

EFEKTIVITAS PERLINDUNGAN UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) TERHADAP INFEKSI WHITE SPOT SYNDROME VIRUS (WSSV) DENGAN SUPLEMENTASI NATRIUM ALGINAT *Sargassum* sp. DARI PERAIRAN LAMPUNG DAN KOMBINASI DENGAN VITAMIN C

(Skripsi)

Oleh

M. Darmawan



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

ABSTRACT

THE EFFECTIVENESS OF PACIFIC WHITE SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) PROTECTION AGAINST WHITE SPOT SYNDROME VIRUS (WSSV) INFECTION BY SUPPLEMENTATION OF SODIUM ALGINATE OF *Sargassum* sp. FROM LAMPUNG WATERS AND COMBINATION WITH VITAMIN C

By

M. DARMAWAN

White spot syndrome virus (WSSV) is a viral infectious disease that can cause high mortality in Pacific white shrimp culture. Sodium alginate proven to stimulate and increase nonspecific immune response in shrimp. This study aims to evaluate the effectiveness of oral administration of sodium alginate *Sargassum* sp. from Lampung waters and in combination with vitamin C to protect Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against white spot syndrome virus (WSSV). The shrimp (± 19 g) were reared in 9 containers with a density each of 10 shrimp/container and fed with shrimp feed at 3% of biomass daily. Shrimp were grouped into three treatments each with triplicate, namely feeding without alginate supplementation as a control, supplementation with sodium alginate supplementation of *Sargassum* sp. with a dose of 1 g/kg of feed + 0.2 g/kg feed of vitamin C, and supplementation of sodium alginate *Sargassum* sp. at a dose of 2 g/kg of feed. After 14 days of treatment, shrimp were injected with WSSV filtrate in PBS (1:1 v/v) for challenge assay. Several parameters were observed included survival rate (SR), relative percent survival (RPS), mean time to death (MTD), shrimp behaviour and clinical symptoms, hepatopancreatic histology, confirmation of WSSV infection by PCR, and water quality. The results showed that supplementation of sodium alginate *Sargassum* sp. protected shrimp against WSSV 14.80 hours longer in survival compared to the control group. However the supplementation of sodium alginate *Sargassum* sp. from Lampung waters not yet to protect shrimp against WSSV after 72 hours infection. There is needed the LD₅₀ dose of WSSV copy number to ensure the appropriate dose in challenge assay.

Keywords: Immunoprotection, pacific white shrimp, *Sargassum* sp., sodium alginate, WSSV.

ABSTRAK

EFEKTIVITAS PERLINDUNGAN UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) TERHADAP INFEKSI WHITE SPOT SYNDROME VIRUS (WSSV) DENGAN SUPLEMENTASI NATRIUM ALGINAT *Sargassum* sp. DARI PERAIRAN LAMPUNG DAN KOMBINASI DENGAN VITAMIN C

Oleh

M. DARMAWAN

White spot syndrome virus (WSSV) merupakan salah satu penyakit infeksi virus yang dapat menyebabkan tingginya mortalitas pada budidaya udang vaname. Natrium alginat terbukti dapat merangsang dan meningkatkan respon imun nonspesifik pada udang. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas pemberian natrium alginat *Sargassum* sp. dari perairan Lampung dan kombinasi dengan vitamin C sebagai perlindungan terhadap serangan *white spot syndrome virus* (WSSV) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Udang (± 19 g) dipelihara dalam 9 kontainer dengan kepadatan masing-masing 10 ekor/kontainer dan diberi pakan 3% dari bobot biomassa setiap hari. Udang dikelompokkan menjadi tiga perlakuan dengan masing-masing 3 ulangan yaitu pakan tanpa suplementasi alginat sebagai kontrol, suplementasi pakan natrium alginat *Sargassum* sp. dengan dosis 1 g/kg pakan + vitamin C 0,2 g/kg pakan, dan suplementasi pakan natrium alginat *Sargassum* sp. dengan dosis 2 g/kg pakan. Setelah 14 hari diberi perlakuan, udang diinjeksikan filtrat WSSV dan PBS dengan perbandingan 1:1 untuk ujiantang. Parameter yang diamati meliputi kelangsungan hidup, *relative percent survival* (RPS), *mean time to death* (MTD), tingkah laku dan gejala klinis udang, histologi hepatopankreas, identifikasi WSSV dengan PCR, dan kualitas air. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi natrium alginat *Sargassum* sp. melindungi udang terhadap WSSV 14,80 jam lebih lama dalam kelangsungan hidup dibandingkan dengan kelompok kontrol. Namun suplementasi natrium alginat *Sargassum* sp. dari perairan Lampung belum mampu melindungi udang terhadap WSSV setelah 72 jam terinfeksi. Perlu pengujian konsentrasi virus (LD_{50}) sebelum ujiantang untuk menghindari konsentrasi virus yang terlalu tinggi saat ujiantang.

Kata Kunci: Imunoproteksi, udang vaname, *Sargassum* sp., natrium alginat, WSSV.

EFEKTIVITAS PERLINDUNGAN UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) TERHADAP INFEKSI WHITE SPOT SYNDROME VIRUS (WSSV) DENGAN SUPLEMENTASI NATRIUM ALGINAT *Sargassum* sp. DARI PERAIRAN LAMPUNG DAN KOMBINASI DENGAN VITAMIN C

Oleh

M. Darmawan

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**

Judul Skripsi

**EFEKTIVITAS PERLINDUNGAN UDANG
VANAME (*Litopenaeus vannamei*) TERHADAP
INFEKSI *WHITE SPOT SYNDROME VIRUS*
(WSSV) DENGAN SUPLEMENTASI
NATRIUM ALGINAT *Sargassum* sp. DARI
PERAIRAN LAMPUNG DAN KOMBINASI
DENGAN VITAMIN C**

Nama Mahasiswa

M. Darmawan

Nomor Pokok Mahasiswa

1714111017

Program Studi

Budidaya Perairan

Jurusan

Perikanan dan Kelautan

Fakultas

Pertanian



1. Komisi Pembimbing

Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.
NIP 19840805 200912 1 003

Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si.
NIP 19900128 201903 2 018

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan

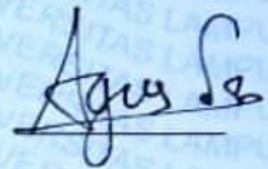
Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.
NIP 19700815 199903 1 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

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



Sekretaris

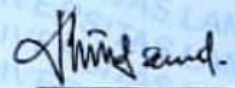
: Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si.



Penguji

Bukan Pembimbing

: Limin Santoso, S.Pi., M.Si.



2. Dekan Fakultas Pertanian



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

NIP. 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 2 Juli 2021

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (Sarjana/Ahli Madya), baik di Universitas Lampung maupun di perguruan tinggi lain.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan dari 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 dalam naskah dengan naskah yang disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini, serta sanksi lainnya yang sesuai dengan norma yang berlaku di Perguruan Tinggi.

Bandarlampung, 2 Juli 2021
Yang Membuat Pernyataan,



M. Darmawan

NPM. 1714111017

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Kecamatan Kayuagung, Kabupaten Ogan Komering Ilir, Sumatera Selatan pada 20 September 2000 sebagai anak kedua dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Bahrin dan Ibu Mai Yani. Penulis menempuh pendidikan formal dari Sekolah Dasar SD Negeri 13 OKU pada tahun 2005-2011, dilanjutkan ke Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 13 OKU pada 2011-2014, dan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 4 OKU pada tahun 2014-2017. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan ke jenjang Perguruan Tinggi di Jurusan Perikanan dan Kelautan Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dan memperoleh beasiswa Adaro pada tahun 2020.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten dosen pada mata kuliah Biologi Akuatik tahun ajaran 2018/2019, Teknologi Hasil Perikanan tahun ajaran 2018/2019, Fisiologi Hewan Air tahun ajaran 2019/2020, dan Avertebrata Laut tahun ajaran 2019/2020. Selain itu, penulis pernah aktif dalam organisasi kampus dan mengikuti berbagai kegiatan. Penulis mengemban amanah menjadi pengurus Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (HIMAPIK) Unila Bidang Pengembangan Minat dan Bakat pada tahun 2018-2019. Tahun 2020 penulis berhasil menjadi finalis Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional (PIMNAS) bidang Penelitian Eksakta dengan judul “Penggunaan Ekstrak Daun *Handeuleum* (*Graptophyllum pictum*) untuk Meningkatkan Imunitas Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer* Bloch 1790) terhadap Serangan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*”.

Pada Januari-Maret 2020 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Ketapang, Kecamatan Sungkai Selatan, Kabupaten Lampung Utara selama 40 hari. Pada Juni-Agustus 2018, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di Balai Benih Ikan (BBI) Natar, Lampung Selatan dengan judul “Teknik Pembenihan Ikan Lele Mutiara (*Clarias gariepinus*) di Balai Benih Ikan (BBI) Natar, Lampung Selatan” selama 40 hari. Pada tahun 2021 penulis menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektivitas Perlindungan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) terhadap Infeksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) dengan Suplementasi Natrium Alginat *Sargassum* sp. dari Perairan Lampung dan Kombinasi dengan Vitamin C”.

PERSEMBAHAN

Dengan segala rasa syukur kepada Allah S.W.T atas kenikmatan dan kemudahan yang selalu mengiringi langkah untuk semua hambanya.

Kupersembahkan karya ini kepada : Bapak dan Ibu tercinta, yang senantiasa memberikan kasih sayang, do'a dukungan, motivasi, pengorbanan dan selalu memberikan yang terbaik untuk anakmu. Bagiku, jasa dan pengorbanan kalian tidak akan mampu tergantikan dengan apapun. **Terimakasih**

Seluruh keluarga besar yang telah memberikan do'a dan dukungan selama masa studi. Teman-teman 2017 yang telah memberikan kebersamaan dari awal hingga akhir masa studi.

&

Almamater tercinta **“UNIVERSITAS LAMPUNG”**

"Jangan menjelaskan tentang dirimu kepada siapapun, karena yang menyukaimu tidak butuh itu dan yang membencimu tidak percaya itu"

(Ali bin Abi Thalib)

"Hidup itu bukan soal menemukan diri Anda sendiri,
hidup itu membuat diri Anda sendiri"

(George Bernard Shaw)

*"Nothing is Absolute, Everything Changes, Everything move,
Everything we would, Everything Flies and go away
Just be Brave"*

(Frida Kahlo)

**Hal yang berat dalam hidup ini adalah
memulai sesuatu. Namun ada juga yang tidak
kalah berat yakni berusaha kontinu
melakukan usahanya.**

SANWACANA

Segala puji bagi Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas kelimpahan rahmat dan karuniaNya yang telah memberikan kesehatan, kekuatan dan kemudahan sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi yang berjudul “Efektivitas Perlindungan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) terhadap Infeksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) dengan Suplementasi Natrium Alginat *Sargassum* sp. dari Perairan Lampung dan Kombinasi dengan Vitamin C”, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Jurusan Perikanan dan Kelautan Universitas Lampung.

Selama proses penyelesaian skripsi, penulis telah memperoleh banyak bantuan dari berbagai pihak terutama kedua orang tua saya, Bapak Bahrin dan Ibu Mai Yani yang telah menjadi orangtua terhebat, terimakasih atas segala kasih sayang, do’a, dukungan, serta motivasi sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Maka dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung;
2. Bapak Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan Universitas Lampung;
3. Bapak Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P. selaku Pembimbing Utama yang telah membimbing, memberikan ilmu dan ide pemikiran, arahan, masukan serta waktunya untuk selalu membimbing penulis dalam menyelesaikan tugas akhir skripsi ini;
4. Ibu Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si. selaku Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu guna memberikan bimbingan serta motivasi sejak awal hingga penyelesaian skripsi;

5. Bapak Limin Santoso, S.Pi., M.Si. selaku Penguji yang telah meluangkan waktu, memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun terhadap skripsi ini;
6. Bapak Deny Sapto Chondro Utomo, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan bimbingan mulai dari mahasiswa baru sampai bisa menempuh gelar sarjana;
7. Seluruh Dosen dan Staf Jurusan Perikanan dan Kelautan yang penuh dedikasi dalam memberikan ilmu yang bermanfaat serta segala bantuan selama penulis menyelesaikan studi;
8. Team Sargassum, Bapak Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P., Titi, Hanesty, Finni, dan Alfitra untuk ilmu, pengalaman, dan kebersamaannya selama ini;
9. Teman-teman terbaik, Aprul, Fikri, Yogo, Imad, Titi, Hanesty, Adil, Tika, Anjar, Dhea Salsa, Dame dan Lisa, serta teman-teman seperjuangan angkatan 2017 atas doa, bantuan, kebersamaan, canda tawa, dan pengalaman selama menempuh pendidikan ini;
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini. Terimakasih atas bantuan dan dukungannya.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas kebaikan yang telah diberikan kepada penulis. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat banyak sekali kekurangan, akan tetapi penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan keilmuan kita.

