

PENCEGAHAN INFEKSI VIRUS *WHITE SPOT SYNDROME VIRUS* (WSSV) PADA UDANG WINDU *Penaeus monodon* DENGAN CAIRAN EKSTRAK POHON MANGROVE (CEPM) *Avicennia* sp. DAN *Sonneratia* sp.

Prevention of White Spot Syndrome Virus Infection on *Penaeus monodon* by Immersion in CEPM Extract of *Avicennia* sp. and *Sonneratia* sp.

D. Wahjuningrum, S. H. Sholeh dan S. Nuryati

*Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680*

ABSTRACT

The quality and survival rate are still being the problem that hampers the productivity of black tiger shrimp, *Penaeus monodon* culture. Impaired quality of larval shrimp and environmental conditions can confer shrimp be infected by diseases, including viruses such as *white spot syndrome virus* (WSSV). Prevention of disease infection using chemicals can offer negative impacts on water, pathogen resistance and consumers. This study was conducted to examine the efficacy of an alternative prevention compound as liquid mangrove extract (CEPM) from *Avicennia* sp. and *Sonneratia* sp. By immersion in different dose of CEPM, i.e. 250, 500, 750 and 1000 ppm, the pathogenicity of WSSV was found to be different. Pathogenicity of WSSV decreased after treatment by CEPM, hence this could be used to induce shrimp immunity. Optimum dose of CEPM was 250 ppm, which could increased survival rate of shrimp after challenging by WSSV, up to 98.4% shrimp survived.

Keywords: WSSV, black tiger shrimp, extract, *Avicennia* sp., *Sonneratia* sp.

ABSTRAK

Kualitas dan kelangsungan hidup merupakan masalah yang masih membatasi produktivitas budidaya udang windu *Penaeus monodon*. Kondisi udang dan kualitas lingkungan yang kurang baik dapat menyebabkan udang terserang penyakit, termasuk yang disebabkan oleh virus termasuk *white spot syndrome virus* (WSSV). Upaya pengendaliannya menggunakan bahan kimia secara berlebih dapat menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan perairan, kesehatan konsumen dan menimbulkan resistensi patogen. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas bahan alternatif berupa cairan ekstrak pohon mangrove (CEPM) dari jenis *Avicennia* sp. dan *Sonneratia* sp. sebagai upaya pencegahan. Dengan perendaman beberapa konsentrasi yang berbeda (250, 500, 750 dan 1000 ppm) penggunaan cairan ekstrak pohon mangrove (CEPM) *Avicennia* sp. dan *Sonneratia* sp., memberikan pengaruh yang berbeda terhadap patogenitas WSSV dan udang uji pada setiap perlakuan. Tingkat patogenitas WSSV relatif menurun setelah perlakuan tersebut sehingga dapat digunakan untuk merangsang kekebalan tubuh udang. Perlakuan yang optimal yaitu pada dosis 250 ppm, dimana pada perlakuan ini dapat meningkatkan kelangsungan hidup udang uji yang diuji tantang dengan *white spot syndrome virus* (WSSV) dengan tingkat kelangsungan hidup 98,4 %.

Kata kunci: WSSV, udang windu, ekstrak, *Avicennia* sp., *Sonneratia* sp.

PENDAHULUAN

Masalah utama pada budidaya udang windu *Penaeus monodon* adalah kualitas dan kelangsungan hidup udang yang rendah. Hal ini disebabkan karena kualitas lingkungan yang kurang baik dan pada stadia larva udang telah menjadi pembawa penyakit, termasuk

yang disebabkan oleh virus. Jenis virus yang sering menyerang yaitu *white spot syndrome virus* (WSSV).

Beberapa hasil penelitian dan pengalaman di lapangan menunjukkan bahwa kualitas benih dapat ditingkatkan antara lain melalui rekayasa genetik, aplikasi probiotik, pengelolaan lingkungan dan perbaikan nutrisi

(Mardjono, *et al.* 1999). Lingkungan yang kurang baik akan menjadi penyebab datangnya bakteri dan virus, oleh karena itu pengelolaan lingkungan merupakan salah satu langkah utama dalam mengantisipasi timbulnya penyakit pada larva udang di *hatchery*.

Pengendalian perluasan penyakit perlu dilakukan secara dini agar kerugian ekonomi tidak terjadi. Peningkatan kualitas benih udang windu khususnya peningkatan ketahanan terhadap penyakit adalah hal yang sangat penting. Salah satu prosedur pencegahan penyakit di *hatchery* yang disarankan oleh Wang, *et al.* (1998) adalah pemberian immunostimulan untuk meningkatkan daya tahan atau kekebalan alami benih udang terhadap penyakit.

Upaya penggunaan bahan kimia yang berlebihan dapat menimbulkan dampak bagi lingkungan perairan, kesehatan konsumen dan menimbulkan resistensi patogen (Alifuddin, 1998 *dalam* Fadli, 2000). Upaya-upaya yang dilakukan untuk menanggulangi masalah penyakit sudah dilakukan mulai dari *screening* formalin sampai pada penggunaan antibiotik, yang dilakukan pada kegiatan pembenihan sampai pembesaran. Tetapi pemakaian antibiotik secara terus menerus dan dosis yang tidak tepat akan mengakibatkan bakteri menjadi resisten (Lightner *et al.*, 1992 *dalam* Zulham, 2004). Dampak lain dari pemberian antibiotik adalah terakumulasinya antibiotik dalam tubuh udang sehingga membahayakan konsumen. Untuk menghindari hal tersebut penggunaan bahan yang bersifat alamiah merupakan pilihan yang tepat.

