

POTENSI EKSTRAK RUMPUT LAUT *Gracilaria verrucosa* MELALUI METODE
PERENDAMAN SEBAGAI IMUNOSTIMULAN UDANG VANNAME
(*Litopenaeus vannamei*) TERHADAP INFEKSI WSSV
(*White Spot Syndrome Virus*)

ARTIKEL SKRIPSI
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

OLEH:

BADIP A HIMMATUR ROFFAH

NIM. 125080101111037



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016

POTENSI EKSTRAK RUMPUT LAUT *Gracilaria verrucosa* MELALUI
METODE PERENDAMAN SEBAGAI IMUNOSTIMULAN UDANG VANNAME

(*Litopenaeus vannamei*) TERHADAP INFEKSI WSSV
(*White Spot Syndrome Virus*)

ARTIKEL SKRIPSI
PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

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

Oleh:

BADPA HIMMATUR ROFI'AH

NIM. 125080101111037



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2016

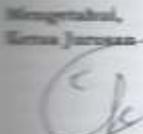
LEMBAR PENGESAHAN

POTENSI EKSTRAK RUMPUT LAUT *Gracilaria verrucosa* MELALUI METODE
PERENDAMAN SEBAGAI IMUNOSTIMULAN UDANG VANNAME
(*Litopenaeus vannamei*) TERHADAP INFEKSI WSSV
(*White Spot Syndrome Virus*)

Oleh:

BADPA HIMMATUR ROFFAH
NIM. 125080101111037

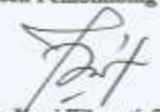
Mengetahui,
Ketua Jurusan


(Dr. Ir. Arling Wilujeng Ekawati, MS)
NIP. 19620805198603 2 001

Tanggal: 15 AUG 2016



Menyetujui,
Dosen Pembimbing I


(Dr. Yuni Kilawati, S.Pi., M.Si)
NIP. 19730702 20051 2 001

Tanggal: 15 AUG 2016

Dosen Pembimbing II


(Nanik Retno Burono, S.Pi., MP)
NIP. 19840420 2014404 2 602

Tanggal: 15 AUG 2016

POTENSI EKSTRAK RUMPUT LAUT *Gracilaria verrucosa* MELALUI METODE PERENDAMAN SEBAGAI IMUNOSTIMULAN UDANG VANNAME (*Litopenaeus vannamei*) TERHADAP INFEKSI WSSV (*White Spot Syndrome Virus*)

THE POTENTIAL OF SEAWEED EXTRACT *Gracilaria Verrucosa* THROUGH THE IMMERSION METHOD AS THE IMMUNOSTIMULANT VANNAME SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) AGAINST WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) INFECTION

Badi'a Himmatur Rofi'ah ¹⁾, Yuni Kilawati ²⁾, Nanik Retno Buwono ³⁾

ABSTRAK

Litopenaeus vannamei merupakan udang introduksi yang secara ekonomis bernilai tinggi sebagai komoditas ekspor. Masalah utama pada budidaya udang vaname adalah penyakit yang disebabkan oleh virus. Salah satu penyakit yang paling ganas dan menjadi penyebab utama kegagalan budidaya udang vaname adalah *white spot syndrome virus* (WSSV). Upaya dalam penanggulangan dan pencegahan penyakit WSSV adalah melalui peningkatan sistem pertahanan tubuh udang, yaitu dengan menggunakan imunostimulan. Salah satu bahan imunostimulan yang berpotensi untuk meningkatkan respon pertahanan udang terhadap infeksi penyakit adalah rumput laut *Gracilaria verrucosa*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan dosis yang terbaik pada pemanfaatan *Gracilaria verrucosa* sebagai imunostimulan melalui metode perendaman terhadap peningkatan respon imun udang vaname. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dimana dosis yang digunakan 0 mg/l, 100 mg/l, 300 mg/l dan 500 mg/l dengan masing-masing 3 ulangan. Parameter yang diuji meliputi *total haemosit count* (THC), *differential haemosit count* (DHC) dan *survival rate* (SR). Hasil penelitian menunjukkan bahwa udang yang direndam dalam ekstrak *Gracilaria verrucosa* berpengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap peningkatan THC dan DHC baik sebelum dan sesudah infeksi WSSV dengan dosis terbaik 300 mg/l. Udang yang direndam dalam ekstrak *Gracilaria verrucosa* juga menunjukkan memiliki nilai SR yang lebih tinggi dibanding kontrol.

Kata Kunci : Udang Vannamei, *Gracilaria verrucosa*, WSSV, Imunostimulan

ABSTRACT

Litopenaeus vannamei is a shrimp introduction which economically has a high value as the export commodities. A major problem on shrimp vaname farming is the disease caused by a virus. One of the threatening diseases and become the great cause of shrimp vaname failure in cultivation is *white spot syndrome virus* (WSSV). The effort to prevent WSSV is increasing shrimp immune system by using immunostimulant. One of immunostimulant which potentially use to increase shrimp responses defense against the disease infection is seaweed *Gracilaria verrucosa*. This research aimed to find the influence and the best dose on *Gracilaria verrucosa*'s utilization immunostimulant through applying submersion method against the enhancement of vaname shrimp responses defense. This method used experimental method with Completely Randomized Design (CRD), the dose that were used in this research were 0 mg / l, 100 mg / l, 300 mg / l and 500 mg / l by each 3 replications. The test parameters include the number of total haemosit count (THC), the number of differential haemosit count (DHC), and survival rate (SR). The result showed that the shrimp which marinated in *Gracilaria verrucosa* extract acted factual ($p > 0.05$) against the enhancement of THC and DHC both before and after the infection with WSSV with the best dose of 300 mg / l. The SR value of shrimp which been marinated in *Gracilaria verrucosa* extract also showed higher than the control.