Bandar lampung, 2 Juli 2021
Penulis,



M. Darmawan

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
DAFTAR ISTILAH	xx
DAFTAR SINGKATAN	xxiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
1.4 Kerangka Pemikiran	3
1.5 Hipotesis Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Klasifikasi Udang Vaname.....	7
2.2 Morfologi Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	7
2.3 Habitat Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>).....	9
2.4 Siklus Hidup Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	9
2.5 Sistem Pertahanan Tubuh Udang	11
2.6 <i>White Spot Syndrome Virus</i> (WSSV)	12
2.7 Natrium Alginat.....	13
2.8 <i>Sargassum</i> sp.	14
2.9 Imunostimulan.....	16

III. METODE PENELITIAN	17
3.1 Waktu dan Tempat	17
3.2 Alat dan Bahan.....	17
3.3 Rancangan Penelitian.....	19
3.4 Prosedur Penelitian	19
3.4.1 Koleksi <i>Sargassum</i> sp.	19
3.4.2 Ekstraksi Natrium Alginat dengan EDTA (Jork <i>et al.</i> , 2000).....	20
3.4.3 Persiapan Wadah Penelitian dan Hewan Uji	20
3.4.4 Pembuatan Pakan Uji	21
3.4.5 Pemeliharaan Udang	21
3.4.6 Uji Tantang <i>White Spot Syndrome Virus</i> (WSSV).....	21
3.5 Parameter yang Diamati.....	22
3.5.1 Gejala Klinis	22
3.5.2 Kelangsungan Hidup.....	22
3.5.3 <i>Relative Percent Survival</i> (RPS).....	23
3.5.4 <i>Mean Time to Death</i> (MTD)	23
3.5.5 Pemeriksaan dengan Metode PCR Konvensional.....	23
3.5.5.1 Nekropsi	23
3.5.5.2 Ekstraksi DNA.....	24
3.5.5.3 Amplifikasi	25
a. <i>First</i>	25
b. <i>Nested</i>	26
3.5.5.4 Elektroforesis.....	27
a. Pembuatan Media Gel Agarose.....	27
b. Proses Elektroforesis.....	28
c. Pembacaan Hasil Elektroforesis WSSV.....	29
3.5.6 Kualitas Air Pemeliharaan	29
3.5.7 Pembuatan Preparat Histologi.....	30
3.6 Analisis Data	30
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
4.1 Rendeman <i>Sargassum</i> sp. dari Perairan Lampung.....	31

4.2 Kelangsungan Hidup.....	32
4.3 <i>Relative Percent Survival</i>	34
4.4 <i>Mean Time to Death</i>	35
4.5 Pengamatan Histologi	36
4.6 Identifikasi WSSV dengan Uji PCR Konvensional	38
4.7 Gejala Klinis Udang Vaname Pasca Infeksi WSSV	39
4.8 Kualitas Air	42
4.9 Pembahasan Umum	43
 V. SIMPULAN DAN SARAN	47
5.1 Simpulan	47
5.2 Saran	47
 DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pemikiran penelitian.....	5
2. Morfologi udang vaname.....	8
3. Siklus hidup udang vaname	10
4. Morfologi <i>Sargassum</i> sp.	15
5. Tata letak wadah penelitian	19
6. Sampel udang uji PCR.....	24
7. <i>Thermal cycler</i>	26
8. Pencetakan gel agarose	28
9. Proses elektroforesis	29
10. Agarose dimasukkan ke UV transilluminator.....	29
11. Tingkat kelangsungan hidup udang vaname.....	32
12. RPS (<i>relative percent survival</i>) udang vaname	34
13. MTD (<i>mean time to death</i>) udang vaname	36
14. Histologi hepatopankreas udang vaname (<i>L. vannamei</i>).....	37
15. Hasil gel elektroforesis sampel udang	38
16. Gejala udang vaname sebelum dan sesudah infeksi WSSV	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat-alat penelitian.....	17
2. Bahan-bahan penelitian	18
3. DNA reagen <i>first</i>	26
4. DNA reagen <i>nested</i>	26
5. Perubahan tingkah laku udang vaname setelah 24 dan 72 jam diinfeksi WSSV	40
6. Kualitas air pemeliharaan udang vaname selama penelitian	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pengujian statistika	60
2. Standar deviasi parameter uji.....	66
3. Perhitungan pakan penelitian.....	67
4. Cara membuat bahan ekstraksi	68
5. Persiapan bahan rumput laut.....	69
6. Proses ekstraksi natrium alginat <i>Sargassum</i> sp.....	70
7. Pembuatan pakan perlakuan	72
8. Persiapan tempat dan hewan uji	73
9. Ekstraksi <i>white spot syndrome virus</i> (WSSV).....	74
10. Pembuatan preparat histologi	76
11. Hasil uji PCR konvensional 2 sampel udang awal	77
12. Hasil uji PCR konvensional 2 sampel udang akhir	78

DAFTAR ISTILAH

Aglutinin	: Jenis serum antibodi yang dapat menyebabkan penggumpalan bakteri atau sel dalam darah.
<i>Agranular Haemocyte Count</i>	: Jumlah sel hemosit granular yang terdapat pada udang (%).
Aklimatisasi	: Upaya penyesuaian fisiologis atau adaptasi dari suatu organisme terhadap suatu lingkungan baru yang akan ditempatinya.
Alginat	: Polisakarida alam yang umumnya terdapat pada dinding sel dari semua spesies alga cokelat (Phaeophyta).
<i>Annealing</i>	: Tahap penempelan primer pada rantai tunggal DNA.
<i>β glucan</i>	: Sekelompok polisakarida β -D-glukosa yang terjadi secara alami di dinding sel sereal, bakteri, dan jamur, dengan sifat fisikokimia yang berbeda secara signifikan tergantung pada sumbernya.
<i>Differential Haemocyte Count</i>	: Total jenis serta persentase sel hemosit yang dianalisa dan dibagi menjadi 3 bagian yaitu hialin, semi granular dan granular.
Denaturasi	: Pemisahan rantai DNA templat.
<i>Emulsifying Agent</i>	: Zat untuk membantu menjaga kestabilan emulsi minyak dan air.
<i>Extantion</i>	: Proses pemanjangan untai baru DNA dari sampel.
Hipertrofi	: Peningkatan volume organ atau jaringan akibat pembesaran komponen sel
Immunomodulator	: Zat/substansi yang dapat mempengaruhi sistem imun, baik yang berefek menekan (disebut immunosupresan), meningkatkan respon imun, atau menyebabkan jaringan menjadi tidak responsif terhadap suatu antigen.

Imunostimulan	: Substansi yang dapat menstimulasi sistem imun dengan cara meningkatkan aktivitas komponen sistem imun untuk melawan infeksi dan penyakit.
Imunostimulasi	: Cara memperbaiki fungsi sistem imun dengan menggunakan bahan yang merangsang sistem tersebut.
Imun Nonspesifik	: Sistem imun bawaan yang secara nonselektif mempertahankan tubuh dari benda asing atau antigen apapun jenisnya, bahkan meskipun baru pertama kali terpapar.
Inokulum	: Bahan padat/cair yang mengandung mikrobia/spora/enzim yang ditambahkan kedalam substrat/media fermentasi
Kromatofor	: Sel pigmen yang mengandung warna dan terdiri dari 5 kategori warna dasar, yaitu hitam (melanofora), merah (eritrofora), kuning atau oranye (xantofora), sel kemilau atau cermin (iridofora) dan putih (leukofora atau guanofofora).
<i>Large Granular Heamocyte Count</i>	: Jumlah sel hemosit hialin yang terdapat pada udang (%).
Lipoposakarida	: Sebuah molekul besar berupa kompleks antara senyawa lipid dan polisakarida dengan ikatan kovalen, senyawa ini banyak ditemukan pada lapisan membran sel sebelah luar bakteri gram negatif dan bersifat endotoksin, yang memicu aktivasi sistem kekebalan
<i>Lectin</i>	: Bagian sistem pertahanan humoral udang yang berfungsi untuk melakukan pengenalan terhadap benda asing (<i>non self recognition</i>) yang masuk kedalam tubuh udang.
Nukleus	: Inti sel yang menjadi pusat komando pada sel eukariotik.
Oral	: Segala sesuatu yang berhubungan dengan mulut.
Pelisisan	: Memisahkan hasil lisisan (dinding sel, dan kloroform) dari DNA dengan kecepatan tertentu.
<i>Phenoloxidase</i>	: Sistem pertahanan utama pada invertebrata yang akhirnya mengarah pada melanisasi patogen dan jaringan rusak, proses tersebut tergantung pada aktivasi enzim phenoloxidase yang dikendalikan oleh sistem aktivasi prophenoloxidase (proPO).
<i>Phosphate Buffer Saline</i>	: Larutan <i>buffer</i> berbasis air yang mengandung disodium hidrogen fosfat, natrium klorida, kalium klorida, dan kalium dihidrogen fosfat untuk menjaga pH konstan.

<i>Prophenoloksidase</i>	: Pro-enzim inaktif yang disimpan dan diproduksi oleh hemosit (semigranular dan granular), aktivasi proPO menjadi PO melibatkan enzim proPO <i>activating system</i> yang diaktifkan oleh β -glukan, peptidoglikan dan LPS.
Obat Sintetik	: Obat modern yang dibuat dari bahan sintetik atau bahan alam yang diolah secara modern.
Suplementasi	: Penambahan satu atau lebih nutrisi atau zat gizi ke dalam produk pangan.
<i>Semigranular Haemocyte Count</i>	: Jumlah sel hemosit semi granular yang terdapat pada udang (%).
Senyawa Matabolit Primer	: Senyawa yang dihasilkan oleh makhluk hidup dan bersifat essensial bagi proses metabolisme sel tersebut.
Senyawa Matabolit Sekunder	: Senyawa-senyawa hasil biosintetik turunan dari matabolit primer yang umumnya diproduksi oleh organisme yang berguna untuk pertahanan diri dari lingkungan maupun dari serangan organisme lain.
<i>Spesific Pathogen Free</i>	: Istilah yang digunakan untuk hewan laboratorium yang dijamin bebas dari patogen tertentu.
<i>Stabilizing Agent</i>	: Bahan kimia yang digunakan untuk mencegah degradasi
<i>Total Haemocyte Count</i>	: Jumlah keseluruhan sel hemosit dalam mm ³ atau ml yang diamati menggunakan mikroskop
<i>Thickening Agent</i>	: Bahan yang dapat meningkatkan kekentalan dari suatu cairan tanpa mengubah sifat-sifat cairan tersebut.
Uji Tantang	: Menguji efektivitas pemberian perlakuan dengan memasukkan secara sengaja patogen yang diinginkan.

DAFTAR SINGKATAN

DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
DO	: <i>Dissolved oxygen</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
HCl	: <i>Hydrochloric acid</i>
IHHNV	: <i>Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus</i>
IMNV	: <i>Infectious myonecrosis virus</i>
KCl	: <i>Potassium chloride</i>
Na ₂ CO ₃	: Natrium karbonat
PCR	: <i>Polymerase chain reaction</i>
pH	: <i>Power of hydrogen</i>
PL	: Post larva
TSV	: <i>Taura syndrome virus</i>
WSSV	: <i>White spot syndrome virus</i>
YHV	: <i>Yellow head virus</i>

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki potensi perikanan dan kelautan yang cukup besar. Akuakultur menjadi sektor yang menjanjikan untuk meningkatkan produksi hasil perikanan (Hikmayani *et al.*, 2012). Salah satu komoditas budidaya perikanan yang menjadi keunggulan tersendiri di Lampung yakni budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Udang vaname merupakan salah satu produk ekspor perikanan yang memiliki banyak peminat dan juga permintaan. Menurut Kementerian Kelautan dan Perikanan (2020) produksi udang nasional per tahun berada pada kisaran 800 ribu ton sementara kebutuhan dunia mencapai 13 sampai 15 juta ton. Tingginya permintaan terhadap udang vaname menyebabkan produksi dari budidaya harus terus ditingkatkan. Penerapan teknologi budidaya intensif dan ketersediaan benih *specific pathogen free* (SPF) menjadi kunci keberhasilan untuk dapat terus meningkatkan produksi dari budidaya udang vaname (Suwoyo & Mangampa, 2010). Namun penerapan sistem budidaya intensif tidak selamanya berdampak baik karena limbah yang dihasilkan memiliki dampak buruk bagi udang dan lingkungan budidaya.

Salah satu dampak buruk yang ditimbulkan dari penerapan budidaya intensif adalah munculnya penyakit pada udang seperti *white spot syndrome virus* (WSSV). Menurut Rahma *et al.* (2014) pada udang windu (*Panaeus monodon*) penyakit WSSV menyebabkan kematian massal dalam waktu singkat antara 6-11 hari pasca gejala klinis. Salah satu upaya untuk mencegah dan menanggulangi penyakit pada udang adalah dengan meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang menggunakan imunostimulan (Johny *et al.*, 2005). Imunostimulasi yang umum dilakukan adalah dengan pemberian komponen mikrobial seperti β -glukan dan lipopolisakarida atau

sel bakteri yang telah dimatikan (Smith *et al.*, 2003). Namun jenis imunostimulan tersebut memiliki harga yang relatif mahal, sehingga diperlukan alternatif imunostimulan lain untuk penanganan penyakit pada udang tersebut. Salah satu sumber imunostimulan yang relatif lebih murah dan mudah penerapannya adalah dari alga coklat. *Sargassum* sp. merupakan salah satu spesies dari alga coklat tropis yang dapat tumbuh dengan mudah serta proses panen yang tidak sulit (Muslimin & Sari, 2017). Alga coklat dapat menjadi sumber senyawa bioaktif baik metabolit primer ataupun sekunder. Kusumaningrum *et al.* (2007), menyatakan bahwa *Sargassum* sp. terkandung beberapa senyawa aktif seperti steroid, alkaloid, fenol, dan triterpenoid yang berfungsi sebagai antibakteri, antivirus, dan antijamur.

Dinding sel pada *Sargassum* sp. diketahui terdapat suatu substansi yang memiliki aktivitas immunomodulator yakni alginat. Alginat merupakan jenis polisakarida yang terdapat dalam dinding sel rumput laut coklat dan memiliki peranan penting dalam mempertahankan struktur jaringan sel (Rasyid, 2010). Alginat terdapat secara alami di berbagai jenis rumput laut coklat. Polisakarida ini tersusun dari dua unit monomerik yaitu β -D-mannuronic acid dan juga α -L-guluronic acid (Viswanathan & Nallamuthu, 2014). Menurut Toft *et al.* (1986), alginat telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan aditif pada industri makanan, farmasi dan obat-obatan yang berfungsi sebagai pendispersi, pembentuk gel, *thickening*, *stabilizing* dan *emulsifying agent*.

