



Potensi *Chlorella* sp. sebagai Imunostimulan untuk Pencegahan Penyakit Bercak Putih (*White Spot Syndrome Virus*) pada Udang Windu (*Penaeus Monodon*)

The Potency of *Chlorella* sp. as Immunostimulant to Prevent White Spot Syndrome Virus on Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*)

Aulia Ayu Ermantianingrum¹, Rohita Sari², S. Budi Prayitno³

Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan
 Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
 Jl. Prof. Soedarto Tembalang-Semarang

ABSTRAK

Chlorella sp. merupakan salah satu mikroalga yang berpotensi sebagai imunostimulan untuk meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang windu terhadap infeksi penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *Chlorella* sp. terhadap sistem pertahanan tubuh udang windu.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan masing-masing terdiri dari 3 ulangan. Perlakuan yang diujikan yaitu penambahan *Chlorella* sp. pada pakan dengan perlakuan A (tanpa penambahan *Chlorella* sp.), perlakuan B (5 gr/kg pakan), perlakuan C (10 gr/kg pakan), dan perlakuan D (15 gr/kg pakan). Hewan uji yang digunakan adalah udang windu (*P. monodon*) stadia juvenil dengan bobot rata-rata 5,37±0,3 gram. Parameter yang diamati yaitu total haemocyte count (THC), differential haemocyte count (DHC), dan kelulushidupan udang windu yang diinfeksi WSSV.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian *Chlorella* sp. tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap total haemocyte count (THC), differential haemocyte count (DHC), dan kelulushidupan udang windu yang diinfeksi WSSV. Pencegahan penyakit pada udang windu dapat dilakukan dengan pemberian imunostimulan untuk meningkatkan sistem imun, meskipun tidak ada udang windu yang hidup dalam 6 hari setelah diinfeksi WSSV. Kualitas air selama penelitian masih dalam kisaran layak untuk kehidupan udang windu.

Kata kunci : *Chlorella* sp., imunostimulan, udang windu, THC, DHC

ABSTRACT

Chlorella sp. is a microalga that has potency as an immunostimulant to increase immune system of black tiger shrimp. The purpose of this research was to find out the effect of *Chlorella* sp. to increase immune system of black tiger shrimp.

The experiment method used in this research was Completely Randomized Design (RAL) with 4 treatments and each of them consists of 3 replication. The treatments were A without addition of *Chlorella* sp., treatment B, C, and D with addition of *Chlorella* sp. 5, 10, 15 gram/kg diet respectively. The experiment animals was black tiger shrimps (*P. monodon*) juvenile with average weight 5,37±0,3 gram. Parameters observed were total haemocyte count (THC), differential haemocyte count (DHC), and survival rate of black tiger shrimp infected by WSSV.

The results of research indicated that the addition of *Chlorella* sp. Within the diets showed no significant effect ($P>0,05$) on total haemocyte count (THC), differential haemocyte count (DHC), and survival rate of black tiger shrimp. Disease prevention of black tiger shrimp could be done by an administration of immunostimulant to stimulate or increase immune system. However, there was no shrimp was survived within 6 days after challenged with WSSV. The water quality during the research within ideal range for the life of black tiger shrimps.

Keywords: *Chlorella* sp., immunostimulant, black tiger shrimp, THC, DHC



PENDAHULUAN

Udang windu merupakan salah satu komoditas perikanan bernilai ekonomis penting. Hal ini terlihat dari perkembangan produksi udang windu yang cukup baik tiap tahunnya. Selain itu ukuran udang windu yang besar dan harga jualnya yang tinggi membuat udang windu memiliki prospek yang baik untuk dikembangkan.

Salah satu kendala dalam kegiatan budidaya udang windu yaitu adanya serangan penyakit, khususnya infeksi virus (Muliani, 2007) yang disebabkan oleh *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) (Supriyadi, 2005). WSSV merupakan virus yang sangat virulen Lo *et al.* (2004) dan dapat mengakibatkan mortalitas hingga 100% dalam 2-7 hari (Chang *et al.*, 1999) sehingga dapat menyebabkan kegagalan dan menimbulkan kerugian bagi pembudidaya udang windu.

Seperti halnya krustasea lainnya, udang windu memiliki sistem pertahanan yang lebih banyak diperantarai oleh sistem pertahanan non-spesifik (Anderson, 1992) dan tidak memiliki sistem memori (Raa, 2000) sehingga salah satu upaya untuk mening-

katkan sistem pertahanan tubuhnya dalam menghadapi infeksi WSSV yaitu dengan pemberian imunostimulan. Pemberian imunostimulan dimaksudkan untuk meningkatkan resistensi terhadap infeksi penyakit dengan meningkatkan mekanisme pertahanan non-spesifik (Sakai, 1999).

Imunostimulan yang umum digunakan merupakan organisme maupun hasil sampingan organisme yang tidak virulen (Galindo-Villegas *and* Hoshokawa, 2004). Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, bahan yang dapat digunakan sebagai imunostimulan antara lain berasal dari bahan kimia sintetik, derivat bakteri, polisakarida, ekstrak hewan dan tumbuhan, serta vitamin (Sakai, 1999).

