

**UJI AKTIVITAS ENZIM DAN PATOGENISITAS BAKTERI SIMBION
Sargassum polycystum PENGHASIL ALGINAT LYASE *Cytobacillus kochii*
PADA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*)**

Skripsi

Oleh

**YOSEVA DYAH AYU WULANDARI
2014111013**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ENZIM DAN PATOGENISITAS BAKTERI SIMBION *Sargassum polycystum* PENGHASIL ALGINAT LYASE *Cytobacillus kochii* PADA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*)

Oleh

YOSEVA DYAH AYU WULANDARI

Cytobacillus kochii merupakan bakteri simbion *Sargassum polycystum* dari perairan Lampung yang memiliki aktivitas alginat lyase untuk menghidrolisis alginat menjadi oligosakarida yang berpotensi sebagai imunostimulan pada budi daya udang. Tujuan dari penelitian ini untuk menguji aktivitas enzim alginat lyase dan patogenisitas bakteri simbion *S. polycystum* penghasil alginat lyase *C. kochii* pada udang vaname. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Perhitungan aktivitas alginat lyase dilakukan dengan pemberian larutan *Cetylpyridinium chloride* (CPC) pada konsentrasi 0,8% dan 1% dengan lama inkubasi 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Uji patogenisitas didesain dengan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan berupa kepadatan bakteri 0, 10^2 , 10^3 , 10^4 , dan 10^6 CFU/mL dengan masing-masing 3 kali ulangan yang diberikan pada udang vaname dengan rerata awal berat 3 ± 0 gram. Gejala klinis dan rerata waktu kematian diamati selama 7 hari pemeliharaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas alginat lyase tertinggi diperoleh dengan nilai zona bening sebesar 6,20 mm pada larutan CPC 0,8 % dengan waktu inkubasi 72 jam . Sedangkan, nilai LD₅₀ tidak tercapai karena sampai 7 hari hanya terdapat kematian 1 ekor udang dengan nilai SR 90% dan rerata waktu kematian 56 jam setelah infeksi. Kesimpulan pada penelitian yaitu waktu inkubasi yang optimum untuk menghasilkan enzim alginat lyase adalah konsentrasi CPC 0,8 % dengan waktu inkubasi 72 jam dan diduga bahwa bakteri *C. kochii* tidak bersifat patogen terhadap udang vaname, namun berpotensi menimbulkan penyakit dalam waktu yang lebih lama.

Kata Kunci : alginat lyase, *Cytobacillus kochii*, patogenisitas, udang vaname

ABSTRACT

PATOGENICITY TEST OF *Sargassum polycystum* SIMBION BACTERIES ALGINAT LYASE PRODUCER *Cytobacillus kochii* ON PACIFIC WHITE SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*)

By

YOSEVA DYAH AYU WULANDARI

Cytobacillus kochii is a *Sargassum* symbiont bacterium from Lampung waters that has alginate lyase activity to hydrolyze alginate into oligosaccharides that have potential as immunostimulants in shrimp farming. The purpose of this study was to test the alginate lyase enzyme activity and pathogenicity of alginate lyase producing symbiont bacteria *S. polycystum* *C. kochii* on Pacific white shrimp. This research was conducted at the Laboratory of Aquaculture, Department of Fisheries and Marine, Faculty of Agriculture, University of Lampung. The calculation of alginate lyase activity was carried out by giving *Cetylpyridinium chloride* (CPC) solution at a concentration of 0.8% and 1% with an incubation period of 24, 48, and 72 hours. Patogenicity test was desain used completely randomized design (CRD) with 5 treatments bacterial density 0, 10^2 , 10^3 , 10^4 , and 10^6 CFU/mL with 3 replications. The treatment gave to Pacific white shrimp with an initial average weight of 3 ± 0 grams. Clinical symptoms and mean time to death were observed for 7 days of rearing. The results showed that the highest alginate lyase activity was obtained with a clear zone value of 6.20 mm in 0.8% CPC solution with an incubation time of 72 hours. Meanwhile, the LD₅₀ value was not reached because up to 7 days there was only 1 death of shrimp with a survival rate value 90% and an average time of death of 56 hours after infection. The conclusion of the research is that the optimum incubation time to produce alginate lyase enzyme is 0.8% CPC concentration with 72 hours incubation time and it is suspected that *C. kochii* bacteria are not pathogenic to Pacific white shrimp, but have the potential to cause disease in a longer time.

Keywords: alginate lyase, *Cytobacillus kochii*, pathogenicity, Pacific white shrimp

**UJI AKTIVITAS ENZIM DAN PATOGENISITAS BAKTERI SIMBION
Sargassum polycystum PENGHASIL ALGINAT LYASE *Cytobacillus kochii*
PADA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*)**

Oleh

YOSEVA DYAH AYU WULANDARI

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
2024**

Judul : **UJI AKTIVITAS ENZIM DAN PATOGENISITAS
BAKTERI SIMBION *Sargassum polycystum*
PENGHASIL ALGINAT LYASE *Cytobacillus kochii*
PADA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*)**

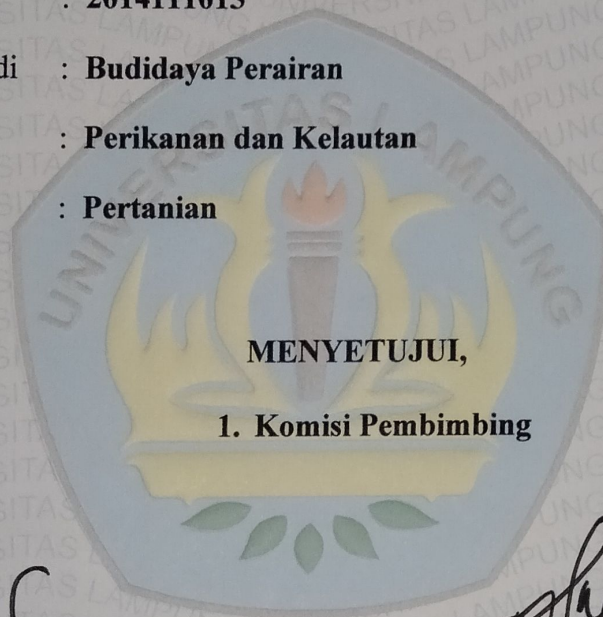
Nama : **Yoseva Dyah Ayu Wulandari**

NPM : **2014111013**

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 Fidvandini, S.Pi., M.Si.
NIP. 19900128 201903 2 018

MENGETAHUI,

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan

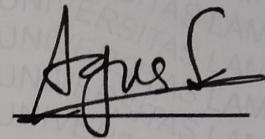
Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.
NIP. 19830923 200604 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

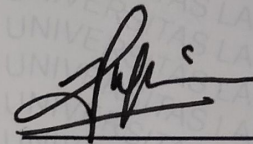
Ketua

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



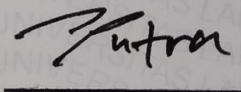
Sekretaris

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



Penguji

Bukan Pembimbing **Dr. Yudha Trinoegraha A., S.Pi., M.Si.**

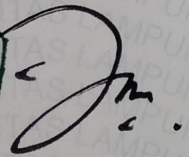


2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.

NIP. 19641118 198902 1 002



Tanggal lulus ujian skripsi : **18 November 2024**

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Dengan ini menyatakan bahwa :

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

Bandar Lampung, 17 Desember 2024

Yang membuat pernyataan,



Yoseva Dyah Ayu Wulandari

NPM. 2014111013

RIWAYAT HIDUP



Penulis memiliki nama lengkap Yoseva Dyah Ayu Wulandari, dilahirkan di Pekalongan pada tanggal 19 Maret 2002 sebagai anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Wargana dan Ibu Yustina Sudarmi. Penulis memulai pendidikan formal dari Taman Kanak-kanak (TK) Bina Putra yang diselesaikan pada 2008, dilanjutkan ke Sekolah Dasar Negeri 3 Siraman yang diselesaikan pada 2014, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 2 Metro diselesaikan pada 2017, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 3 Metro yang diselesaikan pada 2020.

Pada tahun 2020 penulis melanjutkan pendidikan kejenjang Perguruan Tinggi Negeri melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Selama menempuh pendidikan di Universitas Lampung, pada tahun 2022 penulis menjadi asisten dalam mata kuliah Ikhtologi Ikan dan Mikrobiologi Akuatik, serta menjadi anggota Bidang Pengabdian Masyarakat dari organisasi Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik) periode 2022. Pada tahun 2023 bulan Januari-Februari, penulis mengikuti kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Banyu Urip, Kecamatan Wonosobo, Kabupaten Tanggamus. Pada tahun 2023 bulan Juli-Agustus, penulis mengikuti kegiatan Praktik Umum (PU) di PT. Central Proteina Prima, Tbk Kalianda. Penulis melaksanakan penelitian dan menyelesaikan tugas akhir dalam bentuk skripsi pada tahun 2024 dengan judul **“UJI PATOGENISITAS BAKTERI SIMBION *Sargassum polycystum* PENGHASIL ALGINAT LYASE *Cytobacillus kochii* PADA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*)”**.

