

**Analisis Histopatologi Insang dan Hepatopankreas pada
Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius) yang Diinfeksi
Vibrio harveyi Pasca Pemberian Imunostimulan Pili
*Vibrio alginolyticus***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MENEJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh :

**NAILUL IZZAH
NIM. 0710853002**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2011**

**Analisis Histopatologi Insang dan Hepatopankreas pada
Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius) yang Diinfeksi
Vibrio harveyi Pasca Pemberian Imunostimulan Pili
*Vibrio alginolyticus***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

*Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya*

Oleh :

**NAILUL IZZAH
NIM. 0710853002**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2011**

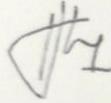
**Analisis Histopatologi Insang dan Hepatopankreas pada
Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius) yang
Diinfeksi *Vibrio harveyi* Pasca Pemberian Imunostimulan
Pili *Vibrio alginolyticus***

Oleh:
NAILUL IZZAH
NIM. 0710853002

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 13 Juni 2011
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

MENYETUJUI

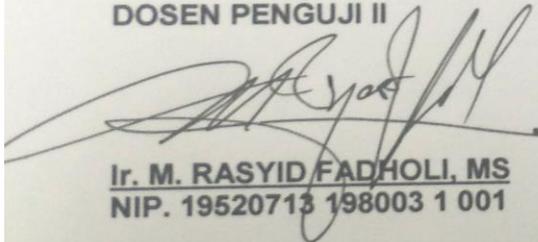
DOSEN PENGUJI I



Prof. Dr. Ir. SRI ANDAYANI, MS
NIP. 19611106 198602 2 001

TANGGAL :

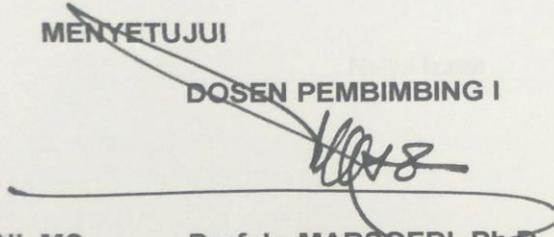
DOSEN PENGUJI II



Ir. M. RASYID FADHOLI, MS
NIP. 19520713 198003 1 001

TANGGAL:

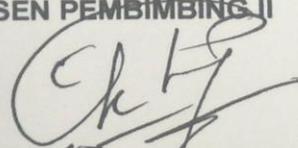
DOSEN PEMBIMBING I



Prof. Ir. MARSOEDI, Ph.D
NIP. 19460320 197303 1 001

TANGGAL :

DOSEN PEMBIMBING II



Ir. ARNING WILIJENG E, MS
NIP. 19620805 198603 2 001

TANGGAL:

MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN



Dr. Ir. HARPY NURSYAM, MS.
NIP. 19600822 198601 1 001

TANGGAL:

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau terdapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, Juni 2011

Nailul Izzah



KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala anugerah dan karunia-Nya, penulis dapat menyajikan Skripsi yang berjudul “**Analisis Histopatologi Insang dan Hepatopankreas pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius) yang Diinfeksi *Vibrio harveyi* Pasca Pemberian Imunostimulan Pili *Vibrio alginolyticus*”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Pada kesempatan kali ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D dan Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS selaku dosen pembimbing yang telah membimbing dan memberi pengarahan dalam penyusunan skripsi.
2. Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS dan Ir. M. Rasyid Fadholi, MS selaku dosen penguji yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menguji penulis.
3. Kedua orang tua saya tercinta Drs.H.Suherman, MM dan Hj. Siti Urifah atas do'a, kasih sayang dan pengorbanan dalam memotivasi.
4. Pihak yang membantu dalam proses penelitian yaitu Bapak Roziq, seluruh staff UPT-PBAP Bangil, BP'07, M. Farizul Haqi, Dyan Perdana S.S.T.Han dan Novia BKI Juanda.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih banyak kekurangan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun untuk menyempurnakan laporan ini. Penulis berharap semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah pengetahuan serta memberikan informasi bagi pihak-pihak yang memerlukannya.