Suatu bahan alamiah yang mempunyai fungsi memperbaiki kondisi lingkungan dan sebagai immunostimulan bagi tubuh udang sangat diharapkan, sehingga tidak terjadi pemakaian beberapa macam obat yang berlebihan dan menyebabkan resisten bagi patogen. Bahan alternatif untuk menanggulangi masalah ini adalah cairan ekstrak pohon mangrove (CEPM), khususnya dari jenis *Avicennia* sp. dan *Sonneratia* sp. Pohon mangrove diketahui mengandung senyawa aktif tannin, flavonoid, saponin dan steroid. Senyawa aktif tersebut dapat digunakan sebagai antivirus dan antibakteri

(Robinson, 1991; Hara 1993 *dalam* Harismah 2002; Minocha and Tiwar *dalam* Maryani, 2003). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh Cairan Ekstrak Pohon Mangrove *Avicennia* sp. dan *Sonneratia* sp. dengan dosis yang berbeda sebagai pencegahan terhadap infeksi *White Spot Syndrome Virus* pada udang windu.

BAHAN DAN METODE

Prosedur penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap yaitu tahap awal, penyediaan CEPM, perendaman larva udang windu dengan CEPM, pemeliharaan dan pengamatan harian udang uji, penyediaan virus, uji tantang dengan WSSV, pengamatan fisiologi dan tingkah laku, pengambilan sample dan pengamatan morfologi, preparasi dan pengamatan histologi serta analisis data.

Sterilisasi alat dan wadah

Alat dan wadah yang akan digunakan disterilisasi menggunakan $KMnO_4$, dan sterilisasi media (air) menggunakan kaporit. *Screening* formalin 400 ppm dan *polymerase chain reaction* (PCR) dilakukan sebelum udang uji diberi perlakuan dan diadaptasikan selama 7 hari.

Penyediaan Cairan Ekstrak Pohon Mangrove (CEPM)

Cairan ekstrak pohon mangrove (CEPM) dari jenis *Avicennia* sp. dan *Sonneratia* sp. diperoleh dengan cara membakar seluruh bagian pohon mangrove didalam alat pembakar tertutup. Uap yang dihasilkan didestilasi dan ditampung sehingga menghasilkan uap cair. Cairan tersebut diambil sebagai cairan ekstrak pohon mangrove (CEPM).

Perendaman larva udang windu dengan Cairan Ekstrak Pohon Mangrove (CEPM)

Udang uji dengan kepadatan 7 ekor/liter direndam dengan CEPM dengan dosis masing-masing akuarium 0 ppm (Kontrol), 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm,

1000 ppm. Hal ini dilakukan karena dengan perendaman udang windu dalam ekstrak daun *Sonneratia caseolaris* diperoleh kelangsungan hidup udang tertinggi dalam konsentrasi 500 ppm (Zulham 2004). Pemeliharaan dilakukan dari stadia PL20 sampai PL45. Sebelum dilakukan perendaman, terlebih dahulu dilakukan uji fisiologis terhadap udang meliputi respon makan, gerak, kemerahan pada tubuh dan bintik putih.

Pemeliharaan dan pengamatan harian udang uji

Udang stadia PL20 dengan kepadatan 7 ekor/liter dipelihara dalam akuarium selama 25 hari dengan aerasi yang cukup untuk setiap perlakuan. Pakan yang diberikan adalah *Artemia* sp. dan pakan buatan berupa pellet komersil dengan frekuensi pemberian sebanyak 5 kali yaitu pada pukul 07.00, 11.00, 15.00 dan 19.00. Setelah 25 hari, dilakukan uji tantang dengan WSSV. Pengamatan harian meliputi: Perkembangan dan kondisi larva, kelangsungan hidup serta pengecekan kualitas air diantaranya penyiponan, pergantian air 30-50 %/hari (Murtidjo, 1989), suhu, salinitas dan pH.

Penyediaan virus

Virus diambil dari organ insang udang windu terinfeksi WSSV yang berasal dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Sebanyak 1 gram organ udang yang terinfeksi WSSV digerus sampai halus dan dilarutkan dalam 9 ml air laut steril, kemudian di sentrifuse dengan kecepatan 3000 g selama 30 menit dan 8000 g selama 20 menit. Supernatan yang dihasilkan disaring dengan kertas *milipore* 0,45 μm menggunakan *filter holder* dan *syringe* (Hameed *et al.*, 1997).

Uji tantang dengan White Spot Syndrome Virus (WSSV)

Uji penularan WSSV dilakukan melalui perendaman dalam 1 liter larutan virus dengan pengenceran 10^{-3} (konsentrasi 20 $\mu\text{g/ml}$) kedalam wadah penularan selama 90 menit. Udang uji dipelihara selama 14 hari.

Pengamatan hari pertama uji tantang setiap 12 jam dan untuk selanjutnya dilakukan setiap 24 jam. Sebelumnya dilakukan pengenceran sediaan virus sampai 10^{-3} .

Pengamatan dan pengambilan sampel

Pengamatan fisiologi yang dilakukan antara lain respon makan, cara berenang, kemerahan pada tubuh (perubahan warna tubuh), bintik putih pada karapas serta penghitungan udang yang mati selama pemeliharaan (Wang *et al.*, 1998; Lightner, 1996; Hameed *et al.*, 1997). Pengambilan sampel udang uji dilakukan setiap 12 jam pada hari pertama dan 24 jam sekali pada hari berikutnya sebanyak 2 ekor untuk setiap perlakuan. Dari 2 ekor udang uji yang diambil dilakukan pengamatan morfologi yang meliputi warna tubuh, kelainan bentuk maupun warna pada rostrum, karapas maxiliped, antenna, antenulla, periopod, pleopod, hepatopankreas, telson dan uropod serta kelengkapan organnya dan keadaan tubuh secara visual (Alday-Sanz, 1995). Setelah melakukan pengamatan kemudian difiksasi dalam larutan Davidson selama 24 jam dan diganti dengan alkohol setiap 24 jam sebagai tahap awal dari preparasi histologi. Sedangkan udang yang mati difiksasi dalam wadah tersendiri dan dibedakan untuk setiap perlakuan.

