

**SUPLEMENTASI ASAM ALGINAT *Padina* sp. DARI PERAIRAN
LAMPUNG UNTUK MENINGKATKAN RESPON IMUN NONSPESIFIK
UDANG VANAME *Penaeus vannamei* (Boone, 1931)**

(Skripsi)

Oleh

**IDHAM KHALID
1614111007**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

ABSTRAK

SUPLEMENTASI ASAM ALGINAT *Padina* sp. DARI PERAIRAN LAMPUNG UNTUK MENINGKATKAN RESPON IMUN NONSPESIFIK UDANG VANAME *Penaeus vannamei* (Boone, 1931)

Oleh

Idham Khalid

Alginat merupakan polisakarida pada dinding sel rumput laut cokelat yang berfungsi untuk mempertahankan struktur jaringan dalam sel. Beberapa jenis alginat dari alga cokelat telah diteliti dan memiliki aktivitas imunomodulator pada udang, sedangkan kajian secara khusus asam alginat *Padina* sp. yang berasal dari perairan Lampung belum dilakukan dalam memicu respon imun udang vaname. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas suplementasi asam alginat *Padina* sp. dari perairan Lampung dalam pakan guna meningkatkan respon imun non-spesifik udang vaname. Penelitian ini menggunakan percobaan rancangan acak lengkap dengan 3 perlakuan masing-masing 4 ulangan, yaitu perlakuan A kontrol perlakuan B (penambahan asam alginat 2 g/kg pakan); dan perlakuan C (penambahan asam alginat 4 g/kg pakan). Penelitian ini dilakukan selama 14 hari masa pemeliharaan dengan parameter yang diamati yaitu *total haemocyte count* (THC); aktivitas fagositosis (AF); indeks fagositosis (IF); total protein plasma (TPP); dan histologi hepatopankreas. Hasil data hematologi dianalisis dengan uji Anova dengan selang kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Pengambilan sampel dilakukan sebelum diberikan perlakuan ketujuh dan keempat belas, sedangkan sampel histologi diambil setelah perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian suplementasi asam alginat *Padina* sp. dengan dosis 2g/kg pakan dan 4g/kg pakan memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap *total haemocyte count* (THC) sebesar $13,4 \times 10^6$ sel/ml pada hari keempat belas, indeks fagositosis (IF) dengan nilai (1,25-1,96) dan total protein plasma pada pengamatan pada hari ketujuh (169,5-174,4 mg/ml) dan pada hari keempat belas (422,5 mg/ml) untuk pengamatan aktivitas fagositosis (AF) menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) Berdasarkan hasil penelitian suplementasi asam alginat *Padina* sp dari perairan Lampung terbukti cukup efektif dalam meningkatkan respon imun nonspesifik udang vaname.

Kata kunci : Asam alginat, alga cokelat, *Padina* sp., *Penaeus vannamei*, Suplementasi.

ABSTRACT

THE SUPPLEMENTATION OF ALGINIC ACID *Padina* sp. FROM LAMPUNG WATERS TO IMPROVE NONSPECIFIC IMMUNE RESPONSE OF VANAME SHRIMP *Penaeus vannamei* (Boone, 1931)

By

Idham Khalid

Alginate is a polysaccharide on the cell wall of brown seaweed that serves to maintain the tissue structure in the cell. Several types of alginate from brown algae have been studied and have immunomodulatory activity in shrimp, while studies specifically alginic acid *Padina* sp. Those originating from the waters of Lampung have not been done in triggering the immune response of vaname shrimp. This study aimed to test the effectiveness of *Padina* sp. alginic acid supplementation from the waters of Lampung in feed to increase the nonspecific immune response of vaname shrimp. This study used a completely randomized design experiment with 3 treatments each of 4 repeats, namely treatment A (control); treatment B (addition of alginic acid 2 g/kg of feed); and treatment C (addition of alginic acid 4 g/kg of feed). This study was conducted during the 14 day maintenance period with the observed parameters of total haemocyte count (THC); phagocytosis (AF) activity; phagocytosis index (IF); total plasma protein (TPP) and histology of he-patopancreas. The results of hematology data were analyzed with the Anova test with a 95% confidence interval and continued with the duncan test. Sampling is done before treatment, seventh and fourteenth days while histological samples are taken after treatment. The results showed that the supplementation of alginic acid *Padina* sp. with a dose of 2g/kg of feed and 4g/kg feed, provides a real influence ($P < 0,05$) total haemocyte count (THC) of 13.4×10^6 cells/ml on the fourteenth day, the phagocytosis index (IF) with a value (1.25-1.96) and total plasma protein on observation on the seventh day (169.5-174.4 mg/ml) and on the fourteenth day (422.5 mg/ml) for observation of phagocytosis activity (AF) showed no real di-sure result ($P > 0.05$). Based on the results of research supplementation of alginic acid *Padina* sp. from Lampung waters proved to be quite effective in improving the immune response of nonspecific vaname shrimp.

Keywords: *Alginic acid, brown algae, Padina* sp., *Penaeus vannamei*, *supplementation*

**SUPLEMENTASI ASAM ALGINAT *Padina* sp. DARI PERAIRAN
LAMPUNG UNTUK MENINGKATKAN RESPON IMUN NONSPESIFIK
UDANG VANAME *Penaeus vannamei* (Boone, 1931)**

Oleh

IDHAM KHALID

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERIKANAN**

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : SUPLEMENTASI ASAM ALGINAT *Padina* sp. DARI PERAIRAN LAMPUNG UNTUK MENINGKATKAN RESPON IMUN NONSPESIFIK UDANG VANAME *Penaeus vannamei* (Boone, 1931)

Nama Mahasiswa : Adham Khalid

Nomor Pokok Mahasiswa : 1614111007

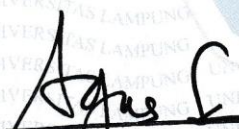
Program Studi : Budidaya Perairan

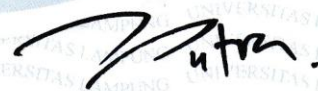
Jurusan : Perikanan dan Kelautan

Fakultas : Pertanian


MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.
NIP. 198408052009121003


Dr. Yudha T. Adiputra, S.Pi., M.Si.
NIP. 197807082001121001

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan

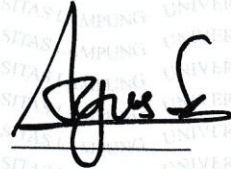

Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.
NIP. 197008151999031001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.



Sekretaris


: Dr. Yudha T. Adiputra, S.Pi., M.Si.



Penguji

Bukan Pembimbing

: Ir. Siti Hudaidah, M.Sc.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

NIP. 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 23 September 2021

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik Sarjana baik di Universitas Lampung maupun perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan naskah, dengan naskah disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan dan kesalahan dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Bandar Lampung, 21 Desember 2021

Yang Membuat Pernyataan,



Idham Khalid
NPM. 1614111007

LEMBAR KHUSUS

Penelitian ini merupakan bagian dari Hibah Penelitian Dasar BLU Universitas Lampung Tahun 2020 No. 1381/UN26.21/PN/2020 a.n Ir. Siti Hudaidah, MSc

RIWAYAT HIDUP



Idham Khalid lahir di Desa Sukaratu, Kecamatan Pagelaran, Pringsewu, 30 Juli 1998. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara, putra dari pasangan Bapak Hamami Madian dan Ibu Hikmawati. Riwayat pendidikan penulis dimulai di SD Negeri Sukaratu pada tahun 2004-2010, kemudian dilanjutkan di SMP Negeri 1 Pagelaran pada tahun 2010-2013 dan SMA Negeri 1 Pagelaran pada tahun 2013-2016. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan kejenjang Perguruan Tinggi di program studi Budidaya Perairan Jurusan Perikanan dan Kelautan Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNM-PTN) pada tahun 2016 dan menyelesaikan studinya pada tahun 2021. Selama masa studi penulis aktif di berbagai organisasi kemahasiswaan yaitu Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik) sebagai anggota bidang Penelitian dan Pengembangan periode 2017-2018, Forum Studi Islam Fakultas Pertanian (Fosi FP) sebagai kepala bidang Akademik dan Profesi periode 2018-2019 dan Dewan Perwakilan Mahasiswa (DPM) Universitas Lampung sebagai Ketua Komisi I Kelembagaan 2019-2020. Selain itu penulis juga aktif sebagai asisten praktikum mata kuliah yaitu, Biologi Akuatik 2017/2018, Fisiologi Hewan Air 2017-2018, Fisiologi Reproduksi Hewan Air 2018/2019, Genetika Ikan pada 2018-2019, dan Penyakit dan Parasit Organisme Akuatik 2019/2020.

Pada tahun 2019 bulan Januari-Februari penulis mengikuti program Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Kedaton, Kecamatan Kasui, Kabupaten Way Kanan Provinsi Lampung. Ditahun yang sama penulis mengikuti Praktik Umum pada Bulan

Juli-Agustus di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung (BBPBL), Pesawaran Lampung dengan Judul “Teknik Pembenihan Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung”. Penulis melakukan penelitian untuk tugas akhir pada bulan Januari-Maret 2020 di Tambak Batu Payung Tarahan, Lampung Selatan dan Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. dengan judul “Suplementasi Asam Alginat *Padina* sp. dari Perairan Lampung untuk Meningkatkan Respon Imun Nonspesifik Udang Vaname *Penaeus vannamei* (Boone, 1931)”.

PERSEMBAHAN

Dengan penuh rasa syukur dan atas nikmat serta hidayat Allah SWT, saya mempersembahkan skripsi ini untuk kedua orang tua saya, yaitu Hamami Madian dan Hikmawati serta keluarga yang saya sayangi. Berkat doa yang tak terputus, keikhlasan, dukungan serta pengorbanannya sehingga penulis mampu mengerjakan skripsi ini dan mendapatkan gelar sarjana.

Kedua saudara kandungku, Farhan Milka Alpiyan dan Czi Elvanza, yang selalu memberikan doa, semangat, dan dukungan kepada Kakaknya agar segera menyelesaikan masa studinya.

Sahabat dan teman-teman satu seperjuangan Jurusan Perikanan dan kelautan yang selalu memberikan semangat, dukungan dan doa untuk saya.

Almamaterku tercinta, Universitas Lampung

MOTTO

خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمْ لِلنَّاسِ

*“Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia”
(HR. Ahmad, ath-Thabrani, ad-Daruqutni. Hadits ini dihasankan oleh
al-Albani di dalam Shahihul Jami’ no:3289)”*

*“Barang siapa menempuh satu jalan (cara) untuk mendapatkan ilmu,
maka Allah pasti mudahkan baginya jalan menuju surga” (H.R.
Muslim)”*

SANWACANA

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan nikmat, rahmat serta hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Suplementasi Asam Alginat *Padina* sp. dari Perairan Lampung untuk Meningkatkan Respon Imun Nonspesifik Udang Vaname *Penaeus vannamei* (Boone, 1931)” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Universitas Lampung.