Chlorella sp. merupakan salah satu mikroalga yang mempunyai potensi sebagai imunostimulan. *Chlorella* sp. mengandung prpvitamin A (β -caroten), vitamin C, dan vitamin E (Bengwayan *et al.*, 2010) yang mempunyai kemampuan sebagai imunostimulan (Sakai, 1999). β -caroten merupakan salah satu komponen yang dapat meningkatkan imunitas dengan meningkatkan integritas jaringan dan meningkatkan aktivitas pada sel pertahanan (Steenblock,



2000). Penggunaan vitamin C sebagai imunostimulan pada udang windu telah diteliti oleh Laohamongkolruk *et al.* (2006) dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh udang windu.

Salah satu parameter suatu zat atau senyawa mampu menstimulasi sistem pertahanan non-spesifik udang adalah meningkatnya jumlah hemosit (Smith *et al.*, 2003). Hemosit merupakan salah satu bentuk sistem pertahanan tubuh yang bersifat seluler dan memainkan peranan penting dalam respon kekebalan tubuh (Setyati, 2007). Tipe sel hemosit berperan penting dalam mekanisme sistem pertahanan tubuh udang. Tiap tipe sel mempunyai fungsi yang berbeda dalam meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang (Andrade, 2011).

Berdasarkan uraian diatas perlu dilakukan penelitian mengenai potensi *Chlorella* sp. sebagai imunostimulan sehingga dapat meningkatkan sistem ketahanan tubuh udang windu (*Penaeus monodon*) dalam menghadapi infeksi WSSV.

METODOLOGI PENELITIAN

Hewan uji yang digunakan adalah udang windu (*Penaeus monodon*) stadia

juvenil dengan bobot rata-rata sebesar $5,37 \pm 0,3$ gram. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan masing-masing terdiri dari 3 ulangan. Perlakuan yang diujikan yaitu penambahan *Chlorella* sp. dengan dosis berbeda pada pakan. Penentuan dosis penambahan *Chlorella* sp. pada pakan mengacu pada penelitian sebelumnya oleh Hemtanon *et al.* (2005) dengan beberapa modifikasi, yaitu perlakuan A (tanpa penambahan *Chlorella* sp.), perlakuan B (5 gr/kg pakan), perlakuan C (10 gr/kg pakan), dan perlakuan D (15 gr/kg pakan). Penambahan *Chlorella* sp. pada pakan mengacu pada Manoppo (2011) dengan menggunakan metode *coating*.

Udang dipelihara selama 20 hari dan dilakukan pemberian pakan 3 kali sehari sebanyak 3% dari bobot total udang. Parameter yang diamati meliputi pengukuran *Total Haemocyte Count* (THC), *Differential Haemocyte Count* (DHC), dan *Survival Rate* (SR) udang windu. Pengamatan THC, DHC diamati pada hari ke-0, hari ke-21 dan hari ke-23 (pasca infeksi WSSV), sedangkan perhitungan *survival rate* udang windu dilakukan pada akhir penelitian.

*) Penulis Penanggung Jawab



Udang windu dipelihara dengan kualitas air: DO 3,41 – 4,28 mg/l, suhu 26 – 28,2°C, salinitas 30 - 33 ppt, pH 7,4 – 7,8, dan amonia 0,02 – 0,33 mg/l.

Pengukuran THC dilakukan berdasarkan metode yang dimodifikasi dari Blaxhall and Daishley (1973) dan dihitung dengan menggunakan rumus:

Keterangan : FP = Faktor pengenceran

Analisa DHC dilakukan berdasarkan Martin and Graves (1985). Persentase tiap jenis sel dihitung dengan menggunakan rumus :

Ujiantang dilakukan dengan penginfeksian WSSV melalui injeksi. Sebanyak 0,1 ml inokulum WSSV disuntikkan secara *intramuscular* pada 3 segmen abdominal terakhir udang windu. Pengamatan gejala klinis, tingkah laku, dan nafsu makan udang

dilakukan selama 6 hari pasca infeksi dan di akhir pengamatan dilakukan uji PCR. Perhitungan nilai *survival rate* (SR) udang windu dilakukan dengan rumus Effendi (1997):

Analisa data menggunakan uji ANOVA dengan selang kepercayaan 95%. Data hasil uji PCR, data kelulushidupan udang windu, dan data kualitas air pemeliharaan udang dianalisa secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pengamatan hemosit yang dilakukan meliputi *total haemocyte count* (THC) dan *differential haemocyte count* (DHC). Hasil pengamatan *Total Haemocyte Count* (THC) udang windu tersaji pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan *Total Haemocyte Count* (THC) udang windu

Hari	Perlakuan (x 10 ⁶ sel/ml)			
	A	B	C	D
0	46,85±4,86 ^a	48,11±10,60 ^a	45,97±4,25 ^a	43,49±13,58 ^a
21	47,60±11,30 ^a	51,80±10,60 ^a	50,80±9,70 ^a	41,30±6,30 ^a
23	23,01±2,66 ^a	22,59±6,68 ^a	21,68±3,09 ^a	16,80±3,71 ^a