PERSEMBAHAN

Puji dan syukur atas kasih karunia dari Tuhan

Saya persembahkan karya sederhana ini sebagai bentuk bakti dan terimakasih kepada kedua orang tua yang saya cinta ;

Bapak Wargana dan Ibu Yustina Sudarmi, terima kasih banyak atas segala doa, dukungan, semangat dan kasih sayang yang tiada henti. Semoga bapak ibu bahagia dan sehat selalu

Sahabat dan teman-teman yang memberikan semangat, dukungan, motivasi, maupun doa selama penyelesaian skripsi ini

dan semua pihak yang telah bertanya :

“kapan sidang?”,

“kapan wisuda?”,

“kapan nyusul?”

Keluarga Besar Perikanan dan Kelautan,
serta
Almamater tercinta, Universitas Lampung.

MOTO

“Segala perkara dapat kutanggung di dalam Dia yang memberi kekuatan kepadaku”.
(Filipi 4:13)

“Diberkatilah orang yang mengandalkan Tuhan,
yang menaruh harapannya pada Tuhan”.
(Yeremia 17 : 7)

“Jangan takut, percaya saja!”.
(Markus 5 : 36)

“Hidup ini selayaknya sepeda. Agar tetap seimbang,
Anda harus terus bergerak”.
(Albert Einstein)

“Pada akhirnya, ini semua hanyalah permulaan”.
(Nadin Amizah)

SANWACANA

Puji syukur Kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulisan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Enzim dan Patogenisitas Bakteri Simbion *Sargassum polycystum* Penghasil Alginat Lyase *Cytobacillus kochii* pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)” dapat diselesaikan sebagai syarat untuk mencapai gelar Sarjana Perikanan (S.Pi) di Universitas Lampung.

Penyusunan skripsi ini, tidak akan berjalan lancar tanpa adanya bantuan, dukungan, dan juga bimbingan oleh berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang setulusnya kepada bapak/ibu/saudara :

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. DIPA Fakultas Pertanian Unila 2024 untuk hibah penelitian yang diberikan.
3. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D. selaku ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dan selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
4. Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M. P. selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Dosen Pembimbing Utama yang selalu meluangkan waktu, membimbing dan mengarahkan penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
5. Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu untuk memberikan arahan dan bimbingan dalam penyelesaian skripsi.
6. Dr. Yudha Trinoegraha Adiputra., S.Pi., M.Si. selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktunya sehingga dapat memberi kritik saran, serta arahan selama penyelesaian skripsi.

7. Seluruh dosen dan staf Jurusan Perikanan dan Kelautan, yang turut membantu kelancaran selama penyelesaian studi dan skripsi.
8. Kedua orang tua tercinta dan keluarga besar, Bapak Warga dan Ibu Yustina Sudarmi serta adikku Sekar Ayu Cahyaningtyas yang selalu mendoakan, memberikan dukungan, motivasi dan semangat yang tak pernah henti.
9. Partnerku, Cosmas Argasion Pradipta yang tetap kebersamai penulis, memberikan dukungan, semangat serta motivasi dalam penyusunan skripsi. Terima kasih sudah menjadi *support system* terbaik.
10. Teman-teman penelitian Pandu, Elsi, Hani, Ghina, Wirayuda, Elba, Tuti dan mba Amalian yang selalu membantu, memberi semangat dan dukungan selama penelitian.
11. Rani, Adelia, Alfin, Cipto, Vidya, Awa, Sharen, Ais, Fauzan, dan Hafizh yang selalu menjadi tempat keluh kesah penulis, memberikan bantuan serta semangat selama masa perkuliahan dan penyelesaian skripsi.
12. Teman – teman seperjuangan BDI 2020, terima kasih atas segala bantuan, dukungan, dan kebersamaan selama perkuliahan hingga penyelesaian skripsi.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, Desember 2024
Penulis,

Yoseva Dyah Ayu Wulandari

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
1.4 Kerangka Pikir Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Biologi Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	7
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Udang Vaname (<i>L.vannamei</i>).....	7
2.1.2 Habitat Udang Vaname (<i>L. vannamei</i>).....	8
2.2 <i>Cytobacillus kochii</i>	9
2.3 Alginat	10
2.4 Enzim Alginat Lyase	10
2.5 Bakteri Pendegradasi Alginat	11
2.6 Patogenesis Bakteri.....	12
III. METODE PENELITIAN	13
3.1 Waktu dan Tempat	13
3.2 Alat dan Bahan.....	13
3.3 Rancangan Penelitian	14

3.4	Prosedur Penelitian.....	16
3.4.1	Ekstraksi Alginat.....	16
3.4.2	Persiapan Wadah dan Media Pemeliharaan	16
3.4.3	Persiapan Organisme Uji	17
3.4.4	Sterilisasi Alat dan Bahan	17
3.4.5	Pembuatan Suspensi <i>Cytobacillus kochii</i>	17
3.5	Parameter Pengamatan	18
3.5.1	Uji <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR).....	18
3.5.2	Uji Viabilitas Bakteri	18
3.5.3	Aktivitas Enzim <i>Alginat Lyase</i>	18
3.5.4	Uji Patogenisitas <i>Cytobacillus kochii</i>	19
3.5.5	Tingkat Kelangsungan Hidup (TKH).....	19
3.5.6	Rerata Waktu Kematian (RWK) dan <i>Lethal Dosage 50</i> (LD ₅₀)	20
3.5.7	Pengamatan Gejala Klinis	20
3.6	Analisis Data	21
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	22
4.1	Hasil	22
4.1.1	<i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR) Alginat.....	22
4.1.2	Viabilitas <i>Cytobacillus kochii</i>	24
4.1.3	Aktivitas Enzim <i>Alginat Lyase</i>	25
4.1.4	Tingkat Kelangsungan Hidup (TKH).....	25
4.1.5	Rerata Waktu Kematian (RWK) dan LD ₅₀	26
4.1.6	Gejala Klinis.....	27
V.	SIMPULAN DAN SARAN	32
5.1	Simpulan	32
5.2	Saran.....	32
	DAFTAR PUSTAKA	33
	LAMPIRAN.....	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian.....	5
2. Morfologi udang vaname (<i>L.vannamei</i>).....	8
3. Bakteri <i>Cytobacillus kochii</i>	9
4. Struktur kimia alginat.....	10
5. Tata letak wadah pemeliharaan	15
6. Profil <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR) alginat dengan waktu inkubasi 24, 48, dan 72 jam	23
7. Aktivitas enzim <i>alginat lyase</i>	25
8. Tingkat kelangsungan hidup udang vaname (<i>L.vannamei</i>) yang diinfeksi bakteri <i>C.kochii</i>	26
9. Gejala klinis udang vaname (<i>L.vannamei</i>) yang diinfeksi <i>C.kochii</i>	28

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nama, jumlah dan fungsi alat penelitian yang digunakan.	13
2. Nama, jumlah dan fungsi bahan penelitian yang digunakan.....	14
3. Ketentuan nilai pengamatan gejala klinis	21
4. Identifikasi gugus fungsi alginat dengan FTIR.....	24
5. Viabilitas bakteri <i>Cytobacillus kochii</i>	24
6. Gejala klinis udang vaname (<i>L.vannamei</i>) selama uji patogenesis.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Analisis data statistik tingkat kelangsungan hidup	41
2. Jumlah kematian udang selama uji patogenisitas (ekor).....	42
3. Rekapitulasi data kematian udang setelah uji patogenisitas	42
4. Rerata waktu kematian (RWK) udang vaname (<i>L.vannamei</i>) selama uji patogenisitas	44
5. Gejala klinis yang muncul selama masa uji patogenisitas	43
6. Nilai gejala klinis udang selama masa pengamatan uji patogenisitas.....	44
7. Hasil pengukuran koloni dan zona bening bakteri.....	45
8. Dokumentasi penelitian.....	46

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu komoditas perikanan laut yang memiliki nilai ekonomis tinggi baik di pasar domestik maupun global. Dilaporkan sebanyak 77% produksi udang vaname dihasilkan oleh negara-negara Asia, termasuk Indonesia (Dahlan *et al.*, 2017). Menurut Putri *et al.* (2020) udang merupakan primadona komoditas perikanan Indonesia karena potensinya yang cukup besar, nilai jualnya tinggi, dan permintaan pasar yang tinggi, baik di dalam maupun di luar negeri. Di tingkat nasional, volume ekspor udang kita juga menunjukkan pola peningkatan yang cukup signifikan dari 162.256 ton di tahun 2015 menjadi 239.227 ton di tahun 2020. Peningkatan volume ekspor ini juga diikuti dengan peningkatan nilai pendapatan ekonomi dari sekitar USD 1,45 miliar di tahun 2015 menjadi lebih dari USD 2,04 miliar di tahun 2020 (KKP, 2021). Kegiatan budi daya udang vaname, salah satu tantangannya yaitu penyakit yang dapat menyebabkan penurunan populasi udang dalam waktu singkat.

Serangan penyakit virus yang paling berbahaya dan banyak menimbulkan kerugian bagi petambak udang di Indonesia adalah serangan virus *white spot syndrome virus* (WSSV), *infectious myonecrosis virus* (IMNV), dan *taura syndrome virus* (TSV) (WOAH, 2024). Produktivitas udang vaname di Lampung mengalami pasang surut, salah satunya dikarenakan serangan penyakit golongan virus seperti WSSV, IHHNV dan IMNV (Sumino *et al.*, 2020). Salah satu upaya dalam pencegahan penyakit pada udang adalah melalui peningkatan sistem imun pada udang dengan menggunakan imunostimulan, berupa vitamin dan hormon (Johny *et al.*, 2005). Imunostimulan yang dapat digunakan untuk meningkatkan respon imun udang yaitu alginat.