Dalam penulisan skripsi ini penulis telah banyak mendapat bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih dengan setulus hati kepada pihak-pihak berikut:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si., selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
3. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D., selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
4. Limin Santoso, S.Pi., M.Si., selaku dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan saran dan arahan kepada saya sehingga mampu menyelesaikan proses perkuliahan dengan lancar.
5. Dr. Agus Setyawan, S. Pi., M.Si., selaku Pembimbing Utama yang telah sabar memberikan bimbingan, dukungan, masukan berupa kritik dan saran dalam proses penelitian dan penyelesaian skripsi.
6. Dr. Yudha T. Adiputra, S.Pi., M.Si., selaku Pembimbing Kedua yang senantiasa memberikan bimbingan, motivasi, kritik dan saran sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini dengan optimal.

7. Ir. Siti Hudaidah M.Sc., selaku Dosen Penguji yang senantiasa memberikan waktu, dukungan, pemahaman, kritik dan saran.
8. Seluruh dosen dan staf Jurusan Perikanan dan Kelautan, yang telah mendukung dan membantu kelancaran selama perkuliahan dan penyelesaian skripsi.
9. Bapak Mulyono selaku Manajer Teknis Tambak Batu Payung Tarahan yang telah mengizinkan penulis melakukan penelitian di tambak.
10. Kedua orang tua, Ayah Hamami Madian dan Ibu Hikmawati, yang sudah membesarkan penulis dengan penuh kasih sayang, memberikan dukungan, motivasi, semangat, dan doa demi kelancaran dan kesuksesan penulis.
11. Cynthia Andhini Destynariyah sebagai pasangan yang selalu menemani, mendukung dan memotivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
12. Tim penelitian Aji Hendarko, Ervi Nurwidiawati, Harsi Dwi Widyastuti, Kiki Indah Lestari, Linda Permata Hati, Riana, dan Yesica Bella Safitri yang telah memberikan dukungan, bantuan, dan kerjasamanya selama penelitian.
13. Teman-teman seperjuangan Muhammad Nirwan, Dzaky Eko, Aji Hendarko, Herdian, Rulio Reggy Petra serta seluruh keluarga Baracuda 2016 yang tidak bisa disebutkan satu per satu yang selalu membantu dan mendukung penulis selama ini.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
DAFTAR ISTILAH	vi
DAFTAR SINGKATAN	viii
I. PENDAHULUAN	
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Tujuan Penelitian	3
1.3.Manfaat Penelitian	3
1.4.Kerangka Penelitian	3
1.5.Hipotesis.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1.Udang Vaname (<i>Penaeus vannamei</i>).....	8
2.1.1. Klasifikasi Udang Vaname (<i>Penaeus vannamei</i>).....	8
2.1.2. Morfologi Udang Vaname (<i>Penaeus vannamei</i>).....	9
2.1.3. Habitat Udang Vaname (<i>Penaeus vannamei</i>).....	9
2.1.4. Sistem Pertahanan Pada Udang.....	10
2.2. <i>Padina</i> sp.	11
2.2.1. Klasifikasi dan Morfologi <i>Padina</i> sp.	11
2.2.2. Senyawa Kimia <i>Padina</i> sp.....	12
2.2.3. Asam Alginat.....	13
2.2.4. Imunostimulan.....	14
III. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1.Waktu dan Tempat	16
3.2.Alat dan Bahan.....	16
3.3.Rancangan Penelitian	18
3.4.Prosedur Penelitian.....	19

3.4.1. Koleksi <i>Padina</i> sp.	19
3.4.2. Ekstraksi Asam Alginat.....	19
3.4.3. Persiapan Wadah Penelitian	19
3.5. Pelaksanaan Penelitian	20
3.5.1. Uji Coba Pakan.....	20
3.5.2. Pengambilan Hemolymph	20
3.6. Parameter yang Diamati	20
3.6.1. <i>Total Haemocyte Count (THC)</i>	20
3.6.2. Aktivitas Fagositosis atau Indeks Fagositosis (AF/IF).....	21
3.6.3. Total Protein Plasma.....	21
3.6.4. Kualitas Air Pemeliharaan.....	22
3.7. Analisis Data	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Rendemen Alginat <i>Padina</i> sp.	23
4.2. <i>Fourier Transform Infra Red (FT-IR)</i> Asam Alginat <i>Padina</i> sp.....	24
4.3. <i>Total Haemocyte Count (THC)</i>	25
4.4. Aktivitas Fagositosis (AF).....	26
4.5. Indeks Fagositosis (IF)	28
4.6. Total Protein Plasma (TPP).....	29
4.7. Histologi Hepatopankreas	31
4.8. Kualitas air	32
V. SIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Simpulan	33
5.2. Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat-alat penelitian.....	15
2. Bahan-bahan penelitian	15
3. Hasil analisis gugus fungsi asam alginat <i>Padina</i> sp.	23
4. Kualitas air udang vaname (<i>Penaeus vannamei</i>)	32
5. Data <i>total haemocyte count</i> (THC)	44
6. Data aktifitas fagositosis (AF)	45
7. Data indeks fagositosis (IF)	46
8. Data total protein plasma (TPP).....	47
9. Uji normalitas data <i>total haemocyte count</i> (THC).....	53
10. Uji homogenitas data <i>total haemocyte count</i> (THC)	53
11. Uji Anova data <i>total haemocyte count</i> (THC)	54
12. Uji lanjut duncan data <i>total haemocyte count</i> (THC)	54
13. Uji normalitas data aktivitas fagositosis (AF).....	55
14. Uji homogenitas data aktivitas fagositosis (AF)	56
15. Uji Anova data aktivitas fagositosis (AF)	56
16. Uji normalitas data indeks fagositosis (IF)	57
17. Uji homogenitas data indeks fagositosis (IF).....	57
18. Uji Anova data indeks fagositosis (IF)	58
19. Uji normalitas data total protein plasma (TPP).....	58
20. Uji homogenitas data total protein plasma (TPP).....	59
21. Uji Anova data total protein plasma (TPP).....	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema kerangka pikir penelitian.....	5
2. Morfologi udang vaname (<i>Penaeus vannamei</i>)	8
3. <i>Morfologi Padina</i> sp.	11
4. Tata letak wadah penelitian udang vaname (<i>Penaeus vannamei</i>)	17
5. Spektrum FTIR asam alginat dari <i>Padina</i> sp	23
6. <i>Total haemocyte count</i> (THC) udang vaname (<i>Penaeus vannamei</i>).....	24
7. Aktivitas fagositosis (AF) udang vaname (<i>Penaeus vannamei</i>)	26
8. Indeks fagositosis (IF) udang vaname (<i>Penaeus vannamei</i>).....	28
9. Total protein plasma (TPP) udang vaname (<i>Penaeus vannamei</i>).....	29
10. Histologi hepatopankreas udang vaname (<i>Penaeus vannamei</i>).....	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data statistik penelitian.....	44
2. Perhitungan pakan penelitian.....	48
3. Pembuatan larutan.....	49
4. Pengambilan hemolim dan pengamatan THC.....	51
5. Uji total protein plasma (TPP).....	52
6. Data hasil uji SPSS.....	53

DAFTAR ISTILAH

- Alginat : Polisakarida alam yang umumnya terdapat pada dinding sel dari semua spesies alga cokelat (*Phaeophyta*).
- Antibiotik : Zat kimia yang dihasilkan oleh berbagai mikroorganisme, bakteri tertentu, fungsi dari antibiotik untuk menghambat pertumbuhan atau menghancurkan bakteri atau berbagai mikroorganisme yang lain.
- Anti koagulan : zat yang digunakan untuk menghambat proses pembekuan darah.
- Antioksidan : Molekul yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi molekul lain.
- Ekstraksi : Suatu proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan yang berbeda.
- Fagositosis : Suatu proses di mana sel fagosit menelan atau menggulung sel-sel asing baik yang bersifat patogen.
- Fagosit : Sel yang dapat memakan material padat atau antigen yang masuk ke dalam tubuh organisme
- Haemosianin : Pengganti dari hemoglobin dalam tubuh udang, hemosianin merupakan protein yang mengandung senyawa Cu dan senyawa ini berfungsi untuk mengangkut oksigen ke seluruh tubuh.
- Imunostimulan : Bahan yang dapat meningkatkan kerja komponen-komponen sistem imun.
- Imun Nonspesifik: Sistem imun bawaan yang secara nonselektif mempertahankan tubuh dari benda asing atau antigen apapun jenisnya, bahkan meskipun baru pertama kali terpapar

- Molting : Proses pergantian kulit yang kompleks dan dikendalikan oleh hormon-hormon tertentu dalam tubuh dalam jangka waktu tertentu.
- Patogen : Agen biologis yang menyebabkan penyakit pada inangnya
- Respon imun : Respon yang ditimbulkan dari sel-sel dan molekul penyusun sistem imunitas terhadap substansi asing (antigen).
- Suplementasi : Senyawa tertentu yang dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun nonspesifik

DAFTAR SINGKATAN

TTP	:	Total protein plasma
AF	:	Aktivitas fagositosis
IF	:	Indeks fagositosis
KKP	:	Kementerian Kelautan dan Perikanan
THC	:	Total haemocyte count
HCl	:	Asam klorida
CaCl ₂	:	Kalsium chloride
H ₂ O	:	Hidrogen dioksida
DO	:	Dissolved oxygen
pH	:	Potensial hidrogen
LPS	:	lipopolisakarida

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Alginat merupakan kelompok polisakarida pada dinding sel rumput laut dan memiliki fungsi untuk mempertahankan struktur jaringan dalam sel (Rasyid, 2010). Alginat secara alami terdapat pada semua jenis rumput laut cokelat. Indonesia memiliki keanekaragaman jenis rumput laut yang melimpah. Menurut Anggadiredja *et al.* (2006) jumlah rumput laut cokelat di Indonesia mencapai 134 jenis. Secara umum alginat banyak digunakan sebagai bahan aditif pada industri makanan, farmasi, dan obat-obatan (Pilnic *et al.*, 1985; Toft *et al.*, 1986). Kandungan alginat pada rumput laut cokelat biasanya dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu: jenis, kondisi lingkungan, musim saat panen, metode ekstrak yang digunakan, dan bagian rumput laut yang di ekstrak (Draget *et al.*, 2000; Mirshafiey *et al.*, 2009).

Padina sp. salah satu jenis rumput laut cokelat yang memiliki kandungan alginat di dalamnya dan dapat ditemukan dengan mudah di perairan Indonesia. *Padina* sp. memiliki bentuk yang bersegmen dengan lembaran tipis (lobus) yang didominasi oleh warna cokelat dan mempunyai garis beradial pada permukaan yang berbentuk kipas (*thallus*) (Geraldino *et al.*, 2005). Menurut Husni *et al.* (2012) rumput laut cokelat yang memiliki banyak kandungan alginat (*alginofit*) adalah jenis dari *Sargassum*, *Turbinaria*, *Padina* dan *Makrocystis*. *Padina* sp. berpotensi sebagai bahan antioksidan alami dan memiliki beberapa senyawa aktif di dalamnya, seperti flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid, saponin, fenolat dan pigmen seperti klorofil a, klorofil c, karotenoid, fukosantin, fukoxantol dan β -karoten (Sari, 2016). Menurut Izzati (2007) beberapa jenis rumput laut cokelat seperti *Sargassum* sp., *Caulerpa* sp., *Padina* sp. dan *Gelidium* sp. mengandung senyawa antibakteri yang dapat mencegah masuknya patogen. Namun, pemanfaatan dari rumput laut cokelat masih sangat terbatas sehingga belum banyak digunakan.