Keterangan: Nilai dengan *superscript* yang sama pada kolom menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata (P>0,05)

Berdasarkan pengamatan pada hari ke-21, THC mengalami peningkatan dibanding hari ke-0 pada perlakuan A, B, dan

C, sedangkan pada perlakuan D mengalami penurunan. Peningkatan THC tertinggi pada perlakuan C (10,5%),

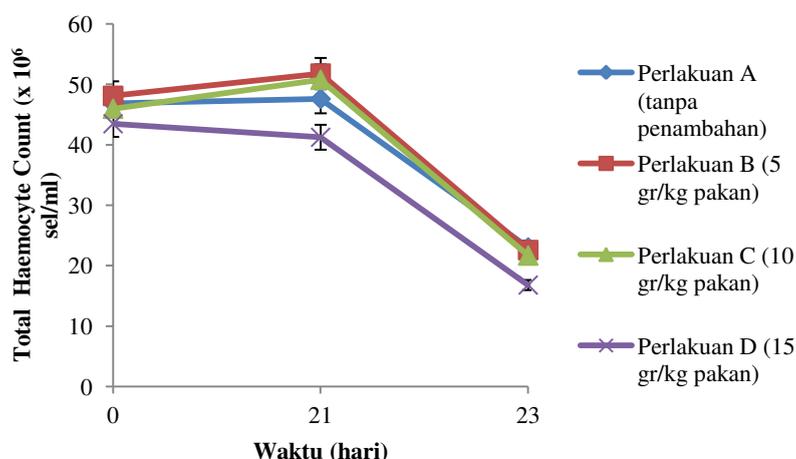
*) Penulis Penanggung Jawab



selanjutnya diikuti perlakuan B (5,59%), dan perlakuan A (1,6%), sedangkan penurunan THC pada perlakuan D sebesar 5,04%. Selanjutnya pada pengamatan THC hari ke-23 (pasca infeksi WSSV) menunjukkan semua perlakuan

yang diujikan mengalami penurunan THC (Gambar 1).

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa penambahan *Chlorella* sp. pada pakan tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap THC udang windu hari ke-21 dan hari ke-23.



Gambar 1. Grafik THC udang windu

Pengamatan *differential haemocyte count* (DHC) meliputi pengamatan sel granular, semi granular, dan sel

hialin. Hasil pengamatan persentase sel granular udang windu hari ke-0, hari ke-21, dan hari ke-23 tersaji pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengamatan persentase sel granular udang windu (*P. monodon*)

Hari	Perlakuan (%)			
	A	B	C	D
0	6,33±0,58 ^a	6,33±1,53 ^a	6,67±1,15 ^a	7,67±5,69 ^a
21	6±1,00 ^a	5±1,00 ^a	8±4,36 ^a	4,67±1,15 ^a
23	11,33±2,08 ^a	11,67±1,53 ^a	13±1,00 ^a	11±2,00 ^a

Keterangan : Nilai dengan *superscript* yang sama pada kolom menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata ($P>0,05$)

Hasil pengamatan persentase sel granular hari ke-21 menunjukkan bahwa pada terjadi peningkatan sel granular pada perlakuan C, sedangkan perlakuan A, perlakuan B, dan perlakuan D

mengalami penurunan dimana perlakuan D menunjukkan penurunan persentase sel granular yang lebih tinggi daripada perlakuan A dan perlakuan B. Pengamatan hari ke-23 (pasca infeksi



WSSV) menunjukkan bahwa persentase sel granular mengalami peningkatan pada semua perlakuan dengan peningkatan tertinggi pada perlakuan C (Gambar 2).

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa penambahan *Chlorella* sp. pada

pakan tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap persentase sel granular udang windu hari ke-21 dan hari ke-23.

Hasil pengamatan persentase sel semi granular udang windu hari ke-0, hari ke-21, dan hari ke-23 tersaji pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengamatan persentase sel semi granular udang windu (*P. monodon*)

Hari	Perlakuan (%)			
	A	B	C	D
0	57,67±4,51 ^a	56,67±7,02 ^a	60±3,46 ^a	57±8,5 ^a
21	61±4,58 ^a	65,33±8,62 ^a	65±3,46 ^a	66±5,19 ^a
23	53,67±2,51 ^a	57,33±5,86 ^a	52,33±4,51 ^a	54,33±3,51 ^a

Keterangan : Nilai dengan *superscript* yang sama pada kolom menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata ($P>0,05$)

Berdasarkan hasil pengamatan pada hari ke-21, semua perlakuan mengalami peningkatan persentase sel semi granular dari hari ke-0. Namun hal yang berbeda terjadi pada hari ke-23 (pascainfeksi WSSV) dimana persentase sel semi granular mengalami penurunan pada perlakuan A, perlakuan B, perlakuan C, dan perlakuan D (Gambar 3).

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa penambahan *Chlorella* sp. pada pakan tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap persentase sel semi granular udang windu hari ke-21 dan hari ke-23.