Malang, Juni 2011

Penulis



RINGKASAN

NAILUL IZZAH. Analisa Histopatologi Insang dan Hepatopankreas pada Udang Windu (*Penaeus monodon Fabricius*) yang Diinfeksi *Vibrio harveyi* Pasca Pemberian Imunostimulan Pili *Vibrio alginolyticus*. Dibawah bimbingan **Prof. Ir. MARSOEDI, Ph. D** dan **Ir. ARNING WILUJENG EKAWATI, MS.**

Histopatologi pada udang windu (*Penaeus monodon Fabricius*) sangat penting dalam kaitannya dengan diagnosis penyakit karena salah satu pertimbangan dalam penentuan diagnosis adalah melalui hasil pengamatan terhadap jaringan yang diduga terganggu sehingga dapat merusak sistim organ dalam tubuh yang dapat menyebabkan kematian pada udang windu.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui histopatologi insang dan hepatopankreas pada udang windu yang diberi pili bakteri *vibrio alginolyticus* sebagai imunostimulan pasca uji tantang dengan *vibrio harveyi* dan untuk mengetahui dosis imunostimulan pili *vibrio alginolyticus* yang terbaik pada histopatologi insang dan hepatopankreas pada udang windu (*Penaeus monodon Fabricius*) pasca uji tentang *vibrio harveyi*. Penelitian ini dilaksanakan di Unit Pelaksana Teknis pengembangan Budidaya Air Payau (UPT-PBAP) Bangil Pasuruan, Balai Karantina Ikan (BKI) Juanda Kelas I Surabaya dan laboratorium Mikrobiologi Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya malang, pada bulan Desember 2009-Maret 2010.

Metode yang digunakan adalah metode /eksprimen, sedangkan rancangan percobaan yang digunakan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL). Parameter utama dari penelitian ini adalah pemberian imunostimulan pili *vibrio alginolyticus* dengan konsentrasi 10 µg/ekor, 20 µg/ekor dan 30 µg/ekor serta uji tantang infeksi bakteri *vibrio harveyi*, sedangkan parameter penunjangnya adalah kualitas air pada media pemeliharaan yang meliputi salinitas, suhu, pH dan DO.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada histopatologi insang dan hepatopankreas udang windu pada perlakuan A (dosis pili 10 µg/ekor) jaringannya mengalami hipertropi (inti membesar) dan vakuolisasi (ronggga sel yang kosong) sehingga dapat menyebabkan fusi (penggabungan antar lamella) serta odema (pembengkakan sel) pada jaringan hepatopankreasnya. Perlakuan B (dosis pili 20 µg/ekor) jaringan masih normal. Perlakuan C (dosis pili 30

$\mu\text{g/ekor}$) jaringannya mengalami vakuolisasi dan hipertropi ringan yang dapat menyebabkan terjadinya fusi ringan juga. Perlakuan D (kontrol infeksi) jaringan sudah nekrosis dan mengalami hiperplasi (bertambahnya inti) yang dapat menyebabkan terjadinya kongesti (pendarahan didalam pembuluh darah) serta terjadi piknotik (peleburan inti) pada hepatopankreas sehingga organ tidak dapat berfungsi dengan normal. Pengamatan histopatologi hepatopankreas dan insang udang windu menunjukkan perlakuan terbaik dengan tingkat kerusakan jaringan paling ringan pada perlakuan B (dosis pili 20 $\mu\text{g/ekor}$) dengan nilai skoring kerusakan 0-5%.

Dari hasil penelitian disarankan bahwa histopatologi insang dan hepatopankreas pada udang windu (*Penaeus monodon Fabricius*) yang diinfeksi *vibrio harveyi* pasca pemberian imunostimulan pili *vibrio alginolyticus* dengan dosis 20 $\mu\text{g/ekor}$.



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
RINGKASAN	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 kegunaan Penelitian	3
1.5 Hipotesis	3
1.6 Tempat dan Waktu.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.)	4
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	4
2.1.2 Habitat dan penyebarannya	7
2.2 <i>Vibrio harveyi</i>	8
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	8
2.2.2 Reproduksi dan Pertumbuhan	9
2.3 <i>Vibrio Alginolyticus</i>	11
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	11
2.3.2 Reproduksi dan Pertumbuhan	12
2.4 Sistem Pertahanan Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.)	12
2.5 Mekanisme Kerja Imuistimulan pili <i>Vibrio Alginolyticus</i>	13
2.6 Histopatologi	15
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	17
3.1 Materi Penelitian	17
3.1.1 Alat	17
3.1.2 Bahan	17
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian	18
3.2.1 Metode Penelitian	18