Beberapa penelitian menyatakan rumput laut cokelat memiliki potensi dalam hal pengendalian penyakit yaitu sebagai antitumor, meningkatkan aktivitas kemotaksis *macrophage*, menstimulasi aktivitas sekresi radikal oksigen dan fagositosis pada *peritoneal and splenic murine macrophage* (Castro et al., 2004).

Udang vaname merupakan salah satu komoditas unggulan untuk dibudidayakan di Indonesia. Salah satu faktor yang menghambat budi daya udang vaname yaitu adanya penyakit, baik yang disebabkan oleh bakteri atau virus. Nitimulyo, et al. (2005) menyatakan bakteri ataupun virus yang biasanya menyerang pada budi daya udang vaname *Vibrio alginolyticus*, *V. fluvialis*, *V. vulnificus*, dan *V. ordalii*. Udang memiliki sistem pertahanan alami yang bersifat nonspesifik terhadap organisme patogen. Menurut Lee et al. (2004) sistem imun pada udang pada dasarnya bergantung pada sistem imun non spesifiknya yang menjadi sistem pertahanan pada udang terhadap infeksi bakteri patogen maupun virus. Salah satu upaya dalam mengatasi pencegahan penyakit pada udang yaitu dengan meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang yang dapat dilakukan melalui pemberian imunostimulan, antibiotik, dan pemberian hormon (Johny et al., 2005).

Penggunaan imunostimulan pada udang menjadi pilihan yang sering dilakukan namun kelemahan dari penggunaan imunostimulan yaitu harganya yang relatif mahal sehingga perlu imunostimulan yang murah dan mudah penanganannya. Salah satu solusinya, yaitu pemberian alginat yang terdapat pada jenis rumput laut cokelat. Alginat dapat dihasilkan dengan mengisolasi rumput laut cokelat melalui proses perendaman dalam larutan natrium karbonat kemudian dilanjutkan dengan metode asam atau metode kalsium (Hernandez, 2013). Metode asam bertujuan untuk menghidrolisis dinding sel rumput laut yang terdiri dari selulosa, ligin, dan algin. Proses hidrolisis akan merusak struktur dinding sel sehingga membuka ruang antar dinding sel dan memperbesar proses berdifusinya pelarut saat proses ekstraksi (Osvaldo, 2012). Penggunaan alginat sebagai imunostimulan alami pernah dilakukan pada penelitian sebelumnya, yaitu pada jenis *Padina* sp (Rasyid, 2007; Mushollaeni et al., 2011).

Ekstrak dari *Padina* sp. diketahui mempunyai kandungan alginat dan memiliki aktivitas kemotaksis yang berguna menstimulasi aktivitas sekresi radikal oksigen dan fagositosis pada *peritoneal* (Ridho dan Pramesti, 2009). Yudiati *et al.* (2016) pada penelitiannya menyatakan suplementasi alginat dari rumput laut cokelat dapat meningkatkan respon imun udang vaname. Li *et al.* (2006) melaporkan bahwa pemberian alginat 2 g/kg pakan secara oral pada udang meningkatkan aktivitas fagositosis seluler, sedangkan pada penelitian Cheng *et al.* (2005) penerapan alginat pada 2 g/kg pakan dapat meningkatkan sistem imun udang dan kelangsungan hidup udang vaname. Namun, kurangnya informasi tentang pemanfaatan dari *Padina* sp. serta penggunaan alginat yang paling efektif untuk udang sehingga perlu dilakukan kajian mengenai penggunaan bahan rumput laut cokelat *Padina* sp. dengan di ekstrak dan menghasilkan asam alginat sebagai imunostimulan guna meningkatkan respon imun nonspesifik pada udang vaname (*Penaeus vannamei*).

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektifitas suplementasi asam alginat *Padina* sp. dari perairan Lampung melalui pemberian pakan guna meningkatkan respon imun nonspesifik pada udang vaname (*Penaeus vannamei*).

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian diharapkan pembudidaya udang vaname dapat mengaplikasikan dan memberi pengetahuan serta informasi terbaru bahwa suplementasi dari ekstrak asam alginat *Padina* sp. dapat meningkatkan respon imun nonspesifik pada udang vaname (*Penaeus vannamei*).

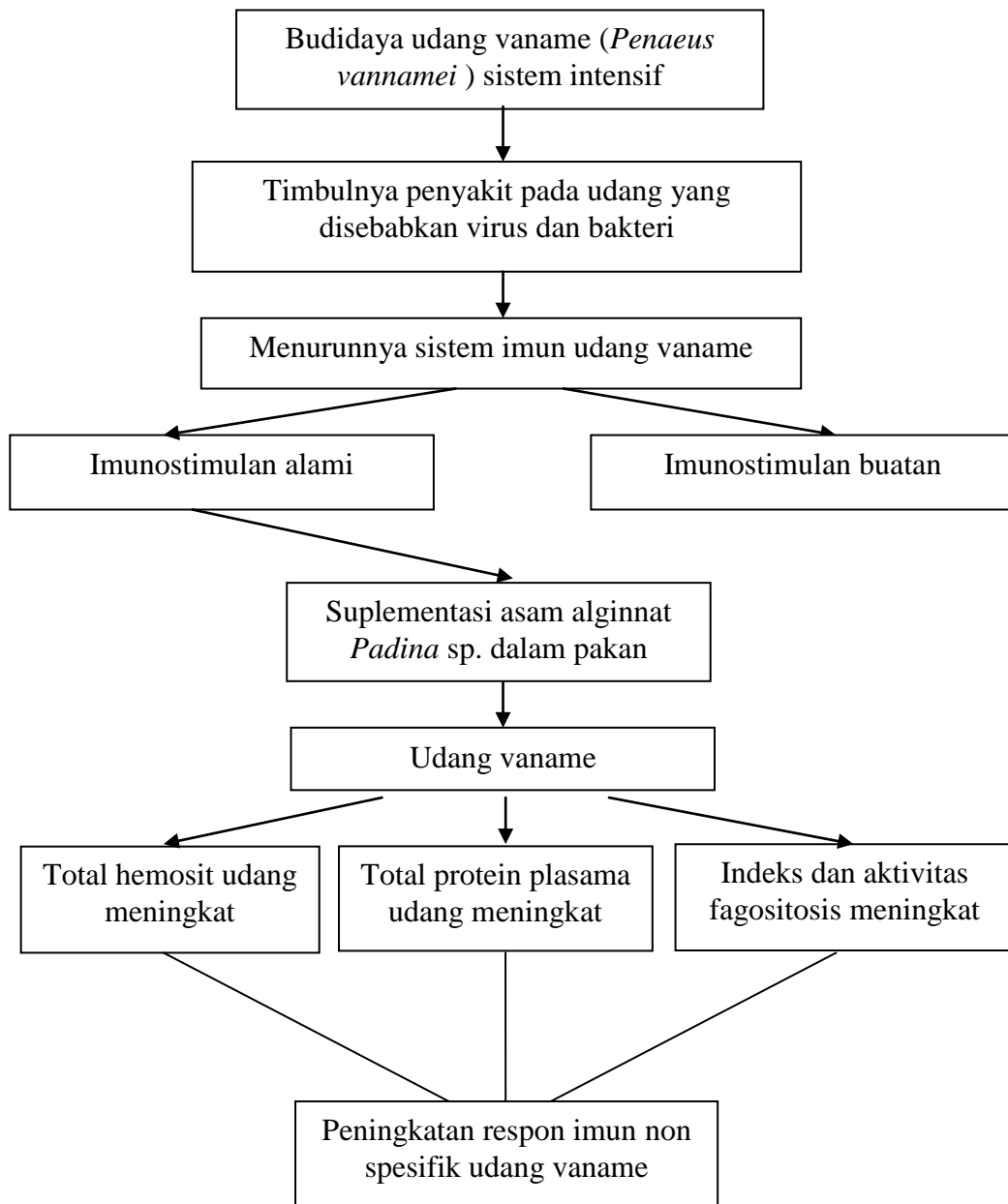
1.4. Kerangka Pemikiran

Udang vaname merupakan komoditas unggulan di Indonesia. Peningkatan kegiatan budidaya udang di Indonesia semakin meningkat dan berkembang. Selain itu tingginya permintaan pasar secara tidak langsung memberikan pengaruh terhadap pembudidaya udang untuk meningkatkan hasil produksinya. Salah satu cara meningkatkan hasil produksinya yaitu dengan mengembangkan sistem budi daya

udang secara intensif. Namun, semakin tinggi hasil produksi akan menyebabkan semakin tinggi ancaman yang ditimbulkan, antara lain timbulnya penyakit, baik yang disebabkan oleh bakteri atau virus. Selama ini penanganan terhadap penyakit pada udang belum dilakukan secara maksimal.

Secara umum penyakit pada udang dapat dicegah dengan memberikan zat atau senyawa yang dapat meningkatkan sistem imun udang atau sering disebut sebagai imunostimulan. Pemberian imunostimulan pada udang dapat menggunakan bahan kimia atau bahan alami. Penggunaan bahan kimia memiliki harga yang relatif mahal dan sering menyebabkan residu di dalam tubuh udang sehingga penggunaan bahan kimia belum terlalu efektif. Salah satu upaya dalam pencegahan penyakit pada udang melalui penggunaan bahan alami yaitu dengan menggunakan rumput laut. Rumput laut merupakan alga multiseluler yang di dalamnya diketahui memiliki substansi yang aktif secara imunologi.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa rumput laut memiliki peluang dalam hal pengendalian penyakit. Rumput laut yang banyak diteliti dalam hal pengendalian penyakit adalah jenis dari rumput laut cokelat. Di dalam rumput laut cokelat memiliki kandungan senyawa yang dapat meningkatkan sistem imun pada udang vaname. Salah satu jenis rumput laut cokelat tersebut adalah *Padina* sp. *Padina* sp. tumbuh di pesisir pantai dan biasanya berada pada substrat batu karang, dan pasir. *Padina* sp. memiliki kandungan antioksidan alami dan beberapa senyawa aktif di dalamnya. Selain itu *Padina* sp. diketahui memiliki kandungan alginat dan fucoidan yang dapat sebagai pemicu imunitas pada udang. Oleh karena itu dilakukan penelitian menggunakan ekstrak dari *Padina* sp. asam alginat dengan metode asam yang di berikan secara oral ke udang. Dengan variable penelitian yaitu peningkatan jumlah sel hemosit, total protein plasma, dan aktivitas fagositosis serta indeks fagositosis. Berdasarkan kerangka pikir penelitian dapat di lihat pada Gambar 1 di bawah ini.