Preparasi dan pengamatan histologi

Preparasi meliputi proses fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, pemotongan serta pewarnaan berdasarkan metode Lightner (1996). Preparat histologi diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 x, 600x dan 1000x. Dari data ini diperoleh frekuensi infeksi (prevalensi) serta tingkat keganasan dari infeksi WSSV pada udang uji berdasarkan standart Lightner (1996).

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif yang meliputi tingkat keganasan WSSV, prevalensi organ dan tingkat kelangsungan hidup (Lightner, 1996; Ellis, 1988).

$$\text{Prevalensi organ} = \frac{\Sigma \text{organ terinfeksi}}{\Sigma \text{organ yang diperiksa}} \times 100\%$$

$$\text{Kelangsungan hidup} = \frac{\Sigma \text{udang akhir}}{\Sigma \text{udang awal}} \times 100\%$$

$$\text{RPS} = \left(1 - \frac{V}{K}\right) \times 100\%$$

Keterangan : RPS = *Relative percent Survival* (%)
 V = Mortalitas udang yang di vaksin (%)
 K = Mortalitas ikan Kontrol (%)

RPS > 60 % : bahan layak digunakan sebagai vaksin.

RPS < 60 % : Suatu tidak layak digunakan sebagai vaksin

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala klinis

Gejala klinis yang timbul pada udang terinfeksi WSSV antara lain penurunan konsumsi pakan, lemah, kutikula lepas, hepatopankreas pucat dan anoreksia. Juga terlihat letargi, berenang dengan kondisi tidak stabil, warna kemerahan pada abdomen dan bintik putih pada karapas.

Saat perendaman cairan ekstrak pohon mangrove (CEPM), gejala klinis yang terdeteksi pada hari ke-1 yaitu hepatopankreas pucat kecuali pada perlakuan 750 ppm. Perubahan aktivitas renang ke arah lebih aktif terjadi pada semua perlakuan CEPM yaitu pada hari ke-1 kecuali pada kontrol yaitu pada hari ke-6. Perubahan warna tubuh menunjukkan semakin tinggi dosis perlakuan semakin cepat terjadi perubahan warna tubuh menjadi bening, perubahan paling cepat pada hari ke-9 yaitu perlakuan 1000 ppm. Respon makan menurun pada hari terakhir (hari ke-25) pada perlakuan kontrol yang terlihat dari jumlah sisa pakan yang diberikan mencapai setengah dari pakan yang diberikan, selebihnya tidak terlihat penurunan nafsu makan karena semakin tinggi dosis perlakuan CEPM pencernaan

semakin baik dengan melihat sisa pakan yang semakin sedikit dan kotoran yang semakin halus.

Respon makan udang kontrol pasca uji tantang WSSV menurun paling cepat yaitu terjadi pada hari ke-1. Aktivitas renang semakin aktif terjadi pada hari ke-1 terlihat pada perlakuan 500 ppm, 750 ppm dan 1000 ppm. Sedangkan perlakuan 250 ppm, aktivitas renang meningkat pada hari ke-2. Aktivitas renang pada kontrol menurun sejak hari ke-2 dan meningkat pada hari ke-5 pasca uji tantang WSSV. Semakin tinggi dosis perlakuan, perubahan warna tubuh semakin hari semakin bening sejak hari pertama. Hepatopankreas pucat paling cepat terjadi pada hari ke-2 yaitu pada perlakuan 750 ppm, kemudian kontrol pada hari ke-8. Untuk perlakuan yang lain tidak ditemukan hepatopankreas yang pucat.

Kemunculan bintik putih pada karapas dapat diketahui dari hasil pengamatan pada mikroskop. Pada kontrol, kemunculan bintik putih terjadi pada hari ke-2, berikutnya hari ke-3 terjadi pada perlakuan 250 ppm, 750 ppm dan 1000 ppm. Kemunculan bintik putih terakhir terjadi pada perlakuan 500 ppm yaitu pada hari ke-4. Setelah diketahui hari pertama penyerangan WSSV pada masing-masing perlakuan, maka dapat dilihat kematian awal terjadi setelah penyerangan WSSV yaitu pada hari ke-3 terjadi pada kontrol, kemudian hari ke-4 terjadi pada perlakuan 500 ppm, 750 ppm dan 1000 ppm. Kematian paling rendah pada perlakuan 250 ppm.

Pengamatan udang uji terhadap respon makan, aktivitas renang, perubahan warna, hepatopankreas pucat, mata memerah dan bintik putih menunjukkan bahwa secara umum udang uji telah terinfeksi WSSV. Hal ini sesuai dengan ciri gejala klinis serangan *white spot* yang dilaporkan oleh Hameed, *et al.* (1998) yaitu terjadi penurunan konsumsi makan, lemah, kutikula lepas, dan terjadi pelunturan warna pada hepatopankreas dari warna merah muda hingga menjadi coklat kemerahan, anoreksia, lethargi, warna kemerahan pada abdomen dan bintik putih.

Respon makan semakin baik dengan meningkatnya dosis perlakuan. Semakin tinggi dosis perlakuan maka semakin bening

tubuh udang yang menunjukkan tanda-tanda udang sehat, tidak terlihat mata memerah. Bintik putih merupakan gejala yang spesifik pada udang yang terserang WSSV sedangkan letargi seperti penurunan nafsu makan dan aktifitas renang merupakan gejala umum hewan terinfeksi WSSV (Vlak, *et al.*, 2002).

Munculnya bintik putih pada kontrol lebih cepat dan terjadi kematian lebih awal dibanding perlakuan yang lain. Hal ini dikarenakan pada perlakuan kontrol tidak mendapat perlakuan perendaman CEPM yang berfungsi sebagai immunostimulan, hasil refres sebelum uji tantang WSSV menunjukkan hasil yang sempurna dan perendaman udang uji dengan WSSV dengan tingkat patogenitas 300 kali yaitu dengan waktu perendaman 1,5 jam. Pengaruh ini juga terlihat pada akhir kematian yaitu terjadi kematian total paling cepat pada kontrol pada hari ke-9.

