2.3$

Karena nilai F Hitung > dari F tabel maka dilanjutkan ke uji BNT.

Langkah pertama adalah menentukan nilai LSD.

- Rumus = $t(0.05, 8) \sqrt{\frac{2 \times KTG}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 255000000}{3}} = 30066.61$

Perlakuan		K	A	C	B	notasi	Rata-rata
		36000	48000	60000	84000		
K	36000	0				a	66066.61
A	48000	12000	0			a	78066.61
C	60000	24000	12000	0		a	90066.61
B	84000	48000	36000	24000	0	b	114066.61



Lampiran 7. Perhitungan Nilai DHC Sevelum da Sesudah Infeksi

Perhitungan Nilai Sel Granular Sebelum Infeksi

Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	K	A	B	C	
1	42.85	33.33	46.15	35.7	158.03
2	33.33	50	50	40	173.33
3	28.57	33.33	53.84	53.86	169.6
Jumlah	104.75	116.66	149.99	129.56	500.96
Rerata	34.91667	38.88667	49.99667	43.18667	

Berdasarkan data diatas dapat ditentukan:

DBT = 11, DBP = 3 dan DBG = 8 F tabel = 4.06

- $F_k = \frac{(500.96)^2}{12} = 20183.4$
- $JKT = (42.85^2) + (33.33^2) + \dots + (129.56^2) - 20183.4 = 875.58$
- $JKP = \frac{(104.75)^2 + (116.66)^2 + (149.99)^2 + (129.56)^2}{3} - 20183.4 = 474.89$
- $JKG = 875.58 - 474.89 = 500.68$
- $KTP = \frac{474.89}{3} = 124.96$
- $KTG = \frac{500.68}{8} = 62.58$
- $F \text{ hitung} = \frac{124.96}{62.58} = 1.99$
- $KK = \frac{\sqrt{62.58}}{500.96} \times 100 = 1.5$

Perhitungan Nilai Sel Semi Granular Sebelum Infeksi

Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	K	A	B	C	
1	28.57	33.33	15.38	28.57	105.85
2	33.33	20	12.5	20	85.83
3	42.85	33.33	15.38	23.07	114.63
Jumlah	104.75	86.66	43.26	71.64	306.31
Rerata	34.91667	28.88667	14.42	23.88	

Berdasarkan data diatas dapat ditentukan:

DBT = 11, DBP = 3 dan DBG = 8 F tabel = 4.06

- $F_k = \frac{(306.31)^2}{12} = 7818.81$

- $JKT = (28.57^2) + (33.33^2) + \dots + (26.07^2) - 7818.81 = 944.02$
- $JKP = \frac{(104.75)^2 + (86.66)^2 + (43.26)^2 + (71.64)^2}{3} - 7818.81 = 676.59$
- $JKG = 944.02 - 676.59 = 267.43$
- $KTP = \frac{676.59}{3} = 255.53$
- $KTG = \frac{267.43}{8} = 33.42$
- $F \text{ hitung} = \frac{271.824}{34.336} = 6.74$
- $KK = \frac{\sqrt{33.42}}{306.31} \times 100 = 1.8$

Karena nilai F Hitung > dari F tabel maka dilanjutkan ke uji BNT.

Langkah pertama adalah menentukan nilai LSD.

- Rumus = $t(0.05, 8) \sqrt{\frac{2 \times KTG}{r}} = \sqrt{2 \times \frac{33.42}{3}} = 10.88$

Perlakuan	B	C	A	K	Notasi	Rerata
	14.42	23.88	28.88	34.91		
B	14.42	0			a	25.30617
C	23.88	9.46	0		a	34.76617
A	28.88	4.46	5	0	a	29.76617
K	34.91	20.49	11.03	16.03	0	45.79617

Perhitungan Nilai Sel Hialin Sebelum Infeksi

Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	K	A	B	C	
1	28.57	33.33	38.46	35.71	136.07
2	33.33	30	37.5	40	140.83
3	28.57	33.33	30.76	23.07	115.73
Jumlah	90.47	96.66	106.72	98.78	392.63
Rerata	30.15667	32.22	35.57333	32.92667	

Berdasarkan data diatas dapat ditentukan:

DBT = 11, DBP = 3 dan DBG = 8 F tabel = 4.06

- $Fk = \frac{(392.63)^2}{12} = 12846.52$
- $JKT = (28.57^2) + (33.33^2) + \dots + (23.07^2) - 12846.52 = 257.65$
- $JKP = \frac{(90.47)^2 + (86.66)^2 + (106.72)^2 + (98.78)^2}{3} - 12846.52 = 45.01$



- $JKG = 257.65 - 45.01 = 212.64$
- $KTP = \frac{45.01}{3} = 15$
- $KTG = \frac{212.64}{8} = 26.58$
- $F \text{ hitung} = \frac{15}{26.58} = 0.56$
- $KK = \frac{\sqrt{26.58}}{392.63} \times 100 = 2.5$

Perhitungan Nilai Sel Granular Sesudah Infeksi

Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	K	A	B	C	
1	40	40	45.45	50	175.45
2	28.57	33.33	41.6	37.5	141
3	16.67	40	57.89	40	154.56
Jumlah	85.24	113.33	144.94	127.5	471.01
Rerata	28.41333	37.77667	48.31333	42.5	

Berdasarkan data diatas dapat ditentukan:

DBT = 11, DBP = 3 dan DBG = 8 F tabel = 4.06

- $Fk = \frac{(471.01)^2}{12} = 18487.53$
- $JKT = (40^2) + (28.57^2) + \dots + (40) - 18487.53 = 1171.25$
- $JKP = \frac{(85.24)^2 + (113.33)^2 + (144.94)^2 + (127.5)^2}{3} - 18487.53 = 636.93$
- $JKG = 1171.25 - 636.93 = 534.32$
- $KTP = \frac{636.93}{3} = 212.31$
- $KTG = \frac{534.32}{8} = 66.79$
- $F \text{ hitung} = \frac{212.31}{66.79} = 3.17$
- $KK = \frac{\sqrt{66.79}}{471.01} \times 100 = 1.7$



Perhitungan Nilai Sel Semi Granular Sesudah Infeksi

Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	K	A	B	C	
1	40	20	9.09	20	89.09
2	42.85	33.33	16.67	25	117.85
3	50	30	10.52	20	110.52
Jumlah	132.85	83.33	36.28	65	317.46
Rerata	44.28333	27.77667	12.09333	21.66667	

Berdasarkan data diatas dapat ditentukan:

DBT = 11, DBP = 3 dan DBG = 8 F tabel = 4.06

- $F_k = \frac{(317.46)^2}{12} = 8398.4$
- $JKT = (40^2) + (42.85^2) + \dots + (20) - 8398.4 = 1844.79$
- $JKP = \frac{(132.85)^2 + (83.33)^2 + (36.28)^2 + (65)^2}{3} - 8398.4 = 1646.34$
- $JKG = 1844.79 - 1646.34 = 189.69$
- $KTP = \frac{1646.34}{3} = 548.78$
- $KTG = \frac{189.69}{8} = 24.8$
- $F \text{ hitung} = \frac{548.78}{24.8} = 22.12$
- $KK = \frac{\sqrt{24.8}}{317.46} \times 100 = 1.5$

Karena nilai F Hitung > dari F tabel maka dilanjutkan ke uji BNT.

Langkah pertama adalah menentukan nilai LSD.

- Rumus = $t(0.05, 8) \sqrt{\frac{2 \times KTG}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 24.8}{3}} = 9.168$

Perlakuan	B	C	A	K	Notasi	Rerata	
	12.09	21.67	27.77	44.28			
B	12.09	0			a	21.46	
C	21.67	9.58	0		a	31.04	
A	27.77	15.68	6.1	0	a	37.14	
K	44.28	32.19	22.61	16.51	0	b	53.65