Sargassum mengandung alginat, vitamin C, vitamin E (α -tokoferol), mineral, karotenoid, klorofil, florotanin, polisakarida sulfat, asam lemak, dan asam amino. Alginat adalah polisakarida alami umumnya terdapat pada dinding sel spesies ganggang yang tergolong dalam kelas *Phaeophyceae*. Alginat berfungsi sebagai bahan pengental, pengatur keseimbangan, pengemulsi, dan pembentuk lapisan tipis tahan terhadap minyak (Dharmayanti *et al.*, 2021). *S.polycystum* dilaporkan memiliki kandungan alginat yang tinggi yakni 89,80 mg/g (Rohim *et al.*, 2019).

Penelitian sebelumnya menunjukkan adanya efektivitas alginat pada udang dengan suplementasi beberapa jenis alginat seperti kalsium alginat (Setyawan *et al.*, 2020) maupun natrium alginat (Setyawan *et al.*, 2021) dari perairan Lampung secara efektif mampu meningkatkan respon imun udang vaname yang dipelihara skala laboratorium. Aplikasi natrium alginat *Sargassum siliquosum* pada udang vaname juga terbukti dapat mengaktifkan sel dan respon imun humoral, serta ekspresi gen terkait kekebalan tubuh sehingga udang terlindungi dari infeksi *white spot syndrome virus* (Yudiati *et al.*, 2016; 2019). Suplementasi pakan natrium alginat *Sargassum* sp. dengan kombinasi vitamin C pada udang vaname yang diinfeksi *white spot syndrome virus* efektif meningkatkan ketahanan tubuh udang vaname (Darmawan *et al.*, 2023). Akan tetapi, alginat juga memiliki kelemahan yang dapat menghambat aktivitasnya.

Kelemahan dari alginat yaitu memiliki berat molekul yang besar yakni 500-1000 kDa sehingga mempengaruhi daya larutnya (Sinurat & Marliani, 2017). Disamping itu, Subaryono (2010) melaporkan bahwa ukuran molekul pada alginat dapat mempengaruhi dan membatasi pemanfaatan dari alginat. Degradasi polisakarida dengan berat molekul tinggi menjadi poli atau oligosakarida dengan berat molekul rendah dianggap sangat penting untuk meningkatkan bioavailabilitasnya (Xing *et al.*, 2020). Alginat dengan berat molekul yang besar menyebabkan udang kesulitan dalam mencerna alginat tersebut, selain itu bioaktivitas alginat rendah jika berat molekul besar. Hal tersebut mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan pemanfaatan dari alginat sehingga perlu dilakukan proses pemecahan ikatan polimer alginat.

Proses degradasi alginat bertujuan untuk memecah ikatan polimer pada alginat menjadi oligosakarida yang memiliki berat molekul yang lebih rendah (Jagtap *et al.*, 2022). Pemecahan ikatan polimer alginat dapat dilakukan secara fisik yaitu dengan iridiasi gamma ray (Wasikiewicz *et al.*, 2005), secara kimia dengan menggunakan bahan kimia yakni hidrolisis (Nainggolan *et al.*, 2021) dan secara biologi dengan enzimatik oleh enzim alginat lyase (Subaryono, 2019) dengan bantuan mikroorganisme yakni bakteri pendegradasi alginat untuk menghasilkan berat molekul yang lebih sederhana pada alginat. Pada penelitian sebelumnya, Safitri (2023) telah diisolasi *Cytobacillus kochii* dari *S. polycystum* yang memiliki aktivitas enzim alginat lyase tertinggi. Enzim tersebut berperan dalam memotong polimer alginat dengan mekanisme eliminasi-b yaitu dengan pembentukan 4-deoksi-1-erithro-hex-ene-pirosiluronat (Subaryono, 2010).

Namun, belum diketahui apakah bakteri tersebut bersifat patogen terhadap udang vaname. Hal ini penting karena aplikasi alginat sebagai suplemen imunostimulan udang harus bebas dari mikroorganisme patogen. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji patogenisitas bakteri *C. kochii* tersebut sebelum digunakan lebih jauh untuk mendegradasi alginat. Uji patogenisitas merupakan pengujian yang dilakukan untuk membuktikan apakah suatu isolat bakteri termasuk dalam patogen dan mampu menimbulkan penyakit pada inangnya, dimana dalam hal ini adalah bakteri *C. kochii* penghasil enzim alginat lyase apakah bersifat patogen terhadap udang vaname.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas enzim alginat lyase dan patogenisitas bakteri simbiosis *S. polycystum* penghasil alginat lyase *C. kochii* pada udang vaname.

1.3 Manfaat Penelitian

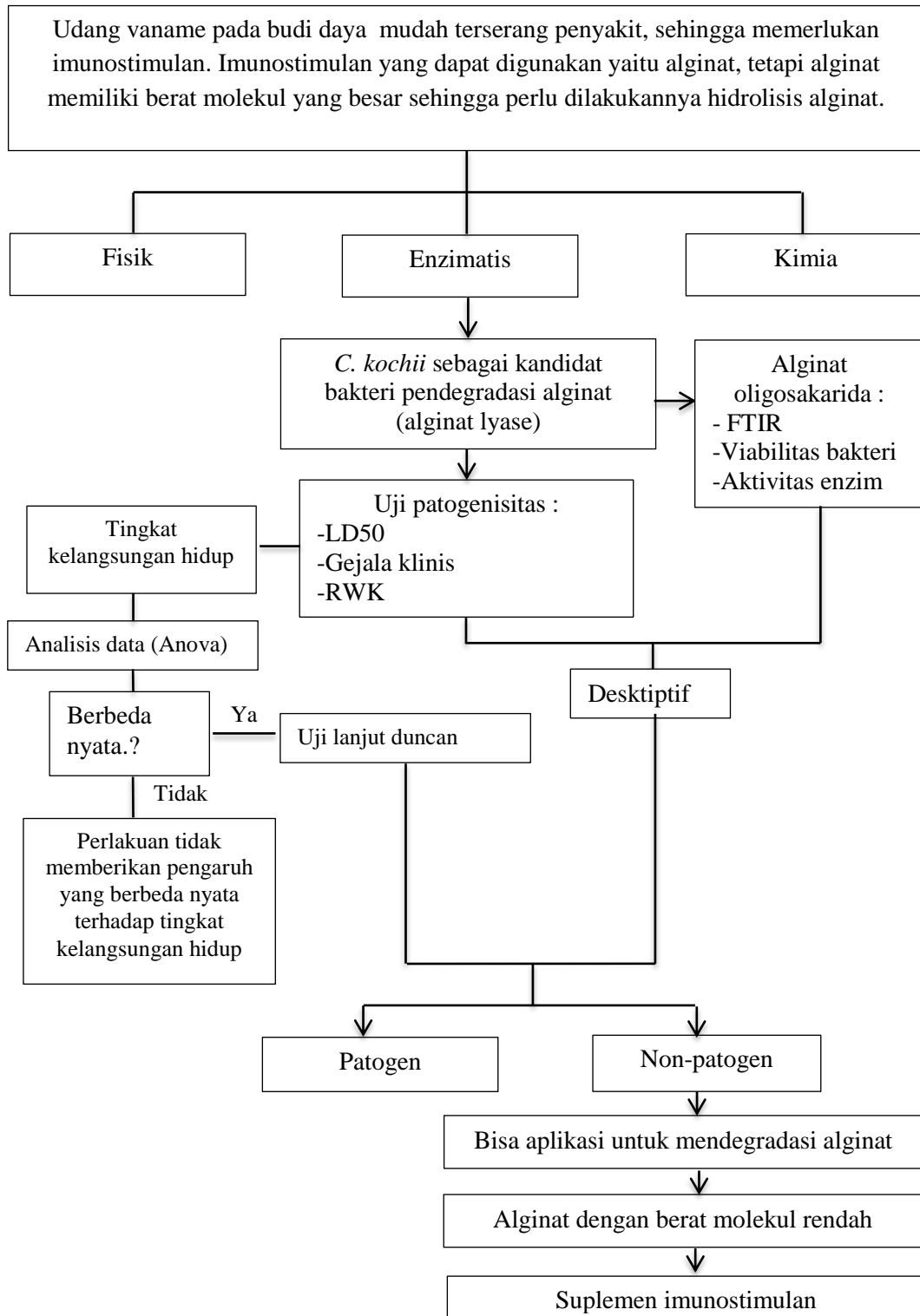
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas enzim alginat lyase dan patogenisitas *C. kochii* pendegradasi alginat agar dapat diaplikasikan sebagai suplementasi pada pakan udang vaname.

1.4 Kerangka Pikir Penelitian

Udang vaname merupakan komoditas unggulan perikanan yang bernilai ekonomis tinggi, namun dalam kegiatan budi daya tidak terlepas dari adanya penyakit yang dapat menyerang udang salah satunya yaitu *White spot syndrome virus* (WSSV). Penyakit ini menyebabkan kematian massal pada udang vaname sampai 100% selama 2-7 hari. Oleh karena itu, perlu dilakukan upaya untuk meningkatkan imunitas udang dengan imunostimulan alginat yang ada pada *S. polycystum*.