Pemanfaatan alginat *Sargassum* sp. pada bidang perikanan sudah cukup umum digunakan untuk meningkatkan respon imun baik pada ikan maupun udang. Penelitian oleh Isnansetyo *et al.* (2014) mengungkapkan bahwa alginat *Sargassum* sp. dari spesies lokal Indonesia mampu meningkatkan ketahanan nonspesifik pada ikan lele (*Clarias batrachus*). Pengaplikasian natrium alginat *S. siliquosum* pada udang vaname juga terbukti dapat mengaktifkan sel dan respon imun humoral, serta ekspresi gen terkait kekebalan tubuh (Yudiati *et al.*, 2016). Yeh *et al.* (2009) juga menyatakan bahwa sodium alginat komersial dan ekstrak kasar dari *Sargassum* sp. secara efektif dapat memodulasi sistem imun pada udang penaeid. Penelitian Yudiati *et al.* (2019) juga melaporkan bahwa penggunaan natrium alginat

S. siliquosum pada udang vaname dapat merangsang dan meningkatkan respon imun nonspesifik sehingga udang terlindungi dari infeksi WSSV. Peningkatan respon imun nonspesifik udang vaname juga dapat dilakukan dengan penambahan suplemen lainnya seperti vitamin C. Aplikasi vitamin C telah terbukti efektif meningkatkan respon imun nonspesifik dan tingkat kelulushidupan pada udang (Lee dan Shiau, 2002; Maharani, 2014; Wu *et al.*, 2016). Meskipun penelitian pemanfaatan natrium alginat *Sargassum* sp. dan vitamin C pada bidang perikanan telah banyak dilakukan, namun masih sangat sedikit sekali informasi mengenai dosis efektif dari natrium alginat *Sargassum* sp. tersebut terutama spesies alga coklat lokal dari perairan Lampung maupun kombinasi dengan vitamin C yang mampu mencegah serangan WSSV khususnya pada udang vaname. Oleh karena itu penting untuk mengkaji potensi natrium alginat dari *Sargassum* sp. dan vitamin C sebagai antivirus penyakit WSSV pada udang vaname.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengevaluasi efektivitas pemberian natrium alginat *Sargassum* sp. dari perairan Lampung dan kombinasi dengan vitamin C sebagai perlindungan terhadap serangan *white spot syndrome virus* (WSSV) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*).

1.3 Manfaat Penelitian

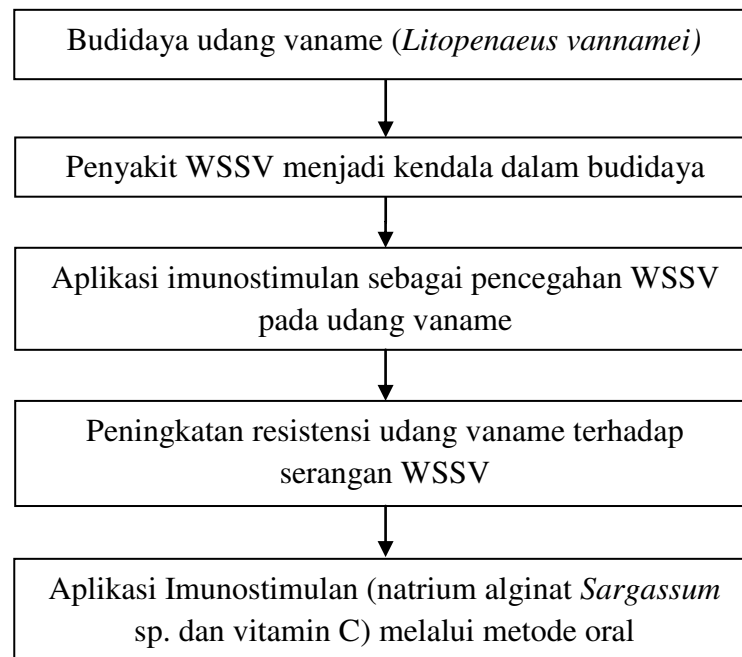
Manfaat dari penelitian ini dilakukan yaitu untuk mempelajari tentang aplikasi cara perlindungan dari serangan *white spot syndrome virus* (WSSV) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan natrium alginat *Sargassum* sp. dari perairan Lampung.

1.4 Kerangka Pemikiran

Akuakultur merupakan salah satu upaya meningkatkan produksi perikanan baik budidaya di air tawar, payau maupun laut. Komoditas budidaya unggulan yang terus dikembangkan dan ditingkatkan hasil produksinya khususnya di Lampung yakni udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Kebutuhan dan permintaan pasar baik lokal maupun ekspor masih sangat tinggi. Tingginya tingkat konsumsi pada

udang vaname menjadi peluang yang sangat menjanjikan untuk dikembangkan. Budidaya intensif menjadi salah satu upaya yang perlu dilakukan untuk dapat memenuhi kebutuhan konsumen. Namun penerapan sistem budidaya tersebut memiliki dampak yang tidak selamanya baik karena dapat menyebabkan munculnya penyakit pada tambak.

White spot syndrome virus merupakan penyakit yang umum menyerang udang vaname. Penyakit ini dapat menyebabkan kematian secara cepat pada udang dan menimbulkan kerugian yang cukup besar bagi para pembudidaya. Pencegahan penyakit pada budidaya dapat dilakukan dengan penggunaan imunostimulan untuk memicu respon imun nonspesifik pada udang tersebut. Jenis imunostimulan komersil telah banyak beredar di pasaran namun harga yang relatif mahal dan penerapan yang cukup sulit menjadi kendala utama di lapangan. Alga coklat *Sargassum* sp. menjadi salah satu imunostimulan yang relatif murah dan mudah penerapannya. Penelitian Isnansetyo *et al.* (2014) mengungkapkan bahwa alginat *Sargassum* sp. dari spesies lokal Indonesia mampu meningkatkan ketahanan nonspesifik pada ikan lele (*Clarias batrachus*). Selain penambahan natrium alginat *Sargassum* sp., vitamin C juga diketahui dapat meningkatkan respon imun nonspesifik pada udang vaname. Pengaplikasian *Sargassum* sp. dan vitamin C ini dilakukan dengan mencampurkan imunostimulan tersebut pada pakan atau dengan metode oral. Penggunaan natrium alginat *Sargassum* sp. dan vitamin C diharapkan dapat dijadikan sebagai imunostimulan alternatif yang mampu melindungi udang vaname dari berbagai serangan penyakit berbahaya seperti *white spot syndrome virus* (WSSV). Kerangka pemikiran dapat dilihat secara singkat sebagai berikut pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pemikiran penelitian.

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

$H_0 = 0$: Pengaruh penambahan natrium alginat *Sargassum* sp. dengan konsentrasi berbeda atau kombinasi dengan vitamin C pada pakan tidak berbeda nyata terhadap kelangsungan hidup udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi dengan *white spot syndrome virus* (WSSV).

$H_1 \neq 0$: Minimal ada satu pengaruh perlakuan penambahan natrium alginat *Sargassum* sp. atau kombinasi dengan vitamin C pada pakan yang berbeda nyata terhadap kelangsungan hidup udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi dengan *white spot syndrome virus* (WSSV).

$H_0 = 0$: Pengaruh penambahan natrium alginat *Sargassum* sp. dengan konsentrasi berbeda atau kombinasi dengan vitamin C pada pakan tidak berbeda nyata terhadap *relative percent survival* udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi dengan *white spot syndrome virus* (WSSV).

$H_1 \neq 0$: Minimal ada satu pengaruh perlakuan penambahan natrium alginat *Sargassum* sp. atau kombinasi dengan vitamin C pada pakan yang berbeda

nyata terhadap *relative percent survival* udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi dengan *white spot syndrome virus* (WSSV).

$H_0 = 0$: Pengaruh penambahan natrium alginat *Sargassum* sp. dengan konsentrasi berbeda atau kombinasi dengan vitamin C pada pakan tidak berbeda nyata terhadap *mean time to death* udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi dengan *white spot syndrome virus* (WSSV).

$H_1 \neq 0$: Minimal ada satu pengaruh perlakuan penambahan natrium alginat *Sargassum* sp. atau kombinasi dengan vitamin C pada pakan yang berbeda nyata terhadap *mean time to death* udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi dengan *white spot syndrome virus* (WSSV).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi Udang Vaname

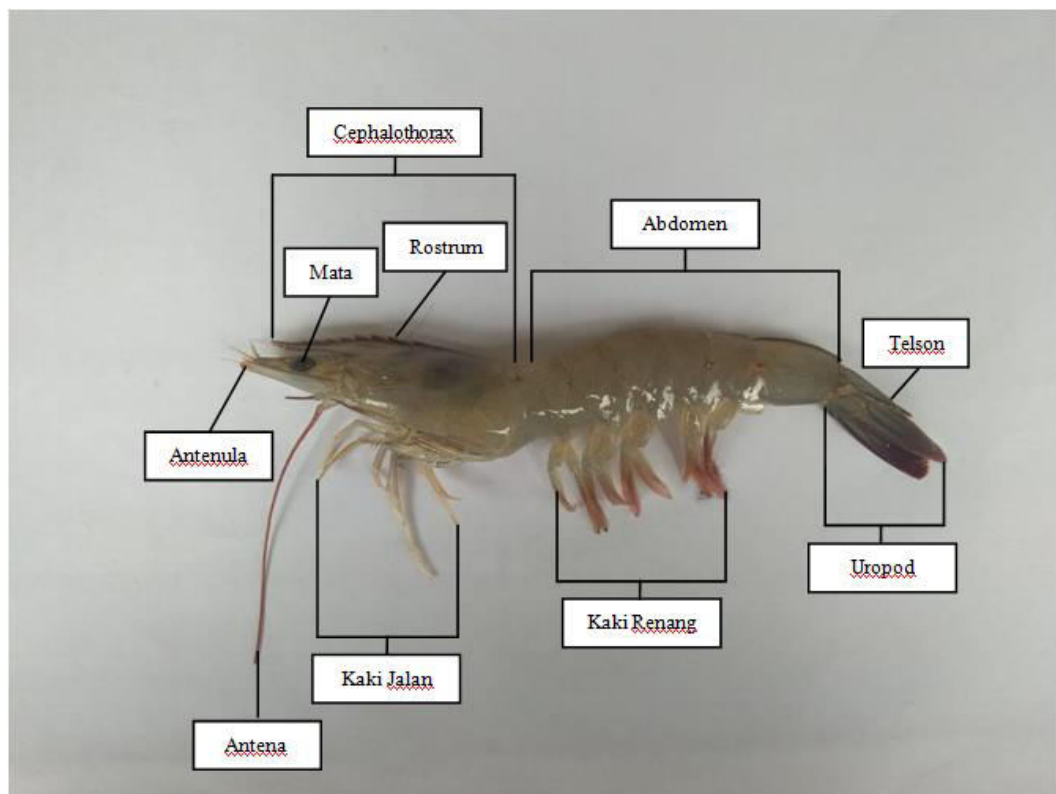
Udang vaname termasuk ke dalam ordo Decapoda seperti halnya dengan hewan krustasea lainnya yakni udang windu, udang galah, lobster dan juga kepiting. Ordo Decapoda dicirikan memiliki 10 kaki dan *carapace* yang menutup seluruh bagian kepala. Menurut Haliman & Adijaya (2006), klasifikasi udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) meliputi:

Kingdom	: Animalia
Sub kingdom	: Metazoa
Filum	: Artrhopoda
Sub filum	: Crustacea
Kelas	: Malascostraca
Sub kelas	: Eumalacostraca
Super ordo	: Eucarida
Ordo	: Decapoda
Sub ordo	: Dendrobrachiata
Famili	: Penaeidae
Genus	: <i>Litopenaeus</i>
Species	: <i>Litopenaeus vannamei</i>

2.2 Morfologi Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Udang vaname umumnya memiliki tubuh berwarna transparan namun terdapat pula udang vaname yang tubuhnya berwarna kebiruan karena dominanya kromatofor biru. Tubuh udang vaname dibagi menjadi dua bagian utama yaitu bagian kepala (*cephalothorax*) dan bagian perut (*abdomen*) (Nadhif, 2016). Bagian kepala udang

menyatu dengan bagian dada yang terdiri dari antenula, antenna, mandibula, dan dua pasang *maxillae*. Bagian kepala udang vaname ini juga dilengkapi dengan tiga pasang *maxilliped* dan lima pasang kaki berjalan (*periopoda*) atau kaki sepuluh (*decapoda*). Adapun bagian perut (*abdomen*) terdiri dari enam ruas dimana pada bagian ini terdapat lima pasang kaki renang dan sepasang *uropods* (mirip ekor) yang membentuk kipas bersama-sama dengan *telson*. Menurut Elovaraa (2001) anatomi bagian kepala dan perut udang putih terdiri dari ruas-ruas atau segmen-segmen, dimana ruas atau segmen tersebut memiliki anggota badan yang mempunyai fungsi masing-masing. Morfologi udang vaname dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Morfologi udang vaname (dokumentasi pribadi).

Wyban dan Sweeney (1991) menyatakan bahwa udang putih termasuk dalam genus *Penaeus* yang memiliki ciri khusus yakni adanya gigi pada rostrum bagian atas dan bagian bawah serta terdapat antenna panjang. Bentuk dan jumlah gigi pada rostrum digunakan sebagai pembeda dengan udang paneid lainnya. Jumlah gigi pada rostrum bagian atas yakni dua dan terdapat delapan atau sembilan gigi

pada bagian bawah. Udang vaname betina memiliki ukuran yang dapat mencapai panjang total 24 cm sedangkan ukuran jantan dapat mencapai 20 cm dengan warna tubuh putih berwarna kemerahan, berkulit licin dan halus (Kitani, 1994).

2.3 Habitat Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Habitat udang vaname berbeda-beda tergantung dari jenis dan persyaratan hidup dari tingkatan-tingkatan dalam daur hidupnya. Menurut Wyban dan Sweeney (1991) pada habitat aslinya udang vaname yang telah dewasa atau matang gonad akan melakukan pemijahan dan bertelur di perairan lepas pantai sampai dengan kedalaman 70 meter dengan suhu 26-28°C dan salinitas mencapai 35 ppt. Udang vaname bersifat bentis dan hidup pada permukaan dasar laut. Namun habitat yang disukai udang adalah dasar laut yang biasanya terdapat campuran lumpur berpasir (Haliman & Adijaya, 2006). Sifat hidup dari udang putih adalah *catadromus* atau dua lingkungan, dimana udang dewasa akan memijah di laut terbuka. Setelah telur menetas, larva dan yuwana udang putih akan bermigrasi ke daerah pesisir pantai atau mangrove yang biasa disebut daerah *estuarine* tempat *nursery ground* nya.