Keywords: Vannamei shrimp, *Gracilaria verrucosa*, WSSV, immunostimulant

¹⁾Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

²⁾Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

³⁾Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya

1. PENDAHULUAN

Udang vaname merupakan udang introduksi yang secara ekonomis bernilai tinggi sebagai komoditas ekspor karena diminati oleh pasar dunia. Budidaya udang vanname telah dilakukan di beberapa wilayah di Indonesia, namun masih dihadapkan beberapa kendala berupa kematian massal akibat serangan penyakit yang mengakibatkan produktivitas menurun. Penyakit disebabkan oleh virus merupakan masalah utama pada budidaya udang vaname. Salah satu penyakit yang paling ganas dan menjadi penyebab utama kegagalan budidaya udang vaname adalah *white spot disease* yang disebabkan oleh *white spot syndrome virus* (WSSV) (Prajitno, 2008).

Berbagai 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). Udang tidak memproduksi limfosit dan tidak memiliki sistem imun adaptive seperti yang dimiliki vertebrata (van de Braak, 2002). Sistem pertahanan udang hanya berdasarkan pada imunitas innate. Sehingga strategi yang tepat digunakan dalam mengendalikan penyakit pada budidaya udang adalah dengan menggunakan imunostimulan, yang dapat menstimulasi sistem imun nonspesifik. Penggunaan imunostimulan lebih aman dibandingkan dengan penggunaan antibiotik. Imunostimulan dapat mengurangi resiko terhadap serangan penyakit (Dugger and Jory, 1999).

Beberapa rumput laut diketahui dapat bersifat sebagai imunomodulatori yang dapat meningkatkan imunitas udang. Rumput laut

dapat digunakan sebagai imunostimulan karena mengandung polisakarida yang tidak bersifat racun maupun patogenik bagi udang (Dugger and Jory, 1999). Jenis alga yang memiliki senyawa polisakarida adalah *Gracilaria verrucosa* (alga merah). Polisakarida yang terdapat pada *Gracilaria verrucosa* dapat memodifikasi beberapa komponen sistem imun pada ikan dan meningkatkan proteksi terhadap infeksi bakteri. Polisakarida dari rumput laut juga dapat menstimulasi sistem imun non spesifik dalam hal ini fagositosis dan aktifitas *respiratory burst* melalui mekanisme interaksi molekuler dengan permukaan reseptor (*receptor-mediated*) (Castro *et al.*, 2006).

Penggunaan *Gracilaria verrucosa* dinilai ramah lingkungan, memiliki kandungan nutrisi yang baik bagi udang karena terdapat kandungan senyawa bioaktif, serta alga ini mudah diperoleh karena telah banyak dibudidayakan. Menurut Marsoedi (2007) dalam Fariedah (2010), aplikasi imunostimulan dapat dilakukan melalui pakan, perendaman maupun suntikan langsung ke dalam tubuh. Pemberian imunostimulan melalui perendaman dapat meningkatkan respon imun non spesifik dan lebih efektif dalam hal biaya daripada dengan penyuntikan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan dosis yang terbaik terhadap peningkatan respon imun udang vaname pada pemanfaatan *Gracilaria verrucosa* sebagai imunostimulan melalui metode perendaman.

2. MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan, di Laboratorium Universitas Islam Negeri (UIN) Malang dan Laboratorium Ilmu Kelautan

sebagai tempat ekstraksi serta Laboratorium Basah Unit Pengembangan Teknis (UPT) Pengembangan Budidaya Air Payau (PBAP) Bangil, Pasuruan sebagai tempat pemeliharaan udang uji. Sampel rumput laut *Gracilaria verrucosa* diambil dari perairan Jepara, Jawa Tengah. Sebagai hewan uji darah *L.vannamei* yang diperoleh dari hasil budidaya UPT PBAP Bangil, pasuruan Jawa Timur.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen dengan RAL sebagai rancangan percobaan. Dosis yang digunakan adalah 100, 300 dan 500 mg/l dengan masing-masing tiga ulangan. Kontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah kontrol positif tanpa pemberian ekstrak dan tanpa ujiantang dan kontrol negatif tanpa pemberian ekstrak dengan ujiantang. Penentuan dosis penambahan ekstrak rumput laut *Gracilaria verrucosa* pada perendaman mengacu pada penelitian terdahulu, yaitu Truong-Giang *et al.* (2011), dengan waktu perendaman terbaik untuk meningkatkan ketahanan terhadap WSSV selama 3 jam.