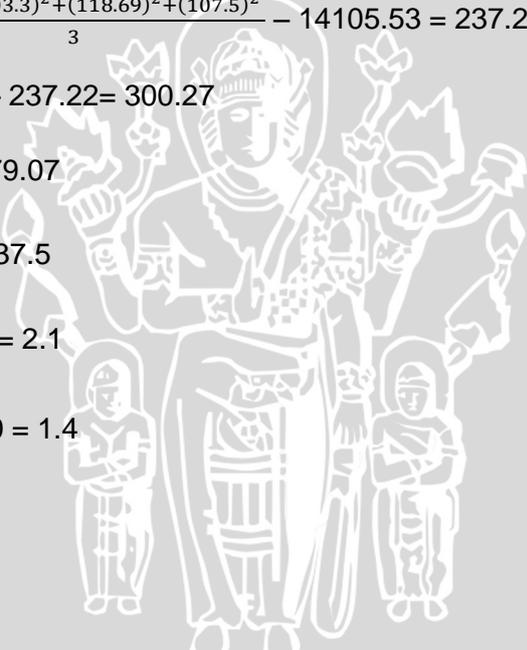
Perhitungan Nilai Sel Hialin Sesudah Infeksi

Ulangan	Perlakuan			Jumlah	
	K	A	B		
1	20	40	45.45	30	135.45
2	28.57	33.33	41.67	37.5	141.07
3	33.33	30	31.57	40	134.9
Jumlah	81.9	103.33	118.69	107.5	411.42
Rerata	27.3	34.443	39.563	35.833	

Berdasarkan data diatas dapat ditentukan:

DBT = 11, DBP = 3 dan DBG = 8 F tabel = 4.06

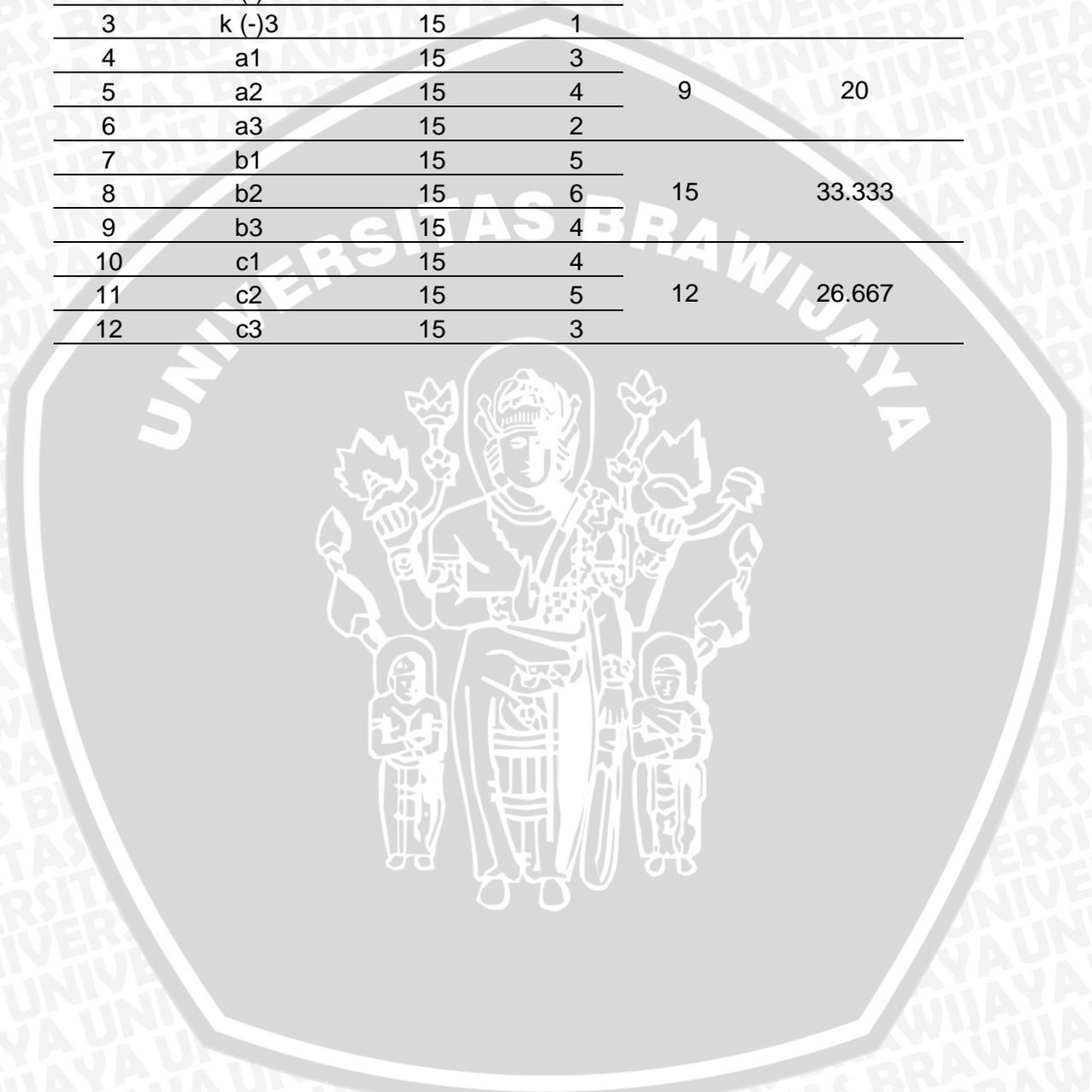
- $F_k = \frac{(411.42)^2}{12} = 14105.53$
- $JKT = (20^2) + (28.57^2) + \dots + (40) - 14105.53 = 537.49$
- $JKP = \frac{(81.9)^2 + (103.3)^2 + (118.69)^2 + (107.5)^2}{3} - 14105.53 = 237.22$
- $JKG = 537.49 - 237.22 = 300.27$
- $KTP = \frac{237.22}{3} = 79.07$
- $KTG = \frac{300.27}{8} = 37.5$
- $F \text{ hitung} = \frac{79.07}{37.5} = 2.1$
- $KK = \frac{\sqrt{37.5}}{411.2} \times 100 = 1.4$