2.4 Siklus Hidup Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Siklus hidup udang putih dimulai sejak telur mengalami fertilisasi dan lepas dari tubuh induk udang. Menurut Wyban & Sweeney (1991) telur tersebut akan mengalami berbagai macam tahapan yaitu nauplius, zoea, mysis dan post larva.

1. *Nauplius*

Stadia ini terbagi atas enam tahapan yang memiliki kisaran waktu selama 46-50 jam. *Nauplius* memiliki ukuran 0,32-0,58 mm. Sistem pencernaan pada stadia ini belum sempurna dan untuk memenuhi kebutuhan makanannya larva memiliki cadangan makanan berupa kuning telur sehingga tidak membutuhkan makanan dari luar.

2. *Zoea*

Stadia zoea terbagi atas tiga tahapan yang berlangsung selama 4 hari. Stadia zoea memiliki ukuran berkisar antara 1,05-3,30 mm. Stadia ini larva telah mengalami *moulting* sebanyak 3 kali, yaitu stadia zoea 1, zoea 2, dan zoea 3. Stadia zoea

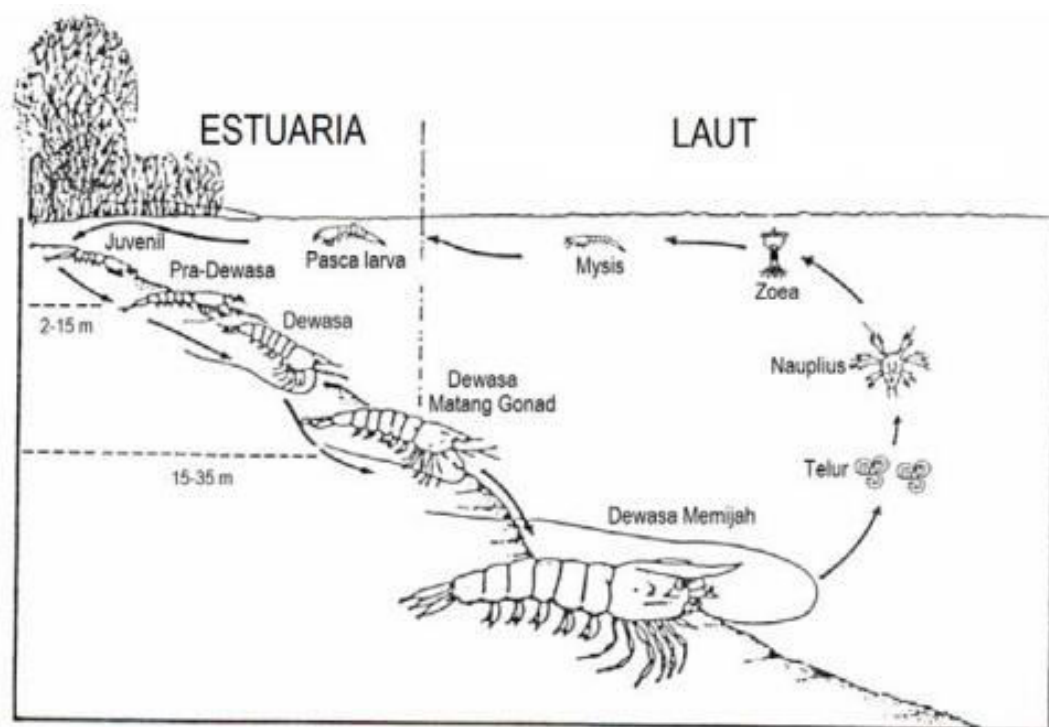
sangat peka terhadap perubahan lingkungan terutama kadar garam dan suhu air. Stadia ini larva mulai membutuhkan makanan berupa fitoplankton.

3. *Mysis*

Stadia *mysis* terbagi atas tiga tahapan yang lama waktunya berkisar antara 4-5 hari. Bentuk benur stadia ini menyerupai bentuk udang yang dicirikan dengan terlihatnya ekor kipas (*uropoda*) dan ekor (*telson*). *Mysis* bersifat planktonis dan bergerak mundur dengan cara membengkokkan badannya. Benur pada stadia *mysis* mulai menggemari pakan berupa zooplankton, misalnya *Artemia* sp.

4. *Post Larva*

Benur udang vaname yang telah memasuki stadia ini sudah tampak seperti udang dewasa. Stadia post larva ditandai dengan tumbuhnya pleopoda yang berambut (*setae*) untuk renang. Benur pada stadia ini akan bersifat bentik atau organisme penghuni dasar yang telah aktif bergerak lurus ke depan. Siklus hidup udang dapat dilihat pada Gambar 3 berikut.



Gambar 3. Siklus hidup udang vaname (Wyban dan Sweeney, 1991).

2.5 Sistem Pertahanan Tubuh Udang

Sistem pertahanan tubuh pada paneid berbeda dengan hewan darat ataupun pada manusia, dimana hewan ini tidak memiliki antibodi spesifik atau komplemen. Selain itu sistem pertahanan tubuh pada udang juga masih tergolong primitif dan tidak memiliki sel memori, sehingga tidak terdapat immunoglobulin yang berperan dalam mekanisme kekebalan tubuh (Mahasri, 2007). Namun udang memiliki suatu sistem imun bawaan nonspesifik yang secara efektif mampu mendeteksi dan mengeliminasi serta menghancurkan materi-materi asing termasuk mikroorganisme berbahaya (Jiravanichpaisal *et al.*, 2006). Menurut Roitt *et al.* (1998), sistem pertahanan tubuh pada hewan invertebrata seperti udang melibatkan sel hemosit yang berperan dalam proses fagositosis, pelepasan prophenoloksidase, koagulasi, sintesis α_2 macroglobulin, aglutinin dan antibacterial peptide serta haemogram, yang meliputi *total haemocyte count* (THC) dan *differential haemocyte count* (DHC) yang terdiri dari *large granular haemocyte* (LGH), *semigranular haemocyte* (SGH) dan *agranular haemocyte count* (AHC).

Secara umum udang memiliki 2 sistem pertahanan tubuh yakni sistem pertahanan seluler dan sistem pertahanan humoral. Sistem pertahanan tubuh seluler meliputi fagosit sel-sel hemosit, nodulasi dan encapsulasi. Adapun sistem pertahanan tubuh humoral mencakup phenoloksidase (PO), prophenol-oksidas (proPO), lectin dan aglutinin (Darwanti *et al.*, 2016). Kedua sistem pertahanan tubuh ini bekerja secara sinergis sebagai pertahanan tubuh udang untuk melawan serangan organisme patogen dari lingkungan.

Meningkatnya ketahanan tubuh pada udang dapat diketahui dari meningkatnya aktivitas fagositosis terhadap benda-benda asing yang masuk ke tubuh inang. Aktivitas fagositosis ini dilakukan oleh sel-sel fagosit yang memiliki jumlah bervariasi dari 2-28% dari jumlah total sel darah. Fagositosis merupakan suatu mekanisme pertahanan nonspesifik yang secara umum melindungi inang dari serangan patogen. Hemosit menjadi faktor yang sangat penting dalam sistem pertahanan seluler yang bersifat nonspesifik. Hemosit merupakan pertahanan tubuh seluler yang dapat dilihat kemampuannya dalam aktivitas fagositosis yakni meningkat saat

terjadinya suatu infeksi. Infeksi yang terjadi akan dapat merangsang sistem pertahanan nonspesifik seluler sehingga dapat menangkal serangan penyakit. Terdapat tiga mekanisme aktivitas hemosit pada udang yang teramati yaitu mekanisme penyerapan (enkapsulasi) terhadap suatu materi asing, mekanisme fagositosis gabungan dari beberapa hemosit yang membentuk kumpulan-kumpulan lebih besar, dan kumpulan hemosit yang membentuk suatu lapisan terpigmentasi (Fontaine & Lightner, 1974).

2.6 White Spot Syndrome Virus (WSSV)

White spot syndrome virus atau WSSV adalah salah satu infeksi penyakit yang telah merambah secara global dan menjadi masalah serius pada sebagian besar spesies udang yang dibudidayakan secara komersil. WSSV merupakan virus DNA untai ganda (dsDNA) yang memiliki virion berukuran 80-120 x 250-380 nm dengan bentuk batang (OIE, 2019). Terdapat beberapa inang dari WSSV, antara lain *Litopenaeus vannamei*, *Penaeus indicus*, *Penaeus japonicus*, *Penaeus chinensis*, *P. merguensis*, *P. aztecus*, *P. stylirostris*, *P. monodon*, *P. duorarum*, *P. setiferus*, *P. penicillatus*, *P. semisulcatus*, *P. curvirostris*, *Metapenaeus ensis*, *Macrobrachium idella*, *M. lamerrae*, dan kepiting air tawar (*Paratelphusa hydrodomuos* dan *Paratelphusa pulvinata*) (Lio & Inui, 2014).

Beberapa penelitian telah menginvestigasi keberadaan WSSV pada bagian organ. Menurut Lo *et al.*, (1998) infeksi WSSV terdapat pada bagian insang, kaki renang (*pleiopod*), kaki jalan (*pereiopod*), jantung, dan organ lainnya. Adapun Yanti *et al.* (2017) melaporkan bahwa infeksi artifisial menggunakan analisis patogenik kuantitatif menunjukkan bahwa jaringan target major dari proses replikasi WSSV terdapat pada insang, lambung, epitel kutikula tubuh, jaringan hematopoietik, organ limfoid, dan kelenjar antenal. Selain itu Lo *et al.* (1997) menambahkan bahwa pada stadium akhir semua jaringan udang yang terinfeksi WSSV akan mengalami nekrosis.

Sampai saat ini belum ditemukan spesies udang penaeid yang resisten terhadap infeksi WSSV (Lotz, 1997). Infeksi penyakit WSSV pada udang terjadi akibat

adanya penularan baik secara horizontal maupun vertikal. Infeksi WSSV secara horizontal terjadi akibat pemangasaan individu yang terkena WSSV dan adanya partikel-partikel virus yang terdapat didalam air. Adapun infeksi secara vertikal terjadi akibat penularan penyakit dari induk ke anaknya (Nurhaeda, 2017). Virus ini mempunyai cakupan inang yang luas (Escobedo-Bonilla *et al.*, 2008), virulensi yang tinggi dan dapat menyebabkan kematian kumulatif mencapai 100% dalam beberapa hari (Samyukthaa & Pasupathi, 2013).

2.7 Natrium Alginat

Alginat merupakan senyawa polisakarida yang didapatkan dari hasil ekstraksi kelompok alga coklat yang biasa disebut dengan Alginophyt. Alginophyt ini termasuk ke dalam kelompok Phaeophyceae yang termasuk didalamnya yakni dari mar-ga Sargassum, Macrocystis, Fucus, Ecklonia, dan Lessonia (Aslan, 1991). Kadi & Atmaja (1988) menjelaskan bahwa alginat merupakan garam dari asam alginat yang mengandung ion natrium, kalsium dan kalium. Alginat umumnya dikenal sebagai bentuk garam dari asam alginat yang tersusun atas asam *D-mannuronat* dan asam *L-guluronat* (Gayo, 2016). Alginat ini berperan sebagai komponen penguat dinding sel dengan kandungan yang melimpah yakni sebanyak 40% dari total berat kering rumput laut coklat (Sinurat & Marlioni, 2017). Alginat ini sangat dibutuhkan dan banyak digunakan sebagai pengental atau *elmusifier* di berbagai bidang industri baik bidang pangan, nonpangan, maupun kedokteran. Selain itu, Ridlo & Pramesti (2009) menambahkan bahwa polisakarida merupakan komponen essensial bagi semua organisme karena memiliki bioaktivitas sebagai anti-tumor, antiinflamasi, imunologi, dan juga antivirus.

Natrium alginat merupakan produk karbohidrat yang telah diekstraksi dari alga laut coklat dengan garam alkali. Menurut Haerunnisa (2008) natrium alginat merupakan produk akhir dari ekstraksi alga coklat berupa garam alginat yang dapat larut dalam air. Yunizal (2004) menjelaskan bahwa terdapat empat tahapan dalam ekstraksi alga coklat sebelum menjadi natrium alginat. Tahap pertama yakni perendaman dalam larutan alkali dan larutan asam, tahap kedua ialah ekstraksi dalam suasana basa, tahap ketiga merupakan tahapan pemucatan dan tahap keempat

adalah tahapan pemurnian. Tahapan keempat terdiri dari tiga bagian yakni pembentukan asam alginat, pembentukan dan pemurnian natrium alginat.

2.8 *Sargassum* sp.

Sargassum sp. merupakan salah satu spesies alga coklat yang cukup potensial. Alga ini tumbuh hampir di sepanjang pantai Indonesia, terutama pada pantai yang dasarnya terdapat lempengan karang mati (Septiana & Asnani, 2012). Spesies dari *Sargassum* sp. di Indonesia memiliki beberapa jenis yakni *Sargassum duplicatum*, *Sargassum polycistrum*, *S. binder*, *S. crassifolium*, *S. echinocarpum*, *S. molleri*, *S. gracillimum*, *S. sinereum*, *S. hystri*, *S. siliquosum*, *S. fenitan*, *S. S. filipendula*, *S. polyceratium*, dan *S. vulgare*. Spesies-spesies alga coklat tersebut dapat dibedakan dari bentuk morfologi dan kandungan protein, vitamin C, tannin, *iodine* serta *phenol* (Kadi, 2005). Menurut Pakidi & Suwoyo (2016), klasifikasi rumput laut *Sargassum* sp. adalah sebagai berikut:

Divisi`	: Thallophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Famili	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum</i> sp.