Hasil pengamatan persentase sel hialin udang windu hari ke-0, hari ke-21, dan hari ke-23 tersaji pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil pengamatan persentase sel hialin udang windu (*P. monodon*)

Hari	Perlakuan (%)			
	A	B	C	D
0	36±4,00 ^a	43,33±11,93 ^a	30±5,29 ^a	35,33±8,39 ^a
21	33±4,00 ^a	31±8,00 ^a	27±3,60 ^a	29,33±5,86 ^a
23	35±1,00 ^a	31±6,08 ^a	33,67±2,52 ^a	34,67±4,93 ^a

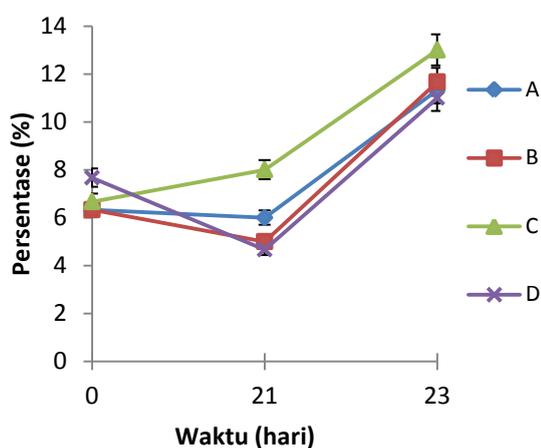
Keterangan : Nilai dengan *superscript* yang sama pada kolom menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata ($P>0,05$)



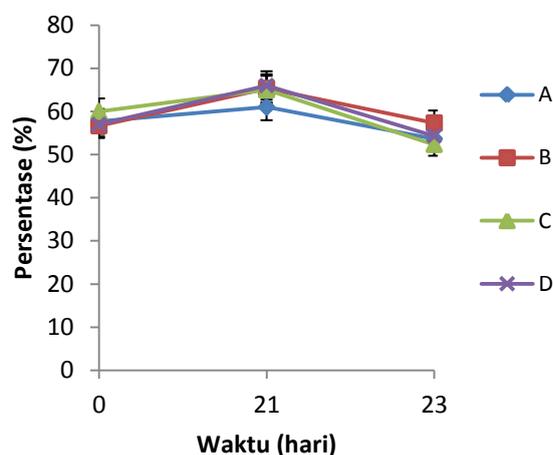
Berdasarkan hasil pengamatan persentase sel hialin pada perlakuan A, perlakuan B, perlakuan C, dan perlakuan D mengalami penurunan pada hari ke-21. Pengamatan hari ke-23 (pasca infeksi WSSV) menunjukkan bahwa perlakuan A, perlakuan C, dan perlakuan D mengalami peningkatan persentase jumlah sel hialin,

sedangkan perlakuan B tidak mengalami peningkatan maupun penurunan persentase sel hialin (Gambar 4).

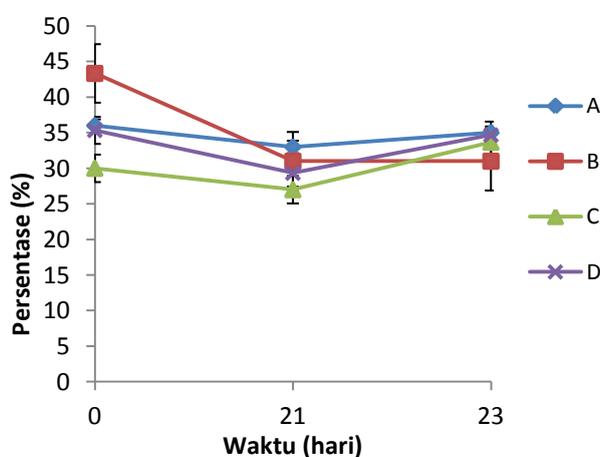
Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa penambahan *Chlorella* sp. pada pakan tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap persentase sel granular udang windu hari ke-21 dan hari ke-23.



Gambar 2. Grafik persentase sel granular udang windu



Gambar 3. Grafik persentase sel semi granular udang windu



Gambar 4. Grafik persentase sel hialin udang windu



Pengamatan gejala klinis dan uji PCR dilakukan setelah infeksi WSSV sebagai indikasi bahwa udang tersebut positif terinfeksi WSSV. Udang windu (*P. monodon*) yang positif terinfeksi WSSV menunjukkan gejala klinis tertentu yang ditunjukkan oleh udang windu baik pada perlakuan A, perlakuan B, perlakuan C, maupun perlakuan D. Setelah dilakukannya infeksi WSSV, mula-mula udang berdiam diri di dasar dan respon terhadap gangguan menurun. Selanjutnya udang juga berenang lemah dan menunjukkan penurunan respon terhadap pemberian pakan yang

berimplikasi terhadap turunnya nafsu makan udang. Gejala klinis lain yang terlihat yaitu beberapa udang mulai mengalami perubahan warna atau *discoloration* menjadi coklat kemerah-merahan. Sehari setelah infeksi WSSV, beberapa udang ada yang sudah mulai menunjukkan adanya bercak putih pada bagian karapaks.

Pengamatan *survival rate* udang windu dilakukan saat infeksi hingga 6 hari pengamatan pascainfeksi. Hasil perhitungan *survival rate* udang windu tersaji pada tabel 5.