3.2.2 Variabel Penelitian	18
3.2.3 Rancangan Penelitian	18
3.3 Prosedur Penelitian	20
3.3.1 Persiapan Bak Pemeliharaan	20
3.3.2 Persiapan hewan Uji	20
3.3.3 Metode Kultur <i>Vibrio</i>	21
3.3.4 Proses Pencukuran Pili Bakteri <i>Vibrio alginolyticus</i>	22
3.3.5 Pemberian imunostimulan Pili Bakteri <i>Vibrio alginolyticus</i>	23
3.3.6 Penentuan Dosis Infeksi Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	24
3.3.7 Infeksi <i>Vibrio harveyi</i>	25
3.3.8 Proses Histopatologi	25
a. <i>Tissue Preparation</i> (Persiapan Jaringan)	25
b. <i>Tissue Fixation</i> (Fiksasi Jaringan)	25
c. <i>Tissue Processing</i> (Proses Jaringan)	26
d. <i>Tissue Embedding</i> (Pengeblokan Jaringan)	26
e. <i>Sectioning</i> (Pemotongan)	26
f. <i>Staining</i> (Pewarnaan)	26
g. Pengamatan	27
3.3.9 Alur Penelitian	28
3.4 Parameter Uji	29
3.4.1 Parameter Utama	29
3.4.2 Parameter Penunjang	29
3.5 Analisis Data	29
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Penentuan Dosis Infeksi <i>Vibrio harveyi</i>	31
4.2 Histologi dan Histopatologi udang Windu (<i>Penaeus mondon</i> Fab.)	32
4.2.1 Histologi dan Histopatologi pada insang	32
4.2.2 Histologi dan Histopatologi pada Hepatopankreas	35
4.3 Kualitas Air	39
5. KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Udang Windu (<i>Penaeus mondon</i> Fab.)	4
2. Morfologi Udang Penaeid (<i>Penaeus mondon</i> Fab.)	6
3. Siklus Hidup Udang Laut <i>Penaeidae</i> (<i>Penaeus mondon</i> Fab.)	7
4. <i>Vibrio harveyi</i>	9
5. <i>Vibrio alginolyticus</i>	11
6. Struktur Sel Bakteri	14
7. Denah Penelitian	19
8. Alur Penelitian	28
9. Alur Perhitungan Skoring (Gerak Zigzag)	30
10. Histology Insang Udang Windu (<i>Penaeus mondon</i> Fab.) Tanpa Perlakuan (Kontrol Normal); I: Inti; L: Lamelia; V: Vakuola; KP:Kapiler Lumen	32
11. Histology Insang Udang Windu (<i>Penaeus mondon</i> Fab.) dengan Perlakuan A (Pili 10 µg/ekor+infeksi), Perlakuan B (Pili 10 µg/ekor+ infeksi), Perlakuan C (Pili 10 µg/ekor+infeksi) dan Perlakuan D (Kontrol Infeksi)	33
12. Histologi Hepatopankreas Udang Windu (<i>Penaeus mondon</i> Fab.) Tanapa Perlakuan (Kontrol Normal); I: Inti; L: Lumen; V: Vakuola; S: Sinus; T: Tubuli	36
13. Histopatologi Hepatopankreas Udang Windu (<i>Penaeus mondon</i> Fab.) dengan Perlakuan A (Pili 10 µg/ekor+infeksi), Perlakuan B (Pili 10 µg/ekor +infeksi), Perlakuan C (Pili 10 µg/ekor+infeksi) dan Perlakuan D (Kontrol Infeksi)	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rancangan Perlakuan	19
2. Data Hasil Penentuan Dosis Infeksi Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	31
3. Parameter Kualitas Air pada Media Penelitian	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Gambar Alat dan bahan pada Proses penelitian	46
2. Nilai Skoring pada Histopatologi Insang dan Hepatopankreas Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.)	51
3. Data Kualitas Air Selama penelitian pada Bak Perlakuan	53
4. Proses Analisa pada Penelitian	57

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Usaha perikanan selain untuk memenuhi kebutuhan protein hewani yang secara nasional masih kurang, juga untuk menjaga kelestarian hewan air dan membuka lapangan pekerjaan baru. Usaha perikanan adalah salah satu usaha yang penting karena sudah termasuk dalam usaha ekonomi biaya tinggi (Irawan, 2000). Upaya peningkatan produksi dan ekspor udang windu terus diupayakan baik melalui usaha penangkapan maupun budidaya. Berbagai program telah direncanakan untuk meningkatkan produksi dan ekspor udang baik yang bersifat daerah maupun nasional (Yanto, 2006).

Udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) merupakan salah satu komoditi unggulan pada usaha budidaya perikanan di beberapa negara. Berbagai macam cara dilakukan agar dapat meningkatkan kapasitas produksi udang, mulai dari pembukaan lahan-lahan tambak baru hingga pemanfaatan teknologi dalam bidang pembudidayaan. Permasalahan yang dihadapi adalah terjadinya degradasi lingkungan dan munculnya berbagai macam penyakit (Van de Braak, 2002). Timbulnya sakit dapat di akibatkan infeksi patogen yang dapat berupa bakteri, virus, fungi atau parasit. Penyakit meliputi penyakit infeksi dan bukan infeksi. Penyakit infeksi merupakan masalah utama, meliputi penyakit-penyakit yang disebabkan oleh virus, bakteri, fungi dan parasit (Irianto, 2005).

Berbagai upaya penanggulangan yang telah dilakukan untuk mencegah atau mengobati infeksi bakteri umumnya dengan penggunaan antibiotik. Namun penggunaan antibiotik secara terus menerus akan menimbulkan masalah yaitu resistensi, penimbunan residu obat-obatan di dalam tubuh ikan atau udang dan pencemaran lingkungan yang dapat mempengaruhi organisme perairan lainnya (Prajitno, 2007).

Alternatif pengendalian penyakit pada udang yang telah dilakukan adalah dengan penggunaan vaksin dan imunostimulan non-spesifik. Imunostimulan non-spesifik dapat diberikan pada udang karena udang tidak mempunyai sel memori. Menurut Ellis (1988), imunostimulan merupakan suatu zat yang mempunyai kemampuan untuk meningkatkan ketahanan terhadap penyakit infeksi dengan meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh yang bersifat non-spesifik.

Histopatologi sangat penting dalam kaitannya dengan diagnosis penyakit karena salah satu pertimbangan dalam penentuan diagnosis adalah melalui hasil pengamatan terhadap jaringan yang diduga terganggu. Histopatologi dapat dilakukan dengan mengambil sampel jaringan atau dengan mengamati jaringan setelah kematian terjadi. Dengan membandingkan kondisi jaringan sehat terhadap jaringan sampel dapat diketahui apakah suatu penyakit yang diduga benar-benar menyerang atau tidak (Rahman, 2010). Oleh karena itu, perlu adanya pengamatan jaringan yang terganggu oleh bakteri patogen dengan menggunakan imunostimulan bakteri probiotik.

1.2 Perumusan Masalah

Ada beberapa masalah yang di dapat pada budidaya udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) diantaranya kematian masal yang disebabkan oleh serangan penyakit yang dapat merusak jaringan tubuh udang windu dan sistem kekebalan tubuh pada udang windu yang semakin menurun. Hal yang dapat dilakukan untuk mengatasinya dengan menggunakan imunostimulan pili pada udang windu. Maka perlu diketahui bahwa :

- Bagaimanakah histopatologi insang dan hepatopankreas udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang diberi pili bakteri *Vibrio alginolyticus* sebagai imunostimulan pasca uji tantang dengan *Vibrio harveyi*?

1.3 Tujuan Penelitian

- Untuk mengetahui dosis yang terbaik pada histopatologi insang dan hepatopankreas pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang diberi pili bakteri *Vibrio alginolyticus* sebagai imunostimulan pasca uji tantang dengan *Vibrio harveyi*.

1.4 Kegunaan Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang histopatologi insang dan hepatopankreas pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang sudah di infeksi *Vibrio harveyi* pasca pemberian imunostimulan pili *Vibrio alginolyticus*.

1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga bahwa penggunaan pili *Vibrio alginolyticus* sebagai imunostimulan pasca uji tantang dengan *Vibrio harveyi* tidak mempengaruhi histopatologi insang dan hepatopankreas pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab).

H_1 : Diduga bahwa penggunaan pili *Vibrio alginolyticus* sebagai imunostimulan pasca uji tantang dengan *Vibrio harveyi* mempengaruhi histopatologi insang dan hepatopankreas pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab).

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Unit Pelaksanaan Teknis Pengembangan Budidaya Air Payau (UPT-PBAP) Bangil Pasuruan, Balai Karantina Ikan (BKI) Juanda Kelas I Surabaya dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, pada tanggal 13 Desember 2010-30 Maret 2011.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Penggolongan udang windu secara lengkap berdasarkan ilmu taksonomi hewan menurut Amri (2003), adalah :

Filum	: Arthropoda
Kelas	: Crustacea
Sub Kelas	: Malacostraca
Ordo	: Decapoda
Sub Ordo	: Natantia
Superordo	: Eucarida
Famili	: Penaeidea
Genus	: <i>Penaeus</i>
Spesies	: <i>Penaeus monodon</i>
Nama Lokal	: Udang windu