Ciri umum dari *Sargassum* sp. yakni memiliki talus silindris dan berduri kecil dengan warna coklat. Talus pada alga coklat tersebut memiliki cabang dan percabangan ini dinamakan *pinnatus alternates*, sedangkan anak percabangannya disebut daun. Setiap cabang terdapat gelembung udara berbentuk bulat yang disebut *bladder*. *Bladder* berfungsi sebagai penopang bagi cabang-cabang talus yang terapung di permukaan air agar mendapatkan intensitas cahaya matahari (Kadi, 2005). Talus sedikit datar dan licin tetapi bagian batang utama berbetuk bulat dan agak kasar. *Pinnatus alternates* memiliki panjang berkisar antara 30-50 cm dengan daun berbentuk oval memanjang berukuran 40x10 mm dan terdapat urat

pada bagian tengah daun. Morfologi *Sargassum* sp. dapat dilihat pada Gambar 4 di bawah ini.



Gambar 4. Morfologi *Sargassum* sp. (Pakidi & Suwoyo, 2016).

Alga coklat ini hidup pada zona intertidal, subtidal, sampai daerah tubir dengan ombak besar dan deras (Kadi, 2005). *Sargassum* sp. memiliki tiga sifat yang cukup umum yaitu adanya pigmen coklat yang menutupi warna hijau, hasil dari fotosintesis disimpan dalam bentuk laminaran dan algin, serta adanya flagel (Tjitrosoepomo, 2005). Pigmen coklat pada *Sargassum* sp. menghasilkan algin atau alginat, laminarin, selulosa, fikoidin dan manitol yang komposisinya sangat tergantung pada jenis, masa perkembangan dan juga kondisi tempat tumbuhnya (Maharani & Widyayanti, 2010). Alga coklat ini di laut tumbuh secara liar dan pemanfaatannya saat ini masih belum optimal.

Penelitian yang dilakukan Dewi *et al.* (2015) mengungkapkan bahwa umumnya rumput laut mengandung air sebanyak 12,95-27,50%, karbohidrat 32,25-63,20%, protein 1,60-10,00%, serat kasar 3-11,40%, abu 11,50-23,70%, dan lemak 3,5-11%. Rumput laut juga kaya akan omega 3, vitamin, dan pigmen yang memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan dan antibakteri. Koivikko (2008) melaporkan bahwa alga coklat ini terdapat senyawa fenolik florotanin yang berfungsi sebagai sumber antioksidan. Selain itu, pada rumput laut juga ditemukan senyawa aktif

seperti steroid, alkaloid, fenol, dan triterpenoid yang berfungsi sebagai antibakteri, antivirus, dan juga antijamur (Kusumaningrum *et al.*, 2007).

2.9 Imunostimulan

Imunostimulan adalah suatu bahan kimia yang mampu mengaktifkan sel darah putih (leukosit) pada suatu organisme sehingga organisme tersebut lebih tahan terhadap serangan patogen baik virus, bakteri, jamur maupun parasit. Adapun imunisasi merupakan suatu proses memasukkan imunostimulan dalam tubuh untuk meningkatkan kekebalan tubuh pada udang tersebut. Imunostimulan yang masuk ke dalam tubuh udang akan merangsang haemosit untuk melakukan degranulasi.

Imunostimulan akan melepaskan protein seperti *binding molecule* (β Glucan-binding protein/ β -GBP), *Lipopolysaccharide-binding protein/LPS- BP*, *Peptidoglycan-binding protein/PG- BP*, *coagulation factors* (transglutaminase), *prophenol-oxide related factors* (prophenoloxide activating enzyme, peroxinectin, dan prophenoloxide), *protein inhibitors* (α 2 macroglobulin) dan *anti microbial substances* (penaedin, lectin) (Hidayat *et al.*, 2017). Beberapa protein tersebut dilepaskan untuk digunakan dalam meningkatkan aktivitas pertahanan tubuh humoral dan juga pertahanan tubuh seluler pada udang (Van de Braak *et al.*, 2000).

Pemberian imunostimulan tidak memberikan efek samping dan sangat dianjurkan untuk diaplikasikan pada organisme yang tidak memiliki sel memori dalam sistem imunnya karena imunostimulan dapat merangsang dan memaksimalkan respon imun nonspesifik (Kwang, 1996). Penelitian yang dilakukan Pais *et al.* (2008) melaporkan bahwa imunostimulan yang disuplementasikan pada pakan dapat meningkatkan resistensi ikan maupun udang terhadap infeksi penyakit melalui peningkatan respon imun nonspesifik. Bahan-bahan immunostimulator dikelompokkan berdasarkan fungsi dan sumbernya yang terdiri atas beragam kelompok yakni berupa bakteri dan produk bakteri, yeast, karbohidrat kompleks, ekstrak hewan, ekstrak tumbuhan, serta obat-obatan sintetik (Sakai, 1999).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2020-Maret 2021, bertempat di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

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

Tabel 1. Alat-alat penelitian

No.	Alat	Spesifikasi	Kegunaan
1.	Kontainer	CB 45 L ukuran 54x36x29 cm ³	Wadah pemeliharaan udang.
2.	Selang aerasi	PUSO, panjang 1-1,5 m	Menyalurkan aerasi ke titik yang diinginkan.
3.	Batu aerasi	MULTI (D1.5/L3)	Meningkatkan level optimal oksigen.
4.	Blower	Turbo 2HP, China	Menaikkan atau memperbesar tekanan udara atau gas yang akan dialirkan.
5.	Waring	Arwana, Ukuran 60 x 50 cm	Menutup permukaan kontainer
6.	Syringe 1 cc	One Med, ukuran 26 GG	Untuk injeksi virus WSSV
7.	Timbangan digital	Kern ABJ, d = 0,1 mg	Untuk menimbang bahan yang akan digunakan.
8.	Spatula	Isolab Micro Spoon 150mm, German	Mengambil bahan saat proses menimbang.
9.	Botol Spray	Dai Ichi 100ml, Jepang	Untuk mencampurkan natrium alginat dan pakan.
10.	Sentrifus	Hanil MF-300, Korea Selatan	Memisahkan partikel-partikel zat (supernatan) berdasarkan berat molekul.

Tabel 1. (Lanjutan)

No.	Alat	Spesifikasi	Kegunaan
11.	Gelas ukur	Iwaki pyrex, Jepang	Untuk menakar volume larutan yang digunakan.
12.	Erlenmeyer	Iwaki pyrex, Jepang	Pencampuran larutan dan bahan, menyimpan media.
13.	Toples Kaca 2 L	KIG 2 Liter, Indonesia	Perendaman rumput laut
14.	Freezer (-20°C)	LG GN-B200SQBB, Indonesia	Menyimpan sampel dan pakan perlakuan.
15.	Tabung Falcon	Falcon, China	Wadah proses sentrifus.
16.	Oven	Memmer UN 260, Germany	Untuk mengeringkan ekstrak.
17.	Mikroskop	Leica, German	Pengamatan jaringan.
18.	Shacker	PSU-15i, German	Untuk menghomogenkan larutan.
19.	Corong Kaca	PYREX 100 mm x 26 mm, USA	Membantu proses ekstraksi dan pengenceran.
20.	Termometer	Gea Medical, Indonesia	Mengukur suhu.
21.	DO meter	YSI Pro 20I, USA	Mengukur kadar oksigen terlarut di dalam air.
22.	pH meter	ATC pH-009, China	Mengetahui suatu larutan asam atau basa.
23.	Refraktometer	Atago Hand-Held Refractometer, Jepang	Mengukur kadar atau konsentrasi bahan terlarut berdasarkan indeks biasnya
24.	Vortex	Scientific Industries, USA	Menghomogenkan larutan.

Tabel 2. Bahan-bahan penelitian

No.	Alat	Spesifikasi	Kegunaan
1.	Udang vaname	Prima larva, 19 Gram	Hewan yang akan diuji
2.	<i>Sargassum</i> sp.	Pantai Biha, Pesisir Barat	Untuk menghasilkan alginat
3.	Etanol Teknis 96%	Etanol 96% Shagufta Laboratory	Sebagai bahan depigmentasi
4.	HCl 12N	E Merck 1.00317.2500, German	Digunakan pada tahap maserasi
5.	Na ₂ CO ₃	E Merck, D-6100, F.R Germany	Digunakan untuk mendapatkan Na alginat
6.	KCl 0,13 M	E Merck K49269636804,	Digunakan untuk pemuatan
7.	Disinfektan	Life Jacket, KBNP, Hawaii	Untuk mensterilkan air dan alat
8.	Progol	BOSTER PROGOL	Untuk perekat pakan
9.	PBS	BIONEER Phosphate Buffer Saline	Untuk pengenceran
10.	Aquades	-	Sebagai pelarut

Tabel 2. (Lanjutan)

No.	Alat	Spesifikasi	Kegunaan
11.	Pakan komersil	Global Feed 3B, Indonesia	Untuk pakan hewan uji.
12.	EDTA 2N	E Merck 1064041000, German	Untuk pengikat alginat.
13.	Vitamin C	Asorbic Acid, China	Sebagai suplemen tambahan
14.	Formalin 10%	E Merck 1040032500, German	Untuk mengawetkan jaringan dalam pemeriksaan histologi

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini disusun dengan menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 perlakuan dengan 3 kali ulangan seperti berikut :

P1 : Pakan komersial tanpa penambahan natrium alginat (kontrol).

P2 : Pakan komersial dengan penambahan natrium alginat 1 g/kg pakan + vitamin C 0,2 g/kg pakan.

P3 : Pakan komersial dengan penambahan natrium alginat 2 g/kg pakan.

Berikut Gambar 5 merupakan tata letak wadah penelitian:

P2.3	P2.2	P3.2
P1.1	P1.2	P2.1
P3.3	P3.1	P1.3

Gambar 5. Tata letak wadah penelitian.

Keterangan :

P1.1, P1.2, P1.3 : Perlakuan P1 dan 1,2, 3 merupakan ulangan.

P2.1, P2.2, P2.3 : Perlakuan P2 dan 1,2, 3 merupakan ulangan.

P3.1, P3.2, P3.3 : Perlakuan P3 dan 1,2, 3 merupakan ulangan .

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Koleksi *Sargassum* sp.

Sampel rumput laut coklat *Sargassum* sp. dikumpulkan dari perairan Lampung

yaitu Pantai Biha, Pesisir Barat, Kabupaten Pesisir Barat pada Juli 2020. Rumput laut yang sudah didapatkan, dicuci dengan air tawar dan dikeringkan anginkan. Alga yang sudah kering lalu digiling sampai menjadi tepung. Tepung alga tersebut kemudian disimpan pada tempat yang aman dan tidak lembab.

3.4.2 Ekstraksi Natrium Alginat dengan EDTA (Jork *et al.*, 2000)

Sargassum sp. yang telah terdepigmentasi ditimbang sesuai kebutuhan, kemudian dilakukan ekstraksi dengan 5% Na_2CO_3 / 50 μM EDTA. Ekstrak lalu ditambahkan dengan larutan HCl 10% hingga pH 8,5. Ekstrak diaduk dengan *shaker* selama 24 jam, pada suhu ruang. Setelah 24 jam, dilakukan penyaringan menggunakan kain blacu. Padatan disaring dan ditambahkan 0,13 M KCl pada larutan. Ekstrak tersebut kemudian dipresipitasi dengan ethanol 96% dengan perbandingan volume 1:1, sambil diaduk kuat. Ekstrak disimpan dalam lemari pendingin selama 24 jam hingga endapan terbentuk maksimal. Setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 3.500 rpm selama 5 menit. Pelet kemudian diambil dan dikeringkan di dalam oven selama 60°C selama semalam.

3.4.3 Persiapan Wadah Penelitian dan Hewan Uji

Wadah yang digunakan pada penelitian ini berupa bak konteiner berukuran 54x36 x29,5 cm³ dengan volume air 23 liter. Kontainer tersebut dibersihkan terlebih dahulu dengan air bersih kemudian dikeringkan. Selanjutnya bak tersebut diisi dengan air laut steril dan diberi aerasi. Air laut sebelumnya telah dilakukan sterilisasi pada kolam semen berukuran 100x130x70 cm³ dengan *potassium acid* dosis 2 ppm selama 24 jam. Hewan uji yang digunakan yaitu udang vaname dengan bobot rata-rata ± 19 g. Jumlah hewan uji yang digunakan untuk setiap bak kontainer yakni sebanyak 10 ekor. Udang vaname pada ukuran 18-20 gram padat tebar yang digunakan yaitu 50-80 ekor/m² (SNI 8037.1, 2014). Sebelum diberi perlakuan, hewan uji diaklimatisasi terlebih dahulu pada suhu ruang (26-28°C) selama 2 hari dalam kolam semen berukuran 100x130x70 cm³. Selama periode aklimatisasi ini, udang diberikan pakan berupa pakan kontrol. Selama proses aklimatisasi maupun pemeliharaan aerasi dan blower harus selalu dipantau agar udang dapat hidup dengan baik pada konteiner tersebut. Selama belum dilakukannya injeksi WSSV

pada udang vaname, air laut pada setiap wadah harus diganti setiap hari sekitar 10-20% dari total air pada wadah uji.

3.4.4 Pembuatan Pakan Uji

Pakan yang digunakan pada penelitian ini adalah pakan komersil (Global feed 3B) dengan kandungan protein sebanyak 34-36%. Pakan tersebut dicampurkan dengan natrium alginat *Sargassum* sp., dan vitamin C (Weisheng Pharmaceutical (Shijiazhuang) Co., Ltd, China) sesuai perlakuan ke dalam botol *sprayer* yang ditambahkan akuades sebanyak 100 ml/kg pakan dan ditambahkan progol (PT. INDOSCO, Surabaya, Indonesia) sebanyak 2 g/kg pakan setelah itu larutan disemprotkan ke pakan hingga merata. Selanjutnya pakan tersebut dikering anginkan sampai benar-benar siap diberikan ke hewan uji.