Tabel 5. *Survival rate* udang windu (*P. monodon*) pascainfeksi WSSV

Perlakuan	Hari ke- (%)						
	0	1	2	3	4	5	6
A	100	68,89	0	0	0	0	0
B	100	73,33	6,67	4,44	2,22	2,22	0
C	100	73,33	2,22	2,22	2,22	2,22	0
D	100	66,67	0	0	0	0	0

Hasil pengamatan *survival rate* selama 6 hari pascainfeksi WSSV menunjukkan bahwa *survival rate* udang windu yang diinfeksi WSSV mengalami penurunan pada hari pertama pascainfeksi untuk semua perlakuan. Selanjutnya pada hari ke-2, perlakuan B dan perlakuan C mengalami penurunan persentase *survival rate* secara signifikan, sedangkan perlakuan

A dan perlakuan D sudah mencapai persentase *survival rate* sebesar 0%. Pengamatan hari selanjutnya, persentase kelulushidupan udang windu pada perlakuan B dan D semakin menurun dan mencapai persentase *survival rate* sebesar 0% pada hari ke-6 (Gambar 5).

Pembahasan

*) Penulis Penanggung Jawab



Hasil yang didapatkan pada hari ke-21, THC udang windu pada perlakuan B dan perlakuan C mengalami peningkatan dibanding dengan THC sebelum pemberian *Chlorella* sp (hari ke-0). Meskipun demikian penambahan *Chlorella* sp. pada pakan tidak mampu meningkatkan THC secara optimal. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) terhadap semua perlakuan pada hari ke-21. Kemampuan *Chlorella* sp. sebagai imunostimulan dalam meningkatkan THC udang windu diduga berkaitan dengan kandungan polisakarida dan vitamin C yang terdapat pada *Chlorella* sp. Kralovec (2003) dalam Yang *et al.* (2006) menyatakan bahwa polisakarida dalam *Chlorella* sp. mempunyai kemampuan dalam menstimulasi sistem kekebalan tubuh. Peran polisakarida dalam meningkatkan sistem pertahanan tubuh dilaporkan oleh Manilal (2009) dan Jasminandar (2009) dimana polisakarida dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang yang ditandai dengan peningkatan THC. Selain itu, diduga vitamin C yang terdapat pada *Chlorella* sp. berperan dalam meningkatkan THC udang windu. Laohamongkolruk *et al.* (2006)

melaporkan bahwa vitamin C dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh udang windu dengan meningkatkan THC.

Peningkatan THC udang windu menunjukkan bahwa *Chlorella* sp. yang diaplikasikan melalui pakan mempunyai kemampuan untuk meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang windu yang ditandai dengan meningkatnya THC. Smith *et al.* (2003) menyatakan bahwa parameter suatu senyawa dalam meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang yaitu meningkatnya jumlah hemosit.

Turunnya THC pada perlakuan D setelah pemberian *Chlorella* sp. selama 20 hari diduga disebabkan dosis yang digunakan tinggi, sehingga menghambat respon sistem pertahanan tubuh udang windu. Hal ini sesuai dengan pendapat Sakai (1999) bahwa pemberian imunostimulan dengan dosis tinggi mungkin tidak dapat menaikkan respon sistem pertahanan tubuh, namun menghambatnya. Ketepatan dosis imunostimulan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi peningkatan THC setelah pemberian *Chlorella* sp. Efek dari pemberian imunostimulan dipengaruhi oleh dosis yang diberikan (Bairwa



et al., 2012) yang juga berkorelasi dengan waktu pemberian imunostimulan (Raa, 2001).

Jumlah hemosit mengalami penurunan yang signifikan pascainfeksi WSSV. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian imunostimulan berupa *Chlorella* sp. tidak mampu meningkatkan THC setelah infeksi WSSV dilakukan. Hal ini dibuktikan dengan tidak ada pengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap semua perlakuan pada hari ke-23. THC pada perlakuan A, B, C, dan D rata-rata mengalami penurunan hingga lebih dari 50%. Hal yang sama juga dikemukakan oleh Van de Braak *et al.* (2002) dimana THC udang yang terinfeksi menurun hingga lebih 40% jika dibandingkan dengan udang yang tidak terinfeksi virus. Lebih lanjut Zhang *et al.* (2004) menyatakan bahwa penurunan THC sering dikaitkan dengan respon yang terjadi setelah adanya infeksi. Pernyataan tersebut diperkuat dengan pendapat Lo *et al.* (2004) bahwa infeksi WSSV selalu menyebabkan perubahan parameter *haemolymph*, termasuk penurunan THC.

Penurunan THC diduga dipengaruhi oleh WSSV yang menginfeksi hemosit udang sehingga menyebabkan

hilangnya keberadaan hemosit dalam *haemolymph*. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Van de Braak *et al.* (2002) bahwa penurunan THC setelah infeksi WSSV merupakan salah satu dampak dari respon hemosit atau dari infeksi yang terjadi, karena hemosit merupakan target WSSV. Faktor lain yang diduga mempengaruhi turunnya THC setelah infeksi adalah tingkat patogenitas dan virulensi WSSV yang tinggi terhadap udang windu (Lo *et al.*, 2004). Diduga, hal tersebut menyebabkan THC udang windu menjadi kurang mampu melawan infeksi WSSV sehingga menyebabkan THC menurun. Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa kandungan bahan aktif dari *Chlorella* sp. tidak mampu menstimulasi respon pertahanan tubuh udang windu terhadap infeksi WSSV.

