

**LAPORAN PENELITIAN
DIPA FAKULTAS
UNIVERSITAS LAMPUNG**



**EVALUASI SUPLEMENTASI ALGINAT SARGASSUM DARI
PERAIRAN LAMPUNG DALAM MENANGGULANGI PENYAKIT
WHITE SPOT PADA UDANG VANNAMEI *Litponeaues vannamei***

TIM PENGUSUL

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

NIDN. 0005088402

SINTA ID. 5974067

Ir. Siti Hudaidah, M.Sc.

NIDN. 0023126403

SINTA ID. 38272

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

NIDN. 0028019006

SINTA ID. 6716627

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2021**

**HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN DIPA FAKULTAS PERTANIAN**

Judul Penelitian : Evaluasi suplementasi alginat *Sargassum* dari Perairan Lampung dalam menanggulangi penyakit *white disease* pada udang vannamei *Litopenaues vannamei*

Jenis Penelitian : pengembangan eksperimental

Ketua Peneliti

a. Nama Lengkap : Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.

b. NIDN : 0005088402

c. SINTA ID : 5974067

d. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli

e. Program Studi : Budidaya Perairan

f. Nomor HP : 081802762095

g. Alamat surel (e-mail) : agus.setyawan@fp.unila.ac.id

Anggota Peneliti (1)

a. Nama Lengkap : Ir. Siti Hudaidah, M.Sc.

b. NIDN : 0023126403

c. SINTA ID : 38272

d. Program Studi : Budidaya Perairan

Anggota Peneliti (2)

a. Nama Lengkap : Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si.

b. NIDN : 0028019006

c. SINTA ID : 6716627

d. Program Studi : Budidaya Perairan

Jumlah mahasiswa yang terlibat : 1 (satu) orang

Jumlah alumni yang terlibat :

Jumlah staf yang terlibat :

Lokasi kegiatan : Unila

Lama kegiatan : 4 bulan

Biaya Penelitian : Rp. 7.500.000 (tujuh juta lima ratus rupiah)

Sumber dana : DIPA Fakultas

Bandar Lampung, 26 September 2021

Mengetahui,
Dekan Fakultas Pertanian

Ketua Peneliti,

Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 19611020 198603 1 002

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

Menyetujui,
Ketua LPPM Universitas Lampung,

Dr. Ir. Lusmelia Afriani, D.E.A
NIP 196505101993032008

IDENTITAS DAN URAIAN UMUM

1. Judul Penelitian : Evaluasi suplementasi alginat *Sargassum* dari Perairan Lampung dalam menanggulangi penyakit *white disease* pada udang vannamei *Litopenaeus vannamei*

2. Tim Peneliti

No	Nama	Jabatan	Bidang keahlian	Program Studi	Alokasi waktu (Jam/minggu)
1.	Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.	Ketua	Penyakit ikan, <i>natural product</i> , imunologi ikan, mikrobiologi	Budidaya Perairan	25 jam / minggu
2.	Ir. Siti Hudaidah, M.Sc.	Anggota I	Manajemen Pakan	Budidaya Perairan	20 jam / minggu
3	Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si.	Anggota II	Manajemen Kesehatan Ikan	Budidaya Perairan	20 jam / minggu

3. Objek material (jenis penelitian yang akan diteliti dan segi penelitian):

Materi yang akan diteliti dalam penelitian ini adalah alginat pada udang vannamei

4. Masa Pelaksanaan:

Mulai : Bulan Juli tahun 2021

Berakhir : Bulan Oktober tahun 2021

5. Usul Biaya : Rp. 7.500.000,- (Lima juta rupiah)

6. Lokasi penelitian : Laboratorium Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian Unila

7. Instansi lain yang terlibat:

8. Kontribusi mendasar pada suatu bidang ilmu:

Penelitian ini akan berkontribusi terhadap pengembangan imunostimulan alginat untuk meningkatkan ketahanan udang vannamei terhadap WSSV.

9. Luaran yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah satu buah skripsi a.n. M. Darmawan (P.S. Budidaya Perairan) dan prosiding seminar internasional di Universitas Khairun, Ternate.