Pada saat perendaman CEPM, hepatopankreas berwarna pucat dan antenna terdeteksi dengan kelainan organ yang paling tinggi yaitu 50%. Kelainan organ rostrum, antenula, periopod dan ekor terjadi sebanyak 25%. Namun tidak ditemukan kelainan pada organ lainnya. Kelainan organ pada ekor terjadi hanya pada satu perlakuan yaitu perlakuan 500 ppm dengan prosentase 25%. Kerusakan organ pada antenulla terjadi hanya pada 2 perlakuan yaitu 250 ppm dan 1000 ppm, dengan prosentase 25%. Kemerahan tubuh, bintik putih, mata memerah dan pleopod berada pada prosentase paling rendah yaitu 0%. Dari data diatas

menunjukkan bahwa pemberian immunostimulan pada hewan uji tidak memberikan pengaruh negatif yang signifikan terhadap perkembangan hidup hewan uji, hal ini terjadi dalam taraf kewajaran dan proses penyerapan CEPM kedalam tubuh udang masih dapat ditolelir.

Setelah dilakukan uji tantang dengan WSSV persentase kelainan organ paling tinggi terjadi pada perlakuan kontrol yaitu pada antenna (88,23%) dan periopod (82,35%). Persentase bintik putih paling tinggi juga terjadi pada kontrol (70,58%), sedangkan persentase paling rendah pada perlakuan 500 ppm yaitu 14,28%. Untuk kelainan organ hepatopankreas pucat hanya terjadi pada kontrol dengan persentase 17,64% dan tidak terjadi pada masing-masing perlakuan kecuali pada perlakuan 750 ppm sebesar 4%. Sementara rostrum, pleopod dan ekor kelainan organ berada pada persentase rendah dibawah 30 %.

Kondisi klinis terbaik terjadi pada perlakuan 250 ppm, bintik putih muncul pada hari ke-3 saat dilakukan pengamatan morfologi tubuh secara mikroskopis. Kematian awal terjadi pada awal hari ke-9 dengan indikasi kanibal karena udang ditemukan dengan kondisi kepala terputus. Hal ini juga diperkuat dengan frekuensi kematian yang terjadi hanya satu kali. Pada perlakuan 250 ppm, hasil pengamatan gejala klinis menunjukkan WSSV menyerang pada udang uji namun tidak virulen lagi akibat pemberian perlakuan CEPM yang berfungsi sebagai immunostimulan pada udang.

Tabel 1. Perubahan kondisi udang uji selama pemeliharaan

| Parameter | Waktu Awal Kemunculan (Hari ke-) | | | | | | | | | |
|-----------------------------|----------------------------------|-----|-----|-----|------|------------------|-----|-----|-----|------|
| | Perendaman CEPM | | | | | Uji Tantang WSSV | | | | |
| | 0 | 250 | 500 | 750 | 1000 | 0 | 250 | 500 | 750 | 1000 |
| Nafsu makan turun | 25 | 25 | - | - | - | 1 | 6 | 4 | 4 | - |
| Aktivitas renang meningkat | 6 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| Warna tubuh menjadi bening | 17 | 12 | 13 | 11 | 9 | 1 | 1> | 1>> | 1>> | 1>>> |
| Hepatopankreas pucat | 1 | 1 | 1 | - | 1 | 8 | - | - | 2 | - |
| Mata memerah | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Bintik Putih | - | - | - | - | - | 2 | 3 | 4 | 3 | 3 |
| Kematian Pasca Infeksi WSSV | - | - | - | - | - | 3 | 9 | 4 | 4 | 4 |
| Kematian Total | - | - | - | - | - | 9 | - | 11 | 12 | 9 |

Keterangan: > = Menunjukkan tingkat kebeningan tubuh.

Dari pengamatan parameter gejala klinis udang uji selama pemeliharaan, khususnya bintik putih pada karapas, menunjukkan bahwa WSSV masih dapat menginfeksi udang uji yang direndam dengan CEPM pada semua perlakuan. Waktu kemunculan gejala klinis yang berbeda tiap perlakuan dan kontrol menunjukkan bahwa tingkat infeksi WSSV berbeda bahkan tidak virulen terhadap tubuh udang. Munculnya bintik putih dan kematian yang terjadi lebih awal atau lebih cepat pada kontrol daripada kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan secara perendaman udang uji dalam CEPM *Avicennia* sp. dan *Sonneratia* sp., berpengaruh terhadap patogenisitas WSSV.

Terjadinya peningkatan kelainan pada beberapa organ dan infeksi *white spot* setelah uji tantang WSSV pada kontrol dan perlakuan yang diberikan selain perlakuan 250 ppm, diduga karena aktifnya WSSV dalam menyerang inang. Hal ini ditunjukkan pada hasil refres WSSV yang diperoleh dari udang yang terserang WSSV, refres menggunakan udang berukuran 15-20 gram. Hasil tersebut menggambarkan Virulennya WSSV, sehingga seluruh karapas pada udang refres terdapat banyak bintik putih pada hari ke-2 dan ke-3 dan seluruh tubuh memerah. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Wijayati *et al.* (2001) bahwa udang windu terlihat menunjukkan bercak putih pada seluruh tubuhnya dalam waktu 48 jam setelah diinfeksi. Hal ini juga dipicu oleh

perendaman udang uji dengan WSSV dengan tingkat patogenitas 300 kali yaitu dengan waktu perendaman 1,5 jam. Sesuai dengan hasil penelitian Baidi (2002) menunjukkan bahwa frekuensi kejadian 100% sudah terjadi pada inokulasi 30 menit, dengan kata lain bahwa pada perendaman udang uji dengan WSSV selama 30 menit patogenitas WSSV 100%. Terdapat kemungkinan juga karena infeksi ganda baik oleh virus aktif dan perlakuan CEPM, walaupun sebelum dilakukan uji tantang perlakuan CEPM tidak berdampak yang merugikan bagi kehidupan udang, hal itu dimungkinkan karena udang masih dapat mentolelir. Tetapi jika perlakuan CEPM yang diberikan optimal maka justru akan meningkatkan daya tahan tubuh udang sehingga udang kebal terhadap virus. Hal ini dapat dilihat dari kematian pada kontrol dan semua perlakuan kecuali pada perlakuan 250 ppm adalah 100%, dengan kematian paling cepat terjadi pada kontrol dan 1000 ppm.