Gambar 1. Skema kerangka pikir penelitian

1.5. Hipotesis Statistik

a. Total Haemocyte Count (THC)

H0 : Semua $\tau_i = 0$

Pengaruh pemberian suplementasi asam alginat dari *Padina* sp. dengan komposisi yang berbeda pada pakan tidak berbeda nyata terhadap total haemocyte count (THC) udang vaname (*Penaeus vannamei*).

H1 : Minimal ada satu $\tau_i \neq 0$

Minimal ada satu pengaruh pemberian suplementasi asam alginat *Padina* sp. dengan komposisi yang berbeda pada pakan berbeda nyata terhadap total haemocyte count (THC) udang vaname (*Penaeus vannamei*).

b. Aktivitas Fagositosis (AF)

H0 : Semua $\tau_i = 0$

Pengaruh pemberian suplementasi asam alginat dari *Padina* sp. dengan komposisi yang berbeda pada pakan tidak berbeda nyata terhadap aktivitas fagositosis udang vaname (*Penaeus vannamei*).

H1 : Minimal ada satu $\tau_i \neq 0$

pengaruh pemberian suplementasi asam alginat *Padina* sp. dengan komposisi yang berbeda pada pakan berbeda nyata terhadap aktivitas fagositosis udang vaname (*Penaeus vannamei*).

c. Indeks Fagositosis (IF)

H0 : Semua $\tau_i = 0$

Pengaruh pemberian suplementasi asam alginat dari *Padina* sp. dengan komposisi yang berbeda pada pakan tidak berbeda nyata terhadap indeks fagositosis udang vaname (*Penaeus vannamei*).

H1 : Minimal ada satu $\tau_i \neq 0$

pengaruh pemberian suplementasi asam alginat *Padina* sp. dengan komposisi yang berbeda pada pakan berbeda nyata terhadap indeks fagositosis udang vaname (*Penaeus vannamei*)

d. Total Protein Plasma (TPP)

H0 : Semua $\tau_i = 0$

Pengaruh pemberian suplementasi asam alginat dari *Padina* sp. dengan komposisi yang berbeda pada pakan tidak berbeda nyata terhadap total protein plasma udang vaname (*Penaeus vannamei*).

H1 : Minimal ada satu $\tau_i \neq 0$

pengaruh pemberian suplementasi asam alginat *Padina* sp. dengan komposisi yang berbeda pada pakan berbeda nyata terhadap total protein plasma udang vaname (*Penaeus vannamei*).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Udang Vaname (*Penaeus vannamei*)

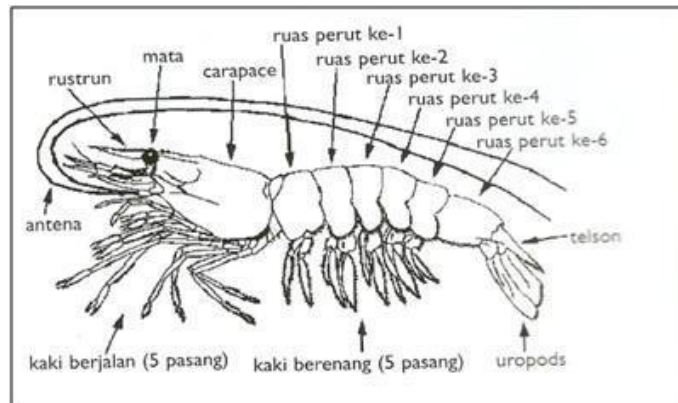
Udang vaname (*Penaeus vannamei*) atau yang sering dikenal sebagai udang putih menjadi jenis udang yang umum dibudidayakan di Indonesia dan salah satu komoditas introduksi (KKP, 2001). Habitat asli udang vaname berasal dari perairan Samudera Pasifik dan berkembang dengan baik di perairan Indonesia (Sukadi, 2002). Menurut Kumlu (2011) budidaya udang vaname (*Penaeus vannamei*) mengalami perkembangan yang signifikan di Indonesia khususnya pada 10 tahun terakhir. Udang vaname memiliki beberapa kelebihan untuk dibudidayakan salah satunya dapat hidup dengan padat tebar tinggi, tahan terhadap perubahan lingkungan budidaya, serta benur dapat ditebar pada *post larva* (PL) 6-7 hari (Fendjlang *et al.*, 2016).

2.1.1. Klasifikasi Udang Vaname

Udang vaname memiliki tubuh yang transparan, perubahan warna kulit udang vaname terjadi jika mengalami stres akibat perubahan lingkungan yang buruk menjadi warna putih kapas (Sa'adah, 2010). Pada bagian kepala terdapat mata majemuk yang bertangkai dan memiliki dua buah antena yaitu antena dan anten-nula yang keduanya memiliki fungsi sensorik. Bagian lain pada udang yaitu mandibula yang berfungsi sebagai alat untuk menghancurkan makanan yang keras dan terdapat dua pasang *maxilla* yang berfungsi membawa makanan ke mandibula (Prayugi, 2014). Klasifikasi dari udang vaname *Penaeus vannamei* menurut Ruswahyuni *et al.* (2010) adalah sebagai berikut:

Phylum : Arthropoda
Subphylum : Crustacea
Class : Malacostraca
Ordo : Decapoda

Famili : Penaeidae
 Genus : *Penaeus*
 Spesies : *Penaeus vannamei*



Gambar 2. Morfologi udang vaname (*Penaeus vannamei*)
 Sumber: (Prayugi, 2014).

2.1.2. Morfologi Udang Vaname (*Penaeus vannamei*)

Udang vaname merupakan jenis udang penaeidae tubuhnya terdiri dari beberapa segmen. Haliman dan Adijaya (2005) menyebutkan bahwa udang putih memiliki bentuk tubuh yang berlapis, dan adanya proses berganti kulit secara periodik, aktivitas ini disebut dengan *molting*. Bagian kepala udang vaname dilengkapi dengan tiga pasang *maxiliped* dan lima pasang kaki jalan (*peripoda*) atau kaki sepuluh (*decapoda*) (Kitani, 1994). Selain itu, terdapat bagian lainnya yaitu mandibula yang memiliki fungsi sebagai alat untuk menghancurkan makanan yang keras serta terdapat dua pasang *maxilla* yang berfungsi membawa makanan ke mandibula (Prayugi, 2014). Ukuran udang putih maksimal dapat mencapai 24 cm (betina) dan 20 cm (jantan) dengan warna tubuh yang khas ada bintik ke-merahan, transparan (bening), dan dengan permukaan kulit yang halus dan licin (Kitani, 1994).

2.1.3. Habitat Udang Vaname (*Penaeus vannamei*)

Habitat udang vaname muda berada di perairan payau, sedangkan untuk udang dewasa lebih sering berada di laut. Udang dewasa biasanya hidup berkelompok dan melakukan perkawinan, setelah betina melakukan pergantian cangkang (Wyban dan Sweeney, 2000). Kualitas perairan yang baik akan mendukung pertumbuhan dan perkembangan udang vaname secara optimal (Haliman dan Adijaya, 2005). Suhu optimal untuk pertumbuhan udang vaname adalah 26-32°C. Jika dalam ke-

adaan lingkungan yang suhunya diatas keadaan optimal maka metabolisme udang akan meningkat sehingga akan berbanding lurus dengan kebutuhan oksigen terlarut, sedangkan keadaan suhu di bawah optimal nafsu makan udang akan menurun (Wardoyo, 1997). Udang vaname (*Penaeus vannamei*) habitat aslinya berasal dari perairan samudera pasifik, namun spesies ini diintroduksi dan dapat dibudidayakan dengan baik di Indonesia (Sukadi, 2002). Menurut Fegan (2003), penyebaran udang di Asia dimulai pada tahun 1990, yaitu di Taiwan dan selanjutnya mulai melakukan penyebaran ke negara-negara Asia Tenggara yang lainnya termasuk Indonesia dan berkembang pesat pada tahun 2001-2002.

2.1.4. Sistem Pertahanan Pada Udang

Udang memiliki pertahanan secara alami yang bersifat non spesifik terhadap serangan organisme patogen, daya tahan ini dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan sehingga adanya tingkatan yang berbeda dalam strain, lingkungan pemeliharaan, spesies dan famili (Bellanti, 1989). Selain itu, menurut Lee *et al.* (2004) sistem imun udang tergantung pada proses pertahanan non spesifik sebagai pertahanan terhadap infeksi. Sistem pertahanan ini akan aktif ketika menerima rangsangan protein dan karbohidrat seperti lipopolisakarida, peptidoglikan, dan β -glukan yang biasanya dimiliki oleh bakteri, jamur, dan protozoa (Alifuddin, 2002; Wickins dan Lee, 2002). Sistem pertahanan pertama penyakit pada udang dilakukan oleh hemosit melalui fagositosis, enkapsulasi dan *nodule formation*. mengaktifkan sel fagositosis dapat dilakukan dengan mengaktifkan sistem prophenol oksidase (Pro-PO) yang letaknya di dalam hemosit semigranular dan granular (Selvin *et al.*, 2004).

Respon imun pada udang dibentuk oleh jaringan limfoid. Organ limfoid pada udang disebut sebagai organ oka. Organ oka pada udang terletak di depan hepatopankreas, dan terdiri dari dua lobus yang menyatu dan membentuk bulatan berwarna putih (Nuryati, 2000). Menurut Alifuddin (2002), bahwa organ oka terletak di dorso-anterior hepatopankreas dan ventro-lateral lambung anterior dan posterior. Fungsi dari organ oka sendiri sebagai tempat berkumpul benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh udang termasuk patogen (Prayugi, 2014).

Darah pada udang tidak mengandung hemoglobin, sehingga darah udang tidak berwarna merah, peranan dari hemoglobin sendiri digantikan dengan haemosianin.

Haemosianin adalah pengganti dari hemoglobin dalam tubuh udang, Haemosianin merupakan protein yang mengandung senyawa Cu yang berfungsi untuk mengangkut oksigen ke seluruh tubuh (Maynard, 1960). Sel hemosit pada udang memiliki fungsi sama seperti sel darah putih pada hewan vertebrata (Fariedah, 2010). Sel hemosit berperan dalam sistem imun non spesifik udang (Alifuddin, 2002). Udang memiliki respon imunitas non spesifik yang meliputi sistem pertahanan secara seluler dan humoral (Ode, 2013). Adanya peningkatan yang terdapat pada tubuh udang dapat diketahui dari meningkatnya aktivitas fagositosis pada sel hemosit (Putranti *et al.*, 2013). Proses fagositosis dimulai dengan adanya aktivitas dari pelekatan oleh sel fagosit selanjutnya dilakukan penelakan kedalam sel fagosit. Hemosit memiliki enzim yang diperlukan untuk mengatur kaskade proteolitik dalam penghentian rangsangan dan kerusakan jaringan yang dihasilkan oleh patogen.

2.2. *Padina* sp.