RINGKASAN

White spot disease (WFD) merupakan penyakit pada udang penaeid yang disebabkan oleh *white spot syndrome virus* (WSSV). Hingga saat ini penyakit WFD masih mengancam budidaya udang vannamei di seluruh dunia. Penelitian sebelumnya, suplementasi alginat *Sargassum* dari perairan Lampung mampu meningkatkan respon imun udang vanamei. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektifitas suplementasi alginat *Sargassum* dari perairan Lampung untuk menanggulangi penyakit white spot pada udang vannamei, *Litopenaeus vannamei*.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekperimental. Sebelumnya alginat diekstraksi dari alga cokelat *Sargassum* yang dikoleksi dari beberapa perairan Lampung seperti Peisir Barat dan Pantai Sebalang, Lampung Selatan. Sebanyak dua perlakuan yaitu alginat di-coating dalam pakan komersial dengan dosis 1500 mg/kg pakan sebagai perlakuan A, alginat dicampur dengan vitamin C dengan dosis (750 : 750 mg/kg pakan) sebagai perlakuan B, dan satu kelompok udang sebagai kontrol tanpa pemberian alginat. Masing-masing perlakuan dan kontrol dilakukan ulangan masing-masing tiga ulangan container yang berisi 10 ekor udang vannamei (ukuran 15 g/ekor). Udang diadaptasikan selama 1 minggu dan dipelihara dalam container selama 14 hari dengan pemberian pakan sesuai perlakuan. Selanjutnya semua udang diuji tantang dengan filtrat WSSV sebanyak 0,1 ml/udang. Pengamatan dilakukan setiap 6 jam sekali. Beberapa parameter dicatat meliputi laju sintasan, *relative persen survival* (RPS), mean time to death (MTD), gejala klinis, uji PCR, dan analisis histologi.

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 uji tantang untuk menghindari konsentrasi virus yang terlalu tinggi saat uji tantang.

Penelitian ini layak untuk digunakan sebagai topic skripsi mahasiswa Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Luaran dari penelitian ini adalah draft thesis, publikasi dalam jurna nasional terakreditasi (S2), dan presentasi dalam seminar internasional. Penelitian ini juga menjadi pengembangan penelitian sebelumnya dan berpotensi untuk dilanjurkan ke industri atau pengajuan paten.

Kata kunci: alginat, imunostimulan, *Litopenaeus vannamei*, *Sargassum*, WSSV

I. PENDAHULUAN

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 un-tuk 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 ada-lah 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 immuno-stimulan 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 & Sa-ri, 2017). Alga coklat dapat menjadi sumber senyawa bioaktif baik

metabolit pri-mer ataupun sekunder. Kusumaningrum *et al.* (2007), menyatakan bahwa *Sargas-sum* 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 se-cara 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 (Viswa-nathan & Nallamuthu, 2014). Menurut Toft *et al.* (1986), alginat telah banyak di-manfaatkan 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. Peneli-tian 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 *Sargas-sum* sp. secara efektif dapat memodulasi sistem imun pada udang penaeid. Peneli-tian 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 penamba-han 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 pe-manfaatan natrium alginat *Sargassum* sp. dan vitamin C pada bidang perikanan te-lah banyak dilakukan, namun masih sangat sedikit sekali informasi mengenai do-sis 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*).