Gambar 1. Udang Windu (Anonymous^a, 2010)

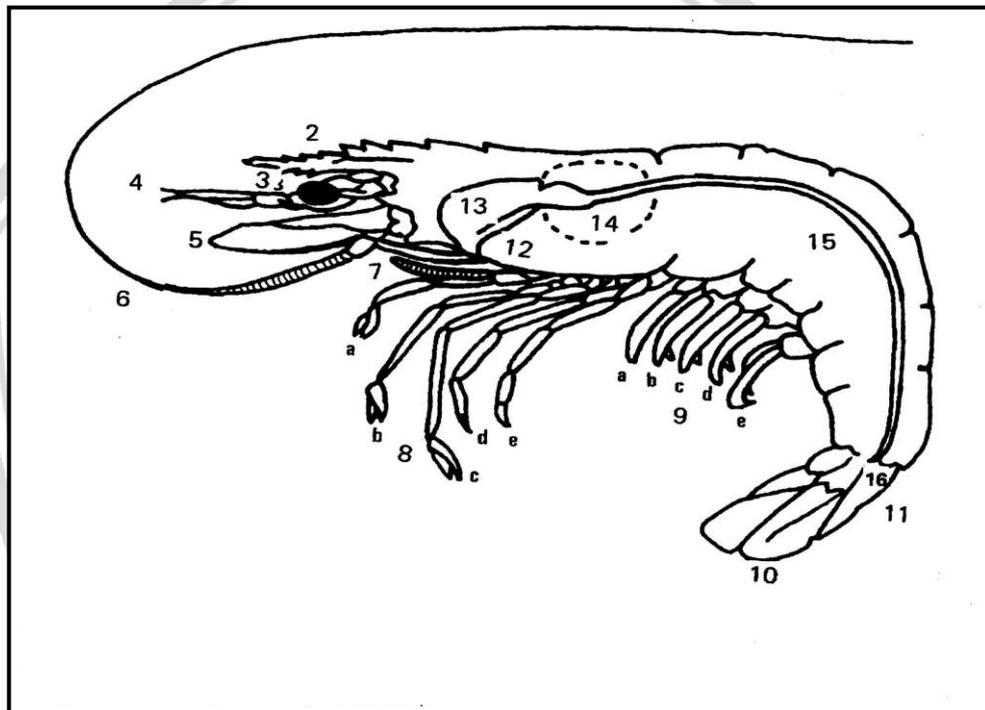
Menurut Suyanto dan Takarina (2009), semua badan udang terdiri dari ruas-ruas yang tertutup oleh kulit keras yang mengandung *chitin*. Tubuh udang terdapat bagian kepala-dada (*cephalothorax*) yang tertutup oleh satu kelopak yang disebut karapas. Karapas mempunyai tonjolan yang meruncing ke arah depan, yaitu *rostrum* (cucuk). Di belakang *cephalothorax* ada bagian badan (*abdomen*) dan ekor. Di bawah pangkal cucuk terdapat sepasang mata majemuk yang bertangkai. Mulut berada di bagian bawah mata. Pada bagian perut terdapat lima pasang kaki renang (*pleopoda*). Alat kelamin pada udang jantan disebut *petasma* dan alat kelamin pada udang betina disebut *thelycum* yang terletak di bagian bawah dada. *Thelycum* berongga berfungsi sebagai menyimpan sperma yang ditempelkan oleh udang jantan bila terjadi perkawinan.

Udang penaeid termasuk hewan heteroseksual yaitu mempunyai jenis kelamin jantan dan betina, masing-masing dapat dibedakan dengan jelas. Udang jantan mempunyai kelamin jantan yang disebut petasma yang terletak pada *pleopoda* (kaki renang) pertama. Adapun lubang saluran kelaminnya terletak di antara pangkal *pereiopoda* (kaki jalan) kelima. Alat kelamin luar betina disebut *thelicum* yang terdapat di antara pangkal *pereiopoda* keempat dan kelima, sedangkan lubang saluran kelamin terletak di antara *pereiopoda* ketiga (Marsoedi dan Achmad, 1992).

Secara nyata, tubuh udang dapat dibedakan menjadi tiga bagian yaitu kepala-dada (*cephalothorax*) yang tertutup oleh satu kelopak yang disebut *karapas*. Lebih rinci, *karapas* mempunyai tonjolan yang meruncing ke arah depan, yaitu *rostrum* (cucuk). *Rostrum* tampak bergerigi pada tepi-tepinya. Di belakang *cephalothorax* ada bagian badan (*abdomen*) dan ekor. Pada kepala terdiri dari lima ruas dan delapan ruas di bagian dada. Masing-masing ruas mempunyai sepasang anggota badan yang memiliki fungsi tersendiri. Seluruh

ruas-ruas tersebut tertutup oleh kulit keras tetapi tipis pada setiap sambungannya sehingga memungkinkan udang bergerak lebih fleksibel (Suyanto dan Enny, 2009).