Hasil pengamatan DHC menunjukkan bahwa sel semi granular merupakan sel yang terkena dampak peningkatan setelah pemberian *Chlorella* sp. selama 20 hari sedangkan sel granular dan sel hialin mengalami penurunan. Meskipun demikian pemberian *Chlorella* sp. menunjukkan tidak ada pengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap DHC udang windu, yaitu sel granular, sel



semi granular, dan sel hialin pada hasil analisa ragam hari ke-21.

Tipe sel hemosit yang berbeda mempunyai fungsi yang berbeda pula dalam sistem pertahanan tubuh. Sel hialin dan sel semi granular mempunyai peran penting dalam sistem pertahanan tubuh udang terutama dalam proses fagositosis (Soderhall *and* Cerenius, 1992; Chang *et al.*, 2007). Walaupun mempunyai fungsi yang sama, namun sel semi granular lebih jarang berperan dalam proses fagositosis, sehingga sel hialin menjadi sel utama dalam proses fagositosis dan sel semi granular lebih berperan dalam proses enkapsulasi yang mengindikasikan adanya penggabungan beberapa sel hemosit untuk menghalangi partikel asing dalam peredaran darah (Soderhall *and* Cerenius, 1992). Fungsi lain dari sel hemosit dalam sistem pertahanan tubuh yaitu berperan dalam pengaktifan sistem proPO yang dilakukan oleh sel semi granular dan sel granular (Andrade, 2011). Pengaktifan sistem proPO ini merupakan salah satu asepek penting dalam sistem pertahanan tubuh udang. Sritunyalucksana *and* Soderhall (2000); Andrade (2011) menyatakan bahwa proPO mempunyai peran penting dalam

respon imun krustasea yang sering disertai dengan adanya proses melanisasi. Begitu pula dengan Das *and* Sethi (2009) yang mengungkapkan bahwa PO yang diaktifkan oleh proPO bertindak sebagai sistem pengenalan utama dan jalur pertahanan pada krustasea.

Naiknya persentase sel semi granular dapat digunakan sebagai parameter naiknya sistem pertahanan tubuh udang. Hal ini dapat disebabkan fungsi sel semi granular dalam aktifitas fagositosis, enkapsulasi (Soderhall *and* Cerenius, 1992; Chang *et al.*, 2007), dan pengaktifan sistem proPO (Andrade, 2011) meningkat, sehingga sistem pertahanan tubuh udang juga ikut meningkat. Das *and* Sethi (2009) menjelaskan bahwa pengaktifan sistem proPO merupakan respon awal dalam pengenalan partikel asing dan pengaktifan fagosit. Pengaktifan sistem proPO menghasilkan adanya produksi protein, termasuk PO yang berperan dalam melanisasi, koagulasi, opsonisasi dari partikel asing dan membunuh mikroba secara langsung.

Pengamatan persentase sel hemosit udang windu pascainfeksi WSSV pada semua perlakuan menunjukkan



persentase sel granular dan sel hialin mengalami peningkatan sedangkan persentase sel semi granular mengalami penurunan. Namun berdasarkan hasil analisa ragam hari ke-23 menunjukkan bahwa pemberian *Chlorella* sp. tidak memberikan pengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap DHC udang windu. Hal ini diduga karena sel semi granular lebih mudah terinfeksi WSSV sehingga berdampak pada menurunnya persentase sel semi granular dan meningkatnya persentase sel granular dan sel hialin. Penurunan persentase sel semi granular yang terjadi pascainfeksi WSSV merupakan salah satu implikasi dari peningkatan sel granular di daerah infeksi WSSV (Van de Braak *et al.*, 2002). Sel semi granular lebih dimungkinkan mudah terinfeksi virus WSSV (Andrade, 2011) dan virus tersebut melakukan replikasi lebih cepat di sel semi granular daripada sel granular sehingga jumlah sel semi granular secara bertahap menurun dalam sirkulasi darah (Jiravanichpaisal *et al.*, 2005). Hal ini mungkin disebabkan sistem imun *crustacean* mempunyai mekanisme yang dapat menghilangkan hemosit yang terinfeksi virus dari

peredaran darah dengan mengambilnya ke jaringan terinfeksi (Lo *et al.*, 2004).