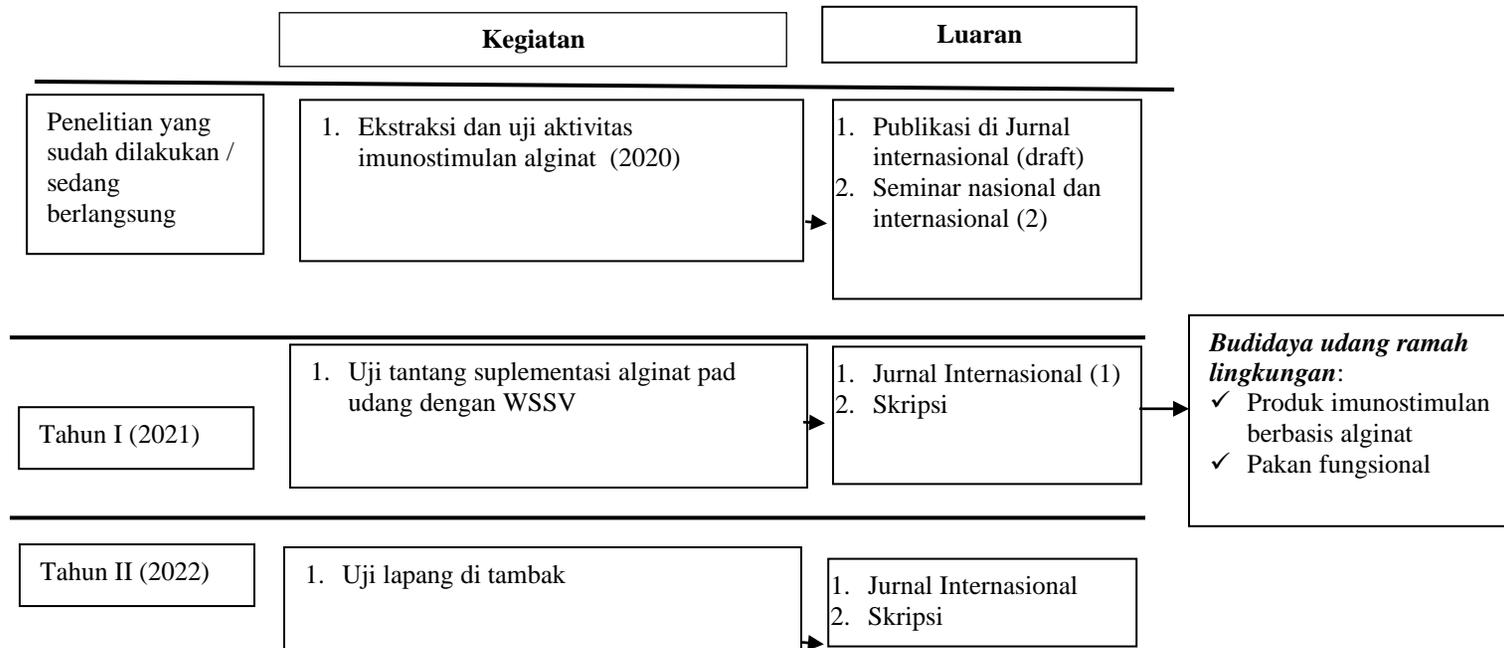
1.3 Manfaat Penelitian

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.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Peta Jalan Penelitian

Peta jalan (*road map*) penelitian ini diuangkan pada Gambar 1.



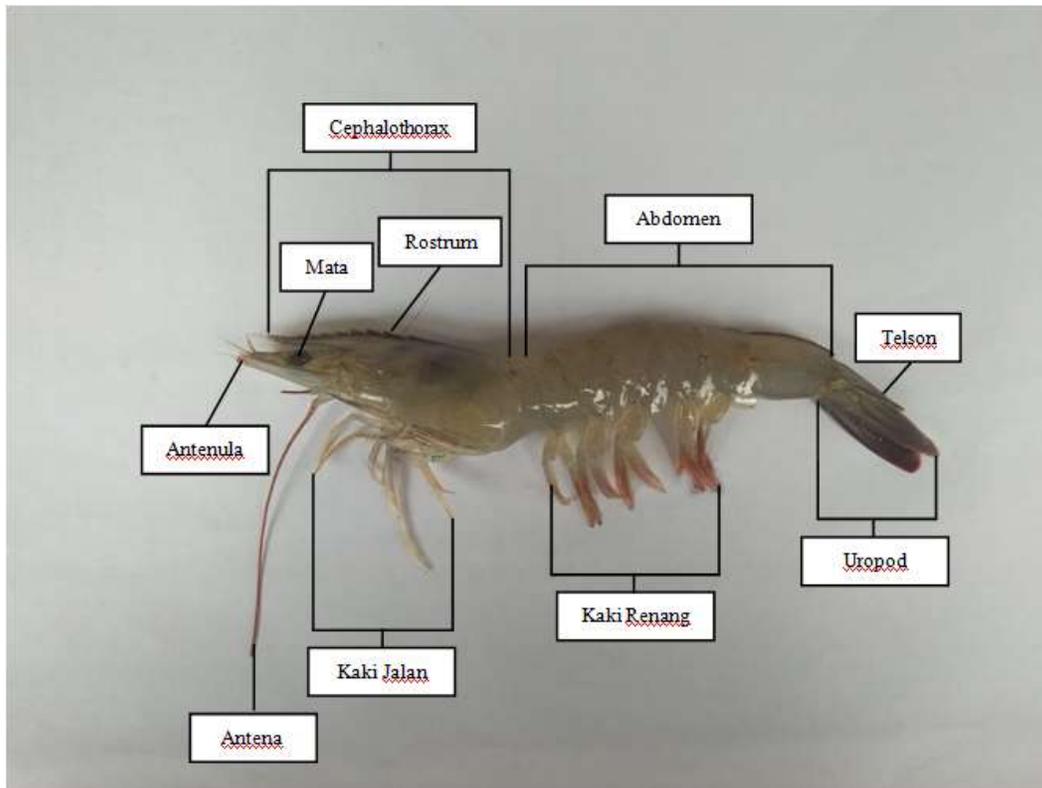
Gambar 2.1. Peta jalan (*road map*) penelitian

B. Tinjauan Pustaka

1. Udang Vannamei

Udang vannamei merupakan udang yang berasal pantai Pasifik Barat, Amerika Latin mulai dari Peru selatan hingga ke Meksiko bagian utara. Udang vannamei mulai diintroduksi ke Asia tahun 1978-1979, tetapi secara komersial baru tahun 1996 mulai diintroduksi di China dan Taiwan, dan diikuti oleh negara-negara lain di Asia seperti Filipina, Indonesia, Vietnam, Thailand, Malaysia, dan India pada tahun 2000-2001 (Baxter *et al.*, 2004). Indonesia, melalui Direktorat Perikanan Budidaya, memberikan wewenang kepada swasta untuk mengimpor induk dan post larvae udang vannamei dan dibudidayakan di beberapa kota dan provinsi yang potensial seperti Banyuwangi, Bali, Lampung, Jawa Tengah, Sumatra Utara, Bangka Belitung, Riau, Kalimantan Barat, Kalimantan Timur, Nusa Tenggara Barat, dan Bengkulu (Sulit *et al.*, 2005). Baxter *et al.* (2004) menyebutkan beberapa alasan banyaknya introduksi udang vannamei antara lain: 1) pertumbuhan cepat, 2) Padat tebar tinggi, 3) toleransi tinggi terhadap suhu dan salinitas, 4) kebutuhan protein pakan cenderung lebih rendah.