2.1 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap yaitu ekstraksi rumput laut, persiapan hewan uji, Persiapan Bak percobaan, Penyediaan Larutan Inokulum WSSV, perendaman larva udang windu dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa*, pengamatan fisiologi dan tingkah laku.

2.1.1 Ekstraksi rumput laut

Sampel *Gracilaria verrucosa* dicuci dengan air laut dan tawar untuk menghilangkan garam, epifit, mikroorganisme dan bahan lainnya. Alga yang telah bersih dikeringkan di udara terbuka (kering udara)

tanpa terkena cahaya matahari langsung. Selanjutnya sampel yang sudah kering digiling halus dan diayak menggunakan saringan halus (50 mesh size). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 80%, dengan perbandingan simplisia dan pelarut 1:5 (weight/volume), artinya 10 gram simplisia direndam dalam 50 ml etanol 80%. Diaduk dengan stirrer, diendapkan selama 1 × 24 jam, kemudian disaring. Hasil saringan (filtrat) dievaporasi dengan menggunakan penguap putar (rotary evaporator) pada suhu 50 °C.

2.1.2 Persiapan hewan uji

Udang vanname yang digunakan berada pada stadia PL 30. Udang *L. vannamei* dipelihara dalam bak dengan padat tebar 1 ekor/2 liter. Wadah pemeliharaan berupa ember plastik ukuran 20 L sebanyak 15 buah yang diisi air sebanyak 18 L, tiap bak berisi 10 ekor udang vaname dan dilengkapi dengan sistem aerasi. Ember tersebut ditutup dengan waring agar udang uji tidak lompat (Prawira, 2014).

Sebelum diberikan perlakuan udang vanname diaklimatisasi 7 hari (Wahjuningrum, 2006). Selama periode aklimatisasi, udang diberi pakan komersial dua kali, yaitu pada pukul 10.00 dan 19.00 WIB. Pakan yang diberikan adalah pakan udang komersial, dengan *feeding rate* 3% dari bobot *biomassa*/hari (Truong-Giang Huynh *et al.*, 2011). Sebelum diberi perlakuan perendaman, terlebih dahulu dilakukan uji PCR untuk mengidentifikasi dan mengkonfirmasi udang tidak terinfeksi WSSV, Hanya udang sehat, yang digunakan untuk penelitian (Wahjuningrum *et al.*, 2006).

2.1.3 Persiapan bak percobaan

Sebelum digunakan wadah disterilisasikan menggunakan kaporit sebanyak 100 ppm selama 24 jam, kemudian dibilas dengan air bersih dan dikeringkan (Jasmanindar, 2009).

2.1.4 Penyediaan larutan inokulum WSSV (*white spot syndrom virus*)

Virus diisolasi dari organ (insang dan daging) udang vanname yang terinfeksi WSSV dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo sebanyak 1 g dan digerus sampai halus, kemudian disuspensikan dalam 9 ml air laut steril, lalu disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit dan kecepatan 8000 rpm selama 20 menit masing-masing dengan suhu 4°C. Kemudian supernatannya disaring dengan kertas miliopore 0,45 µm menggunakan *filter holder* dan *syringe* (Hameed *et al.*, 1998 dalam Rahma *et al.*, 2014)

2.1.5 Perendaman *Litopenaeus vannamei* Dengan Ekstrak *Gracilaria verrucosa*

Perendaman dilakukan dalam bak berkapasitas 18 liter yang diisi 10 ekor udang vanname dengan dosis ekstrak *Gracilaria verrucosa* masing-masing bak 0 mg/l, 100 mg/l, 300 mg/l dan 500 mg/l selama 3 jam. Hal ini dilakukan karena waktu perendaman terbaik untuk meningkatkan ketahanan terhadap WSSV selama 3 jam (Truong-Giang *et al.*, 2011). Setelah 3 jam perendaman, udang vaname dikembalikan ke bak pemeliharaan dan dipelihara selama 5 hari. Pada hari ke 6 diamati parameter imun meliputi THC dan DHC.

2.1.6 Uji tantang udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan *white spot syndrome virus* (WSSV)

Pada hari ke-6 setelah perendaman dengan ekstrak, udang diuji tantang dengan WSSV. Proses penginfeksian udang vanname dengan WSSV dilakukan dengan metode perendaman dalam 1 liter larutan virus dengan pengenceran 10⁻³ (dosis 20 µg/ml) selama 3 jam (Depita, 2004 dalam Rahma *et al.*, 2014). Proses ini menggunakan ember dengan volume air 3 liter/ember, jaring penutup ember dan aerasi. Kepadatan udang vanname adalah 10 ekor/ember. Inokulum WSSV dimasukkan menggunakan spuit suntik kedalam ember yang telah berisi air dan udang secara merata. Setelah 3 jam, udang vanname ditempatkan kembali dalam bak awal dengan volume air 18 L dan kepadatan 10 ekor/akuarium. Udang uji yang telah diinfeksi WSSV dipelihara selama 5 hari (Saraswati, 2013).