3.4.5 Pemeliharaan Udang

Hewan uji atau udang vaname yang telah diaklimatisasi pada bak kontainer selama 2 hari kemudian diberi pakan perlakuan sebanyak 3% dari berat biomassa per hari, sedangkan udang dengan perlakuan kontrol tetap diberi pakan tanpa perlakuan. Pemberian pakan perlakuan dilakukan sebanyak 4 kali dalam sehari yakni pukul 06:00, 11:00, 16:00, dan 21:00 WIB selama 14 hari pemeliharaan. Setelah diberikan pakan perlakuan selama 14 hari, kemudian hari ke 15 udang tersebut diuji tantang dengan WSSV. Setelah uji tantang, semua udang baik perlakuan maupun kontrol diberikan pakan kontrol hingga akhir penelitian.

3.4.6 Uji Tantang *White Spot Syndrome Virus* (WSSV)

Uji tantang WSSV pada hewan uji dilakukan secara injeksi. Sampel udang yang digunakan untuk menginfeksi adalah udang yang telah terinfeksi oleh WSSV dan memperlihatkan gejala klinis kemerahan pada seluruh tubuh. Sampel udang ini didapatkan dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Inokulum virus dibuat sesuai dengan metode Hameed *et al.* (1998), Sebanyak 5 ekor sampel udang WSSV dengan berat ± 6 g digerus semua bagian tubuhnya kecuali kerapas sampai halus menggunakan mortar dan dilarutkan dalam 15 ml PBS (*phosfat buffer saline*), kemudian dimasukkan ke tabung untuk dihomogenkan

dengan *vortex*. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 20 menit dengan suhu 4°C. Supernatan yang dihasilkan dari sentrifugasi pertama dipindahkan pada tabung baru dan kemudian disentrifugasi kembali dengan kecepatan 8.000 rpm selama 30 menit dengan suhu 4°C. Supernatan yang dihasilkan disaring dengan kertas milipore 0,45 µm menggunakan *syringe*. Inokulum WSSV yang telah didapatkan kemudian diencerkan dengan perbandingan 1:1 dengan larutan PBS. Ujiantang WSSV pada udang vaname dilakukan melalui injeksi secara intramuskular pada segmen ketiga abdomen udang dengan 0,1 ml larutan virus.

3.5 Parameter yang Diamati

Adapun parameter yang diamati yaitu gejala klinis, kelangsungan hidup, *relative percent survival* (RPS), *mean time to death* (MTD), uji PCR, histologi jaringan dan kualitas air pemeliharaan.

3.5.1 Gejala Klinis

Gejala klinis udang diamati secara visual setiap hari pasca infeksi virus WSSV, pengamatan dilakukan saat udang telah diuji tantang sampai akhir pemeliharaan. Gejala-gejala klinis yang diamati yaitu respons makan, kemerahan pada tubuh (perubahan warna tubuh), dan bintik putih pada karapas (Hameed *et al.*, 1998).

3.5.2 Kelangsungan Hidup

Penghitungan jumlah udang yang mati dilakukan setelah ikan udang diinjeksi WSSV sampai akhir penelitian. Tingkat kelangsungan hidup udang dihitung dengan menggunakan rumus dalam Daniels *et al.*, (2010) :

$$KH\% = \frac{Nt}{No} \times 100\%$$

Keterangan :

KH : Kelangsungan hidup (%)

Nt : Jumlah udang hidup pada akhir penelitian (ekor)

No : Jumlah udang hidup pada awal penelitian (ekor)

3.5.3 *Relative Percent Survival (RPS)*

Tingkat kelangsungan hidup relatif dihitung dengan menggunakan rumus Ellis (1988) dalam Marbun *et al.*, (2019) berikut :

$$RPS = \left(1 - \frac{\% \text{ kematian ikan yang divaksin}}{\% \text{ kematian ikan yang tidak divaksin}} \right) \times 100\%$$

3.5.4 *Mean Time to Death (MTD)*

Rerata waktu kematian (*mean time to death*/MTD) dihitung dengan menggunakan rumus Istiqomah *et al.*, (2006) berikut :

$$MTD = \frac{\sum_{i=1}^n a_i b_i}{\sum_{i=1}^n b_i}$$

Keterangan :

MTD : *Mean time to death* (rerata waktu kematian)

a_i : Waktu kematian pada waktu ke- i (jam)

b_i : Jumlah ikan uji yang mati pada jam ke- i (ekor)

3.5.5 Pemeriksaan WSSV menggunakan PCR Konvensional

3.5.5.1 Nekropsi

Nekropsi merupakan teknik pembedahan pada hewan uji yang digunakan dalam diagnosa penyakit. Sifat pemeriksaan hasil nekropsi adalah berdasarkan pada perubahan patologi anatomi. Proses nekropsi umumnya dilakukan untuk mengamati dan mengambil organ target pada sampel. Organ target yang biasa diambil dalam pemeriksaan dan diagnosa penyakit WSSV pada udang vaname yaitu kaki renang dan insang dengan memotong bagian tersebut secara langsung. Adapun untuk sampel berupa benur, seluruh bagian tubuh digunakan dalam pengujian. Sebelum dilakukan nekropsi terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan gejala klinis dan pengukuran panjang dan berat sampel. Sampel udang yang digunakan untuk uji PCR dapat dilihat pada Gambar 6 di bawah ini.



Gambar 6. Sampel uji PCR (dokumentasi pribadi).

Adapun proses nekropsi sampel tersebut yaitu :

1. Alat bedah yang sudah disterilkan, larutan fiksatif (*ethanol 75%*), sampel udang, bunsen, dan korek api disiapkan di ruang nekropsi.
2. Sampel udang diambil bagian organ kaki renang dan insang.
3. Jaringan yang telah diambil, kemudian dimasukkan ke dalam mikrotube berukuran 1,5 ml yang telah dituliskan kode sampel sesuai dengan STP (surat tanda pengujian).
4. Sampel hasil preparasi dapat langsung digunakan atau disimpan di *freezer*.

3.5.5.2 Ekstraksi DNA

Ekstraksi merupakan proses memisahkan molekul asam nukleat dari komponen-komponen sel lainnya. Proses ekstraksi terdapat tiga tahapan utama yaitu perusakan membran sel, pemisahan materi genetik dari bahan padat seperti protein dan selulosa, serta pemurnian materi genetik (Fitriatin *et al.*, 2015). Adapun proses ekstraksi DNA untuk pengujian WSSV yaitu :

1. Larutan *lysis buffer* disiapkan dan dimasukkan ke dalam mikrotube berukuran 1,5 ml sebanyak 500 μ l. Kemudian organ target sampel dimasukkan ke dalam mikrotube.
2. Sampel uji digerus menggunakan sumpit hingga hancur. Selanjutnya sampel diinkubasi selama 10 menit pada suhu 95°C.
3. Sampel yang telah diinkubasi selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit.

4. Sampel dari hasil sentrifugasi bagian atas dipindahkan sebanyak 200 μ l ke dalam *microtube* baru yang telah berisi 400 μ l ethanol 95%.
5. Sampel divortex sebentar kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit.
6. Larutan ethanol dibuang lalu pelet dikeringkan.
7. Pelet yang telah kering ditambahkan DEPC ddH₂O (aquabidest) sebanyak 200 μ l.

3.5.5.3 Amplifikasi

Amplifikasi merupakan proses perbanyakan atau penggandaan molekul DNA dengan ukuran tertentu secara enzimatis melalui mekanisme perubahan suhu. Secara umum proses amplifikasi berlangsung dalam tiga tahap, yaitu tahap denaturasi, *annealing* (penempelan), dan *extension* (pemanjangan). Tahapan denaturasi dilakukan dengan menaikkan suhu hingga 93-94°C dengan tujuan memecah molekul DNA target dari dua untai menjadi untaian DNA tunggal yang saling terpisah. Tahapan *annealing* dilakukan pada suhu 50-60°C dengan tujuan agar primer dapat menempel dengan DNA target. Tahap *extension* berlangsung pada suhu 72°C dengan tujuan agar enzim polimerase dapat melakukan sintesis sehingga berlangsung proses pemanjangan untaian DNA baru (Prayoga *et al.*, 2015).

Acuan pemeriksaan penyakit WSSV dalam proses amplifikasi virus menggunakan jenis KIT IQ2000. Jenis KIT IQ2000 tidak hanya digunakan dalam pemeriksaan WSSV saja, namun juga dapat digunakan untuk pemeriksaan IMNV, IHNV, YHV, dan TSV. Berikut merupakan proses amplifikasi dalam pemeriksaan penyakit WSSV :

a. *First*

Dalam proses *running first* disiapkan *microtube* berukuran 0,5 ml sesuai dengan banyaknya jumlah sampel yang akan diuji. Kemudian diberi kode sesuai dengan nomor sampel. Selanjutnya dimasukkan reagen ke dalam *microtube* seperti pada Tabel 3 dibawah ini.

Tabel 3. DNA reagen *first*

Proses	Reagen	Satuan	Jumlah
<i>First</i>	<i>First</i> PCR Premix (WSSV)		3,75
	IQZyme DNA Polymerase 2 U/ μ l	μ l	0,25
	Template		1

Setelah semua reagen selesai dimasukkan kedalam microtube, selanjutnya dilakukan *spindown* sebentar untuk menghilangkan gelembung udara yang ada pada reagen dan selanjutnya dimasukkan ke dalam *thermal cycler* dengan program IQ2000 *first*.

**Gambar 7.** *Thermal cycler* (dokumentasi pribadi).

Amplifikasi *first* PCR

Denaturasi: 94°C 30 detik; 62°C 30 detik; 72°C 30 detik, selama 5 siklus,
 Annealing: 94°C 15 detik; 62°C 15 detik; 72°C 20 detik selama 15 siklus,
 Extension: 72°C 30 detik; 20°C 30 detik; dan extansion akhir pada suhu 4°C.

b. *Nested*

Setelah proses *first* selesai dilanjutkan dengan proses *nested* dengan mencampurkan hasil pada proses *first* dengan reagen untuk proses *nested*. Reagen tersebut antara lain disajikan pada Tabel 4 adalah sebagai berikut.

Tabel 4. DNA reagen *nested*

Proses	Reagen	Satuan	Jumlah
<i>Nested</i>	Amplicon <i>first</i>		5
	<i>Nested</i> PCR Premix (WSSV/IHHNV)	μ l	7
	IQZyme DNA Polymerase 2 U/ μ l		0,5

Amplifikasi nested PCR yaitu 94°C 20 detik; 62°C 30 detik; 72°C 30 detik selama 25 siklus, tambahkan 72°C 30 detik; 20°C 30 detik diakhir siklus. Proses *nested* PCR, ini memungkinkan untuk mengurangi kontaminasi pada produk selama amplifikasi dari penyatuan primer yang tidak diperlukan. Reaksi dari *first* PCR ini menggunakan *outer primer*, lalu reaksi PCR kedua dilakukan dengan *inner primer* atau *nested primer* menggunakan hasil dari produk reaksi yang pertama sebagai target amplifikasi. Pada proses ini *nested* primer akan menyatu dengan produk PCR yang pertama dan menghasilkan produk yang lebih pendek daripada produk yang pertama. Pada amplifikasi pengujian WSSV menggunakan enzim DNA polimerase dimana enzim ini yang melakukan katalisis pada reaksi sintesis rantai DNA. Enzim polimerase *taq* tersebut dapat tahan terhadap pemanasan berulang-ulang yang akan membantu melepaskan ikatan primer yang tidak tepat dan meluruskan wilayah yang mempunyai struktur sekunder.

3.5.5.4 Elektroforesis

Prinsip dasar dari elektroforesis adalah memisahkan molekul berdasarkan muatan listrik intrinsik. Proses elektroforesis merupakan suatu proses pemisahan komponen atau muatan bermuatan berdasarkan perbedaan ukuran berat molekul dan muatan listrik yang terkandung dalam makromolekul. Pergerakan molekul dalam muatan listrik dipengaruhi oleh bentuk, ukuran, besar muatan dan sifat kimia dari molekul (Yuwono, 2009). Molekul yang digunakan dalam proses elektroforesis adalah molekul DNA yang bermuatan negatif. Molekul akan bermigrasi menuju kutub positif atau negatif berdasarkan muatan yang terkandung didalamnya.

Tahapan-tahapan yang dilakukan dalam elektroforesis yaitu :

a. Pembuatan Media Gel Agarose

Gel agarose dapat digunakan untuk memisahkan DNA berukuran lebih dari 100 bp, sedangkan untuk memisahkan DNA dengan ukuran lebih pendek digunakan gel poliakrilamid. Gel agarose merupakan fase diam dalam pemisahan fragmen DNA dan muatan listrik sebagai fase geraknya. Adapun proses pembuatan media 1% gel agarose yaitu :

1. Agarose ditimbang sebanyak 0,3 gram untuk ukuran 1 cetakan kecil dan 0,6 gram untuk ukuran 1 cetakan besar. Lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambah larutan TAE *buffer* 1x sebanyak 15 ml untuk 1 cetakan kecil dan 30 ml untuk 1 cetakan besar.
2. Erlenmeyer dimasukkan ke dalam *microwave* untuk dipanaskan selama 80 detik untuk 1 cetakan kecil dan 90 detik untuk 1 cetakan besar dengan power level 5. Media agar yang homogen ditambah 0,5 μ l larutan SYBR-Green atau HydraGreen untuk ukuran 1 cetakan kecil dan 1 μ l untuk ukuran 1 cetakan besar. Larutan SYBRGreen atau HydraGreen berfungsi sebagai pewarna DNA yang akan menyisip di sela-sela basa nukleotida.
3. Larutan agarose diaduk hingga homogen kemudian dimasukkan ke dalam cetakan, dimasukkan sisir untuk membentuk sumur pada cetakan dan ditunggu hingga mengeras. Agarose dipindahkan ke dalam wadah yang telah diisi larutan TAE *buffer* dan agarose dapat digunakan.