Hasil pengamatan survival rate pascainfeksi hingga hari ke-6 pengamatan, mortalitas 100% terjadi pada seluruh udang dari 4 perlakuan. Mortalitas yang terjadi sebagai akibat dari infeksi WSSV setelah uji tantang (hari ke-22) dilakukan. Pemberian *Chlorella* sp. dengan berbagai dosis tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap tingkat kelangsungan hidup (*survival rate*) udang windu yang diinfeksi WSSV. Hal ini diduga karena peningkatan jumlah total hemosit setelah pemberian *Chlorella* sp. selama 20 hari kurang optimal sehingga tidak dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh udang windu dalam menekan kematian akibat infeksi WSSV. Sari (2008) mengemukakan bahwa *Chlorella* sp. dapat digunakan sebagai senyawa antimikroba untuk menghambat bakteri *Vibrio harveyi*. Namun, dari hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa *Chlorella* sp. dapat digunakan untuk menghambat bakteri *Vibrio harveyi* tetapi tidak dapat digunakan dalam melawan virus WSSV. *Chlorella* sp. diduga tidak dapat mengendalikan infeksi WSSV melalui efek



imunostimulannya sehingga mortalitas udang windu mencapai 100% pada akhir penelitian.

Mortalitas hingga 100% terjadi sejak hari ke-2 pascainfeksi WSSV pada perlakuan A dan perlakuan D, sedangkan pada perlakuan B dan perlakuan C mortalitas 100% terjadi 6 hari pascainfeksi. Terjadinya kematian yang cepat, terutama pada perlakuan A dan perlakuan D 24-48 jam setelah infeksi diduga karena menurunnya jumlah total hemosit setelah dilakukannya infeksi WSSV. Penurunan jumlah total hemosit ini mengakibatkan sistem pertahanan tubuh udang windu menjadi lemah. Lo *et al.* (2004) menyatakan bahwa penurunan jumlah total hemosit akan terjadi pada awal periode infeksi, dan jumlah THC yang sedikit akan mengakibatkan pertahanan tubuh udang menjadi lemah dan berdampak pada kesehatan udang karena hemosit berperan penting dalam sistem pertahanan seluler udang. Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa penambahan *Chlorella* sp. pada pakan dalam penelitian ini tidak efektif sebagai imunostimulan dalam menekan mortalitas udang windu akibat infeksi WSSV

karena pada akhir penelitian mortalitas udang windu mencapai 100%.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Penambahan *Chlorella* sp. pada pakan tidak berpengaruh nyata terhadap *total haemocyte count* (THC) dan *differential haemocyte count* (DHC) udang windu (*P. monodon*).
2. Udang windu yang diberi penambahan *Chlorella* sp. seluruhnya mati setelah diinfeksi WSSV (*survival rate* 0%).

Saran

Perlu penelitian lebih lanjut yang berkaitan dengan penambahan dosis, frekuensi pengamatan, dan waktu pemberian *Chlorella* sp. sehingga dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang windu terhadap infeksi WSSV.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada pada staf Laboratorium Hama- Penyakit Ikan dan Udang BBPBAP Jepara yang telah membantu dalam penelitian. Penelitian ini sebagian dibiayai oleh dana hibah FPIK no.



40?SK/UN7.3.10/2012 tanggal 28 Mei
2012.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, D.P. 1992. Immunostimulant, Adjuvants, and Vaccine Carrier in Fish: Application to Aquaculture. Annual Review Fish Disease, 2: 281-307.
- Andrade, A.J. 2011. Shrimp Immunological Reactions Against WSSV: Role of Haemocytes on WSSV Fate. [Thesis]. Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University.
- Bairwa, M.K, J.K Jakhar, Y Satyanarayana, and A.D Reddy. 2012. Animal and Plant Originated Immunostimulants Used in Aquaculture. J. Natural Product and Plant Resource, 2(3):397-400.
- Bengwayan, P.T., J.C. Laygo, A.E. Pacio, J.L.Z. Poyaoan, J. F. Rebugio, and A.L. L. Yuson. 2010. A Comparative Study on the Antioxidant Property of Chlorella (*Chlorella* sp.) Tablet and Glutathione Tablet. E-International Scientific Research Journal, 2(1):25-32.
- Blaxhall, P. C. and Daisley. 1973. Routine Haematological Methods for Use with Fish Blood. J. Fish Biology, 5(6):771-781.
- Chang, C.F, M.S Su, H.Y Chen, C.F Lo, G.H Kou, and I.C Liao. 1999. Effect of Dietary β -1,3-glucan on Resistance to White Spot Syndrome Virus (WSSV) in Postlarval and Juvenile *Penaeus monodon*. Disease Aquatic of Organisms, 36(3):163-168.
- _____, C.C, Z.R Wu, C. M Kuo, and W. Cheng. 2007. Dopamine Depresses in the Tiger Shrimp *Penaeus Monodon*. Fish and Shellfish Immunology, 23: 24-33.
- Das, B.K and S.N Sethi. 2009. Immune Functions in Crustaceans. Application of Molecular and Serological Tools in Fish Disease Diagnosis (CIFA). Orisaa, India.
- Effendie, M.I. 1997. Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusatama, Yogyakarta.
- Galindo-Villegas, J dan H. Hoshokawa. 2004. Immunostimulants: Towards Temporary Prevention of Disease in Marine Fish. In: Cruz Suárez, L. E., Ricque Marie, D., Nieto López, M. G., Villarreal, D., Scholz, U. Y., González, M (eds.) Avances en, Nutrición Acuicola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutricion Acuicola. Sonora, Mexico.
- Hemtanon, P., S. Direkbusarakom, V. Bunyawiwat and O. Tantitakoon. 2005. Antiviral and Antibacterial Substances from *Spirulina platensis* to combat White Spot Syndrome Virus and *Vibrio harveyi*. In: P. Walker, R. Lester and M.G. Bondad-Reantaso (eds). Diseases in Asian Aquaculture, 5:525-534.
- Jasminandar, Yudiana. 2009. Penggunaan Ekstrak *Gracilaria verrucosa* untuk Meningkatkan Sistem Ketahanan Udang Vaname *Litopenaeus vannamei*. [Thesis]. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.