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 mampu-nyai fungsi masing-masing. Morfologi udang vaname dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Morfologi udang vaname (dokumentasi pribadi).

2. *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, or-gan 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).

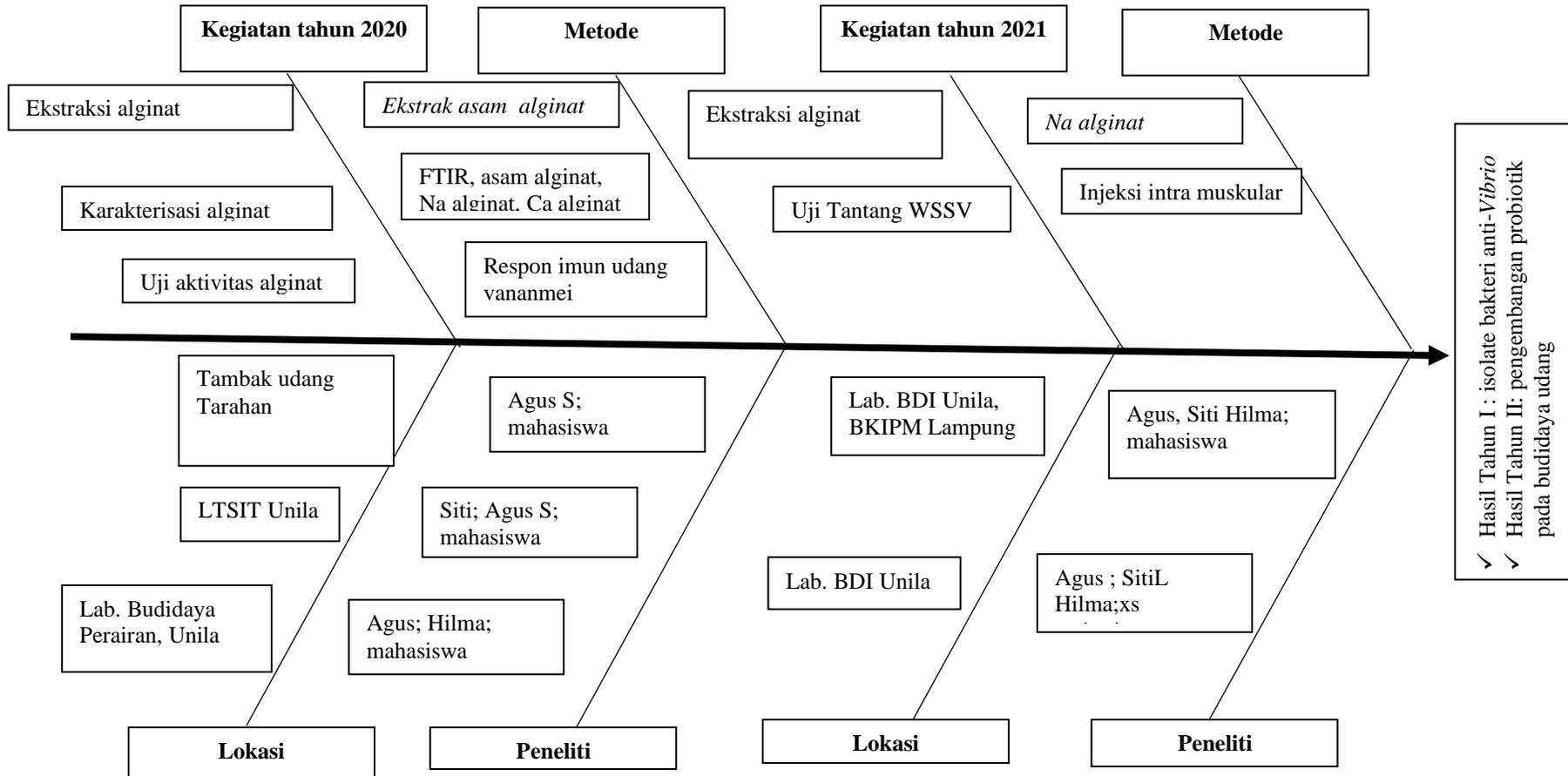
3. Natrium Alginat

Alginat merupakan senyawa polisakarida yang didapatkan dari hasil ekstraksi ke-lompok 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 to-tal berat kering rumput laut coklat (Sinurat & Marliani, 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 kompo-nen 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 la-ut 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.

III. METODOLOGI PENELITIAN

Metode penelitian secara umum digambarkan dalam diagram tulang ikan (fish bone) berikut ini.