Bagian eksterior udang penaeid dibedakan atas *cephalothorax* yang memiliki rostrum yang keras dan abdomen yang bersegmen. Hampir seluruh organ seperti insang, sistem pencernaan dan jantung terletak di *cephalothorax* sedangkan ototnya terkonsentrasi di abdomen (Van de Braak, 2002). Lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Morfologi Udang *Penaeid* (Motoh, 1981)

Keterangan :

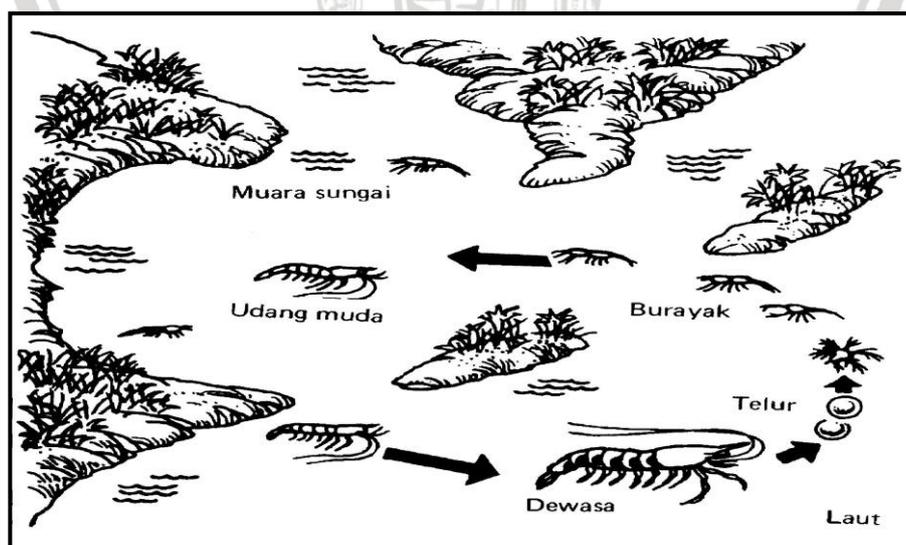
- | | |
|------------------------------|-------------------|
| 1 = Cangkang Kepala | 9 = Kaki Renang |
| 2 = Cucuk Kepala | 10 = Uropoda |
| 3 = Mata | 11 = Telson |
| 4 = Sungut Kecil (Antennula) | 12 = Kerongkongan |
| 5 = Sisik Sungut | 13 = Perut |
| 6 = Sungut | 14 = Hati |
| 7 = Maxilliped | 15 = Usus |
| 8 = Kaki Jalan | 16 = Dubur |

2.1.2 Habitat dan Penyebarannya

Udang windu bersifat *euryhaline* yaitu mampu hidup pada kisaran salinitas yang panjang sekitar 10-30 ppt. Selain itu udang windu juga bersifat *eurythermal* yaitu mampu hidup pada kisaran suhu air yang panjang. Dalam mencari makan udang ini aktif pada malam hari, sedangkan pada siang hari menghabiskan waktunya untuk beristirahat di dalam lumpur atau menempel pada substrat (Armando, Subhan dan Syahid, 2006).

Dalam perkembangan dan pertumbuhannya, larva Udang windu (*Penaeus monodon*) mengalami beberapa kali perubahan bentuk. Telur akan mengambang menuju permukaan laut selama proses perkembangan embrio. Embrio menetas di lingkungan dekat permukaan laut. Embrio udang windu yang baru menetas akan menjadi larva stadia *nauplius*. *Nauplii* akan terbawa oleh ombak ke arah pantai sambil bermetamorfosa menjadi stadia *zoea*, lalu menjadi *mysis* yang memerlukan waktu sekitar 10 hari untuk berkembang. Dari *mysis* selanjutnya akan berubah menjadi stadia *post larva* (PL) (Suyanto dan Takarina, 2009).