*) Penulis Penanggung Jawab



- Jiravanichpaisal, P., S. Sricharoen, I. Soderhall, and K. Soderhall. 2005. White Spot Syndrome Virus (WSSV) Interaction with Crayfish Haemocytes. *Fish and Shellfish Immunology*, 20(5):718–727.
- Laohamongkolruk, P., N. Areechon, S. Limsakoon, and S. Thunyanukit. 2006. Application of Vitamin C as Immunostimulant in Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius). In: Proceedings of the 44th Kasetsart University Annual Conference 30 January - 2 February. Kasetsart University, Bangkok, pp. 291-302.
- Lo, C.F, J.L Wu, Y.S Chang, H.C Wang, J.M Tsai and G.H Kou. 2004. Molecular Characterization and Pathogenicity of White Spot Syndrome Virus. In: Leung, K.Y (ed.). Current Trends in the Study of Bacterial and Viral Fish and Shrimp Disease. World Scientific Publishing, Singapura
- Manilal, A., S. Sujith, J. Selvin, G.S Kiran, and C. Shakir. 2009. In vivo Antiviral Activity of Polysaccharide from the Indian Green Alga, *Acrosiphonia orientalis* (J. Agardh): Potential Implication in Shrimp Disease Management. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 1(4):278-282.
- Manoppo, Henky. 2011. Peran Nukleotida sebagai Immunostimulan terhadap Respon Imun Non-spesifik dan Resistensi Udang Vanname (*L. Vannamei*). [Thesis]. Sekolah Pasca Sarjana IPB, Bogor.
- Martin, G.G. and B.L Graves. 1985. Fine Structure and Classification of Shrimp Hemocytes. *J. Morphology*, 185(3):339–348.
- Muliani, B.R. Tampangallo dan M. Atmomarsono. 2007. Pemantauan Penyakit White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada Udang Windu *Penaeus monodon*. *Aquacultura Indonesiana*, 8(2):81–88.
- Raa, J. 2000. The Use of Immune-Stimulants in Fish and Shellfish Feeds. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Yucatán, Mexico.
- _____. 2001. The Mode of Action and Use of Immunostimulants in Fish and Shellfish Farming. In: Coimbra, J (ed.). *Proceedings of the NATO Advanced Research Workshop on Modern Aquaculture in the Coastal Zone : Lesson and Opportunities*. IOS Press, Amsterdam.
- Sakai, M. 1999. Current Research Status of Fish Immunostimulants. *J. Aquaculture*, 172(1-2):63-92.
- Setyati, W.A, Subagiyo, dan S. Subyakto. 2007. Pengaruh Suplementasi Ekstrak Herbal (Jahe, Temulawak dan Kencur) Terhadap Jumlah Total Hemosit dan Aktivitas Fagositosis Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*). *J. Aquacultura Indosiana*, 8(3):155-161.
- Smith, V.J, J.H. Brown and C. Hauton. 2003. Immunostimulation in Crustaceans: Does it Really Protect Against Infection. *Fish*



- and Shellfish Immunology, 15(1): 71-90.
- Soderhall, K and L. Cerenius. 1992. Crustacean Immunity. Annual Review of Fish Disease, 2:2-23.
- Steenblock D. 2000. Chlorella: Makanan Sehat Alami. Gramedia Pustaka, Jakarta.
- Supriyadi, H. Taukhid, A. Sunarto, dan I. Koesharyani. 2005. Prevalensi Infeksi White Spot Syndrome Virus (WSSV) pada Induk Udang Windu (*Penaeus monodon*) hasil Tangkapan dari Alam. J. Penelitian Perikanan Indonesia, 11(5):69-73.
- Van de Braak, C.B.T., M.H.A. Botterblom, E.A. Huisman, J.H.W.M. Rombout, W.P. W. Van der Knaap. 2002. Preliminary Study on Haemocyte Response to White Spot Syndrome Virus Infection in Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon*. Disease of Aquatic Organism, 51(2):149-155.
- Yang, F., Y. Shi, J. Sheng and Q. Hu. 2006. In Vivo Immunomodulatory Activity Of Polysaccharides Derived from *Chlorella pyrenoidosa*. European Food and Research Technology, 224(2):225-228.
- Zhang, X., C. Huang, and C. L. Hew. 2004. Use of Genomics and Proteomics to Study White Spot Syndrome Virus. In: Leung, K.Y (ed.). Current Trends in the Study of Bacterial and Viral Fish and Shrimp Disease. World Scientific Publishing, Singapura, pp. 204-234.