Gambar 3.1. Diagram tulang ikan penelitian

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2021-September 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% Na₂CO₃/ 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 perhari, 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 di-

pindahkan 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. Uji tantang 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 microtube.
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 perbanyakkan atau penggandaan molekul DNA dengan ukuran tertentu secara enzimatik 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, IHHNV, 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.

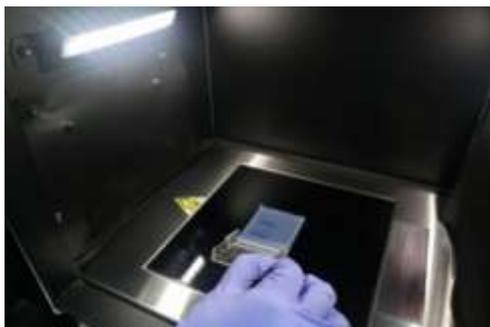
4. Sampel dimasukkan ke dalam sumuran dimulai dari kontrol negatif, sampel, kontrol positif, dan marker, dengan urutan sumuran 1 adalah marker, sumuran 2 kontrol positif, sumuran 3 kontrol negatif dan sumuran 4 sampai seterusnya adalah sampel.
5. Kemudian dilakukan *running* elektroforesis dengan voltase 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.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Rendemen *Sargassum* sp. dari Perairan Lampung

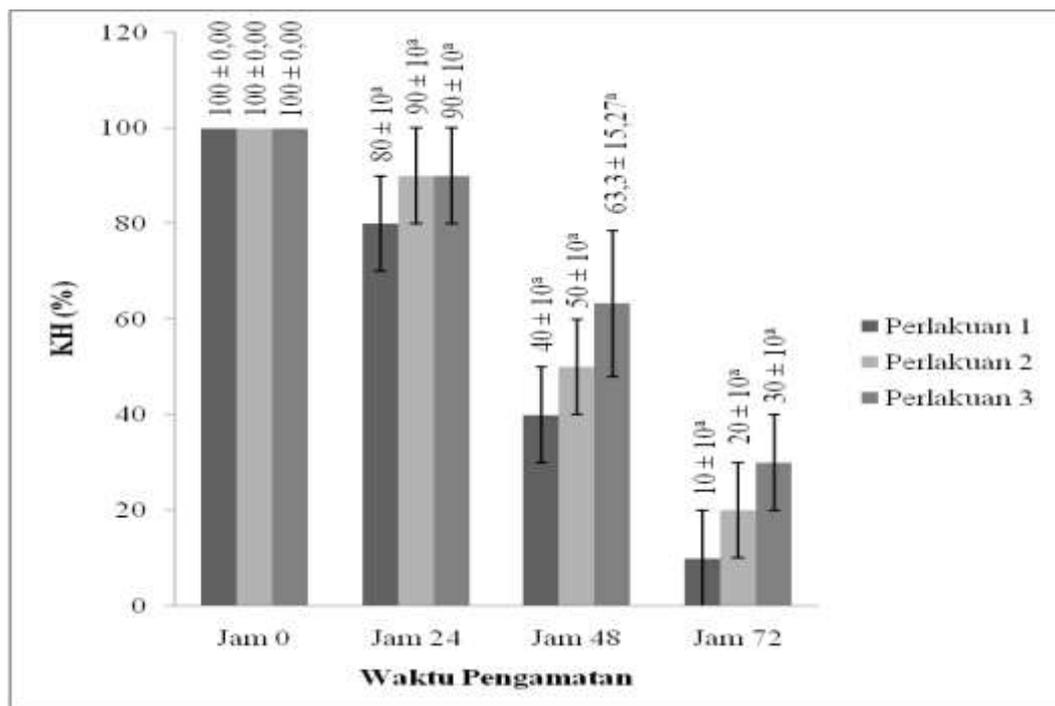
Rendemen merupakan suatu nilai penting dalam pembuatan produk, dimana nilai rendemen didapatkan dari perbandingan berat kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku (Yuniarifin *et al.*, 2006). Berdasarkan dari hasil ekstraksi yang telah dilakukan pada 100 g bubuk *Sargassum* sp. dari perairan Lampung didapatkan total berat kering natrium alginat sebanyak 12,02 gram dan rendemen 12,02%. Hasil rendemen *Sargassum* sp. pada penelitian ini termasuk lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Menurut Amir *et al.* (2016), *Sargassum* sp. yang diekstraksi dengan metode konvensional dapat menghasilkan rendemen natrium alginat sebesar 19,25%. Yudiati *et al.* (2016), menyatakan bahwa rendemen *Sargassum siliquosum* yang diekstraksi dengan metode yang sama menghasilkan rendemen natrium alginat sebesar 40,34%. Adapun penelitian Rifandi *et al.* (2014), menyatakan bahwa ekstraksi *Sargassum* sp. dengan konsentrasi Na_2CO_3 7% rendemen natrium alginat yang didapatkan sebanyak 8,24-15,14% untuk perairan Teluk Awur dan 7,19-14,44% untuk perairan Portunggal.