2.2.1. Klasifikasi dan Morfologi *Padina* sp.

Padina sp. merupakan salah satu jenis rumput laut dari kelas *Phaeophyta* dan termasuk jenis rumput laut cokelat. Menurut Rachmaniar (2005) Indonesia kaya akan berbagai makroalga antara lain *Rhodophyta*, *Phaeophyta* dan *Chlorophyta*, ketiga kelompok rumput laut tersebut keberadaannya masih melimpah di Indonesia. *Padina* sp. pada umumnya tersebar di perairan laut mulai perairan laut dangkal hingga perairan dalam. Ganggang ini berwarna kecokelatan dengan adanya kandungan talus didalamnya pigmen fikosantin (cokelat) dan xantofil, dan memiliki klorofil a dan c. Menurut Cribb (1996), *Padina* sp. memiliki habitat daerah pesisir pantai sekitaran batu karang, dan biasanya terdapat genangan air. Morfologi secara umum dari *Padina* sp. yaitu memiliki bentuk seperti kipas, membentuk segment lembaran tipis dengan warna cokelat kekuningan dan bagian atas lobus aga melebar (Nontji, Anugrah, 1993).



Gambar 3. Morfologi *Padina* sp.

Sumber : (Sun *et al.*, 2008).

Menurut Geraldino *et al.* (2005), beberapa dari genus *Padina* sp. memiliki segmen-segmen lembaran tipis (lobus). Lobus memiliki garis-garis berambut radial dan perkapuran yang di bagian atasnya adanya *thallus* yang memiliki bentuk seperti kipas. Tipe dari berbagai garis radial ini sebagai pembeda antara genus pada *Padina* sp. Selain itu, *Padina* sp. memiliki akar serabut yang disebut *holdfast* dan berfungsi untuk menahan posisi *Padina* sp. dari ombak (Karmana, 1987). Klasifikasi *Padina* sp. menurut Sun *et al.* (2008) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Eukaryota
 Filum : Heterokontophyta
 Kelas : Phaeophyceae
 Ordo : Dictyotales
 Famili : Dictyotaceae
 Genus : *Padina*
 Spesies : *Padina* sp.

2.2.2. Senyawa Kimia *Padina* sp.

Jenis makro alga *Padina* sp. memiliki potensi sebagai bahan anti mikroba dan anti oksidan alami yang memiliki kandungan senyawa aktif di dalamnya seperti flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid, saponin, fenolat dan beberapa kandungan pigmen seperti klorofil a, klorofil c, karotenoid, fukosantin, fukoxantol dan β -karoten (Sari, 2016). Senyawa steroid yang terdapat pada padina berfungsi untuk merusak membrane plasma pada sel mikroba sehingga menyebabkan bocornya sitoplasma keluar sel dan mengakibatkan kematian pada sel bakteri tersebut (Putra, 2007). Selain itu, ekstrak *Padina* sp. diketahui mempunyai aktivitas kemotaksis yang

berguna menstimulasi aktivitas sekresi radikal oksigen dan fagositosis pada *peritoneal* (Ridho dan Pramesti, 2009).

Penggunaan ekstrak *Padina* sp secara umum dimanfaatkan sebagai bahan anti-bakteri terhadap pengendalian bakteri vibrio (Salosso *et al.*, 2011). Bioaktivitas padina untuk imunostimulan memiliki senyawa dengan fungsi yang berbeda. Mekanisme kerja dari alkaloid yang terdapat di dalam *Padina* sp. yaitu dengan merusak komponen penyusun peptidoglikan yang terdapat pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak utuh dan menyebabkan kematian pada sel tersebut (Daršana, 2012). Senyawa saponin yang terdapat di dalam padina berfungsi menghambat dari pertumbuhan bakteri dengan menurunkan tegangan permukaan dan mengakibatkan senyawa intraseluler keluar (Nuria *et al.*, 2009).

2.3. Asam Alginat

Alginat merupakan salah satu kelompok polisakarida yang terbentuk dalam dinding sel alga cokelat, kadar rata-rata kandungan alginat alga cokelat mencapai 40% dari total berat kering dan alginat memegang peranan penting sebagai pertahanan struktur jaringan pada alga cokelat (Chapman, 1980). Hampir semua jenis alga cokelat memiliki kandungan alginat didalamnya, namun hanya beberapa jenis alga cokelat saja yang memiliki potensi di Indonesia untuk diolah yaitu *Sargassum* sp, *Hormophysa* sp, *Turbinaria* sp, dan *Padina* sp. Alginat diketahui memiliki kandungan serat yang dapat membersihkan sistem pencernaan serta melindungi permukaan membran lambung dan usus menurunkan konsentrasi kolesterol memberikan efek anti hipertensi, serta mempunyai aktivitas antioksidan (Murata dan Nakazoe, 2001).

Alginat adalah senyawa heteropolisakarida hasil pembentukan rantai monomer *mannuronic acid* (asam poly-D-mannuronat) dan *guluronic acid* (asam poly-L-guluronat) yang terbentuk dari dinding sel pada alga cokelat (*Phaeophyta*) (Basmal *et al.*, 2012; Sinurat dan Agustina 2012). Alginat pada dasarnya memiliki sifat yang tergantung atas tingkat polimerasi dan perbandingan komposisi guluronan dan manuronan dalam molekul. Asam alginat tidak larut dalam air dan akan mengendap pada keadaan yang asam dengan kisaran pH <3,5. Namun asam algi-

nat dapat larut dengan baik dengan pelarut dari alkohol dan tidak dapat larut dengan pelarut dari bahan organik (An Ullman's, 1998). Penggunaan asam alginat dalam bidang perikanan perlu diteliti lebih lanjut. Beberapa penelitian menyatakan bahwa asam alginat dapat meningkatkan sistem imun dan resistensi terhadap beberapa patogen pada ikan, dan udang. Pada penelitian terdahulu pemberian sodium alginat pada udang dengan dosis 10, 20, dan 50 $\mu\text{g/g}$ terbukti mengalami peningkatan aktivitas *phenoloxidase* dan *respiratory bursts*, hal ini meningkatkan sistem imun udang vaname dalam melawan bakteri *Vibrio alginolyticus* (Cheng *et al.*, 2004).

2.4. Imunostimulan

Imunostimulan merupakan substansi (obat dan nutrisi) yang dapat menstimulasi sistem imun untuk melawan infeksi yang disebabkan oleh virus dan bakteri. Pemberian imunostimulasi dilakukan dengan cara memberikan komponen mikrobial seperti β -glukan dan lipopolisakarida (LPS) dengan menggunakan sel bakteri yang telah dimatikan (Smith *et al.*, 2003). Imunostimulan alami biasanya dapat ditemukan pada tumbuhan yang mengandung bahan aktif di dalamnya yang mampu melawan serangan patogen atau bakteri yang masuk ke dalam tubuh salah satunya adalah dari rumput laut. Rumput laut merupakan salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai imunostimulan alami karena merupakan sumber senyawa bioaktif yang telah terdeteksi dalam alga hijau, alga cokelat dan alga merah yang memproduksi berbagai karakteristik metabolit sekunder dengan spektrum aktivitas yang luas. Selain itu, menurut Supriatna *et al.*, (2014), rumput laut mengandung berbagai senyawa aktif di dalamnya seperti fukoidan dari polisakarida. Dinding sel dari alga laut kaya akan polisakarida sulat (SPs) seperti karagenan memiliki banyak senyawa bioaktif menguntungkan (Febriani *et al.*, 2011).

Aplikasi penggunaan imunostimulan biasanya diberikan pada ikan dan udang. Menurut Smith *et al.* (2003) ada beberapa kriteria pemilihan imunostimulan untuk udang yaitu memiliki biaya yang relatif murah, pemberian perlakuan imunostimulannya mudah, bekerja secara efektif dan memiliki tingkat toksisitas yang rendah. Menurut Kordi (2010) penggunaan imunostimulan alami salah satu tero-

bosan yang baik guna meningkatkan sistem imun organisme perairan dan efektif dapat mengendalikan penyakit, aman, dan ramah lingkungan. Penggunaan bahan alami guna meningkatkan sistem imunitas tersebut terbukti mampu mengoptimalkan profil kesehatan hewan perairan di beberapa parameter, diantaranya *total hemosit count* (THC) dan aktivitas fagositosis (Felix *et al.* 2004; Yeh *et al.* 2006).

Kajian tentang penggunaan imunostimulan untuk udang pernah dilakukan pada penelitian sebelumnya. Penggunaan imunostimulan alami telah terbukti dapat meningkatkan aktivitas imunostimulan pada udang, jenis rumput laut yang digunakan *Ulva* sp., *Dendrilla* sp., *Spirulina* sp., *Enteromorpha* sp., *Dictyota* sp., dan *Porphyra* sp., (Castro *et al.*, 2004; Selvin *et al.*, 2004). Parameter yang dapat dilihat jika aplikasi pemberian imunostimulan dari rumput laut berhasil, yaitu (jumlah total hemoit) dan aktivitas fagositosis. Hemosit merupakan bentuk dari pertahanan tubuh pada udang secara selular, sel hemosit dapat mematikan penyebab infeksi dengan cara mensintesis dan eksositosis molekul bioaktif protein mikrobisidal (Smith *et al.*, 2003). Selain itu, menurut Yudiati *et al.* (2016), suplementasi alginat dari alga cokelat yang diberikan secara oral dapat meningkatkan respon imun udang vaname.

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Maret 2020 bertempat di Tambak Batu Payung Tarahan, Lampung Selatan, dan Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1 dan 2
Tabel 1. Alat-alat penelitian

No.	Nama Alat	Fungsi atau Kegunaan
1.	Kontainer	Wadah pemeliharaan udang
2.	Selang aerasi	Menyalurkan aerasi ke titik yang diinginkan.
3.	Batu aerasi	Meningkatkan level optimal oksigen pada kontainer.
4.	Syringe 1 cc	Pengambilan sampel <i>hemolymph</i> .
5.	Gelas ukur	Untuk menakar volume larutan yang digunakan.
6.	Waring	Menutup permukaan bak uji dan tandon.
7.	<i>Erlenmeyer</i>	Percampuran larutan dan bahan menyimpan media
8.	Timbangan digital	Untuk menimbang bahan yang akan digunakan.
9.	<i>Sentrifuge</i>	Memisahkan partikel-partikel zat (supernatan) berdasarkan berat molekul (endapan).
10.	Autoklaf	Mensterilkan alat dan bahan uji.
11.	Spektrofotometer	Mengukur absorbansi uji
12.	<i>Cover glass</i>	Penutup objek kaca preparat
13.	Spatula	Mengambil bahan saat proses menimbang
14.	<i>Freezer</i> (20°C)	Menyimpan sampel

Tabel 1. Alat-alat penelitian (lanjutan)

No	Nama alat	Fungsi atau kegunaan
15.	<i>Mikroplate</i>	Tempat sampel uji PO, SOD dan TPP.
16.	<i>Shacker</i>	Untuk menghomogenkan larutan.
17.	Termometer	Mengukur suhu.
18.	DO meter	Mengukur kadar oksigen terlarut di dalam air.
19.	pH meter	Mengetahui suatu larutan asam atau basa.
20.	Refraktometer	Mengukur kadar atau konsentrasi bahan terlarut berdasarkan indeks biasnya
21.	<i>Blower</i>	Menaikkan atau memperbesar tekanan udara yang akan dialirkan.
22.	Mikroskop	Pengamatan
23.	Kertas <i>whatman</i>	Penyaring hasil maserasi
24.	Toples kaca	Sebagai wadah perendaman alga cokelat/maserasi
25.	Corong kaca	Alat untuk memasukan HCl pada proses pengenceran dan penyaringan maserasi
26.	Plastik hitam	Menutup permukaan bak uji
27.	Tabung eppendorf	Menyimpan darah dan pengenceran
28.	Gelas ukur	Untuk menakar volume larutan yang digunakan
29.	Botol spray	Untuk mencampurkan <i>Padina</i> sp dan pakan
30.	<i>Evaporator</i>	Mengevaporasikan ekstrak
31.	<i>Waterbath</i>	Menciptakan suhu konstan dan menginkubasi
32.	Tabung falcon	Wadah proses sentrifuge
33.	<i>Haemocytometer</i>	Mengamati darah untuk uji THC
34.	Pipet tetes	Untuk meneteskan larutan
35.	Kaca preparat	Membuat preparat pengamatan
36.	Oven	Tempat mengeringkan ekstrak
37.	Elisa reader	Mendeteksi absorbansi sampel pada microtiter plate
38.	Vortex	Menghomogenkan larutan

Tabel 2. Bahan-bahan penelitian

No.	Nama Bahan	Fungsi atau Kegunaan
1	<i>Padina</i> sp.(bentuk tepung)	Untuk menghasilkan asam alginat
2	Etanol teknis 96%	Sebagai bahan proses depigmentasi
3	HCl	Digunakan pada tahap maserasi <i>Padina</i> sp.