Sargassum polycystum memiliki kandungan alginat yang tinggi tetapi alginat juga memiliki kelemahan yaitu berat molekul besar yang dapat memengaruhi dan membatasi pemanfaatan dari alginat. Oleh karena itu, perlu dilakukan proses pemecahan molekul secara enzimatik dengan bantuan mikroorganisme yakni bakteri pendegradasi alginat untuk menghasilkan berat molekul yang lebih sederhana.

Pada penelitian sebelumnya, bakteri *C. kochii* telah ditemukan sebagai kandidat bakteri pendegradasi alginat. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan untuk mengetahui apakah suatu isolat bakteri *C. kochii* bersifat patogen terhadap udang vaname. Jika bakteri merupakan bakteri non-patogen maka dapat diaplikasikan untuk mendegradasi alginat menjadi berat molekul yang rendah dan dapat dijadikan sebagai suplemen imunostimulan. Kerangka pikir penelitian ini dapat dijelaskan secara sistematis melalui diagram alur pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

1.5 Hipotesis

Pada penelitian ini, menggunakan hipotesis sebagai berikut :

A. Data deskriptif

1. Viabilitas *Cytobacillus kochii*
 - a.) Lama waktu inkubasi alginat diduga akan memberikan pengaruh pada pertumbuhan bakteri *Cytobacillus kochii*.
2. Aktivitas enzim alginat lyase
 - a.) Lama waktu inkubasi alginat diduga akan memberikan pengaruh pada aktivitas enzim alginat lyase.
3. Rerata waktu kematian (RWK) dan LD₅₀
 - a) Kepadatan bakteri *Cytobacillus kochii* diduga akan memberikan pengaruh pada rerata waktu kematian dan LD₅₀.
4. Gejala klinis
 - a) Kepadatan bakteri *Cytobacillus kochii* diduga akan memberikan pengaruh pada gejala klinis udang vaname.

B. Data kuantitatif

1. Tingkat kelangsungan hidup

H₀ : $\tau_i = 0$: Semua perlakuan dosis kepadatan bakteri *Cytobacillus kochii* memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap tingkat kelangsungan hidup udang vaname.

H₁ : $\tau_i \neq 0$: Minimal terdapat satu pengaruh perlakuan dosis kepadatan bakteri *Cytobacillus kochii* yang memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap tingkat kelangsungan hidup udang vaname.

II. TINJAUAN PUSTAKA

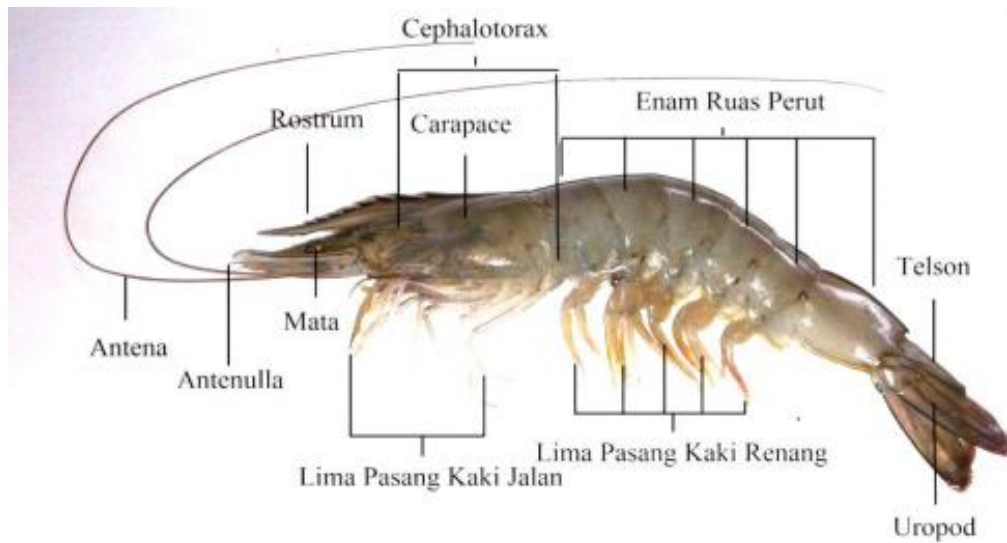
2.1 Biologi Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Udang Vaname (*L.vannamei*)

Menurut WoRMS (2024), pemberian nama ilmiah udang vaname pertama kali dilakukan oleh Boone pada 1931 dengan klasifikasi sebagai berikut:

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

Secara umum tubuh udang vaname terbagi menjadi dua bagian, yaitu bagian kepala yang menyatu dengan dada (*cephalothorax*) dan bagian tubuh yang menyatu dengan ekor (abdomen). Bagian *cephalothorax* dilindung oleh lapisan kulit kitin yang disebut karapas. Pada bagian kepala ujung *cephalothorax* yang meruncing dan bergerigi disebut rostrum. Udang vaname memiliki 2 gerigi di bagian ventral rostrum, sedangkan pada bagian dorsalnya memiliki 8 samapi 9 gerigi (Erlangga, 2023). Udang vaname memiliki antenula, antena, mandibula, dua pasang *maxillae*, dan rostrum sebagai organ pertahanan diri. Kepala udang vaname juga memiliki tiga pasang *maxilliped* dan lima pasang kaki jalan, yang dikenal sebagai periopoda, atau kaki sepuluh, yang dikenal sebagai decapoda (Yusran, 2020) (Gambar 2).



Gambar 2. Morfologi udang vaname (*L.vannamei*)
Sumber: (Rais, 2018)

Tubuh udang vaname terdiri dari dua cabang *biramous* yaitu *exopodite* dan *endopodite*. Udang ini memiliki tubuh berbuku-buku, dan mereka berganti kulit luar (eksoskeleton) secara berkala yang sering disebut dengan *moulting*. Bagian tubuh udang *vannamei* telah mengalami modifikasi sehingga dapat digunakan untuk makan, bergerak, dan membenamkan diri ke dalam lumpur (*burrowing*) (Muzahar, 2020).

2.1.2 Habitat Udang Vaname (*L. vannamei*)

Udang vaname merupakan udang yang berasal dari perairan Amerika Latin memiliki sifat nokturnal, yang berarti bahwa mereka aktif mencari makanan pada malam hari. Iklim tropik dan suhu 20°C menjadi faktor udang vaname menyukai lautan Atlantik, Pasifik, dan India (Rahmadani, 2022). Induk udang vaname ditemukan di perairan lepas pantai pada kedalaman 70 hingga 72 meter (235 kaki) dan menyukai daerah yang dasar perairannya berlumpur.

Sifat hidup dari udang vaname adalah *catadromus* atau dua lingkungan, dimana udang dewasa akan memijah di laut terbuka. Setelah menetas, larva dan yuana udang vaname akan bermigrasi ke daerah pesisir pantai atau mangrove yang biasa disebut daerah muara (*estuarine*) tempat mereka berkembang biak (*nursery*

ground), dan setelah dewasa akan bermigrasi kembali ke laut untuk melakukan aktivitas reproduksi seperti pematang gonad (maturasi) dan perkawinan (Aini, 2021).

2.2 *Cytobacillus kochii*

Menurut Patel & Gupta (2020) klasifikasi *Cytobacillus kochii* adalah sebagai berikut :

Domain : Bacteria
 Filum : Bacillota
 Kelas : Bacilli
 Ordo : Bacillales
 Famili : Bacillaceae
 Genus : *Cytobacillus*
 Spesies : *Cytobacillus kochii*



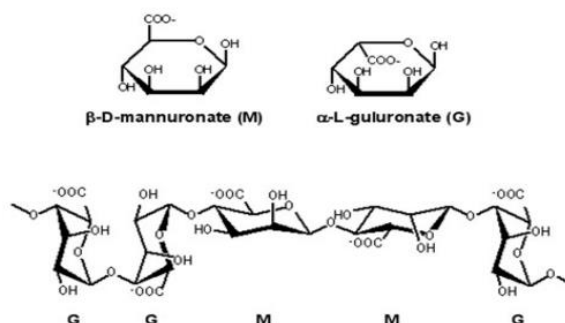
Gambar 3. Bakteri *Cytobacillus kochii*
 Sumber : (Wang *et al.*, 2023)

Nama *Cytobacillus* dapat dipecah menjadi awalan “cyto-” (dari kata benda Yunani *kytos*, yang berarti berongga, bejana, toples atau sel dalam biologi) dan akhiran “-bacillus” (dari kata benda Latin *bacillus*, yang berarti berbentuk tongkat atau batang kecil). Jika digabungkan berarti *Cytobacillus* adalah sel bakteri berbentuk batang yang bersifat Gram positif. Anggota *Cytobacillus* dapat bersifat aerobik atau anaerobik fakultatif. Semua spesies yang dipelajari dari genus ini telah diamati menghasilkan endospora di bawah kondisi lingkungan atau nutrisi yang buruk. Bakteri *Cytobacillus* dapat tumbuh pada suhu berkisar antara 10–45°C,

namun untuk pertumbuhan yang optimal pada kisaran 25–37°C (Patel & Gupta, 2020).

2.3 Alginat

Alginat adalah polimer linier organik polisakarida yang terdiri dari monomer α -L asam guluronat (G) dan β -D asam manuronat (M), atau dapat berupa kombinasi dari kedua monomer tersebut. Alginat dapat diperoleh dari ganggang coklat yang berasal dari genus *Ascophyllum*, *Ecklonia*, *Durvillaea*, *Laminaria*, *Lessonia*, *Macrocystis*, *Sargassum*, dan *Turbinaria*. Alginat terdapat dalam dinding sel rumput laut coklat yang berupa kristal-kristal yang tersusun secara paralel pada benang-benang halus selulosa dan cairan sel (Yulianto, 2007).