Pengambilan sampel untuk pengamatan respon imun dilakukan 5 hari setelah diinfeksi WSSV (Saraswati, 2013). Selama pemeliharaan dilakukan pengamatan terhadap tingkat kematian dan tanda-tanda klinis udang. Untuk mengetahui perubahan tingkah laku dan gejala klinis udang yang diinfeksi WSSV maka dilakukan pengamatan secara morfologi terhadap aktivitas, gerakan, respon makan, warna badan dan kematian. Pengamatan ini dilakukan setelah uji tantang sampai dengan hari ke-5 setelah diinfeksi dengan WSSV. Pada akhir pemeliharaan dilakukan pengamatan terhadap kelulus hidupan udang.

2.2 Pemeriksaan Parameter Utama

Parameter utama yang diukur dalam penelitian ini meliputi THC, DHC dan SR dengan metode sebagai berikut:

a. THC (*total haemocyte count*)

Total Haemocyte Count (THC) dihitung sesuai metode Ekawati *et al.* (2012), 0,1 ml hemolim diambil dari pangkal kaki renang keempat, menggunakan srynge 1 ml berisi 0,1 ml antikoagulan Na-sitrat 10%, lalu dihomogenkan dengan cara menggerakkan tangan membentuk angka delapan selama 5 menit. Ditambahkan 0,1 ml trypan blue dan dihomogenkan. Kemudian satu tetes larutan diletakkan pada *haemocytometer* dan jumlah sel per ml dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{THC} = \frac{\sum \text{sel yang dihitung}}{\sum \text{bidang pandang}} \times 10^4 \times \text{faktor pengencer}$$

b. DHC (*differential haemocyte count*)

Differential Haemocyte Count (DHC) dihitung sesuai metode Ekawati *et al.* (2012), jumlah sel per ml dihitung persentase berdasarkan kriteria morfologi hemosit (hialin, semi granular dan granular) dengan menggunakan mikroskop. Persentase tiap jenis sel dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Jenis Sel hemosit} = \frac{\sum \text{tiap sel hemosit}}{\text{Total hemosit}} \times 100$$

c. SR (*survival rate*)

Perhitungan nilai *survival rate* (SR) udang vanname dilakukan dengan rumus Effendi (1997) sebagai berikut:

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

Keterangan :

- SR :Tingkat kelangsungan hidup %
- Nt :Jumlah ikan yang hidup pada akhir pengamatan (ekor)
- No :Jumlah ikan yang hidup pada uji tantang (ekor)

2.4 Pengukuran Parameter Penunjang

Pengukuran penunjang yang dilakukan adalah pengukuran parameter kualitas air yang meliputi DO, pH, salinitas dan suhu setiap hari, serta pengukuran amonia pada awal, tengah dan akhir penelitian. Untuk menjaga kualitas air tetap baik, feses disipon dan diganti dengan air baru sebanyak volume air yang terbuang. Penyifonan dilakukan setiap hari (Widyantoko, 2015).

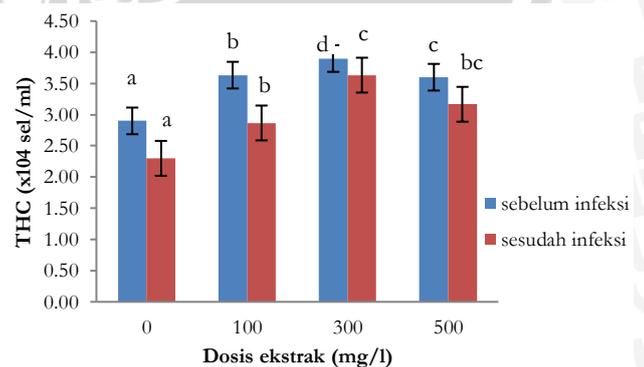
2.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian, akan di analisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman (ANOVA) menggunakan software program SPSS.16 serta untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan menggunakan uji Duncan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Total Hemosit

Hasil rata-rata THC udang vanname yang direndam dalam ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebelum dan sesudah diinfeksi WSSV terlihat dalam **Gambar 1**.



Gambar 1. Histogram rerata THC udang vanname yang direndam dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebelum dan sesudah

Hasil analisis ragam rerata total hemosit udang vanname yang direndam dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebelum dan

sesudah diinfeksi WSSV adalah berbeda sangat nyata ($P < 0,05$). Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa semua perlakuan dengan perendaman ekstrak *Gracilaria verrucosa* menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) dimana THC sebelum dan sesudah infeksi, tertinggi dicapai dengan dosis ekstrak 300 mg/l, berbeda sangat nyata dibanding perlakuan dosis 100mg/l, 500 mg/l dan perlakuan kontrol. Namun pada dosis 100 mg/l dan 500 mg/l sebelum infeksi WSSV tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata.

Menurut Van de Braak *et al.* (2002), peningkatan jumlah hemosit udang yang diberi ekstrak rumput laut dikarenakan adanya kandungan LPS dalam ekstrak tersebut. LPS ini akan dikenali oleh reseptor udang vaname sebagai antigen yang akan menginduksi imun udang untuk meningkatkan sistem pertahanan tubuh melalui aktivasi jaringan hematopoetik untuk melakukan proliferasi sel hemosit.