Tabel 2. Bahan-bahan penelitian (lanjutan)

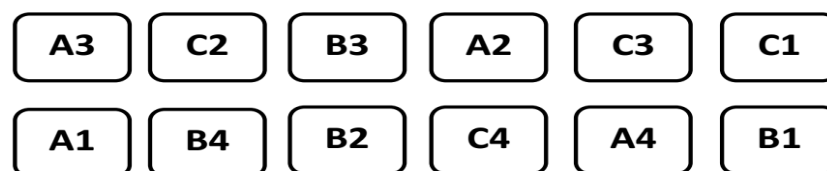
No	Nama bahan	Fungsi atau kegunaan
4	CaCl ₂	Digunakan untuk mendapatkan fucoidan mentah
5	Pakan komersil	Penggunaan pakan untuk pengujian asam alginat dari <i>Padina</i> sp
6	Udang vaname	Hewan uji
7	Disinfektan	Pergantian air sebagai media hidup
8	EDTA	Untuk pengujian THC
9	Giemsa 10%	Pewarnaan uji THC
10	Formalin 1%	Pelemah bakteri
11	NaCl	Untuk membilas preparat
12	Progol	Perekat pakan
13	<i>Bovine serum albumin</i>	Sebagai standar untuk uji TPP
14	<i>Reagen breadford</i>	Pengujian TPP
15	<i>Pospate bufer saline</i>	Pengenceran

3.3. Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 perlakuan dengan 4 ulangan seperti berikut :

- A : Kontrol (tanpa suplementasi alginat)
 B : Suplementasi asam alginat 2,0 g/kg pakan
 C : Suplementasi asam alginat 4,0 g/kg pakan

Berikut gambar susunan rancangan penelitian:



Gambar 4. Tata letak wadah penelitian udang vaname (*Penaeus vannamei*)

Keterangan :

- A1, A2, A3, A4 : Perlakuan A dan 1,2, 3,4 merupakan ulangan
 B1, B2, B3, B4 : Perlakuan B dan 1,2, 3,4 merupakan ulangan
 C1, C2, C3, C4 : Perlakuan C dan 1,2, 3,4 merupakan ulangan

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Koleksi *Padina* sp.

Sampel rumput laut cokelat *Padina* sp. dikumpulkan dari perairan Lampung pada Agustus 2019. Rumput laut yang sudah didapatkan, lalu dicuci dengan air tawar dan dikeringkan pada suhu ruang. Alga cokelat yang sudah kering lalu digiling sampai berukuran seperti tepung kemudian disimpan pada tempat yang aman dan kering.

3.4.2. Ekstraksi Asam Alginat

Ekstraksi asam alginat dilakukan dengan menggunakan metode asam menurut penelitian Setyawan *et al*, (2018). Sebelum diekstraksi terlebih dahulu tepung *Padina* sp. di timbang sebanyak 50 gram untuk dimaserasi dalam 0,1 N HCl (1:10m/v) selama 24 jam lalu sampel *Padina* sp. dimaserasi lagi dengan menggunakan 0,2 N HCl (1:10 m/v) di suhu 70 °C selama 2 jam. Dua ekstrak digabungkan dan disaring menggunakan kertas saring. Hasil ekstrak yang telah disaring selanjutnya diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 60°C untuk mendapatkan 100 ml volume hasil akhir ekstraksi. Selanjutnya hasil ekstrak ditambahkan dengan etanol dingin 96 % dan diinkubasi pada suhu dingin selama 24 jam. Sampel disentrifus pada kecepatan 3500 rpm dengan suhu 4°C selama 15 menit. Endapan yang dihasilkan dilarutkan dalam air suling pada pH 2, ditambah dengan CaCl₂ pada konsentrasi akhir 2 M dan disentrifus 3500 rpm dengan suhu 4°C selama 15 menit. Kemudian diambil pellet dari hasil sentrifus, pellet tersebut adalah asam alginat. Asam alginat yang diperoleh dikeringkan dengan oven lalu disimpan dan siap digunakan.

3.4.3. Persiapan Wadah Penelitian

Udang dipelihara dalam bak fiber ukuran 45 liter, diaklimatisasi pada suhu ruang selama tiga hari. Selama proses aklimatisasi, udang diberi pakan normal berupa pakan kontrol. Kemudian udang dipindahkan ke dalam 12 kontainer ukuran 45 liter dengan masing-masing kontainer plastik berisi 7 ekor udang vaname dan setiap kontainer diberi aerasi. Pastikan aerasi selalu dalam posisi hidup. Proses pergantian air laut yang digunakan pada setiap wadah dilakukan setiap hari dengan kisaran pergantian air mencapai 30%.

3.5. Pelaksanaan Penelitian

3.5.1. Uji Coba Pakan

Udang dipelihara dalam bak fiber dengan ukuran 45 liter dan diaklimatisasi pada suhu ruang selama tiga hari. Selama proses aklimatisasi, udang diberi pakan berupa pakan kontrol. Selanjutnya udang dipindahkan ke 12 bak kontainer. Setiap Udang ditebar sebanyak 7/bak dengan berat awal rata-rata (13-15) gram/ekor. Kualitas air dijaga dengan penggantian air sebanyak 30% setiap harinya. Pemberian pakan dilakukan sebanyak 4 kali sehari pada pukul 06:00, 11:00, 16:00 dan 21:00 WIB selama 14 hari pemeliharaan dan dengan parameter pengamatan perhitungan total hemosit (THC), aktivitas fagositosis (AF) atau indeks fagositosis (IF), dan total plasma protein (TPP).

3.5.2. Pengambilan *Hemolymph*

Pengambilan sampel *hemolymph* dilakukan pada kedua jenis perlakuan, yaitu kontrol dan perlakuan asam alginat. Sampel *hemolymph* diambil sejumlah 0,2 ml tiap ekor. Pengambilan sampel *hemolymph* pada setiap perlakuan diambil sebanyak empat ekor sampel udang. Waktu pengambilan *Hemolymph* dilakukan pada hari ke nol, ketujuh, dan hari keempat belas. Pengambilan *hemolymph* dilakukan pada bagian *thorax* antara kaki jalan dan kaki renang. Sampel *hemolymph* selanjutnya ditampung dalam mikrotube yang bagian dalamnya telah dibasahi larutan antikoagulan. Sampel tersebut akan didistribusikan untuk uji jumlah *total hemosit count* (THC) sebanyak 20 µl, aktivitas fagositosis dan indeks fagositosis sebanyak 20 µl, dan total protein plasma (TPP) sebanyak 15µl.

3.6. Parameter Yang Diamati

3.6.1. *Total Haemocyte Count* (THC)

Total hemosit dihitung oleh prosedur yang diuraikan sebelumnya (Yudiati *et al* 2016). Sampel *hemolymph* sebanyak (20 µl) diencerkan dengan PBS (20 µl), kemudian ambil sampel yang telah diencerkan menggunakan mikropipet diletakkan di atas permukaan *haemocytometer*, diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40x. Perhitungan jumlah *total haemocyte count* (THC) dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer* dengan prosedur Campa-Courdova. (2002), dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{THC} = \sum \text{Sel} \times \frac{1}{\text{Vol. dihitung}} \times \text{FP}$$

Keterangan : FP : Faktor pengenceran

3.6.2. Aktivitas Fagositosis dan Indeks Fagositosis (AF/IF)

Aktivitas fagositosis dan indeks fagositosis diamati dengan mencampurkan 20 μl *hemolymph* dengan suspensi bakteri *Bacillus D2.2.* yang telah dilemahkan dengan formalin 1%. Hasil campuran tersebut diinkubasi selama 20 menit pada suhu ruang, kemudian sampel sebanyak 5 μl dioleskan di atas gelas preparat dan ditekan dengan ujung *cover glass* didorong sampai ujung kaca preparat secara merata. Preparat yang sudah kering selanjutnya direndam dalam alkohol 70% selama 20 menit dan dibilas dengan NaCl 0,85%. Selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan giemsa 10% selama 20 menit dan dikeringkan. Hasil pewarnaan diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40x. Perhitungan nilai AF dan IF mengacu Berger dan Jarcova (2012) sebagai berikut.

$$\text{Aktivitas Fagositosis} = \frac{\sum \text{Sel Fagosit}}{\sum \text{Seluruh Sel Hemosit}} \times 100\%$$

$$\text{Indeks Fagositosis} = \frac{\sum \text{Bakteri yang Difagosit}}{\sum \text{Sel yang Memfagosit}}$$

3.6.3. Total Protein Plasma (TPP)

Hemolymph 15 μl disentrifuge pada 700 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil sebanyak 5 μl dan dimasukkan kedalam 96 well mikroplate dan ditambahkan 250 μl reagen *brodfod* diinkubasi selama 10 menit. Nilai TPP diukur berdasarkan nilai kepadatan pada panjang gelombang atau *optical density* (OD) 630 nm (Chen, 2008). Sebelumnya dibuat standar kadar protein dengan menggunakan *bovine serum albumin* (BSA) pada konsentrasi yang berbeda (200, 150, 100, dan 50).

3.6.4. Kualitas Air Pemeliharaan

Pengukuran kualitas air media pemeliharaan dilakukan pada awal dan akhir pemeliharaan. Beberapa parameter kualitas air yang diukur selama pemeliharaan meliputi salinitas, suhu, pH, dan oksigen terlarut.