Gambar 4. Struktur kimia alginat
Sumber : (Winarno, 1990)

Alginat telah banyak dimanfaatkan pada berbagai bidang industri, seperti industri makanan, farmasi, tekstil, kosmetik, cat, keramik, karet maupun kertas (Winarno, 1990; Indriani & Sumiarsih, 1992). Alginat juga memiliki bioaktivitas antioksidan karena adanya gugus hidroksil (-OH) pada struktur senyawa alginat. Gugus hidroksil (-OH) ini akan menyumbangkan atom hidrogen (H) pada saat bereaksi dengan senyawa radikal bebas melalui mekanisme transfer elektron yang mengakibatkan terhambatnya proses oksidasi. Menurut Herawati *et al.* (2016), alginat memiliki pengaruh terhadap aktivitas antioksidan.

2.4 Enzim Alginat Lyase

Alginat lyase atau sering disebut alginase, merupakan enzim yang mengkatalisis pemecahan alginat dengan mekanisme eliminasi β dari ikatan glikosil 4-O dan

menghasilkan 4-deoxy-L-erythro-hex-4-enepiranosiluronat pada ujung gugus non-reduksi dari oligosakarida yang dihasilkan (Gacesa, 1992). Produk hasil pemecahan alginat lyase yang dikenal sebagai *alginate oligosaccharides* (AOS) dilaporkan memiliki berbagai aktivitas biologi seperti sebagai probiotik, pengaturan sistem kekebalan tubuh, antikoagulasi, antioksidan, anti kanker, aktivitas pemacu pertumbuhan, pemacu produksi antibiotik, dan pemacu produksi ethanol. *Alginate oligosaccharides* (AOS) merupakan produk hasil degradasi polisakarida alginat secara enzimatik yang mempunyai kelarutan dan bioaktivitas yang lebih baik jika dibandingkan dengan alginatnya dan mampu meningkatkan pertumbuhan *Bifidobacteria* (Afni *et al.*, 2017).

2.5 Bakteri Pendegradasi Alginat

Alginat lyase diproduksi oleh banyak organisme seperti bakteri, hewan, dan virus yang memanfaatkan alginat sebagai sumber karbon. Organisme ini berasal dari laut, memanfaatkan alginat yang dihasilkan oleh alga coklat, atau bakteri tanah yang mungkin memanfaatkan alginat yang dihasilkan oleh alga coklat (Ertesvag, 2015). Bakteri hidup menempel dan berasosiasi dengan rumput laut seringkali disebabkan karena adanya simbiosis yang saling menguntungkan antara keduanya. Beberapa alga memerlukan vitamin tertentu yang dalam beberapa hal sering disuplai oleh bakteri yang tumbuh menempel pada rumput laut tersebut. Sebaliknya, bakteri ini dengan kemampuannya memproduksi enzim tertentu memungkinkan untuk memanfaatkan komponen-komponen seluler dari alga tempatnya menempel (Subaryono *et al.*, 2015).

Bakteri yang berasosiasi dengan alga coklat seringkali memiliki kemampuan mendegradasi alginat dengan menghasilkan enzim alginat lyase. Alginat lyase merupakan jenis enzim degradasi yang ditemukan pada organisme yang memiliki sistem metabolisme alginat seperti *Dictyota* sp. Jenis alga *Dictyota* sp. merupakan sumber utama alginat laut yang melibatkan simbiosis bakteri laut dapat terlibat secara aktif dalam proses ekskresi enzim alginat (Afriansyah, 2021). Ditemukan banyak bakteri yang dapat menghasilkan alginat lyase untuk menguraikan polisakarida alginat menjadi oligomer yang lebih kecil dan sederhana.

2.6 Patogenisitas Bakteri

Patogenisitas bakteri adalah kemampuan bakteri dalam menyebabkan penyakit (atau kerusakan) pada individu. Virulensi adalah tingkat keparahan penyakit yang ditimbulkan. Sedangkan, patogen di definisikan sebagai mikroorganisme yang mampu menyebabkan kerusakan pada inang. Mikroorganisme patogen dapat menjadi non-patogen, karena imunitas inang menghilangkan kemampuan mikroorganisme untuk menyebabkan penyakit (Casadevall & Pirofski, 2003).

Bakteri dikatakan bersifat patogen bila mempunyai kemampuan mengadakan transmisi, melekat pada sel-sel inang dan mengadakan multiplikasi, menggunakan nutrien dari sel inang, invasi, dan timbulnya kerusakan pada sel-sel dan jaringan, serta toksigenisitas dan kemampuan membangkitkan sistem imun inang (Pratiwi, 2017). Tingkat patogenisitas suatu bakteri dapat diukur dengan lethal dosis 50 (LD₅₀), yaitu dosis bakteri yang menyebabkan kematian 50 persen dari populasi ikan yang diinfeksi (Murwantoko *et al.*, 2013).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan pada Februari – Mei 2024, bertempat di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat dan bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada tabel berikut :

Tabel 1. Nama, jumlah dan fungsi alat penelitian yang digunakan.

No.	Nama Alat	Jumlah	Fungsi/Kegunaan
1.	Timbangan digital	1 buah	Menimbang bahan yang akan digunakan.
2.	Toples kaca	1 buah	Wadah perendaman <i>Sargassum</i> .
3.	Gelas ukur	1 buah	Menakar volume larutan yang digunakan.
4.	Kompur	1 buah	Merebus ekstrak.
5.	pH meter	1 set	Mengukur pH pada larutan.
6.	Termometer	1 buah	Mengetahui suhu.
7.	Autoklaf	1 buah	Sterilisasi alat dan bahan.
8.	Spatula	1 buah	Mengambil bahan.
9.	Erlenmeyer	3 buah	Pencampuran larutan dan bahan, serta menyimpan media.
10.	<i>Hot plate stirrer</i>	1 buah	Menghomogenkan larutan.
11.	<i>Vortex</i>	1 buah	Menghomogenkan sampel.
12.	Tabung reaksi	10 buah	Kultur bakteri.
13.	Cawan petri	10 buah	Kultur bakteri.
14.	Jarum ose	1 buah	Mengambil dan menanam bakteri.
15.	Bunsen	1 buah	Mensterilisasi peralatan saat kultur bakteri.
16.	Label	1 pack	Memberi kode pada sampel.
17.	Inkubator	1 buah	Menyimpan sampel.

Tabel 1. Nama, jumlah dan fungsi alat penelitian yang digunakan. (lanjutan)

18.	Mikropipet	1 buah	Memindahkan larutan sampel.
19.	Spektrofotometer	1 buah	Mengukur nilai absorbansi.
20.	<i>Centrifuge</i>	1 buah	Memisahkan cairan dengan padatan.
21.	Kontainer 45 L	15 buah	Wadah pemeliharaan udang uji.
22.	Kontainer 150 L	2 buah	Wadah adaptasi udang.
23.	Kontainer 15 L	3 buah	Wadah pencampuran alginat dan bakteri.
24.	<i>Shacker</i>	1 buah	Menghomogenkan larutan/sampel.
25.	Alumunium foil	1 roll	Menutup erleneyer & tabung reaksi.
26.	Kapas	1 bungkus	Menahan uap air.
27.	Plastik wrap	1 roll	Membungkus cawan petri.
28.	Plastik tahan panas	2 bungkus	Membungkus alat saat sterilisasi.
29.	Kain kasa	1 roll	Membungkus kapas.
30.	Aerasi	18 buah	Penyuplai oksigen.

Tabel 2. Nama, jumlah dan fungsi bahan penelitian yang digunakan.

No.	Nama Bahan	Jumlah	Fungsi/Kegunaan
1.	Rumput Laut <i>Sargassum</i>	250 g	Menghasilkan alginat dan bakteri simbion.
2.	Udang vaname	150 ekor	Hewan uji.
3.	<i>Cytobacillus kochii</i>	180 mL	Isolat bakteri.
4.	Akuades	10 L	Bahan pelarut untuk mencampurkan bahan-bahan kimia.
5.	<i>Tryptic soy agar</i> (TSA)	100 g	Menumbuhkan dan mengembangbiakkan bakteri.
6.	<i>Tryptic soy broth</i> (TSB)	100g	Menumbuhkan dan mengembangbiakkan bakteri (cair).
7.	KCl	2 g	Digunakan untuk pemucatan.
8.	Soda ash (Na ₂ CO ₃)	60,6 g	Untuk mendapatkan Na alginat.
9.	HCl	2 L	Untuk bahan maserasi.
10.	Alkohol	1L	Sebagai antiseptik.
11.	Spiritus	1 L	Sebagai bahan bakar bunsen.
12.	Larutan PBS	5 L	Untuk pengenceran.
13.	Pakan Komersil	2 kg	Pakan hewan uji.