Pasca infeksi WSSV total hemosit udang vaname mengalami penurunan. Total hemosit tertinggi pasca infeksi WSSV sebesar $3,63 \times 10^4$ sel/ml dicapai oleh dosis 300 mg/l dan terendah terdapat pada perlakuan kontrol (0 mg/l) sebesar $2,20 \times 10^4$ mg/l. Penurunan total hemosit terjadi karena masuknya patogen WSSV dapat menyebabkan proses proliferasi dan degranulasi sel hemosit. Proses degranulasi akan mengurangi jumlah hemosit yang beredar, sehingga total hemosit menjadi turun (Saraswati, 2014).

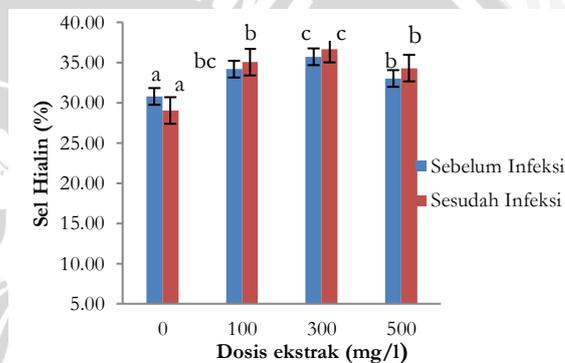
Pada penelitian ini, udang yang direndam dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* terbukti meningkatkan jumlah THC udang vanname. Seiring dengan peningkatan total hemosit udang, sistem kekebalan tubuh udang juga akan meningkat sehingga tingkat serangan infeksi WSSV dapat tereduksi.

3.2 Diferensial Hemosit count (DHC)

Menurut Hartinah (2012) perubahan jumlah hemosit dan perubahan komposisi diferensiasi sel dapat menjadi indikator awal bagi kondisi kesehatan udang. Terdapat tiga tipe hemosit yang berbeda, yaitu sel hialin, sel semi granular dan sel granular.

a. Sel Hialin

Hasil rata-rata sel hialin pada udang vaname setelah perendaman dengan ekstrak, sebelum dan sesudah diinfeksi WSSV terlihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Histogram rerata sel hialin udang vaname yang direndam dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebelum dan sesudah diinfeksi WSSV

Hasil analisis ragam terhadap presentase sel hialin menunjukkan bahwa perlakuan perendaman dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebelum dan sesudah infeksi WSSV berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap peningkatan sel hialin. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa perlakuan dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebelum diinfeksi WSSV menunjukkan perbedaan nyata dimana nilai hialin tertinggi pada dosis 300 mg/l, tidak berbeda nyata dengan perlakuan 100 mg/l, namun berbeda nyata dengan perlakuan dosis 500 mg/l dan kontrol. Meningkatnya dosis perendaman dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* diikuti dengan meningkatnya hialin sel

udang vaname sampai dengan dosis 300 mg/l, selanjutnya pada dosis 500 mg/l, hialin mulai menurun.

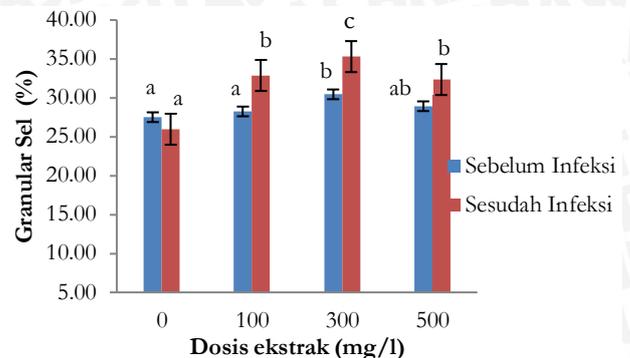
Pasca ineksi WSSV hialin sel mengalami peningkatan yang bervariasi. Hal ini memperlihatkan bahwa semua perlakuan dengan perendaman ekstrak *Gracilaria verrucosa* menunjukkan perbedaan nyata. Peningkatan sel hialin tertinggi terjadi pada perlakuan dosis 300 mg/l hasil ini berbeda nyata dengan semua perlakuan. Pada perlakuan dosis 100 mg/l dan 500 mg/l menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata, namun keduanya menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol (0 mg/l), sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa perendaman dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* memberikan pengaruh yang nyata terhadap sel hemosit baik sebelum maupun sesudah infeksi WSSV dengan dosis perlakuan terbaik 300 mg/l.

Menurut Chotogeat *et al* (2004) dalam Saraswati (2013), peningkatan sel hialin dikarenakan adanya LPS pada ekstrak *Gracilaria verrucosa* yang dapat menginduksi terjadinya proliferasi sel hemosit. Proliferasi sel terjadi karena adanya polisakarida LPS ekstrak *Gracilaria verrucosa*. Ekstrak yang mengandung polisakarida dapat memacu respon imun pada hewan air. Menurut Widanarni *et al.* (2010), Peningkatan sel-sel hialin 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. Sel Granular

Presentase sel granular udang vaname yang diendram dalam ekstrak

Gracilaria verrucosa sebelum dan sesudah infeksi WSSV dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Histogram rerata sel granular udang vaname yang direndam dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebelum dan sesudah diinfeksi WSSV