3.7. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ditabulasi menggunakan program Excel dan dianalisis menggunakan program SPSS. Data tersebut diuji homogenitas dan normalitas, apabila data telah homogen dan normal selanjutnya diuji menggunakan sidik ragam (Anova) untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan kemudian dilakukan uji Duncan pada selang kepercayaan 95%.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Suplementasi asam alginat *Padina* sp. dalam pakan sebanyak 4g/kg pakan, efektif untuk meningkatkan respon imun nonspesifik udang vaname, terutama dalam meningkatkan *total haemocyte count*, indeks fagositosis, dan total protein plasma.

5.2. Saran

Disarankan untuk dapat mengaplikasikan ekstrak asam alginat dari *Padina* sp untuk pembudidaya guna meningkatkan respon imun nonspesifik pada udang vaname.

Selanjutnya diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh penambahan alginat dari *Padina* sp. terhadap respon imun udang dan dapat dilakukan uji tan-tang terhadap bakteri patogen atau virus sehingga mampu memperoleh hasil yang lebih baik dalam efektifitas penggunaan suplementasi asam alginat *Padina* sp.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Anggadireja, J. T., Zاتمika, A., Purwanto, H., dan Istini, S. 2006. *Rumput Laut, Pembudidayaan, Pengelolaan dan Pemasaran Komoditas Perikanan Potensial Penebar Swadaya*. Jakarta. 144 hal.
- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulan pada hewan akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 1(2): 87-92.
- An ullman's. 1998. *Industrial Organic Chemicals*. Wiley-VCH. Encyclopedia New York. Vol 7: 3993-4002.
- Bahar Rohani. 2012. Ekstraksi alginat dari rumput laut *Padina* sp. dan aplikasinya sebagai pengawet buah. marina. *Chamica Acta*; 13(1), 16-20.
- Bahar R, Arief A, dan Sukriadi. 2012. Daya hambat ekstrak Na-alginat dari alga cokelat jenis *Sargassum* sp. terhadap proses pematangan buah mangga dan buah jeruk. *Jurnal Indonesia Chamica Acta*. 2(5): 22-31.
- Basmal J, Utomo BSB, Tazwir, Murdinah, Wikanta T, dan Marraskuranto E. 2012. *Membuat Alginat dari Rumput Laut Sargassum*: Penerbit Swadaya. Jakarta 10 hal.
- Bellanti, J. A. 1989. *Immunology III*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 203-211 hal.
- Berger, J., and M. Jarcova. 2012. Phagocytosis of insect haemocytes as a new alter-native model. *Journal of Applied Biomedicine*. 10: 35-40.
- BMP. 2014. *Budidaya Udang Vaname*. WWF-Indonesia. Jakarta Selatan 161 hal.
- Castro, R. I. Zarrab, and J. Lamas. 2004, Water soluble seaweed extracts modulate the pantoea agglomerans lipopolysaccharide (LPS). *Fish and Shellfish Immunology*. 10: 555-558.
- Campa-Courdova, A.I., N.Y. Hernaandez-Saavedra, R. De Phillipis, and F. Ascentio. 2002. Generation of Superoxide Anion and SOD Activity in haemocytes and muscle of american white shrimp (*Penaeus vannamei*) as a.

- response to beta glucan and respiratory burst activity of turbot phagocytes. *Aquaculture*. 229: 67–78
- Chapman, V.J. and D.J. Chapman. 1980. *Seaweed and Their Uses*. Third edition. Chapman and Hall, New York. 194- 225.
- Chen, J.C., Che Li, C., and Yen, S.T. 2008. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* following *Vibrio alginolyticus* injection. *Fish and Shellfish Immunology*. 25. 853-860.
- Cheng, W., Liu, C. H., Tsai, C. H., and Chen, J. C. 2005. Molecular cloning and characterisation of a pattern recognition molecule, lipopolysaccharide and β -1, 3-glucan binding protein (LGBP) from the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and shellfish immunology*, 18(4), 297-310.
- Cheng W., C.H. Liu, T. Yeh, and J.C Chen. 2004. The immune stimulatory effect of sodium alginate on the white shrimp *Penaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish and shellfish immunology*, 17 :14-51.
- Cribb, A. B., 1996. *Seaweeds of Queensland: A Naturalists Guide*. Queensland: Australia. 130 hal.
- Darsana I, Besung I, dan Mahatmi H., 2012. Potensi daun binahong (*Anredera cordi-folia*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro. *Indonesia Medicus Veterinus*. 3:37-51.
- Diharningrum I. M. dan Husni A. 2018. Metode ekstraksi jalur asam dan kalsium berpengaruh pada mutu alginat rumput laut cokelat *Sargassum hystrix* J. Agardh. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 9(1): 26-38.
- Draget Kl, Strand B, Hartmann M, Valla S, Smidsrod O, Skjak-Braek G. 2000. Ionic and acid gel formation of epimerised alginates; the effect of algae. *Int J Biol Macromol* 27:117-122
- Ekawati, A. W., H. Nursyam, E. Widjayanto, dan Marsoedi. 2012. Diatome *Chaetoceros ceratosporum* dalam formula pakan meningkatkan respon imun seluler udang windu *Penaeus monodon*. *Journal Experimental Life Science*. 2(1): 20-28.
- Fameia M.,P. 2013. Pengaruh penambahan *Spirulina* sp. dalam pakan buatan terhadap jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis udang vaname (*Penaeus vannamei*) *Journal os Aquaculture Management and Technology*, (2): 102-112.
- Fariedah, F. 2010. *Pengaruh Immunostimulan Outer Membran Protein (OMP) Vibrio alginolyticus dan Infeksi Vibrio harveyi terhadap DNA Mitokondria Udang Windu Penaeus monodon Fab. (Thesis)*. Program Pascasarjana Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

- Febriani, D., Sukenda, dan S. Nuryati. 2013. Kappa-karagenan sebagai imunostimulan untuk pengendalian penyakit infectious myonecrosis (IMN) pada udang vaname *Penaeus vannamei*. *Jurnal akuakultur Indonesia*. 12(1): 77-85.
- Fegan, D.F, 2003. *Budidaya Udang Vaname (Penaeus vannamei) di Asia Gold Coin Indonesia Specialities*. Jakarta.
- Felix S, Robins PH, and Rajeev A. 2004. Immune enhancement assessment of dietary incorporated marine alga *Sargassum wightii* (phaeophyceae / punctariales) in tiger shrimp *Penaeus monodon* (crustacia/penaeidae) through *prophenoloxidase* (proPO) System. *Indian Journal of Marine Sciences* 33 (4):361-364.
- Fendjalang, S. N. M., T. Budiardi, E. Supriyono, dan I. Effendi. 2016. Produksi udang vaname *Penaeus vannamei* pada karamba jaring apung dengan padat tebar berbeda di selat kepulauan seribu. *Jurnal Ilmi dan Teknologi Kelautan Tropis*. 8(1): 201-214.
- Geraldino, P. J. L., Liao, L. M., and Boo, S. M., 2005. *Morphological Study of the Marine Algal Genus Padina (Dictyotales, Phaeophyceae)*. Southern Philippines: 3 Species New to Philippines. *Algae*. 20 (2): 99-112`
- Haliman, R.W. dan Adijaya, D.S. 2005. *Udang Vaname, Pembudidayaan dan Prospek Pasar Udang Putih yang Tahan Penyakit*. Penebar Swadaya. Jakarta.75 hal.
- Hastuti, S.D. 2012. Suplementasi β -glucan dari ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) dalam pakan terhadap aktivitas fagositosis, aktivitas NBT, total protein plasma dan aktivitas aglutinasi darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Depik*, 1 (3), 199-155.
- Herdianto RW, Husni A. 2019. Optimasi suhu ekstraksi terhadap kualitas alginat yang diperoleh dari rumput laut *Sargassum muticum*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 22(1): 164-173.
- Hernandez CG, McHugh DJ, Arvizu-Higuera DL, and Rodriguez Montesinos YE. 2002. Pilot Plant Scale Extraction of Alginat from *Macrocystis pyrifera*. Conversion of Alginic Acid to Sodium Alginat Drying and Milling. *Journal of Applied Phycology* 14(6):445-451.
- Huang, H., Pan, L., Pan, S., and Song, M. 2018. The feasibility of using primary shrim haemocyte culture to screen herbal immunostimulants. *Aquaculture international*. 26(3): 799-811.
- Husni A, Subaryono, Pranoto, Tazwir, dan Ustadi. 2012. Pengembangan metode ekstraksi alginat dari rumput laut *Sargassum* sp. sebagai bahan pengental. *Agritech*, 32 (1)164-173.

- Izzati, M. (2007). Skreening potensi antibakteri pada beberapa spesies rumput laut terhadap bakteri patogen pada udang windu. *Bioma* 9: 62-67.
- Jayanudin, Zakiyah AL, dan Nurbayanti F. 2014. Pengaruh suhu dan rasio pelarut ekstraksi terhadap rendemen dan viskositas natrium alginat dari rumput laut cokelat (*Sargassum* sp.). *Jurnal Integrasi Proses*. 5(1): 51-55.
- Johanson, M. W., Keyres, P., Sritunyalucksana, K., and Soderhall, K. 2000. Crustacean hemocytes and haemotopoiesis. *Aquaculture*. 191: 45-52.
- Johny, F. Roza, D. K. Mahardika. Zafran dan A. Prijono. 2005. Penggunaan immunostimulan untuk meningkatkan kekebalan nonspesifik benih ikan kerapu lumpur, *epinephelus coiodes* terhadap infeksi virus irido. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 9 (5): 75-83
- Karmana, 1987. *Biologi*. Ganeca Exact. Bandung. 574 hal.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). 2001. *Pelepasan Varietas Udang Vaname sebagai Varietas Unggul*. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan No: KEP. 41/MEN/200.
- Kartika, E. 2010. *Ektoparasit dan Struktur Jaringan Kulit, Hati, Ginjal, dan Insang pada Ikan Lele Dumbo (C. gariepinus) yang Terserang Penyakit Kuning*. (Skripsi). Universitas Diponegoro. Semarang, Indonesia. 50 hal.
- Kitani, H. 1994. Identification of wild postlarvae of the penaeid shrimps, genus penaeus in the pasific coast of central america. *Fisheries science*. 60 (30): 243-247.
- Kordi K. 2010. *Budi Daya Biota Akuatik Untuk Pangan, Kosmetik dan Obat-obatan*. Penerbit Andi. Yogyakarta. 226 Hal.
- Kumlu, M., S. Turkmen. M. Kumlu and O. T. Eroklogam. 2011. Off season maturation and spawning of the pacific white shrimp *Penaues vannamei* in subtropical conditions. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 11: 16-23.
- Lee, M. H. and S. Y Shiau 2004. Vitamin E Requirements of Juvenile Grass Shrimp, *Penaues. monodon* and Effects on Nonspecific Immune Responses, *Fish and Shellfish Immunology*. 16:475 – 485.
- Lesmanawati, W., Widanarni., dan Sukenda. 2017. Aplikasi Sinbiotik Untuk Resistensi Udang Vaname *Litopenaeus vannamei* Terhadap Virus Infectious Myonecrosis. *Jurnal Sains Terapan*. Vol 7(1) :85-97
- Lesmanawati, W., Widanarni., Sukenda., dan Purbiantoro, W. 2013. Potensi ekstrak oligosakarida ubi jalar sebagai prebiotik bakteri probiotik akuakultur. *Jurnal Sains Terapan*. 3: 21–25.