3.3 Rancangan Penelitian

Perhitungan aktivitas alginat lyase dilakukan dengan pemberian larutan *Cetylpyridinium chloride* (CPC) pada konsentrasi 0,8% dan 1% dengan lama

inkubasi 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Kemudian, uji patogenisitas didesain menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri atas lima perlakuan dengan tiga kali pengulangan. Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu pemberian bakteri pendegradasi alginat dengan tingkat kepadatan bakteri yang berbeda. Rancangan penelitian tersebut digunakan untuk menganalisis tingkat kelangsungan hidup udang vaname selama 7 hari pemeliharaan. Data viabilitas bakteri *C.kochii*, aktivitas enzim lyase, rerata waktu kematian, dan LD₅₀ dianalisis secara deskriptif. Perlakuan yang dilakukan adalah sebagai berikut:

P1 = Perlakuan tanpa pemberian *C.kochii* (kontrol)

P2 = *C.kochii* kepadatan 10² CFU/mL air media pemeliharaan udang

P3 = *C.kochii* kepadatan 10³ CFU/mL air media pemeliharaan udang

P4 = *C.kochii* kepadatan 10⁴ CFU/mL air media pemeliharaan udang

P5 = *C. kochii* kepadatan 10⁶ CFU/mL air media pemeliharaan udang

Bentuk umum model linear aditif dari rancangan acak lengkap (RAL)

$$Y_{ij} = \mu_i + \tau_i + \varepsilon_{ij} \text{ atau } Y_{ij} = \mu_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

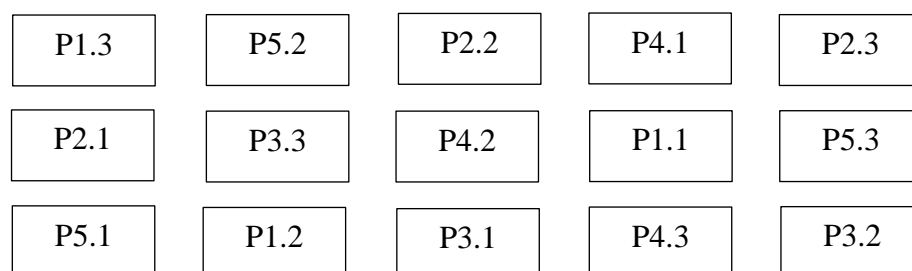
Y_{ij} = Pengamatan pada perlakuan ke-I dan ulangan ke-j

μ_i = Rataan umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} = Pengaruh acak pada perlakuan ke-I dan ulangan ke-j

Berikut merupakan skema penempatan kontainer penelitian dilakukan secara acak (Gambar 5)



Gambar 5. Tata letak wadah pemeliharaan

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.

P4.1, P4.2, P4.3 : Perlakuan P4 dan 1,2, 3 merupakan ulangan.

P5.1, P5.2, P5.3 : Perlakuan P5 dan 1,2, 3 merupakan ulangan.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Ekstraksi Alginat

Proses ekstraksi alginat dari *Sargassum polycystum* diperoleh dengan cara yaitu sampel *S. polycystum* sebanyak 250 g direndam dengan menggunakan HCl 1% dengan perbandingan (1:2) selama 60 menit, selanjutnya dibilas *sargasum* dengan air bersih sebanyak 2 kali. Kemudian, sampel tersebut diekstraksi menggunakan soda ash (Na_2CO_3) dengan konsentrasi 2% sebanyak 75 L dan dipanaskan menggunakan drum stainless pada suhu 60°C selama 60 menit. Sampel yang telah dipanaskan, kemudian disaring menggunakan kain belacu untuk memisahkan filtrat dan residu, dan ditambahkan larutan KCl 2% sebanyak 90 mL selama 60 menit untuk dilakukan pemucatan, selanjutnya filtrat ditambahkan HCl 10% hingga pH 7-8.

3.4.2 Persiapan Wadah dan Media Pemeliharaan

Wadah pemeliharaan yang digunakan yaitu kontainer dengan kapasitas 45 L yang berukuran 54 x 36,5 x 29 cm³ sebanyak 15 unit. Persiapan wadah dilakukan dengan cara kontainer dicuci dan dibersihkan menggunakan spons lalu dibilas dengan air bersih. Kemudian, air laut yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu menggunakan kaporit 10 ppm selama tiga hari dan dinetralkan menggunakan Natrium Tiosulfat 9 ppm selama dua hari. Selanjutnya, wadah pemeliharaan diisi air laut yang sudah steril sebanyak 10 L dan diberi aerasi. Setelah 24 jam wadah dan media pemeliharaan sudah dapat digunakan.

3.4.3 Persiapan Organisme Uji

Hewan uji yang digunakan yaitu udang vaname berjumlah 10 ekor/kontainer berukuran 3 ± 0 g dari PT. Central Proteina Prima, Lampung Selatan. Sebelum dilakukan penebaran udang pada kontainer pemeliharaan, udang diaklimatisasi selama 15-30 menit dalam kontainer penampungan kapasitas 150 L untuk menyesuaikan suhu air pada plastik *packing* dengan suhu air di kontainer penampungan dan diadaptasi pada suhu ruang selama 3 hari. Selama penelitian udang diberi pakan pellet dengan frekuensi pemberian 3 kali sehari yaitu pukul 07.00, 12.00, dan 17.00 WIB. Pemberian pakan dilakukan berdasarkan biomassa udang dengan *feeding rate* (FR) sebesar 3%.

3.4.4 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini di sterilisasi menggunakan *autoklaf* dengan tujuan untuk membunuh mikroorganisme yang menyebabkan kontaminan. Sterilisasi dilakukan dengan cara alat dan bahan yang digunakan terlebih dulu dibungkus menggunakan kertas HVS lalu dilapisi plastik tahan panas. Peralatan dan bahan yang telah dibungkus dimasukkan ke dalam mesin *autoklaf* dan disterilisasi pada suhu 121°C selama 20 menit.

3.4.5 Pembuatan Suspensi *Cytobacillus kochii*

Peremajaan bakteri dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri *C. kochii* menggunakan jarum ose kemudian digoreskan pada media TSA, lalu di inkubasi selama 24 jam. Kemudian, bakteri yang tumbuh pada media TSA dikultur pada media TSB dan di inkubasi selama 24 jam. Setelah bakteri tumbuh pada media TSB, lalu bakteri dipanen dengan cara di *centrifuge* untuk memisahkan supernatan dan natan pada kecepatan 3.000 rpm selama 30 menit. Selanjutnya supernatan dibuang dan dibilas menggunakan larutan PBS sebanyak dua kali kemudian dihitung kepadatan sel bakteri menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm.

3.5 Parameter Pengamatan

3.5.1 Uji *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Pengujian FTIR dilakukan dengan cara mencampurkan 1 L alginat dengan 10 mL bakteri *C. kochii* pada akuarium kapasitas 15 L yang diberi aerasi lalu diinkubasi selama 24, 48, dan 72 jam. Kemudian, sampel dikirim ke UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT), Universitas Lampung.

3.5.2 Uji Viabilitas Bakteri

Uji viabilitas bakteri dihitung menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Pengujian TPC dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroba yang terdapat dalam alginat dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar. Pengujian ini dilakukan dengan cara mengambil 50 μ L alginat yang sudah diinkubasi dengan bakteri *C. kochii* kemudian di *spreader* pada media TSA dan diinkubasi selama 24, 48, dan 72 jam. Kemudian, perhitungan jumlah koloni dilakukan sesuai dengan waktu inkubasi dengan menghitung koloni bakteri yang tumbuh pada media agar menggunakan *colony counter*.

3.5.3 Aktivitas Enzim Alginat Lyase

Uji aktivitas enzim alginat lyase dilakukan secara semi kualitatif dengan cara bakteri *C. kochii* dikultur selama 24 jam di media agar, kemudian dipanen dan diberi larutan PBS sebanyak 3 mL lalu digores menggunakan *cotton swab* sampai bakteri larut dalam PBS. Kemudian sebanyak 100 μ L bakteri dikultur pada media TSA yang sudah dicampur dengan alginat dan didiamkan selama 30 menit sampai meresap. Kertas cakram yang sudah diberi larutan *Cetylpyridinium chloride* (CPC) dengan konsentrasi 0,8% dan 1% pada inkubasi 24 jam, 48jam, dan 72 jam. Kemudian di tempelkan pada media TSA yang sudah disebarakan bakteri. Terbentuknya zona bening disekeliling bakteri menunjukkan adanya aktivitas alginat lyase dan dihitung diameter zona bening yang terbentuk dengan rumus indeks aktivitas sebagai berikut :

$$\text{Aktivitas alginat lyase} = \frac{(\text{\textcircled{O}} \text{ Zona Bening} - \text{\textcircled{O}} \text{ Koloni Bakteri})}{\text{\textcircled{O}} \text{ Koloni Bakteri}} \times 100\%$$

3.5.4 Uji Patogenisitas *Cytobacillus kochii*

Uji patogenisitas dilakukan pada udang dengan menginfeksi bakteri *C. kochii* dengan metode kohabitasi yaitu bakteri dimasukkan ke media pemeliharaan udang sebanyak 10 mL suspensi bakteri dengan kepadatan 0, 10², 10³, 10⁴, dan 10⁶ CFU/mL. Pemeliharaan udang uji dilakukan selama 7 hari. Pengamatan rerata waktu kematian dan gejala klinis dicatat setiap 6 jam sekali pada 24 jam pertama, selanjutnya dicatat setiap 24 jam sekali hingga hari ke-7. Uji patogenisitas bakteri *C.kochii* dilakukan melalui uji LD₅₀ (*Lethal Dosage* 50) untuk mengetahui dosis bakteri *C. kochii* yang bersifat patogen terhadap udang vaname.