Gambar 8. Pencetakan gel agarose (dokumentasi pribadi).

b. Proses Elektroforesis

1. Media agarose diletakkan ke dalam elektroforesis *chamber* yang berisi larutan TAE *buffer* 1x hingga gel agarose terendam.
2. *Loading dye* disiapkan sebanyak 2 μ l sesuai banyaknya sampel uji yang berfungsi sebagai pemberat DNA ataupun RNA saat dimasukkan ke dalam sumuran.
3. Sampel WSSV hasil *amplicon nested* sebanyak 5 μ l diambil dan dicampurkan ke dalam larutan *loading dye*, kemudian diambil menggunakan mikropipet sebanyak 7 μ l.

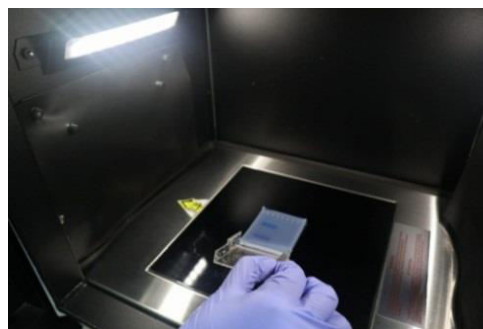
4. Sampel dimasukkan ke dalam sumuran dimulai dari kontrol negatif, sampel, kontrol positif, dan marker, dengan urutan sumuran 1 adalah marker, sumuran 2 kontrol positif, sumuran 3 kontrol negatif dan sumuran 4 sampai seterusnya adalah sampel.
5. Kemudian dilakukan *running* elektroforesis dengan voltase listrik sebesar 220 V selama 25 menit hingga marker dan sampel bergerak 2/3 bagian.



Gambar 9. Proses elektroforesis (dokumentasi pribadi)

c. Pembacaan Hasil Elektroforesis WSSV

Media agar kemudian dikeluarkan dari alat elektroforesis *chamber* menggunakan sendok plastik lebar dan dimasukkan ke dalam UV transilluminator kemudian diambil gambar/foto media berisi DNA band yang sudah disinari UV.



Gambar 10. Agarose dimasukkan ke UV transilluminator (dokumentasi pribadi).

3.5.6 Kualitas Air Pemeliharaan

Kualitas air menjadi data pendukung selama proses pemeliharaan udang pada wadah penelitian. Pengukuran kualitas air dilakukan pada hari ke 1, 7, 14 dan 17. Parameter yang diukur meliputi suhu, pH, oksigen terlarut, dan salinitas.

3.5.7 Pembuatan Preparat Histologi

Sebanyak sembilan ekor udang vaname yang digunakan untuk membuat preparat histologi. Sampel udang vaname tersebut diambil dari masing-masing kontainer penelitian, terdiri atas 3 perlakuan dan 3 ulangan. Udang dipotong menggunakan pisau *scalpel* pada bagian kepala udang lalu dimasukkan dalam botol sampel dan diberi larutan formalin. Selanjutnya udang itu dinekropsi untuk diambil bagian hepatopankreas, lalu difiksasi dalam larutan alkohol dan dibuat preparat histologi sesuai dengan prosedur teknik yang biasa dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Veteriner Lampung. Selanjutnya dilakukan pengamatan sediaan histologi hepatopankreas tersebut dengan menggunakan mikroskop cahaya biokuler.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ditabulasi menggunakan program Excel dan dianalisis menggunakan program SPSS v25.0. Analisis data dengan parameter kelangsungan hidup dan MTD yang digunakan pada penelitian ini adalah uji *analysis of variance* (ANOVA) dan jika berbeda nyata akan diuji lanjut dengan uji Duncan dengan selang kepercayaan 95%. Adapun data RPS dianalisis dengan menggunakan uji T, sedangkan gejala klinis, uji PCR, histologi jaringan dan kualitas air dianalisis secara deskriptif.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Suplementasi 2 g/kg pakan natrium alginat *Sargassum* sp. maupun kombinasi 1 g/kg pakan natrium alginat *Sargassum* sp. dan 0,2 g/kg pakan vitamin C pada udang vaname yang diinfeksi *white spot syndrome virus* (WSSV) belum mampu memberikan pengaruh terhadap parameter kelangsungan hidup dan *relative percent survival* (RPS), namun dosis 2 g/kg pakan natrium alginat *Sargassum* sp. memberikan pengaruh pada parameter *mean time to death* (MTD).

5.2 Saran

Disarankan jika dilakukan kembali penelitian yang sama menggunakan dosis yang lebih besar dan pemberian natrium alginat *Sargassum* sp. lebih dari 14 hari agar ketahanan tubuh udang vaname lebih tahan dan resisten terhadap serangan WSSV maupun patogen lainnya. Perlu pengujian konsentrasi virus (LD₅₀) sebelum ujiantang untuk menghindari konsentrasi virus yang terlalu tinggi saat ujiantang.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Amir, A., Wiraningtyas, A., Ruslan., dan Annafi, N. 2016. Perbandingan metode ekstraksi natrium alginat: metode konvensional dan microwave assisted extraction (MAE). *Chempublish Journal*. 1(2):7-13.
- Amrillah, A. M., Widyarti, S., dan Kilawati, Y. 2013. Dampak stres salinitas terhadap prevalensi white spot syndrome virus (WSSV) dan survival rate udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) pada kondisi terkontrol. *Research Journal of Life Science*. 2(1):110-123.
- Anita, A. W., Agus, M., dan Mardiana, T. Y. 2017. Pengaruh perbedaan salinitas terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup larva udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) PL-13. *Pena Akuatika*. 17(1):12-19.
- Aslan, L. M. 1991. *Budidaya Rumput Laut*. Kanisius. Jakarta. 97 hlm.
- Better Management Practices. 2014. *Budidaya Udang Vaname*. Jakarta Selatan. WWF-Indonesia. 22 hlm.
- Daniels, C. L., Merrifield, D. L., Boothroyd, D. P., Davies, S. J., Factor, J. R., dan Arnold, K. E. 2010. Effect of dietary *Bacillus* sp. and mannan oligosaccharides (MOS) on european lobster (*Homarus gammarus* L.) larvae growth performance, gut morphology and gut microbiota. *Aquaculture*. 304(1-4):49-57.
- Darwantin, K., Sidik, R., dan Mahasri G. 2016. Efisiensi penggunaan imunostimulan dalam pakan terhadap laju pertumbuhan, respon imun dan kelulushidupan udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 18(2):123-134.
- Diggles, B., Moss, G., Carson, J., dan Anderson, C. 2000. Luminous vibriosis in rock lobster *Jasus verreauxi* (decapoda : Palinuridae) phyllosoma larvae associated with infection by *Vibrio harveyi*. *Diseases of Aquatic Organisms*. 43: 127-37.
- Dewi, Y. L., Herawati, E., dan Mahata, M. E. 2015. Kecernaan *in vitro* fraksi serat (NDF, ADF dan selulosa) lima jenis rumput laut coklat dari pantai

- Sungai Nipah Kabupaten Pesisir Selatan Sumatera Barat. *Jurnal Peternakan Indonesia*. 17(3):210-218.
- Ellis, A. E. 1988. *General Principles of Fish Vaccination*. dalam: Ellis AE, editor. Fish vaccination. Academic Press, London. 19 hlm.
- Elovaara, A. K. 2001. *Shrimp Farming Manual: Practical Technology for Intensive Shrimp Production*. Caribbean Press, LTD. USA. 220 hlm.
- Escobedo-Bonilla, C. M., Alday-Sanz, V. M., Whille, P., Sorgeloos, Pensaert, M. B., dan Nauwynck, H. J. 2008. A review on the morphology, molecular characterization, morphogenesis and pathogenesis of white spot syndrome virus. *Journal of Fish Disease*. 31(1):1-18.
- Fontaine, C. T. dan Lighter, D. V. 1974. Observation on phagocytosis and elimination of carmine particle injected into the abdominal musculature of the white shrimp. *Journal of Invertebrata Pathology*. 24(2):11-40.
- Gayo, C. D. 2016. *Pengaruh Variasi Konsentrasi Natrium Alginat terhadap Efisiensi Penjerapan Mikrokapsul Minyak Biji Jinten Hitam (Nigella sativa L.)*. (Skripsi). Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Masyarakat Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. 86 hlm.
- Haerunnisa. 2008. *Analisa Kualitas dan Formulasi Alginat Hasil Ekstraksi Sargassum filipendula untuk Pembuatan Minuman Suplemen Serat dalam Bentuk Effervescent*. (Skripsi). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta. 73 hlm.
- Haliman, R. W. dan Adijaya, D. S. 2006. *Udang Vannamei*. Penebar Swadaya. Jakarta. 75 hlm.
- Hameed, A. S. S., Anilkumar, M., Raj, M. L. S., dan Jayaraman, K. 1998. Studies on the pathogenicity of systemic ectodermal mesodermal baculovirus and its detection in shrimp by immunological methods. *Aquaculture*. 160(1-2):31- 45.
- Hidayat, R. C., Suwarno., dan Mahasri, G. 2017. Evaluasi pemberian crude protein *Zoothamnium penaei* terhadap laju pertumbuhan, respon imun dan kelulushidupan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di tambak. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 19(2):111-132.
- Hikmayani, Y., Yulisti, M., & Hikmah. 2012. Evaluasi kebijakan produksi perikanan budidaya. *Jurnal Kebijakan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan*. 2(2):85-102.
- Immanuel, G., Sivagnanavelmurugan, M., Balasubramanian, V., dan Palavesam, A. 2012. Sodium alginate from *Sargassum wightii* retards mortalities in

- Penaeus monodon* postlarvae challenged with white spot syndrome virus. *Diseases of Aquatic Organisms*. (99):187–196.
- Isnansetyo, A., Irpani, H. M., Wulansari, T. A., dan Kasanah, N. 2014. Oral administration of alginate from a tropical brown seaweed, *Sargassum* sp. to enhance non-specific defense in walking catfish (*Clarias* sp.). *Aquacultura Indonesiana*. 15(1):14-20.
- Istiqomah, I., Isnansetyo, A., Triyanto., Nitimulyo, K. H., dan Murdjani, M. 2006. Patogenesitas *Vibrio fluvialis* 24SK terhadap kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*). *Jurnal Perikanan*. 8(1):17-24.
- Jayanudin., Lestari, A. Z., 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.
- Jiravanichpaisal, P., Lee. B. L., dan Soderhall, K. 2006. Cell-mediated immunity in arthropods: hematopoiesis, coagulation, melanization, and opsonization. *Immunobiology*. 211(4):213-236.
- Johnny, F., Roza, D., Mahardika, K., Zafran., dan Prijono, A. 2005. Penggunaan imunostimulan untuk meningkatkan kekebalan non-spesifik benih ikan kerapu lumpur, *Epinephelus coiodes* terhadap infeksi virus irido. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 11(5):75-83.
- Jork, A., Thurmer, F., Cramer, H., Zimmermann, G., Gessne, P., Hamel, K., Hofmann, G., Kuttler, B., Hahn, H. J., Josimovic-Alasevic, O., dan Fritsch, K. G. 2000. Biocompatible alginate from freshly collected *Laminaria pallida* for implantation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 53(2):224-229.
- Kadi, A. dan Atmadja, W. S. 1988. *Rumput Laut, Jenis, Reproduksi, Budidaya dan Pasca Panen*. Seri Sumberdaya Alam 141. Puslitbang Oceanologi LIPI. Jakarta. 66 hlm.
- Kadi, A. 2005. Beberapa catatan kehadiran marga *Sargassum* di perairan Indonesia. *Oseana*. 30(4):19-29.
- Kitani, H. 1994. Identification of wild post larvae of the penaeid shrimps, Genus *Penaeus*, in the Pacific Coast of Central America. *Fisheries Science*. 60(3):243-247.
- Kusumaningrum, I., Rini, B. H., dan Sri, H. 2007. Pengaruh perasan *Sargassum crassifolium* dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan tanaman kedelai (*Glycine max* (L) Merrill). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 15(2):17-23.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2020. Menteri Edhy : Pantai Selatan Jawa Berpotensi Jadi Sentra Budidaya Udang. <https://kkp.go.id/artikel/20632->

menteri-edhy-pantai-selatan-jawa-berpotensi-jadi-sentra-budidaya-udang.
Diakses tanggal 13 Oktober 2020.