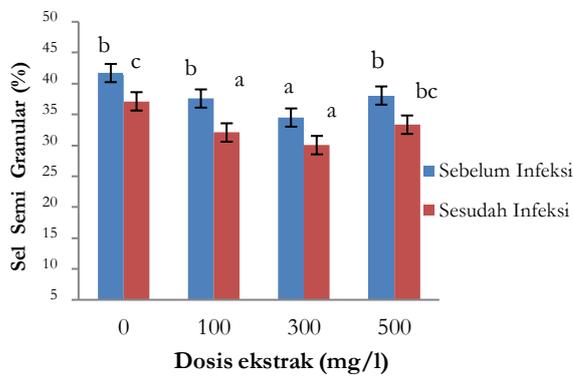
Hasil analisis ragam terhadap sel granular menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak *Gracilaria verrucosa* dengan dosis berbeda berpengaruh nyata terhadap peningkatan sel granular baik sesudah maupun sebelum infeksi WSSV. Hasil uji Duncan sebelum infeksi menunjukkan bahwa perlakuan tertinggi pada dosis 300 mg/l dengan nilai $28,25 \pm 1,50$ sel/ml berbeda nyata dengan perlakuan kontrol dan 100 mg/l. Namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan 500 mg/l. Sedangkan sesudah infeksi menunjukkan bahwa nilai tertinggi tetap pada perlakuan 300 mg/l dengan nilai $35,34 \pm 1,02$ sel/ml berbeda nyata dengan perlakuan kontrol dan 500 mg/l namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan 100 mg/l.

Peningkatan granular secara drastik pada perlakuan setelah udang vaname direndam ekstrak *Gracilaria verrucosa* terjadi karena produksi hemosit yang dilakukan melalui proses mitosis oleh jaringan haematopoetic. Proses mitosis tersebut akan dilakukan secara cepat untuk mencapai keadaan homeostasis pasca introduksi β -

Glukan (Smith *et al.*, 2003). Peningkatan sel-sel granulosit setelah perlakuan perendaman ekstrak *Gracilaria verrucosa* dapat meningkatkan jumlah granular pada perlakuan sebelum dan sesudah infeksi WSSV.

c. Sel Semi Granular

Presentase sel semi granular udang vaname yang diendram dalam ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebelum dan sesudah infeksi WSSV dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Histogram rerata sel semi granular udang vaname yang direndam dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebelum dan sesudah diinfeksi WSSV

Hasil analisis ragam terhadap presentase sel semi granular perlakuan ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebelum infeksi WSSV menunjukkan bahwa perlakuan tertinggi pada kontrol dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan 100 mg/l dan 500 mg/l namun berbeda nyata dengan perlakuan 300 mg/l. Sedangkan sesudah infeksi WSSV, sel semi granular tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol tidak berbeda nyata dengan perlakuan 500 mg/l namun berbeda nyata dengan perlakuan 300 mg/l dan 100 mg/l.

Rendahnya sel semi granular pada perlakuan dibanding pada kontrol dikarenakan ekstrak *Gracilaria verrucosa* mengandung LPS dan asam pentadekanoat yang dapat meningkatkan proses degranulasi sehingga

jumlah sel semi granular menurun dengan meningkatnya dosis ekstrak *Gracilaria verrucosa*. Sesudah infeksi WSSV, proses proliferasi sel hemosit semakin meningkat dengan bertambahnya dosis ekstrak *Gracilaria verrucosa* untuk mencapai kondisi homeostatis, sehingga sel semi granular menurun. Menurut Kurniaji (2015), saat terjadinya serangan patogen, sel semi granular akan melakukan proses degranulasi, *cytotoxicity* dan lisis terhadap material tersebut dengan demikian jumlah sel semi granular yang beredar dalam hemolimfa akan mengalami penurunan.

3.3 Perubahan Tingkah Laku dan Gejala Klinis Udang Vannamei

Hasil pengamatan tingkah laku dan gejala klinis udang vaname adalah sebagaimana dalam **Tabel 1** berikut:

Kemunculan (Hari Ke-)	Perlakuan				
	K+	K-	GA	GB	GC
1	-	-	-	-	-
2	-	+	-	-	-
3	-	++	+	-	+
4	-	+++	++	+	++
5	-	++++	+++	+	++

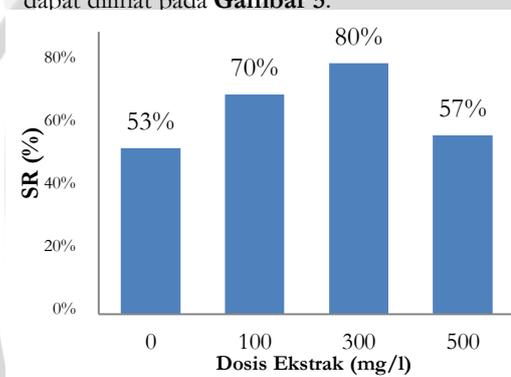
Keterangan : Perlakuan K+ (Kontrol positif), K-(0 mg/l), GA(Dosis 100 mg/l), GB (Dosis 300 mg/l), GC (Dosis 500 mg/l)
 +++++ : Bintik putih pada karapas
 +++ : hepatopankreas pucat, tubuh kemerahan, dan berenang miring/berputar
 ++ : penurunan respon makan, penurunan aktifitas
 + : mendekati acerasi
 - : normal

Dari tabel diatas diketahui bahwa udang yang mendapat perlakuan perendaman dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* setelah diinfeksi WSSV menunjukkan gejala klinis yang lebih lambat daripada udang yang tidak direndam dengan ekstrak. Hal ini disebabkan pemberian ekstrak *Gracilaria verrucosa* diduga mampu meningkatkan sistem pertahanan udang sehingga waktu yang dibutuhkan untuk virulensi WSSV lebih lama.