Jumlah rendemen suatu ekstrak yang dihasilkan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu ukuran simplisia, jenis pelarut, tingkat kepolaran pelarut, dan lama maserasi (Hidayati *et al.*, 2017). Menurut Jayanudin *et al.* (2014), menambahkan bahwa kenaikan suhu dapat menyebabkan terjadinya kenaikan hasil rendemen, hal ini karena semakin tinggi suhu ekstraksi maka konversi asam alginat menjadi natrium alginat akan semakin tinggi. Besar kecilnya nilai rendemen natrium alginat juga dapat dipengaruhi oleh jenis, iklim dan habitat rumput laut, serta metode ekstraksi yang digunakan (Rhein-Knudsen *et al.*, 2017). Selain itu, konsentrasi Na_2CO_3 juga dapat berpengaruh terhadap tinggi rendahnya rendemen natrium alginat yang

dihasilkan. Hal ini karena semakin banyak Na_2CO_3 yang digunakan pada proses ekstraksi maka semakin banyak alginat yang dilarutkan menjadi natrium alginat (Winarno, 1990).

4.2 Kelangsungan Hidup (KH)

Pada penelitian ini tingkat kelangsungan hidup udang vaname diamati saat 24-72 jam setelah uji tantang WSSV. Tingkat kelangsungan hidup udang vaname setelah injeksi WSSV dapat dilihat pada Gambar 11 di bawah ini.



Keterangan : Perlakuan 1: Tanpa penambahan natrium alginat (kontrol), Perlakuan 2: Natrium alginat 1 g/kg pakan + vitamin C 0,2 g/kg pakan; dan Perlakuan 3: Natrium alginat 2 g/kg pakan. Nilai merupakan rerata dari tiga ulangan ± standar deviasi. Huruf bar yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata dari hasil uji ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Duncan pada selang kepercayaan 95% (>0,05).

Gambar 11. Tingkat kelangsungan hidup udang vaname

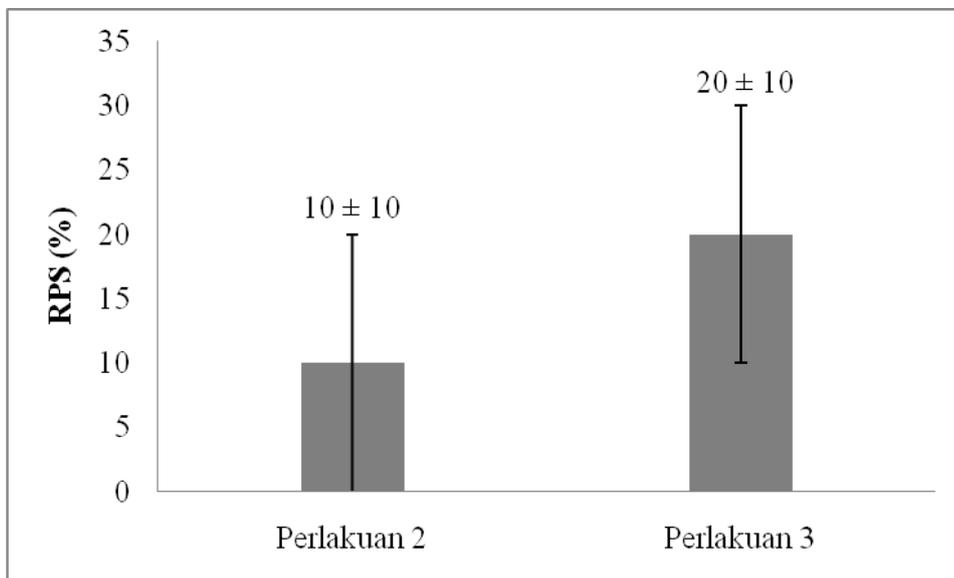
Berdasarkan pada pengamatan yang dilakukan, pada 24 jam setelah injeksi WSSV baik kontrol maupun yang diberi perlakuan suplementasi natrium alginat memiliki tingkat kelangsungan hidup yang tidak berbeda nyata ($p>0,05$). Selanjutnya pada 48-72 jam setelah diinjeksi WSSV, udang yang diberi pakan dengan suplementasi natrium alginat sebanyak 2 g/kg menghasilkan tingkat kelangsungan hidup tertinggi. Namun pada 48-72 jam setelah injeksi WSSV tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada udang kontrol maupun udang yang diberi natrium alginat dengan dosis yang berbeda ($p>0,05$).