- Koivikko, R. 2008. *Brown Algal Phlorotannins Improving and Applying Chemical Methods*. Department of Chemistry University of Turku, Finlandia. 61 hlm.
- Koesoemah, H. A. dan Dwiastuti, S. A. P. 2017. *Histologi dan Anatomi Fisiologi Manusia*. Bahan Ajar Keperawatan Gigi. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan, Indonesia. 205 hlm.
- Kwang, L. C. 1996. *Immune Enhancer in the Control of Diseases in Aquaculture*. Encap Technology Pte. Ltd. Singapore. 128 hlm.
- Lilisuriani. 2020. Serangan penyakit virus pada udang di tambak tanpa memperlihatkan gejala klinis. *Octopus : Jurnal Ilmu Perikanan*. 9(1):25-32.
- Li, S., Zhang, Z., Li, C., Zhou, L., Liu, W., dan Li, Y. 2012. Molecular cloning and expression profiles of nitric oxide synthase (NOS) in mud crab *Scylla paramamosain*. *Fish Shellfish Immunol*. 32:503-12.
- Lightner, D. V. 1996. *A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp*. The World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisiana, USA. 304 hlm.
- Lio-Po, G. D. dan Inui, Y. 2014. *Health Management in Aquaculture Second edition*. Southeast Asian Fisheries Development Center, Aquaculture Department. 198 hlm.
- Lee, M. H. dan Shiau, S. Y. 2002. Dietary vitamin c and its derivatives effect immune responses in grass shrimp requirements of juvenile grass shrimp, *P. monodon*. *Fish & Shellfish Immunology*. 12(2):119-129.
- Lo, C. F., Ho, C. H., dan Yeh, P. Y. 1997. Detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in captured brooders of *Penaeus monodon* with a special emphasis on reproductive organs. *Diseases of Aquatic Organisms*. 30:53-72.
- Lo, C. F., Chang, Y. S., Cheng, C. T., dan Kou, G. H. 1998. PCR monitoring of cultured shrimp for white spot syndrome virus (WSSV) infection in grow-out ponds. dalam Flegel, T.W. (Ed.). *Advances in Shrimp Biotechnology*. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. Bangkok. 286 hlm.
- Lotz, J. M. 1997. Viruses, biosecurity, and specific pathogen free stock in shrimp aquaculture. *World Journal of Microbial Biotech*. 13:405-413.
- Maharani. dan Widyayanti. 2010. *Pembuatan Alginat dari Rumpun Laut untuk*

- Menghasilkan Produk dengan Rendemen dan Viskositas Tinggi.* (Seminar Tugas Akhir S1 Teknik Kimia). Universitas Diponegoro. Semarang. 5 hlm.
- Mahasri, G. 2007. *Protein Membran Immunogenik Zoothamnium penaei sebagai Bahan Pengembangan Immunostimulan pada Udang Windu (Penaeus monodon Fab.) terhadap Zoothamniosis.* (Disertasi). Universitas Airlangga. Surabaya. 107 hlm.
- Manan, A. dan Fitriatin, E. 2015. Pemeriksaan viral nervous necrosis (VNN) pada ikan dengan metode polymerase chain reaction (PCR). *Jurnal Ilmiah Perikaan dan Kelautan.* 7(2):149-152.
- Marani, L. 2014. *Pengaruh Penambahan Vitamin C sebagai Suplemen Pakan terhadap Kelulushidupan Udang Vaname (Litopenaeus vannamei).* (Tesis). Universitas Brawijaya. Surabaya. 93 hlm.
- Marbun, J., Harpeni, E., dan Wardyanto. 2019. Penanganan penyakit white feces pada udang vaname *Litopenaeus vannamei* menggunakan aplikasi pakan yang dicampur ekstrak lengkuas merah *Alpinia purpurata* K. Shum. *Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan, Pesisir dan Perikanan.* 8(2):76-86.
- Maryati, H., Sudarto., dan Nurjasmi, R. 2017. Deteksi penyakit WSSV (*white spot syndrome virus*) pada udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan metode PCR konvensional dan *real time* PCR (qPCR) menggunakan hydrolisis probe. *Jurnal Ilmu Respirasi.* 8(1):1-10.
- Mulyani Y, Purwanto A, Nurruhwati I, 2011. Perbandingan beberapa metode isolasi DNA untuk deteksi dini *koi herpes virus* (KHV) pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L.). *Jurnal Akuatika.* 8(11):1-16
- Muslimin. dan Sari, W. K. P. 2017. Budidaya rumput laut *Sargassum* sp. dengan metode kantong pada beberapa tingkat kedalaman di dua wilayah perairan berbeda. *Jurnal Riset Akuakultur.* 12(3):221-230.
- Madeali, M. I., Tompo., dan Muliani, A. 1998. Diagnosis penyakit viral pada udang windu *Penaeus monodon* secara histopatologi dan antibodi poliklonal dengan metode elisa. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia.* 4:11-18.
- Nadhif, M. 2016. *Pengaruh Pemberian Probiotik pada Pakan dalam Berbagai Konsentrasi terhadap Pertumbuhan dan Mortalitas Udang Vaname (Litopenaeus vannamei).* (Skripsi). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Surabaya. 97 hlm.
- Nazaruddin., Aliza, D., Aisyah, S., Zainuddin., dan Syafrizal. Histopathological changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) hepatopancreas infected by hepatopancreatica parvovirus (HPV). *Jurnal Kedokteran Hewan.* 8(1):27-29.

- Nurhaeda. 2017. *Penggunaan RNA Untai Ganda (dsRNA) Protein Permukaan 19 (VP19) White Spot Syndrome Virus (WSSV) untuk Pengendalian Virus WSSV pada Udang Vaname Litopenaeus vannamei*. (Tesis). Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Makassar. 89 hlm.
- Ngaliyatun., Widiyanti, T., dan Syaifudin, M. 2013. Uji daya infektivitas *Plasmodium berghei* iradiasi pada hati, limpa mencit menggunakan *nested-PCR*. *Unnes Journal of Life Science*. 2(2):111-117.
- Office International des Epizooties (OIE). 2019. *Infection with white spot syndrome virus*. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals: chapter 2.2.8. https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahm/-current/chapitre_wsd.pdf. Diakses pada 30 Desember 2020.
- Ojerio, V. J., Corre Jr, V. L., Toledo, N. A., Andriano-Felarca, K. G. S., Nievaes, L. M., dan Traifalgar, R. F. M. 2017. Alginic acid as immunostimulant: effects of dose and frequency on growth performance, immune responses, and white spot syndrome virus resistance in tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798). *Aquaculture International*. 26(2):267-278.
- Pais, R., Khushiramani, R., Karunasagar, I., dan Karunasagar, I. 2008. Effect of immunostimulants on the haemolymph haemagglutinins of tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture Research*. 39:1339-1345.
- Pakidi, C. S. dan Suwoyo, H. S. 2016. Potensi dan pemanfaatan bahan aktif alga coklat *Sargassum* sp. *Jurnal Ilmu Perikanan*. 6(1):551-562.
- Pranawaty, R. N., Buwono, I. D., dan Liviawaty, E. 2012. Aplikasi *polymerase chain reaction* (PCR) konvensional dan real time PCR untuk deteksi *white spot syndrome virus* pada kepiting. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3(4):61-74.
- Prayoga, W. dan Wardani, A. K.. 2015. Polymerase chain reaction (PCR) untuk deteksi *Salmonella* sp. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(2):483-488.
- Rahma, H. N., Prayitno, S. B., dan Haditomo, A. H. C. 2014. Infeksi *white spot syndrome 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.
- Rahmawati, E. 2017. *Ketahanan udang vaname (Litopenaeus vannamei, Boone 1931) yang diberi probiotik Bacillus sp. D2.2 terhadap infeksi Vibrio alginolyticus*. (Skripsi). Fakultas Pertanian Universitas Lampung, Lampung. 56 hlm.
- Rasyid, A. 2010. Ekstraksi natrium alginat dari alga coklat *Sargassum echinocarpum*. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*. 36(3):393-400.

- Ridlo, A. dan Pramesti, R. 2009. Aplikasi ekstrak rumput laut sebagai agen imunostimulan sistem pertahanan non spesifik pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan*. 14(3):133-137.
- Rifandi, R. A., Santosa, G. W., dan Ridlo, A. 2014. Pengaruh konsentrasi asam klorida (HCl) terhadap mutu alginat rumput laut coklat *Sargassum* sp. dari perairan Teluk Awur Kab. Jepara dan Poktunggal Kab. Gunungkidul. *Journal of Marine Research*. 3(4):676-684.
- Roitt, I., Brostoff, J., dan Male, D. 1998. *Immunology 4th Edition*. Times Mirror International Publisher Limited. Spain. 416 hlm.
- Rhein-Knudsen, N., Ale, M. T., Ajallouelian, F., dan Meyer, A. S. 2017. Characterization of alginates from Ghanaian brown seaweeds: *Sargassum* spp. and *Padina* spp. *Food Hydrocolloids*. 71:236-244.
- Sahrijanna, A. dan Septiningsih, E. 2017. Variasi waktu kualitas air pada tambak budidaya udang dengan teknologi integrated multitrophic aquaculture (IMTA) di Mamuju Sulawesi Barat. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. 8(16):52-57.
- Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*. 172:63-92.
- Salmin. 2005. Oksigen terlarut (DO) dan kebutuhan oksigen biologi (BOD) sebagai salah satu indikator untuk menentukan kualitas perairan. *Oseana*. 30(3):21-26.
- Samyukthaa, D. dan Pasupathi, R. 2013. On field detection of white spot syndrome virus (WSSV) infected shrimp using loop mediated isothermal amplification. *Research Journal Of Biotechnology*. 8(6):2-5.
- Sani, R. N., Fithri, C. N., Ria, D. A., dan Jaya, M. M. 2014. Analisis rendemen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(2):121-126.
- Sinurat, E. dan Marliani, R. 2017. Karakteristik Na-alginat dari rumput laut coklat *Sargassum crassifolium* dengan perbedaan alat penyaring. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2):351-361.
- Sivagnanavelmurugan, M., Radhakrishnan, S., Palavesam, A., Arul, V., dan Immanuel, G. 2018. Characterization of alginic acid extracted from *Sargassum wightii* and determination of its antiviral activity on shrimp *Penaeus monodon* postlarvae against white spot syndrome virus. *International Journal of Current Research in Life Sciences*. 7(4):1863-1872.
- Sukenda., Dwinanti, S. H., dan Yuhana, W. 2009. Existing of white spot syndrome virus (WSSV), taura syndrome virus (TSV) and infectious hypodermal

- haematopoietic necrosis virus (IHHNV) in white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared at intensive tambak system in Bakauheni, Lampung Selatan. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 8(2):1-8.
- Septiana, A. T. dan Asnani, A. 2012. Kajian sifat fisikokimia ekstrak rumput laut coklat *Sargassum duplicatum* menggunakan berbagai pelarut dan metode ekstraksi. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 6(1):22-28.
- Suwoyo, H. S. dan Mangampa, M. 2010. Aplikasi Probiotik dengan Konsentrasi Berbeda pada Pemeliharaan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*. 487-494.
- Soetomo, M. H. A. 2000. *Teknik budidaya udang windu*. Sinar Baru Algensindo. Bandung. 180 hlm.
- Smith, V. J., Brown, J. H., dan Hauton, C. H. 2003. Immunostimulation in crustaceans: does it really protect against infection. *Fish and Shell fish Immunology*. 15(1):71-90.
- Toft, K., Grasdalen, H., dan Smidsrod, O. 1986. Synergistic gelation of alginates and pectins. *ACS Symposium Series*. 310:117-132.
- Tjitrosoepomo, G. 2005. *Morfologi Tumbuhan*. UGM Press, Yogyakarta. 268 hlm.
- Van de Braak, K. 2002. *Haemocytic Defence in Black Tiger Shrimp (Penaeus monodon)*. (Thesis). Van Wageningen Universiteit. Germany. 168 hlm.
- Van Wyk, P., Scarpa, J., dan Main, K. L. 1999. *Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems*. Harbor Branch Oceanographic Institution, Florida. 220 hlm.
- Viswanathan, S. dan Nallamuthu, T. 2014. Extraction of sodium alginate from selected seaweeds and their physiochemical and biochemical properties. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*. 3(4):10998-11003.
- Vlak, J. M., Jean-Robert, B., Tim, W. F., Guang-Hsiung, K., Donald, V. L., Chu-Fang L., Philip, C. L., dan Peter, J. W. 2002. *A New Virus Family Infecting Aquatic Invertebrates*. XIIth International Congress Of Virology. Paris. 398 hlm.
- Winarno, F. G. 1990. *Teknologi Pengolahan Rumput Laut*. Penerbit Pustaka Sinar Harapan. Jakarta. 112 hlm.
- Wu, W., Wang, L., dan Zhang, X. 2005. Identification of white spot syndrome virus (WSSV) envelope proteins involved in shrimp infection. *Virology*. 322:578-583.

- Wu, Y. S., Liao, S. Y., Huang, C. T., dan Nan, F. H. 2016. Beta 1,3/1,6-glucan and vitamin C immunostimulate the non-specific immune response of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Fish and Shellfish Immunology*. 57:269-277.
- Wyban, J. A., dan Sweeny, J. N. 1991. *Intensive Shrimp Production Technology*. The Oceanic Institute Shrimp Manual. Honolulu, Hawaii. USA. 158 hlm.
- Yanti, M. E. G., Herliany, N. E. Negara, B. F. S. P., dan Utami, M. A. F. 2017. Deteksi molekuler *white spot syndrome virus* (WSSV) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di PT. Hasfam Inti Sentosa. *Jurnal Enggano*. 2(2):156-169.
- Yudiati, E. 2016. Ekspresi gen dan laju sintasan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang tersuplementasi dengan alginat secara oral untuk resistensi penyakit *white spot syndrome virus*. *Buletin Oseanografi Marina*. 5(2):135-142.
- Yudiati, E., Isnansetyo, A., Murwantoko., Ayuningtyas., Triyanto., dan Handayani, O. R. 2016. Innate immune-stimulating and immune genes upregulating activities of three types of alginate from *Sargassum siliquosum* in pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*. 54:46-53.
- Yudiati, E., Isnansetyo, A., Murwantoko., Triyanto., dan Handayani, O. R. 2019. Alginate from *Sargassum siliquosum* simultaneously stimulates innate immunity, upregulates immune genes, and enhances resistance of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against white spot syndrome virus (WSSV). *Marine Biotechnology*. 21(4):503-514.
- Yuniarifin, H., Bintoro, V. P., dan Suwarastuti, A. 2006. Pengaruh berbagai konsentrasi asam fosfat pada proses perendaman tulang sapi terhadap rendemen, kadar abu dan viskositas gelatin. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 31(1):55-61.
- Yunizal. 2004. *Teknologi Pengolahan Alginat*. Jakarta (ID): Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan. 66 hlm.
- Yuwono, T. 2009. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Penerbit Andi, Yogyakarta. 239 hlm.
- Yeh, M. S., Lai, C. Y., Liu, C. H., Kuo, C. M., dan Cheng, W. 2009. A second proPO present in white shrimp *Litopenaeus vannamei* and expression of the proPOs during a *Vibrio alginolyticus* injection, molt stage, and oral sodium alginate ingestion. *Fish & shellfish immunology*. 26(1):49-55.
- Zahra, A., Sukenda, S., Wahjuningrum, D., dan Hidayatullah, D. 2019. Pakan mengandung ekstrak rumput laut *Gracilaria verrucosa* untuk meningkatkan

kelangsungan hidup udang vaname *Litopenaeus vannamei* yang diinfeksi WSSV (*white spot syndrome virus*). *Intek Akuakultur*. 3(1):128-138.