- Li, P., and Galtin III DM. 2006. Nucleotide nutrition in fish current knowledge and future application. *Aquaculture*. 251: 141-152.
- Maharani Ma, dan Widyayanti R. Pembuatan Alginat dari Rumput Laut untuk Menghasilkan Produk dengan Rendemen dan Viskositas Tinggi., Teknik Kimia Universitas Diponegoro. Semarang. vol. 6, No. 2. hal.
- Maynard, E. A. and D. M. Maynard. 1960. Cholinesterase in the crustacean muscle receptor organ. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 8(5): 376-379.
- McHugh, D.J. 1987. *Production, Properties and Uses of Alginat*. Food and Agriculture Organization Of United Nation. Rome. hal.
- Mirshafiey A, dan Rehm BHA. 2009. *Alginate and Its Comonomer Mannuronic Acid: Medical Relevance as Drug in: B.H.A Rehm (Ed). Alginates: Biology and Applications..* Springer-Verlag. Berlin. 260 hal.
- Moe ST, Draget KI Skjak-Braek G, and Smidsrod O. 1996. *Alginate.in: A.M. Stephen (Ed). Food Polysaccharides and Their Applications*. Marcell Dekker Inc. New York. 265 hal.
- Murata, M. and Nakazoe, J. 2001, Production and use of marine algae in japan. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 35:281–290.
- Mutmainnah Siti Sunar. 2015. *Pengukuran Kadar Natrium Alginat dari Alga Cokelat Spesies Sargassum sp. sebagai Bahan Dasar Pembuatan Bahan Cetak Kedokteran Gigi (Irreversible Hydrocolloid/Dental Impression Material)*. (Skripsi). Universitas Hasanuddin. Makasar. hal.
- Nazaruddin, Aliza D., Aisyah S., Zainuddin, dan Syafrizal. 2014. Gambaran histopatologis hepatopankreas udang windu (*Penaeus monodon*) akibat infeksi virus hepatopancreatica parvovirus (HPV). *Jurnal Kedokteran Hewan*, 8 (1): 27-29.
- Nitimulyo, K. H., Isnansetyo, A. Triyanto, I. Istiqomah, dan M. Murdjani. 2005. Isolasi, identifikasi, dan karakterisasi *Vibrio* sp. patogen penyebab vibriosis pada kerapu, balai budidaya air payau. *Jurnal Perikanan*. Situbondo. 7 (2):80 – 94
- Nontji, Anugrah. 1993. *Laut Nusantara*. Jakarta Djambatan. 367 hal.
- Nuryati, S. 2000. *Penyediaan Biakan Sel Organ Limfoid (Oka) Udang Windu Penaeus monodon Secara In Vitro sebagai Media Tumbuh bagi Virus*. (Tesis). Ilmu Perairan. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. 50 hal.

- Nuria MCA, Faizatun, Sumantri. 2009. Uji antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha Curcas L*) terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella Typhi* ATCC 1408. *Mediagro*. 5(2): 26-37.
- Ode, I. 2013. Kajian sistem imunitas untuk pengendalian penyakit pada ikan dan udang. *Jurnal Ilmiah Agribisnis dan Perikanan*. 6(2): 41-43.
- Osvaldo Z. 2012. Pengaruh konsentrasi asam dan waktu pada proses hidrolisis dan fermentasi pembuatan bioetanol dari alang-alang. *Jurnal Teknik Kimia*. 18(2) : 52-62.
- Pilnic, W., and Rombouts, F., 1985. Polysaccharides and food processing. *Carbohydr. Res*, 142: 93–105.
- Prayugi, I. T. 2014. *Respon Pertumbuhan Kultur Sel Limfoid Udang Vaname (Penaues vannamei) pada Media yang Berbeda*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Airlangga.
- Putra INK. 2007. Study Daya Antimikroba Ekstrak Beberapa Bahan Tumbuhan Pengawet Nira terhadap Mikroba Perusak Nira serta Kandungan Senyawa Aktifnya. (Disertasi). Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya. Malang.
- Putranti, R.I., 2013, *Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Sargassum duplicatum dan Turbinaria ornata dari Jepara*. (Tesis) Program Magister Manajemen Sumberdaya Pantai. Universitas Diponegoro.
- Putri, A. M., Prayitn, S. B., & Sarjito. 2015. Perendaman berbagai dosis ekstrak daun bakau (*Rhizophora apiculata*) untuk pengobatan kepiting bakau (*Scylla serrata*) yang diinfeksi bakteri *Vibrio harveyi*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 4(4), 141-149.
- Rachmaniar, R. 2005. *Penelitian Kandungan Kimia Makroalgae untuk Neuroceuticals dan Agrochemicals*. Laporan Akhir P₂o LIPI. Jakarta. 22 hal.
- Rasyid, A. 2010. *Ekstraksi Natrium Alginat Dari Alga Cokelat Sargassum echinocarpum*. Pusat Penelitian Oseanografi – LIPI Pulau Pari. Key words: *Sargassum echinocarpum*, Brown Algae, Sodium Alginat , Pari Island . 36, 393–400.
- Rasyid, A., 2007. Ekstraksi Natrium alginat dari *Padina australis*, *Oceanologi dan Limnologi di Indonesia*, 33(2):271-279.
- Reantoso MB, Tran L, and Hue DTT. 2013. *What Happens when Hepatopancreas Shrimp's Main Organ for Food Absorption, Digestion and Storage Becomes Infected by A Patogen*. FAO Aquaculture Newsletter. 51 hal

- Ridlo, A. dan R. Pramesti. 2009. Aplikasi ekstrak rumput laut sebagai agen imunostimulan sistem pertahanan nonspesifik pada udang (*Penaeus vannamei*). *Jurnal Ilmu Kelautan*. 14(3): 133-137.
- Ruswahyuni, A. Hartoko and S. Rudiyaniti. 2010. Application of chitosan for water quality and microbenthic fauna rehabilitation in vannamei shrimps (*Penaeus vannamei*) Pond, North coast of Semarang. *Journal of Central Development*. Central Java-Indonesia. 14(1): 1-10.
- Sa'adah, W. 2010. Analisa Usaha Budidaya Udang Vannamei (*Penaeus vannamei*) dan Ikan Bandeng (*Chanos chanos* sp.) di Desa Sidokumpul Kecamatan Lamongan Kabupaten Lamongan Jawa Timur. *Jurnal Unisla*. 1(1): 24-30.
- Salosso, Y; Prajitno, A. ; Abadi, A.L. dan Aullanni'am. 2011. *Kajian Potensi Padina australis sebagai Antibakteri Alami dalam Pengendalian Bakteri Vibrio alginolyticus pada Budidaya Ikan Kerapu Tikus (Cromeleptus alti-velis)*. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Sari, D.P., D.H.C. Pangemanan dan Juliatri. 2016. Uji daya hambat ekstrak alga cokelat (*Padina australis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara in vitro. *Jurnal e-Gigi*., 4(2): 140-144.
- Selvin J., A.J. Huxleya, and A.P. Lipton, 2004, Immunomodulatory potential of marine secondary metabolites against bacterial diseases of shrimp, *Aquaculture* 230: 241– 248.
- Setyawan A., Isnansetyo A., Indarjulianto S., Murwantoko, and Handayani C., R. 2018. Comparative immune response of dietary fucoidan from three Indonesian brown algae in white shrimp *Penaeus vannamei* . *AAFL Bioflux* 11 (6).
- Sinurat, E., dan Agustina. 2012. Optimasi pH Ca alginat dan rumput laut cokelat sebagai absorben. *Prosiding Inovasi Teknologi Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan IV*. ISBN: 978602-19699-2-2. 183-188.
- Smith, V. J., J. H. Brown, and C. Hauton. 2003. Immunostimulation in crustaceans: does it really protect against infection?. *Fish and Shellfish Immunology*. 15: 17-90.
- SNI-17-7310. 2009. *Produksi Udang Vannamei (L. vannamei) di Tambak dengan Teknologi Intensif*. Jakarta.
- Soegianto, A., Primarastri, N.A, & Winarni, D. 2004. *Pengaruh Pemberian Kadmium terhadap Tingkat Kelangsungan Hidup dan Kerusakan Struktur Insang dan Hepatopankreas pada Udang Regang (Macrobranchium sinta-*

- ngense De Man*). Surabaya: Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga. 87 hal.
- Sukenda. 2007. Penggunaan Kitosan untuk Pengendalian Infeksi *Vibrio harveyi* pada Udang Putih *Penaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 6(2): 205-209.
- Supono. 2017. *Teknologi Produksi Udang*. Plantaxia. Yogyakarta. 163 hal.
- Tambunan, A. P. M., Rudiyanasyah, Harlia. 2013. Pengaruh konsentrasi Na_2CO_3 terhadap rendemen Natrium alginat dari *Sargassum cristaefolium* asal perairan lemukutan. *Jurnal Kedokteran Klinik*, 2(2): 112- 117.
- Sukadi, M. F. 2002. Peningkatan Teknologi Budidaya Perikanan. *Jurnal ikhtologi Indonesia*.2,(2): 61-66
- Sun, Z., Hasegawa, K. dan Tanaka, J. (2008). A Morphological Study of *Padina australis* (Dictyotales, Phaeophyceae) from Hainan Island, China. *Journal of Japanese Botany* 83: 261-268.
- Wardoyo, T. H. 1997. *Pengelolaan Kualitas Air Tambak Udang, Makalah Disajikan pada Pelantikan Manajemen Tambak Udang dan Hatchery (PMTUH) Himakua*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. hal.
- Wang, X. W., Zhao, X. F., & Wang, J. X. 2014. C-type lectin binds to β -integrin to promote hemocytic phagocytosis in an invertebrate. *Jurnal of Biological Chemistry*. 289(4): 2405-2414.
- Wei, X., Liu, X., Yang, J., Fang, J., Qiao, H., Zhang, Y. and Yang, J. 2012. Two C-type lectins from shrimp *Litopenaeus vannamei* that might be involved in immune response against bacteria and virus. *Fish and Shellfish Immunology*. 32: 132-140.
- Wyban, J. A dan Sweeney, J. 2000. *Intensif Shrimp Production Technology*. Honolulu, hawaii, USA. 96825 hal.
- Yudiati, E., A. Isnansetyo, Murwantoko, Ayuningtyas, Triyanto, dan C. R. Handayani. 2016. Innate immune-stimulating and immune genes up-regulating activities of three types of alginate from *Sargassum siliquosum* in Pacific White Shrimp, *Penaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology Journal*. 54: 46-53.
- Yulianto, K. 2007. Pengaruh konsentrasi natrium hidroksida terhadap viskositas natrium alginat yang diekstrak dari *Sargassum duplicatum* JG Agardh (*Phaeophyta*). *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia* (33), 295-306.