Menurut Mahardika *et al.* (2004), udang yang terinfeksi WSSV akan mengalami perubahan tingkah laku yaitu menurunnya aktifitas berenang, berenang tidak terarah, dan sering kali berenang pada salah satu sisinya saja. Selain itu udang cenderung bergerombol di tepi tambak dan berenang ke permukaan. Pada fase akut terdapat bercak-bercak putih pada karapas dengan diameter 0.5-3.0 mm.

3.4 Kelulushidupan Udang Vaname

Tingkat kelulushidupan atau *Survival Rate* (SR) udang vaname selama penelitian dapat dilihat pada **Gambar 5**.



Gambar 5 Histogram rerata survival rate udang vaname dengan perlakuan perendaman ekstrak *Gracilaria verrucosa* pada akhir penelitian

Pada gambar grafik terlihat bahwa kelulushidupan tertinggi terdapat pada perlakuan dosis ekstrak 300 mg/l dengan SR sebesar 80% dan terendah pada perlakuan kontrol (0 mg/l) sebesar 53%. Berdasarkan analisis ragam menunjukkan bahwa kelulushidupan udang vaname dengan perlakuan perendaman ekstrak *Gracilaria verrucosa* berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap SR. Hasil uji Duncan diperoleh perlakuan 300 mg/l tidak berbeda nyata dengan perlakuan 100 mg/l tetapi berbeda nyata dengan perlakuan 500 mg/l dan kontrol.

Kelulushidupan udang uji diduga pula berkaitan erat dengan peningkatan THC, karena daya tahan tubuh udang bersifat non spesifik. 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) kenaikan THC diduga akan meningkatkan kemampuan, sistem imun dan juga diasumsikan sebagai bentuk dari peningkatan respon imun seluler tubuh udang (Van de Braak *et al.*, 2002). Dengan demikian, semakin tinggi THC maka semakin baik pertahanan tubuh dan kelulushidupan udang uji.

3.5 Kualitas Air

Hasil pengamatan terhadap rata-rata air media pemeliharaan udang vaname yang didapatkan selama penelitian, ditunjukkan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Parameter kualitas air media pemeliharaan PL vannamei selama penelitian

Parameter	Rata-Rata Hasil pengukuran	Kisaran Optimum
Suhu (°C)	29-33,5	23-33 (Haliman dan Adijaya, 2005)
Salinitas (ppm)	5-10	10-15 (Briggs <i>et al.</i> , 2004)
pH	7-9	6 - 9 (Amri dan Kanna, 2008)
Oksigen terlarut (ppm)	5,55-7,36	4 - 8 (Amri dan Kanna, 2008)
Amonia (ppm)	0,03-0,07	<0,1 (Amri dan Kanna, 2008)

Kualitas air selama penelitian menunjukkan kisaran yang masih bisa ditoleransi oleh udang vanname, sehingga ketahanan tubuhnya tidak dipengaruhi oleh kualitas air.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Perendaman udang vaname dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* selama 3 jam dapat meningkatkan respon imun udang vaname yang dilihat dari meningkatnya THC dan DHC sebelum dan sesudah infeksi WSSV serta meningkatkan kelulushidupan udang vaname.
2. Dosis optimal ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebagai bahan imunostimulan melalui perendaman ditinjau dari THC dan DHC adalah 300 mg/l.

4.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah:

1. Ekstrak *Gracilaria verrucosa* dapat digunakan sebagai alternatif bahan imunostimulan dalam upaya pencegahan virus WSSV pada budidaya udang vaname.
2. Perlu dilakukan penelitian dan kajian lebih lanjut mengenai dosis, frekuensi pengamatan dan waktu perendaman sehingga dapat diketahui dosis dan waktu perendaman yang paling tepat untuk mendapatkan hasil terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