Secara umum, siklus hidup udang windu sesuai dengan tingkatannya seperti terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Siklus Hidup Udang Laut *Penaeid* (Motoh, 1981)

Hutan mangrove merupakan habitat udang, hal ini ditandai oleh perpaduan antara tekstur dasar perairan hutan mangrove (berlumpur) dengan sistem perakaran vegetasi penyusun hutan mangrove, terlebih-lebih larva dan udang muda yang kondisinya masih lemah, akan berlindung dari serangan arus dan aliran air yang deras serta terhindar dari binatang pemangsa (Toro dan Soegiarto, 1979).

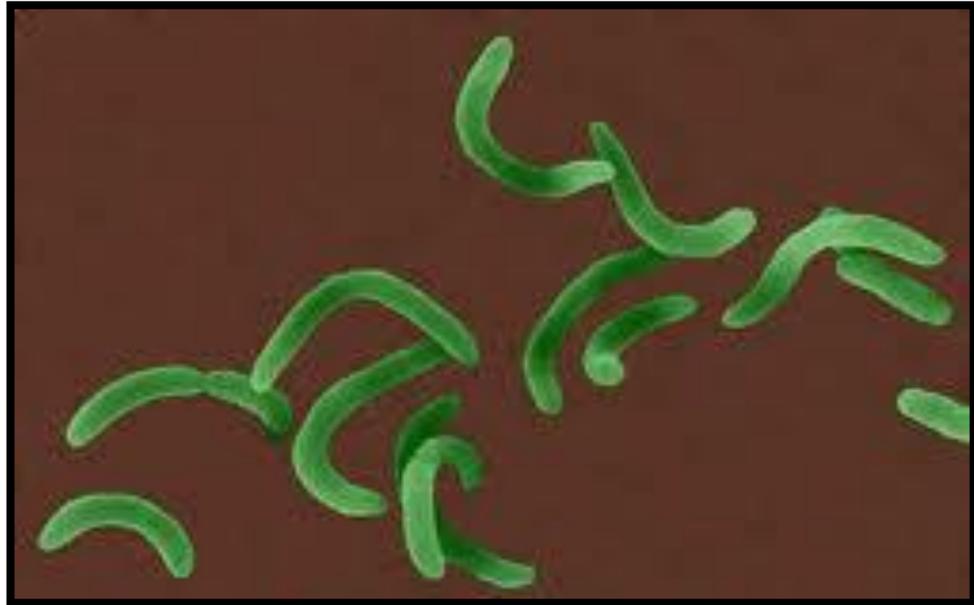
Daerah penyebaran udang windu (*Penaeus monodon*) di daerah Sulawesi Selatan, pantai utara Jawa Tengah, Jawa Timur (Banyuwangi, Situbondo, Tuban dan Madura), D.I. Aceh, Nusa Tenggara Barat dan Kalimantan Timur. Musim benur hampir selalu ada sepanjang tahun tetapi untuk puncak musim terjadi di awal musim hujan yaitu pada bulan Oktober sampai Desember. Perubahan iklim dengan perbedaan suhu, intensitas sinar matahari dan kadar garam yang berubah secara spesifik menjadi perangsang bagi biota untuk berkembang biak di alam (Suyanto dan Takarina, 2009).

2.2. *Vibrio harveyi*

2.2.1. Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Bergey's (1962) dalam Dwidjoseputro (1998), klasifikasi dari *Vibrio harveyi* adalah sebagai berikut :

Phylum	: Protophyta
Klass	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Famili	: Spirillaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Spesies	: <i>Vibrio harveyi</i>



Gambar 4. *Vibrio harveyi* (Anonymous^b, 2010)

Genus *Vibrio* termasuk bakteri gram negatif yang berbentuk lurus atau batang yang bengkok dengan ukuran $0,5-0,3 \mu\text{m} \times 1,4-2,6 \mu\text{m}$. Bakteri ini tidak membentuk spora dan bergerak dengan monotrichous yang dibungkus oleh flagel polar (Prasetio, 2010). Penyakit kunang-kunang atau biasa disebut sebagai penyakit udang menyala (*luminescent vibriosis*) berdasarkan identifikasi yang telah dilakukan merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi*. Berbentuk batang bisa lurus maupun bentuk koma, bergerak dengan menggunakan polar *flagella*, *fermentative* dan *cytochrom oksidase positif*, sensitif terhadap *vibriostat* (Richard dan Robert 1978 dalam Maftuch, 2006).

Semua jenis *Vibrio* bersifat anaerobik fakultatif dan kemoorganotrof serta sebagian besar bersifat oksidatif positif bentuk koloni halus, bulat cembung, berwarna krem dan akan tampak selama inkubasi 48 jam pada suhu 20°C dalam media non selektif (Hjeltnes dan Roberts, 2000 dalam Sudianto, 2010).