Suplementasi natrium alginat dengan dosis yang berbeda telah menunjukkan mekanisme perlindungan yang cukup baik pada awal infeksi WSSV, namun pertahanan tubuh udang tidak bertahan lama. Pemberian dosis natrium alginat *Sargassum* sp. yang lebih tinggi dimungkinkan dapat lebih meningkatkan kelangsungan hidup udang vaname. Penelitian Yudiati *et al.* (2019) melaporkan bahwa udang vaname yang disuplementasi natrium alginat *Sargassum siliquosum* dengan dosis 4 g/kg pakan dan 6 g/kg pakan menghasilkan tingkat kelangsungan hidup >50% setelah 72 jam diinfeksi WSSV. Pemberian alginat *Sargassum* sp. dengan dosis sebesar 6 g/kg pakan pada udang vaname juga terbukti menghasilkan nilai kelangsungan hidup >50% setelah 96 jam uji tantang WSSV (Yudiati, 2016). Selain itu, dilaporkan juga bahwa natrium alginat *Sargassum wightii* yang diaplikasikan pada PL udang windu dengan dosis 100, 200, 300, dan 400 mg/l melalui pengkayaan pakan dengan artemia juga mampu meningkatkan resistensi terhadap WSSV (Immanuel *et al.*, 2012).

Pengaplikasian alginat alga coklat untuk meningkatkan ketahanan tubuh udang telah banyak dilakukan pada penelitian-penelitian sebelumnya. Menurut Sivagnanamulrigan *et al.* (2018), artemia yang diperkaya dengan asam alginat *Sargassum wightii* dengan dosis 100-400 mg/l yang diaplikasikan pada PL udang windu dapat meningkatkan ketahanan terhadap infeksi WSSV. Ojerio *et al.* (2017) juga melaporkan bahwa asam alginat *Laminaria digitata* dengan dosis 1000 mg/kg juga mampu meningkatkan ketahanan tubuh PL udang windu terhadap infeksi WSSV. Hal ini menunjukkan bahwa udang yang diberikan suplementasi alginat dengan berbagai metode pengaplikasian memberikan mekanisme pertahanan yang lebih baik dan lebih maksimal jika dibandingkan dengan udang yang tidak disuplementasi alginat alga coklat.

4.3 Relative Percent Survival (RPS)

RPS (*relative percent survival*) merupakan tingkat perlindungan relatif yang digunakan untuk menunjukkan efektivitas penggunaan natrium alginat *Sargassum* sp. terhadap serangan penyakit WSSV. Pengamatan RPS pada penelitian ini dilakukan di akhir penelitian setelah pemeliharaan udang selama 14 hari dengan pemberian natrium alginat *Sargassum* sp. dengan dosis yang berbeda-beda. Berdasarkan hasil uji T, diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan pengaruh yang nyata antara pemberian natrium alginat 1 g/kg pakan + vitamin C 0,2 g/kg pakan dengan natrium alginat 2 g/kg pakan terhadap nilai RPS udang vaname yang diuji tantang dengan virus WSSV ($p>0,05$). Dimana nilai RPS perlakuan 2 sebesar $10\pm 10\%$ dan nilai RPS perlakuan 3 $20\pm 10\%$ (Gambar 12).



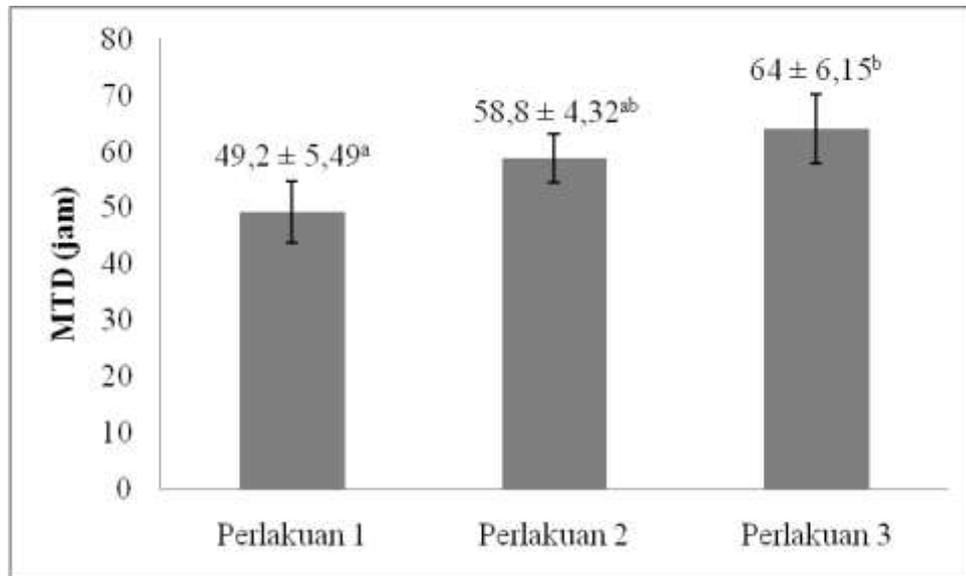
Keterangan : Perlakuan 2: Natrium alginat 1 g/kg pakan + vitamin C 0,2 g/kg pakan dan Perlakuan 3: Natrium alginat 2 g/kg pakan. Nilai merupakan rerata dari dua ulangan \pm standar deviasi.