Diduga senyawa dalam pohon mangrove yang berpengaruh terhadap patogenitas WSSV adalah flavonoid dan tannin. Kemungkinan yang juga berpengaruh adalah saponin dan steroid. Flavonoid adalah senyawa yang digunakan sebagai antimikroba dan antivirus dan dapat bekerja sebagai inhibitor kuat pernafasan. Beberapa flavonoid menghambat *fosfodiesterase*, *aldoreduktase*, *monoamina oksidase*, *protein kinase*, *transkriptase balik*, *DNA polymerase* dan *lipooksigenase* (Robinson, 1991).

Tabel 2. Prosentase kelainan organ

| Parameter | Perendaman CEPM (%) | | | | | Uji Tantang WSSV (%) | | | | |
|----------------------------|---------------------|-------|-------|-------|-------|----------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 | 250 | 500 | 750 | 1000 | 0 | 250 | 500 | 750 | 1000 |
| Warna kemerahan pada tubuh | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Hepatopankreas pucat | 50,00 | 25,00 | 50,00 | 0,00 | 50,00 | 17,64 | 0,00 | 0,00 | 4,00 | 0,00 |
| Mata memerah | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Bintik putih pada karapas | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 70,58 | 32,14 | 14,28 | 16,00 | 43,75 |
| Rostrum | 25,00 | 25,00 | 50,00 | 25,00 | 0,00 | 11,76 | 17,85 | 19,04 | 16,00 | 12,50 |
| Antena | 50,00 | 50,00 | 50,00 | 50,00 | 50,00 | 88,23 | 82,14 | 66,66 | 72,00 | 75,00 |
| Antenulla | 0,00 | 25,00 | 0,00 | 0,00 | 25,00 | 52,94 | 28,57 | 14,28 | 28,00 | 25,00 |
| Pleopod | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 29,41 | 14,28 | 14,28 | 24,00 | 25,00 |
| Periopod | 25,00 | 0,00 | 25,00 | 25,00 | 25,00 | 82,35 | 39,28 | 38,09 | 48,00 | 56,25 |
| Ekor geripis | 0,00 | 0,00 | 25,00 | 0,00 | 0,00 | 11,76 | 28,57 | 23,80 | 20,00 | 12,50 |

Aktivitas antivirus oleh flavonoid juga terjadi dengan menghambat ATP dan enzim phospholipase yaitu enzim yang membantu asam nukleat dalam proses replikasi sehingga virus menjadi lemah (Jesekera, 1991 *dalam* Supriatna, 2004). Sedangkan tannin digunakan sebagai antimikrobia. Sebagaimana dikatakan oleh Hara (1993) *dalam* Harismah (2002) bahwa senyawa tannin dapat digunakan sebagai antimikroba dan antivirus. Pada struktur kimia tannin terdapat gugus *pirogalol* dan gugus *galoil* sebagai anti mikrobia dan sifat penghambatan terhadap mikrolen oleh struktur tersier persenyawaan gugus *katekol* atau *pirogalol* dengan gugus *galoil*-nya (Shimamura *et al*, 1998 *dalam* Supriatna, 2004).

Saponin adalah senyawa toksik yang kuat dengan mempengaruhi hemolisis sel darah merah (Robinson, 1991). Dalam larutan yang sangat encer, saponin digunakan sebagai racun ikan selama beratus-ratus tahun. Beberapa saponin bekerja juga sebagai antimikroba. Dikenal dua jenis saponin yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai samping spiroketal. Keduanya larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter. Saponin dari jenis triterpenoid mudah berikatan dengan gula sehingga mudah masuk ke dalam sistem tubuh, mudah di hidrolisis dan bersifat seperti surfaktan. Beberapa senyawa dari triterpenoid bekerja sebagai antifungus, insektisida atau antipemangsa, menstimulasi serangga bertelur dan sebagai antibakteri dan antivirus. Sedangkan steroid berfungsi sebagai pembawa bagi senyawa lain untuk memudahkan masuk ke dalam sel, karena memiliki molekul yang berukuran kecil sehingga dapat masuk ke seluruh sel (Alwir, 2001).

Dengan menggunakan ekstrak CEPM *Avicennia sp.* dan *Sonneratia sp.* diharapkan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya dapat berfungsi sebagai imunostimulan bagi tubuh udang dan dapat melemahkan virus *white spot*. Dari hasil uji ini, diduga bahwa CEPM dapat digunakan sebagai bahan pembuat vaksin yang berguna untuk meningkatkan kekebalan tubuh udang.