Jika terdapat udang yang mati, maka dilakukan diagnosa kematian tersebut terjadi karena infeksi bakteri atau infeksi virus menggunakan pengujian Postulat River dengan cara mengambil udang yang *moribund* (hampir mati) dan terindikasi sakit, kemudian tubuh udang tersebut digerus menggunakan mortar lalu diberi larutan PBS sebanyak 3 mL. Setelah itu, cairan di *centrifuge* dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan natan dan supernatan, lalu supernatan disaring menggunakan *syringe filter* 0,45 µm. Kemudian cairan tersebut, diberikan pada udang sehat secara kohabitasi. Jika udang yang sehat mengalami gejala klinis yang sama dengan udang yang mati, maka udang diduga terserang infeksi virus.

3.5.5 Tingkat Kelangsungan Hidup (TKH)

Tingkat kelangsungan hidup dapat dihitung dengan menggunakan rumus Rachamawati & Samidjan (2014) sebagai berikut:

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

Keterangan:

TKH = Tingkat kelangsungan hidup (%)

Nt = Jumlah ikan pada akhir penelitian (ekor)

N_0 = Jumlah ikan pada awal penelitian (ekor)

3.5.6 Rerata Waktu Kematian (RWK) dan *Lethal Dosage 50* (LD₅₀)

Rerata waktu kematian (RWK) pada uji patogenisitas diperhitungkan (Hubert, 1980) sebagai berikut:

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

Keterangan:

RWK = Rerata waktu kematian

a_i = waktu kematian pada jam ke- i (jam)

b_i = jumlah ikan uji yang mati pada jam ke- i (ekor)

Lethal Dosage 50 (LD₅₀)

LD₅₀ dapat didefinisikan sebagai dosis atau konsentrasi yang diberikan sekali (tunggal) atau beberapa kali dalam 24 jam dari suatu zat yang secara statistik diharapkan dapat mematikan 50% hewan uji coba. Nilai LD₅₀ didapat menggunakan metode aritmatik Reed & Muench (1938) dengan rumus :

$$\text{Log LD}_{50} = a - \frac{(b-50)}{(b-c)}$$

Keterangan :

a = Log bakteri di atas 50%

b = % mortalitas di atas 50 %

c = % mortalitas di bawah 50 %

3.5.7 Pengamatan Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis dilakukan setiap hari selama masa uji patogenisitas dengan melihat perubahan fisik maupun tingkah laku pada masing-masing perlakuan secara visual. Gejala yang diamati yaitu keaktifan dalam respon terhadap pakan, terdapat perubahan warna maupun luka pembengkakan atau pendarahan pada kulit, dan tingkah laku udang seperti pergerakan berenang. Pengamatan

gejala klinis menggunakan metode skoring yang merujuk pada (Hikmah, 2023) dan Amrillah *et al.* (2015) yang telah dimodifikasi kategori gejala klinisnya. Skor gejala klinis yang menunjukkan tingkat keparahan infeksi tiap perlakuan disajikan pada (Lampiran 5) dengan ketentuan yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Ketentuan nilai pengamatan gejala klinis

Gejala klinis	Nilai
Udang tanpa gejala/ <i>without symptoms</i> (W)	0
Udang bergerak pasif, kurang responsif terhadap pakan/ <i>passive</i> (P)	1
Berenang mendekati aerasi/ <i>approaching aeration</i> (A)	2
Perubahan warna tubuh udang kemerahan/ <i>change in body color</i> (C)	3
Kaki jalan, antenna, dan ekor geripis / <i>thin tail</i> (T)	4
Udang mati / <i>death</i> (D)	5

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil uji patogenitas bakteri *C. kochii* pada udang vaname yang diperoleh pada penelitian ini berupa data kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif seperti tingkat kelangsungan hidup diuji dengan Kruskal-wallis. Sedangkan data kualitatif seperti gejala klinis, rerata waktu kematian dan LD₅₀, aktivitas enzim, FTIR, dan viabilitas bakteri disajikan dengan tabel dan dianalisis secara deskriptif.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Simpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah :

- a. Aktivitas enzim alginat lyase yang dihasilkan dari bakteri simbiosis *S. polycystum* yaitu *C. kochii* terdapat pada konsentrasi CPC 0,8 % dengan waktu inkubasi yang optimal 72 jam yaitu sebesar 6,20 mm.
- b. Bakteri *C.kochii* tidak bersifat patogen terhadap udang vaname.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang karakteristik enzim alginat lyase dan patogenisitas eksotoksin bakteri *C. kochii* secara molekuler sehingga nantinya dapat diaplikasikan dalam kegiatan budi daya udang.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Afni, F. S., Purwaningsih, S., Nurilmala, M., & Peranginangin, R. 2017. Produksi *alginate oligosaccharides* (AOS) sebagai bahan prebiotik menggunakan enzim alginat liase. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(1):109-122.
- Afriansyah, A. M., Kamaruddin, M., Ethica, N. S., & Aprianti, F. N. 2021. Aktivitas anti-biofilm bakteri dari produk alga coklat *Dictyota* sp. *Jurnal Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. 3(3): 89-93.
- Aini, A. N. 2021. *Pemeliharaan Larva Udang Vaname (Litopenaeus vannamei) dengan Penambahan Probiotik Monodon Plus pada Media Pemeliharaan*. (Tugas Akhir). Politeknik Negeri Lampung. Bandar Lampung.
- Amrillah, A. M., Widyarti, & S., Kilawati, Y. 2015. 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.
- Belattmania, Z., Kaidi, S., El Atouani, S., Katif, C., Bentiss, F., Jama, C., & Vasconcelos, V. 2020. Isolation and FTIR-ATR and 1H NMR characterization of alginates from the main alginophyte species of the Atlantic Coast of Morocco. *Molecules*. 25(18): 4335.
- Casadevall, A., & Pirofski, L. 2003. The damage-response framework of microbial pathogenesis. *Journal Nature Reviews Microbiology*. 1(1): 17-24.
- Dahlan, J., Hamzah, M., & Kurnia, A. 2017. Pertumbuhan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang dikultur pada sistem bioflok dengan penambahan probiotik. *Jurnal Sains dan Inovasi Perikanan*. 2(1): 19-27.
- Darmawan, M., Setyawan, A., Juliasih, N. L. G. R., & Fidyandini, H. P. 2023. 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. *Journal of Tropical Marine Science*. 6(1): 11-22.

- Dharmayanti, N., Mufida, N., Permadi, A., Asriani, Salampessy, B. R., Nurbani, Z. S., & Indriati, N. 2021. Penambahan konsentrasi alginat dari *Sargassum polycystum* untuk formulasi krim lulur. *Jurnal Akuatek*. 2(2): 81-94.
- Efendi, Y., Yusra., & Efendi, V. O. 2017. Optimasi potensi bakteri *Bacillus subtilis* sebagai sumber enzim protease. *Jurnal Akuatika Indonesia*. 2(1): 87-94.
- Erlangga, J. 2023. *Pertumbuhan Udang Vaname Litopenaeus vannamei (Boone, 1931) yang Dipelihara di Tambak Semi Intensif Salinitas Rendah dengan Aplikasi Suplemen Organik Cair*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 51 hlm.
- Ertesvag, H. 2015. Alginate-modifying enzymes: biological roles and biotechnological uses. *Journal Microbiol*. 6: 523.
- Fitria, A. N., & Zulaika, E. 2018. Aklimatisasi pH dan pola pertumbuhan *Bacillus cereus* s1 pada medium MSM modifikasi. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 7(2): 2337-3520.
- Gacesa, P. 1992. Enzymatic degradation of alginates. *International Journal of Biochemistry*. 24(4): 545-552.
- Herawati, D., Lydia, N. L., & Silvia, A. 2016. Pengaruh konsentrasi alginat dan CaCl₂ terhadap kadar antosianin, aktivitas antioksidan dan karakteristik sensoris buah duwet (*Syzygium cummi* Linn) restrukturisasi. *Jurnal Agritech*. 36(3): 261-269.
- Hikmah, N. M. 2023. Studi Efikasi Booster Vaksin *Streptococcus* spp. Untuk Pencegahan Penyakit Streptococcosis Pada Ikan Nila *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 87 hlm.
- Hoa., T. T., Hoang, D. T., & Phuong, N. T. (2006). *Study on Disease In Giant Freshwater Prawns (Macrobrachium rosenbergii)*. (Thesis). Vietnam: Departement of Fisheries Biology, College of Aquaculture and Fisheries, Can Tho University.
- Hubert, J. J. 1980. *Bioassay*. Kendall/Hunt Publishing Company. Iowa. 231 hlm.
- Huyyirnah & Syafri. 2021. Penyediaan stok kultur bakteri (patogen dan non-patogen) di laboratorium mikrobiologi laut yang diisolasi dari rumput laut *Eucheuma spinosum*. *Prosiding Pengembangan Profesi Pranata Laboratorium Pendidikan*. Direktorat Sumber Daya, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi. Hlm: 36-44.