Gambar 12. RPS (*relative percent survival*) udang vaname

Nilai RPS berdasarkan pada mortalitas udang, jika respon imun meningkat maka mortalitas udang rendah, karena meningkatkan ketahanan udang terhadap infeksi virus. Pada penelitian ini mortalitas udang belum dapat ditekan dengan pemberian perlakuan natrium alginat *Sargassum* sp. maupun dengan pemberian kombinasi *Sargassum* sp. dan vitamin C yang dibuktikan dengan rendahnya nilai RPS. Menurut Ellis (1988), pemberian suatu perlakuan dianggap efektif apabila nilai RPS pasca vaksinasi memiliki nilai >50%. Berdasarkan acuan tersebut maka perlakuan 2 dan 3 belum cukup efektif untuk melindungi udang vaname dari infeksi WSSV. Menurut Rahmawati (2017), nilai RPS dipengaruhi oleh respon imun, semakin meningkatnya respon imun maka nilai RPS juga akan meningkat. Semakin rendah nilai RPS maka semakin kecil kemampuan perlakuan tersebut untuk melindungi udang vaname dari infeksi WSSV.

4.4 Mean Time to Death (MTD)

Perhitungan rerata waktu kematian diperlukan untuk mengetahui perbedaan rata-rata waktu kematian udang vaname yang diberi pakan tanpa natrium alginat *Sargassum* sp. (perlakuan 1), pakan dengan natrium alginat *Sargassum* sp. 1 g/kg pakan + vitamin C 0,2 g/kg pakan (perlakuan 2), dan pakan dengan natrium alginat *Sargassum* sp. 2 g/kg pakan (perlakuan 3) pasca uji tantang oleh virus WSSV. Hasil perhitungan MTD setelah 5 hari uji tantang menunjukkan bahwa udang vaname yang diberi pakan *Sargassum* sp. 2 g/kg pakan memiliki rerata waktu kematian tertinggi yakni $64 \pm 6,15$ jam. Nilai tersebut 14,80 jam lebih tinggi dibandingkan udang vaname yang tidak diberi natrium alginat *Sargassum* sp. yakni dengan nilai MTD $49,20 \pm 5,49$ jam. *Mean time to death*/rata-rata waktu kematian udang vaname setelah injeksi WSSV dapat dilihat pada Gambar 13 di bawah ini.



Keterangan : Perlakuan 1: Tanpa penambahan natrium alginat (kontrol), Perlakuan 2: Natrium alginat 1 g/kg pakan + vitamin C 0,2 g/kg pakan; dan Perlakuan 3: Natrium alginat 2 g/kg pakan. Nilai merupakan rerata dari tiga ulangan ± standar deviasi. Huruf bar yang berbeda menunjukkan adanya beda nyata dari hasil uji ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Duncan pada selang kepercayaan 95% (<0,05).

Gambar 13. MTD (*mean time to death*) udang vaname

Berdasarkan uji statistik diketahui bahwa pemberian natrium alginat *Sargassum* sp. terhadap rerata waktu kematian udang vaname yang terinfeksi virus WSSV berbeda nyata ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut Duncan diketahui bahwa pemberian pakan dengan natrium alginat *Sargassum* sp. 2 g/kg dan pakan dengan natrium alginat *Sargassum* sp. 1 g/kg pakan + vitamin C 0,2 g/kg pakan tidak berbeda nyata, namun perlakuan natrium alginat *Sargassum* sp. 2 g/kg berbeda nyata dengan perlakuan kontrol/tanpa pemberian natrium alginat *Sargassum* sp.

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

- 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.
- Darwanti, 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, P., 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 prote-in *Zoothamnium penaei* terhadap laju pertumbuhan, respon imun dan kelulushidupan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di tambak. *Jurnal Bio-sains 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 immunostimulan 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 Widayanti. 2010. *Pembuatan Alginat dari Rumput Laut untuk Menghasilkan Produk dengan Rendemen dan Viskositas Tinggi*. (Seminar Tugas Akhir S1Teknik 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 Il-miah Perikanan 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. *Jur-nal Ilmu-Ilmu Perairan, Pesisir dan Perikanan*. 8(2):76-86.
- Maryati, H., Sudarto., dan Nurjasmii, R. 2017. Deteksi penyakit WSSV (*white spot syndrome virus*) pada udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan metode PCR konvensional dan *real time* PCR (qPCR) menggunakan hyd-rolisis probe. *Jurnal Ilmu Respati*. 8(1):1-10.
- Mulyani Y, Purwanto A, Nurruhwati I, 2011. Perbandingan beberapa metode iso-lasi DNA untuk deteksi dini *koi herpes virus* (KHV) pada ikan mas (*Cyp-rinus 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 (Li-topenaeus vannamei)*. (Skripsi). Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Surabaya. 97 hlm.