Seperti yang dikatakan Purbomartono (1993) bahwa vaksin berguna untuk memperoleh kekebalan aktif dan khas yang berguna untuk perlindungan terhadap serangan penyakit. Salah satu cara untuk membuat vaksin adalah dengan inaktivasi virus. Dari hasil penelitian Supriatna (2004) menunjukkan bahwa ekstrak biji mangrove *Xylocarpus granatum* dengan dosis tertentu membuat virus lebih lemah dan mampu meningkatkan sistem imunitas tubuh udang yang ditunjukkan dengan tingkat kelangsungan hidup yang tinggi. Vaksin ini bertujuan untuk menginaktifkan asam nukleat tanpa mengganggu selubungnya sehingga sifat antigen virus benar-benar utuh sedangkan virus tidak dapat berkembangbiak dalam sel inang sehingga masih dapat di kenal sebagai patogen yang dapat merangsang udang uji untuk menghasilkan antibodi. Tetapi permasalahannya untuk invertebrate seperti udang yang merupakan krustacea kecil, kemampuan non-spesifik antibody lebih berkembang dibandingkan kemampuan spesifik antibody. Sesuai dengan pernyataan Hobart *and* Mc Connel (1975) bahwa sistem kekebalan tubuh udang terdiri dari 2 komponen utama yaitu mekanisme kekebalan non-spesifik dan mekanisme kekebalan spesifik. Mekanisme kekebalan non-spesifik menempati bagian paling depan dari sistem pertahanan tubuh dan secara luas bertanggungjawab terhadap kekebalan alami yang dimiliki hewan terhadap sebagian mikroorganisme yang berasal dari lingkungan. Oleh karena itu perlu dilakukan berulang-ulang dalam pemberian vaksin (diperbaharui) dalam waktu yang singkat. Oleh karena itu pemberian immunostimulan dengan perendaman dalam air atau media itu lebih efektif di banding penyuntikan vaksin. Metode perendaman dilakukan dengan melihat kandungan senyawa flavonoid, saponin, tannin dan steroid bahwa dalam air tidak bersifat volatil, karena senyawa tersebut adalah struktur molekul yang besar dan didalamnya terdapat gugus OH sehingga mudah berikatan dengan air (Robinson, 1991). Senyawa yang sudah berikatan dengan air tidak akan mudah untuk lepas ke udara.

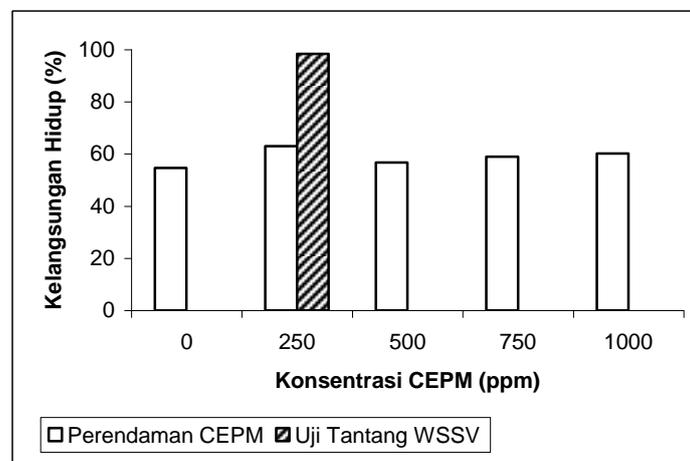
Kelangsungan hidup udang windu *Penaeus monodon*

Tingkat kelangsungan hidup kontrol saat perendaman CEPM sebelum ujiantang WSSV tercatat paling rendah dibandingkan semua perlakuan (54,7%). Hal ini dikarenakan pada kontrol tidak ada pemberian CEPM sehingga diduga kemungkinan daya tahan tubuh dan pencernaan kurang baik yang ditunjukkan oleh banyaknya sisa pakan dan kotoran kasar. Kelangsungan hidup tertinggi terdapat pada perlakuan 250 ppm dengan nilai 63,0%. Hal ini menunjukkan bahwa perendaman CEPM pada perlakuan ini paling optimal, sehingga memberikan pengaruh yang bagus terhadap kekebalan/daya tahan tubuh udang uji.

Pasca ujiantang WSSV terjadi peningkatan kelangsungan hidup yang sangat signifikan pada perlakuan 250 ppm, sebesar 98,4%. Sesuai dengan penjelasan diawal bahwa sebelum ujiantang, udang uji diberi perlakuan CEPM yang berfungsi sebagai immunostimulan tubuh. Proses ini diduga telah mampu merangsang sistem kekebalan tubuh udang terhadap serangan penyakit khususnya WSSV karena prinsip dari pemberian immunostimulan adalah meningkatkan aktivitas dan reaktivitas pertahanan, baik seluler maupun humoral karena dapat meningkatkan aktivitas fagositik dari sel hemosit. Hemosit merupakan faktor yang berperan penting dalam pertahanan seluler non spesifik.

Pemanfaatan immunostimulan dapat mengoptimalkan produksi budidaya melalui peningkatan ketahanan tubuh udang windu atau ikan terhadap penyakit infeksi (Alifuddin, 2002.). Krustasea memiliki mekanisme spesifik untuk mendeteksi senyawa-senyawa asing, dengan mengenali karakteristik senyawa seperti *lipopolisakarida* (LPS) dan β -glucan yang terdapat pada bakteri dan fungi. Pada udang, komponen mikrobial ini dapat mengaktifkan fungsi pertahanan seluler seperti *fagositosis*, *melanisasi*, *enkapsulasi*, dan *koagulasi* (Chanratchakool and Limsuwan, 1998 dalam Fadli, 2000).

Baik saat perendaman CEPM dan pasca ujiantang, perlakuan 250 ppm merupakan perlakuan yang paling optimal. Sedangkan pada kontrol dan perlakuan lainnya mengalami penurunan bahkan kematian total dengan kelangsungan hidup 0,00%. Terjadinya kematian total ini menggambarkan keganasan WSSV. Tingkat keganasan yang tinggi dari WSSV merupakan hasil refres WSSV pada udang untuk inokulan yang sempurna, tingkat patogenitas perendaman WSSV 300% dan kemungkinan terjadi infeksi ganda terhadap udang uji akibat perendaman dengan CEPM. Sesuai dengan berbagai data dari awal bahwa saat perendaman CEPM dan pasca ujiantang menunjukkan pada kontrol dan perlakuan selain perlakuan 250 ppm tidak optimal.