- Amri, K dan I. Kanna. 2008. Budidaya Udang Vanname Secara Intensif. Agromeda Pustaka: Jakarta.
- Amrillah, A. M., S. Widyarti dan Y. Kilawati. 2015. Dampak Stres Salinitas Terhadap Prevalensi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) dan Survival Rate Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) pada Kondisi Terkontrol. 2 (1): 34-47.
- Briggs, M., S. F Smith, R. Subasinghe dan M. Philip. 2004. Introductions And Movement Of *Panaeus vannamei* and *Panaeus stylyrostris* In Asia And The Pacific. Food Agriculture Organization Of The United Nations, Regional Office For Asia And The Pacific. Bangkok. Thailand.
- Castro R., Mc. Piazzon, I. Zarra, J. Leiro, M. Noya, and J. Lamas. 2006. Stimulation Of Turbot Phagocytes By *Ulva rigidac*. Agardh Polysaccharides. Aquaculture 254:9-20.
- Dugger Dm., and De Jory. 1999. Bio-Modulation Of The Non-Specific Immune Response In Marine Shrimp With β -Glucan. Aquaculture Magazinen.1(25): 81-89.
- Effendie, M.I. 1997. Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusantara: Yogyakarta.
- Ekawati, A. W., H. Nursyam, E. Widjyanto dan Marsoedi. Diatomae *Chaetoceros ceratosporum* dalam Formula Pakan Meningkatkan Respon Imun Seluler Udang Windu (*Panaeus monodon* Fab.). J. Exp. Life Sci.2 (1): 20-28.
- Fariedah, F. 2010. Pengaruh Imunostimulan Outer Membrane Protein (OMP) *Vibrio alginolyticus* dan Infeksi *Vibrio harveyi* Terhadap DNA Mitokondria Udang Windu *Panaeus monodon* Fab. Tesis. Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya: Malang.
- Haliman, R. W. dan D. Adijaya. 2005. Udang Vanname, Pembudidayaan Dan Prospek Pasar Udang Putih yang Tahan Penyakit. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Hartinah. 2012. Respon Fisiologi Juvenil Udang windu, *Panaeus monodon*, Fabricius, pada Bobot dan Densitas Pemeliharaan yang Berbeda. Disertasi pada Pascasarjana Universitas Hasanuddin: Makassar
- Jasmanindar, Y. 2009. Penggunaan Ekstrak *Gracilaria verrucosa* Untuk Meningkatkan Sistem Ketahanan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). Thesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor : Bogor.
- Johny, F. Roza, D. K. Mahardika. Zafran dan A. Prijono. 2005. Penggunaan Immunostimulan Untuk Meningkatkan Kekebalan Nonspesifik Benih Ikan

- kerapu Lumpur, *Epinephelus coioides*. Terhadap infeksi Virus irido. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. 9 (5): 75-83.
- Kurniaji, A. 2015. Pengamatan *Total Hemocyte Count* (THC), *Diferensial Hemocyte Count* (DHC), *Phenoloxidase* dan Lisosim Pada Krustasea dan Moluska. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Mahardika, K., Zafran dan I. Koesharyani. 2004. Deteksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) Pada Udang Windu (*Penaeus monodon*) di Bali dan Jawa Timur Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. 10 (1): 55-60.
- 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.
- Prajitno, A. 2008. Virus Penyakit Ikan/Udang: Virus. Penerbit Universitas Negeri Malang: Malang. 106 Hlm.
- Rahma H.N., S. B. Prayitno dan A. H. C. 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 3(3): 25-34.
- Saraswati, E. 2013. Respons Imun Udang Putih *Litopenaeus vannamei* Dengan Pemberian Ekstrak *Chaetoceros ceratosporum* Terhadap *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV). Disertasi. FPIK UB: Malang.
- Saraswati, E. 2014. Status Kesehatan Udang *Litopenaeus vannamei* yang Diinjeksi Ekstrak *Chaetoceros ceratosporum*. Seminar Nasional Tahunan Penelitian Perikanan dan Kelautan. Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.
- Selvin J., A.J. Huxley & A.P. Lipton, 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 And Shellfish Immunology, 15(1): 71-90.
- Truong-Giang Huynh, Su-Tuen Yeh, Yong-Chin Lin, Jeng-Feng Shyu, Li-Li Chen and Jiann-Chu Chen. 2011. White shrimp *Litopenaeus vannamei* immersed in seawater containing *Sargassum hemiphyllum* var. *chinense* powder and its extract showed increased immunity and resistance against *Vibrio alginolyticus* and *white spot syndrome virus*. Fish & Shellfish Immunology 31: 286-293.
- Van de Braak, C.B.T., M.H.A. Botterblom, E.A. Huisman, J.H.W.M. Rombout and 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., S. H. Sholeh dan S. Nuryati. 2006. Pencegahan Infeksi Virus White Spot Syndrome Virus (WSSV) Pada Udang Windu *Penaeus monodon* dengan Cairan Ekstrak Pohon Mangrove (CEPM) *Avicennia* sp. dan *Sonneratia* sp. Jurnal Akuakultur Indonesia. 5(1):65-75.
- Widanarni, D., Yuniastri, Sukenda dan J. Ekasari. 2010. Nursery Culture Performance of *Litopenaeus vannamei* with Probiotics Addition and Different C/N Ratio Under Laboratory Condition. Journal of Bioscience. 17(3): 115-119.
- Widyantoko, W., Pinandoyo dan V. E. Herawati. 2015. Optimalisasi Penambahan Tepung Rumput Laut Coklat (*Sargassum* sp.) yang Berbeda Dalam Pakan Terhadap Pertumbuhan Dan Kelulushidupan Juvenil Udang Windu (*Penaeus monodon*). Journal Of Aquaculture Management And Technology. 4(2): 9-17.