- Indriani, H., & Suminarsih. 1992. *Budidaya, Pengelolaan dan Pemasaran Rumput Laut*. Penebar Swadaya. Jakarta. 99 hlm.
- Iryanti, T., Wahab, A. W., & Bahar, R. 2018. Potential na-alginate extract from brown algae *Sargassum* sp. of the mango maturation process. *Indonesia Chimica Acta*. 11(2): 17-27.
- Jagtap, A. S., Sankar, N. P. V., Ghori, I. A., & Manohar, C. S. 2022. Marine microbial enzymes for the production of algal oligosaccharides and its bioactive potential for application as nutritional supplements. *Folia Microbiologica*. 67(2): 175-191.
- Johny, F., Roza, D.K., Mahardika, Zafran, & Prijono, A. 2005. Penggunaan Immunostimulan untuk meningkatkan kekebalan nonspesifik benih ikan kerapu lumpur, *Epinephelus coiodes* terhadap infeksi virus irido. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 11(5): 75-83.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2021. Dorong Peningkatan Ekspor Udang Menteri Trenggono Optimis Indonesia Kuasai Pasar Dunia. <https://kkp.go.id/artikel/31371-dorong-peningkatan-ekspor-udang-menteritrenggono-optimis-indonesia-kuasai-pasar-dunia>. (diakses pada 23 September 2024).
- Lilisuriani. 2020. Serangan penyakit virus pada udang di tambak tanpa memperlihatkan gejala klinis. *Jurnal Ilmu Perikanan*. 9(1): 25-32.
- Murwantoko, Rozi, Istiqomah, I., & Nitimulyo, K. H. 2013. Isolasi, karakterisasi, dan patogenitas bakteri penyebab penyakit pada gurami (*Osphronemus goramy*) di Kabupaten Bantul. *Jurnal Perikanan*. 15(2): 83-90.
- Muzahar. 2020. *Teknologi dan Manajemen Budidaya Udang*. Umrah Press. Tanjung Pinang. 90 hlm.
- Nainggolan, N., Seprianto, S., & Kusumawati, R. 2021. Synthesis of alginate oligosaccharide (AOS) using different solvents. *Indonesian Journal Biotechnology Biodiversity*. 5(3): 78-83.
- Pasaribu, M. K. 2015. *Viabilitas Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Media Tumbuh yang Dimodifikasi dengan Tepung Ikan*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 53 hlm.
- Patel, S., & Gupta, R. S. 2020. A phylogenomic and comparative genomic framework for resolving the polyphyly of the genus *Bacillus*: Proposal for six new genera of *Bacillus* species, *Peribacillus* gen. nov., *Cytobacillus* gen. nov., *Mesobacillus* gen. nov., *Neobacillus* gen. nov., *Metabacillus* gen. nov. and *Alkalihalobacillus* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 70(1): 406-438.

- Pratiwi, R. H. 2017. Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. *Jurnal Pro-Life*. 4(3) : 418-429.
- Putri, S. D., Affandi, I. M., & Sayekti, D. W. 2020. Analisis kinerja usaha dan risiko petambak udang vaname pada sistem tradisional dan system intensif di Kecamatan Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung Timur. *JIIA*. 8(4): 625-632.
- Rachmawati, D., & Samidjan, I. 2014. Penambahan fitase dalam pakan buatan sebagai upaya peningkatan pencernaan, laju pertumbuhan spesifik dan kelulus-hidupan benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Saintek Perikanan*. 10(1): 48-55.
- Rahmadani, L. 2022. *Pengelolaan Kualitas Air pada Media Pemeliharaan Larva Udang Vaname (Litopenaeus vannamei) di PT. Tri Karta Pratama*. (Skripsi). Politeknik Negeri Lampung. Bandar Lampung.
- Rais. 2018. *Manajemen Pemberian Pakan pada Pembesaran Udang Vaname (Litopenaeus vannamei) di Tambak Semi Intensif CV. Panen Raya Probolinggo, Jawa Timur*. (Tugas Akhir). Politeknik Pertanian Negeri Pangkep. Pangkajene. 33 hlm.
- Reed, L. J. & Muench, H. 1938. Metode sederhana untuk memperkirakan lima puluh persen endpoints. *American Journal of Epidemiology*. 27(3): 493–497.
- Rohim, A., Yuniarta, & Estiasih, T. 2019. Senyawa-senyawa bioaktif pada rumput laut cokelat *Sargassum* sp. : Ulasan Ilmiah. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2 (20): 115-126.
- Safitri, Y. B. 2023. *Studi Bakteri Symbion Sargassum polycystum Penghasil Enzim Alginat Lyase dari Perairan Lampung: Penapisan, Karakterisasi dan Identifikasi*. (Tesis). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 96 hlm.
- Safitri, Y.B., Setyawan, A., Juliasih, N.L.G.R., Widiasuti, E.L., & Susanto, G.N. 2023. Isolasi, karakterisasi, dan identifikasi bakteri endofit *Sargassum polycystum* penghasil enzim alginat lyase. *Journal of Tropical Marine Science*. 6(1): 38-44.
- Sambu, A. H., Malik, A., & Selvi, A. 2016. Optimasi pemberian skeletonema costatum yang dipupuk cairan romen dengan kepadatan yang berbeda terhadap sintasan larva udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) stadia zoea sampai mysis. *Jurnal Ilmu Perikanan*. 5(1): 451-455.
- Septiama, Sugianti, B., Aritonang, A. H., Shatrie, D. N., Noor P, R., Barleani, A. A., Wahyuni, I., Hapsari, I., Fakhriza, I., Kusbiandany, S., Davids HS, P., Gunardi, A., Arbay, E. A., Lafi, L., Ismayasari, R. 2008. Metode Standar Pemeriksaan HPIK Golongan Virus *White Spot Syndrome Virus* (WSSV). Pusat Karantina Ikan, Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta.

- Setyawan, A., Juliasih, N. L. G. R., Darmawan, M., Susanto, G. N., & Sarida, M. 2023. Screening, characterization, and identification of fucoidanase producing bacteria from *Sargassum polycystum*. *AACL Bioflux*. 16(3): 1357-1371.
- Setyawan, A., Riana, Supono, Hudaidah, S., & Fidyandini, H. P. 2021. Non-specific immune response of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* by supplementation of sodium alginate of *Sargassum* collected from Lampung Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 890 (1): 012015.
- Setyawan, A., Supono, Safitri, Y. B., Hudaidah, S., & Fidyandini, H. P. 2020. Suplementasi kalsium alginat *Sargassum* sp. dari perairan Lampung untuk memicu respon imun *Penaeus vannamei*. *Prosiding Semnaskan UGM XVII, Departemen Perikanan UGM*. Yogyakarta. Hlm: 41-47.
- Sinurat, E., & Marliani, R. 2017. Karakteristik natrium alginat dari rumput laut cokelat *Sargassum crassifolium* dengan perbedaan alat penyaring. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2): 351-361.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. 1997. Principles of Instrumental Analysis. *Brooks Cole*. India. 960 hlm.
- Subaryono, Peranginangin, R., Suhartono, M. T., & Zakaria, F. R. 2015. Isolasi dan identifikasi bakteri penghasil alginat lyase dari rumput laut *Sargassum crassifolium*. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 10(1) : 1–9.
- Subaryono. 2010. Modifikasi alginat dan pemanfaatan produknya. *Squalen*. 5(1): 1-7.
- Subaryono. 2019. *Produksi Enzimatik Oligosakarida Alginat (OSA) dari Rumput Laut Sargassum crassifolium dan Aktivitas Imunomodulatornya*. (Disertasi). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sumino, Saputra, I., & Mude, H. 2020. Peran cara karantina ikan yang baik (CKIB) dalam pencegahan penyakit virus pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di Provinsi Lampung. *Jurnal Enggano*. 5(2): 258-272.
- Wang, X. W., Yu, C., & Pan, H. X. 2023. Process optimization and antimicrobial effect of *Cytobacillus kochii* H protease. *Fujian Journal of Agricultural Science*. 38(1): 47–57.
- Wasikiewicz, J. M., Yoshii, F., Nagasawa, N., Wach, R. A., & Mitomo, H. 2005. Degradation of chitosan and sodium alginate by gamma radiation, sonochemical and ultraviolet methods. *Radiation Physics and Chemistry*. 73(5): 287-295.
- Widigdo, B. 2013. *Bertambah Udang Dengan Teknologi Biocrete*. Kompas Media

- Nusantara. Jakarta. 104 hlm.
- Winarno, F. G. 1990. *Teknologi Pengolahan Rumput Laut*. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta. 112 hlm.
- World Organization for Animal Health (WOAH). 2024. Diseases listed by WOAH: Crustacean disease. https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/aahc/current/chapitre_diseases_listed.pdf . (diakses pada 23 September 2024).
- World Register of Marine Species (WoRMS). 2024. <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=247789> . (diakses pada 28 Oktober 2024).
- Xing, M., Cao, Q., Wang, Y., Xiao, H., Zhao, J., Zhang, Q., Ji, A., & Song, S. 2020. Advances in research on the bioactivity of alginate oligosaccharides. *Journal Marine Drugs*. 18(3): 144.
- 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., Triyanto, & 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.
- Yulianto, K. 2007. Penelitian isolasi alginat alga laut coklat dan prospek menuju industri. *Prosiding Seminar Riptek Kelautan Nasional*. Hlm: 104-108.
- Yusran. 2020. *Teknik Pengelolaan Induk Udang Vaname (Litopenaeus vannamei Boone) di PT Kawan Kita Kultur Persada Situbondo, Jawa Timur*. (Tugas Akhir). Politeknik Pertanian Negeri Pangkep. Pangkajene. 56 hlm.