Gambar 1. Grafik tingkat kelangsungan hidup udang uji perendaman CEPM dan pasca ujiantang WSSV

Dari data tingkat kelangsungan hidup dapat diketahui pola hubungan antara dosis CEPM dengan peningkatan kelangsungan hidup hewan uji, tingkat kelangsungan hidup akan turun diatas perlakuan 250 ppm dan perlahan naik lagi sampai perlakuan 1000 ppm. Jika digambarkan adalah bentuk setengah parabola terbalik (-). Dengan jelas dapat dilihat bahwa perlakuan 250 ppm menunjukkan tingkat kelangsungan hidup tertinggi baik sebelum dan sesudah ujiantang. Hal ini menunjukkan udang uji dalam perlakuan ini lebih mampu bertahan dari serangan WSSV dari pada kontrol dan kelompok perlakuan lainnya. Sehingga dengan dosis 250 ppm membuat kekebalan tubuh udang meningkat serta virus menjadi lemah (tidak virulen), walaupun udang tetap terinfeksi tetapi mampu meningkatkan imunitas tubuhnya.

Dengan demikian, perlakuan 250 ppm, merupakan perlakuan yang paling baik/ideal untuk digunakan. Ada dua kemungkinan yang dapat dijelaskan dengan perendaman CEPM. Pertama, CEPM yang masuk kedalam tubuh udang telah membentuk ketahanan tubuh udang semakin meningkat. Kedua, WSSV yang menyerang udang dengan tingkat patogenitas 300% menjadi lemah (tidak virulen) terhadap udang uji. Terdapat pengertian bahwa vaksin adalah bahan atau bakteri dan virus yang dilemahkan untuk meningkatkan ketahanan tubuh makhluk hidup. Dengan pengertian tersebut apabila alasan yang kedua dapat diduga sebagai vaksin maka perlakuan 250 ppm memiliki tingkat kelayakan yang tinggi dengan nilai RPS (*Relatif Percen survival*) sebesar 98,4%. Menurut Ellis (1988) menyatakan bahwa suatu vaksin dianggap

cukup layak apabila nilai RPS-nya lebih dari 60%.

Tingkat kerusakan sel dan patogenitas WSSV

Dari analisis secara histologi terhadap beberapa jaringan organ udang uji menggambarkan tingkat patogenitas WSSV. Perkembangan harian inti sel yang mengalami hipertropi karena serangan WSSV pada kontrol dan perlakuan di sajikan pada Tabel 3.

Pengamatan histologi yang dilakukan secara mikroskopis menggambarkan penginfeksi secara seluler, tingkat keganasan yang digunakan sebagai acuan adalah menurut Lightner (1996) yaitu;

- Stadia 0 : inti sel normal, tidak ada infeksi
- Stadia 1 : Sel sedikit membengkak, berbadan inklusi, inti sel di tengah berwarna kemerahan
- Stadia 2 : Sel bengkak dengan inti sel ke pinggir berwarna kemerahan
- Stadia 3 : Sel membengkak, inti sel berwarna biru kehitaman
- Stadia 4 : Sel pecah, inti sel keluar dari sel, warna biru kehitaman.

Infeksi yang terjadi sampai stadia-4 yang merupakan stadia infeksi tertinggi ditunjukkan dengan pecahnya inti sel (Lightner, 1996). Kemunculan stadia 4 saat perendaman CEPM hanya terjadi pada perlakuan 750 ppm, pada organ usus (hari ke-13). Hal ini disebabkan karena preparat histologi memiliki irisan yang terlalu tebal dan pewarnaan yang terlalu pekat sehingga dalam pengamatan dengan mikroskop sel terlihat gelap seperti sel stadia 4.

Tabel. 3. Waktu awal kemunculan stadia 4 infeksi WSSV pada organ udang uji selama pemeliharaan

| Parameter | Waktu Kemunculan (Hari) | | | | | | | | | |
|-----------------|-------------------------|-----|-----|-----|------|------------------|-----|-----|-----|------|
| | Perendaman CEPM | | | | | Uji Tantang WSSV | | | | |
| | 0 | 250 | 500 | 750 | 1000 | 0 | 250 | 500 | 750 | 1000 |
| Limfoid | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Usus | 0 | 0 | 0 | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 |
| Epidermis Kulit | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 6 | 0 |
| Insang | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 14 | 7 | 8 | 7 |
| Hepatopankreas | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12 | 8 | 0 | 8 |

Dan sebetulnya usus bukan organ target utama inveksi WSSV, sesuai dengan pendapat Vlax *et al* (2002) bahwa organ target WSSV adalah jaringan yang berasal dari epidermis dan mesodermal seperti insang, limfoid dan epithelium kutikular. Pasca ujiantang kelompok perlakuan mengalami kerusakan paling cepat adalah perlakuan 750 ppm (hari ke-6). Perlakuan yang paling bagus kembali terjadi pada perlakuan 250 ppm dengan kemunculan paling akhir yaitu hari ke-12.

Pola waktu kemunculan stadia 4 pada masing-masing perlakuan adalah semakin cepat dengan semakin meningkatnya dosis CEPM *Avicennia* dan *sonneratia* kecuali perlakuan 1000 ppm. Akan tetapi perbedaan kecepatannya tidak signifikan terhadap kontrol yaitu selisih 1 hari lebih cepat pada perlakuan dengan rata-rata kemunculan pada hari ke-7 kecuali perlakuan 250 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa patogenitas WSSV pada perlakuan 250 ppm tidak virulen. Dapat dilihat dari Lampiran 6 awal munculnya stadia 4 dan frekuensi munculnya stadia 4 paling awal dan paling sering muncul pada perlakuan 750 ppm, yaitu hari ke-6 dengan frekuensi kemunculan 9 kali. Hal ini dimungkinkan karena infeksi ganda yang disebabkan oleh virus dan CEPM. Pada perlakuan lainnya rata-rata frekuensi munculnya stadia 4 yaitu 2 kali. Terinfeksi sel udang oleh WSSV sampai stadia terparah (stadia 4) tidak langsung mematikan fungsi organ, namun tergantung pada banyaknya sel yang terinfeksi hingga stadia 4.