Lampiran 8. Survival rate

Tabel 28. Survival rate udang percobaan

NO	Perlakuan	Tebar	Sisa	Jumlah	SR (%)
1	k (-)1	15	0		
2	k (-)2	15	2	3	6.667
3	k (-)3	15	1		
4	a1	15	3		
5	a2	15	4	9	20
6	a3	15	2		
7	b1	15	5		
8	b2	15	6	15	33.333
9	b3	15	4		
10	c1	15	4		
11	c2	15	5	12	26.667
12	c3	15	3		



Lampiran 9. Standard Deviasi

Tabel 29. Standar Deviasi THC

Perlakuan	THC 1	THC 2
K(-)1	48000	30000
K(-)2	36000	42000
K(-)3	42000	36000
S	6000	6000
A1	54000	30000
A2	60000	54000
A3	48000	60000
S	6000	15874.51
B1	78000	66000
B2	144000	72000
B3	78000	114000
S	38105.12	26153.39
C1	72000	60000
C2	60000	48000
C3	78000	60000
S	9165.151	6928.203

Tabel 30. Standar Deviasi DHC

Perlakuan	DHC Sebelum Infeksi			DHC Sesudah Infeksi		
	g (%)	sg (%)	H (%)	g (%)	sg (%)	H (%)
k (-)1	42.857	28.571	28.571	40	40	28.571
k (-)2	33.333	33.333	33.333	28.571	42.857	33.333
k (-)3	28.571	42.857	28.571	16.667	50	27.302
S	7.273	7.274	2.749	11.668	5.15	3.179
a1	33.333	33.333	33.333	40	20	33.333
a2	50	20	30	33.333	33.333	30
a3	33.333	33.333	33.333	40	30	34.444
S	9.623	7.698	1.925	3.849	6.939	2.313
b1	46.154	15.385	38.462	45.455	9.09	41.667
b2	50	12.5	37.5	41.667	16.667	31.579
b3	53.846	15.385	30.769	57.895	10.526	39.567
S	3.846	1.665	4.191	8.489	4.024	5.323
c1	35.714	28.571	35.714	50	20	37.5
c2	40	20	40	37.5	25	40
c3	53.846	23.076	23.077	40	20	35.833
S	9.477	4.342	8.798	6.614	2.887	2.097



Lampiran 10. Dokumentasi Kegiatan



Gracilaria verrucosa



Serbuk Gracilaria verrucosa



Ekstraksi



Pelarut Ekstraksi



Persiapan Air Pemeliharaan



Pengambilan Udang



Peracampuran Ekstrak



Peracampuran Ekstrak dengan pakan





Inokulum Virus



Inokulum Virus



Inokulum Virus