Perubahan kualitas air baik pada saat perendaman CEPM dan ujiantang WSSV tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Semua parameter yang diamati berada pada kondisi normal dengan nilai rata-rata suhu pagi dan malam berturut-turut adalah 26 °C dan 27 °C, salinitas awal dan akhir berturut-turut adalah 33 ‰ dan 30 ‰ dan pH awal dan akhir adalah 8. Menurut Lee dalam Wijayanti (1996) bahwa udang dapat hidup dan tumbuh normal diperairan dengan suhu 25-32 °C, pH 8-9 dan DO (*Dissolved Oxygen*) 4-8 mg/l dan udang windu dapat hidup dengan kadar salinitas 3-

35 ‰ (Murtidjo, 1989), oleh karena itu udang windu bersifat *euryhalin*.

KESIMPULAN

Penggunaan cairan ekstrak pohon mangrove (CEPM) *Avicennia* sp. dan *Sonneratia* sp., memberikan pengaruh yang berbeda terhadap patogenitas WSSV dan udang uji pada setiap perlakuan. Perlakuan yang optimal yaitu pada dosis 250 ppm, dimana pada perlakuan ini dapat meningkatkan kelangsungan hidup udang uji yang diuji tantang dengan *white spot syndrome virus* (WSSV) dengan tingkat kelangsungan hidup 98,4%.

DAFTAR PUSTAKA

- Alday-Sanz. 1995. Technical report short course on shrimp disease and health management. English Ed. Ministry of Higher Education, Republic Indonesia. SCN-Lavalin Internasional, Inc. In association with International Development Program of Australia University and Colleges. PT. Hasfarm Dian Consultan.
- Alifuddin, M. 2002. Immunostimulan pada hewan akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 1(2). Hal 87-90
- Alwir, Y. 2001. Isolasi, penentuan komposisi kimia dan uji biologi senyawa steroid dari cacing laut, *Eunice siciliensis*. Tesis. Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Baidi, B. 2002. Uji patogenitas *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) terhadap udang windu (*Penaeus monodon* Fabricus) pada konsentrasi 20 mg/ml secara perendaman selama 30, 60 dan 90 menit.
- Ellis, A. E. 1988. Fish vaccination. Academic Press. New York. 255 hal.

- Fadli, N. 2000. Evaluasi perlakuan pemberian immunostimulan terhadap larva udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) di Hatchery. Skripsi. Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor
- Hameed, A. S. S, M. Anilkumar, M.L.S.Raj and K. Jayaraman.1998. Studies on the pathogenicity of systemic ectodermal mesodermal baculovirus and its detection in shrimp by immunological methods. *Aquaculture* 160 : 31- 45
- Harismah, K. 2002. Daun jambu biji untuk sariawan. suara merdeka 15 Juni. <http://www.suaramerdeka.com/harian/0206/15/ragam2.htm>
- Hobart M.J. and Mc. Connel. 1975. The Immune system: a course on the molecular and cellular basis on immunity. Blackwell Scientific Publications. Alden Press, Oxford. Great Britain. p:317-318.
- Lightner, D.V.1996. A Handbook of shrimp pathology and diagnostic prosedurs for diseases of culture penaeid shrimp in Asia. World Aquaculture Society. Baton Rounge, LA. USA.350 p.
- Mardjono, M., D. Suwoyo, dan E. Kusnendar. 1999. Perbaikan daya hahan benih udang windu melalui perbaikan nutrisi. Laporan Kegiatan th. 1998-1999. Dirjen Perikanan. BBPBAP Jepara. Jepara. Hal : 26-29.
- Maryani, 2003. Peranan ekstrak kelopak dan buah mangrove *Sonneratia caseolaris* (L) terhadap infeksi bakteri *Vibrio harveyi* pada udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.). Tesis. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Murtidjo, B. A. 1989. Budidaya udang dan bandeng. Kanisius, Yogyakarta. 138 hal.
- Purbomartono, C. 1993. Kemungkinan vaksin pada udang penaeid. Departemen Pertanian, Direktorat Jendral Perikanan. Balai Budidaya Air Payau. Jepara.
- Robinson, T. 1991. Kandungan organik tumbuhan tinggi. Terjemahan Kosasih Padmawinata 1995. Penerbit ITB. Bandung. 367 hal.
- Supriatna, A. 2004. Pengaruh perendaman ekstrak biji mangrove, *Xylocarpus granatum* (25, 50 dan 100 ppm selama 30 menit) terhadap Patogenitas White Spot Syndrom Virus (WSSV) pada udang windu (*Panaeus monodon* Fabr.). Skripsi. Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Vlak, Just M., Jean-Robert Bonami, Tim W. Flegel, Guang-Hsiung Kou, Donald V. Lighner, Chu-fang Lo, Philip C. Loh and Peter J. Walker. 2002. A New virus family infecting aquatik invertebrates. XIIth International Congress of Virology. Paris.
- Wang, Y. G., M. Shariff, P.M. Sudha, P.S. Srinivasa Rao, M.D. Hassan and L.T. Tan. 1998. Managing white spot disease in shrimp, *Infofish International*.p : 30-36.
- Wijayanti, A. 1996. Diagnosis penyakit viral pada udang windu. BBPBAP Jepara.
- Zulham, R. 2004. Potensi ekstrak mangrove *Sonneratia Caseolaris* dan *Avicennia marina* untuk pengendalian bakteri *Vibrio harveyi* pada larva udang windu (*Panaeus monodon* Farb.). Skripsi. Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.