2.2.2 Reproduksi dan Pertumbuhan

Bakteri ini terjadi dengan proses yang disebut pembelahan biner. Bakteri-bakteri tersebut membelah dengan cara memanjangkan sel diikuti dengan

pembelahan sel yang membesar menjadi dua sel masing-masing kemudian membelah menjadi dua (Volk dan Wheeler, 1993).

Bakteri *V. harveyi* dan *V. splendidus* pada media agar dapat menghasilkan cahaya. Cahaya yang dihasilkan oleh bakteri ini diatur oleh sistem enzim yaitu enzim luciferase yang berfungsi sebagai katalisator dalam oksidasi flavin mononukleotida dan aldehid alifatik rantai panjang menjadi flavin mononukleotida asam lemak dan cahaya (Prajitno, 2005).

Vibrio harveyi bersifat anaerobic fakultatif dimana metabolismenya dapat dilakukan dengan oksigen ataupun tanpa oksigen (fermentasi), selain itu bakteri ini dapat tumbuh dengan baik pada media mineral yang mengandung ammonium, karbon sederhana dan glutamate (Holt, 1979 dalam Prasetio, 2010).

Pada umumnya bakteri *Vibrio spp.* tumbuh secara optimal pada suhu 30-35°C, salinitas optimum antara 20-30 ppt dan pH optimum berkisar antara 7,5-8,5. Bakteri *Vibrio spp* termasuk bakteri kemoorganotropik, dapat tumbuh dalam medium mineral yang mengandung d_glukosa dan NH₄Cl (Bauman, Furniss dan Lee, 1984).

Menurut Prajitno (2007), sifat patogenitas bakteri *Vibrio harveyi* adalah sebagai berikut :

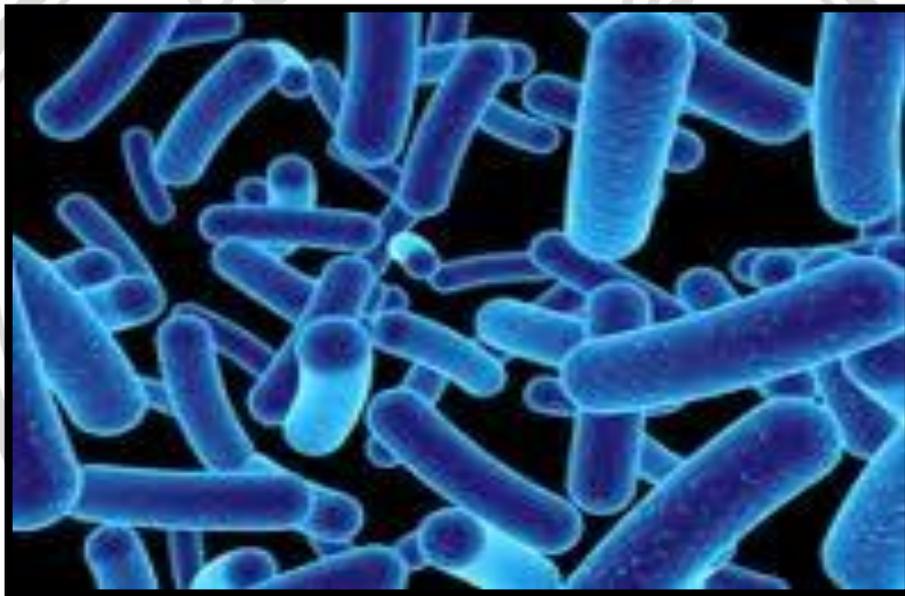
- Serangan terjadi secara cepat dan menimbulkan kematian total.
- Udang yang terserang biasanya hancur sehingga bangkainya tidak kelihatan.
- Bakteri ini dapat memusnahkan larva dalam waktu 1-2 hari sejak serangan awal.
- Mudah menular melalui pakan, air, peralatan dan aktivitas manusia.
- Dapat menyerang sepanjang tahun tapi cenderung terjadi pada saat perubahan iklim atau suhu yang mendadak.

2.3 *Vibrio alginolyticus*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *Vibrio alginolyticus* menurut Fahri (2009) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Vibrionales
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Species	: <i>Vibrio alginolyticus</i>



Gambar 5. *Vibrio harveyi* (Anonymous^c, 2010)

Vibrio alginolyticus dicirikan dengan berwarna kuning, diameter 3-5 μm . Pertumbuhannya bersifat bergerombol (*Swarm*) pada media padat selektif. Ciri yang lain adalah gram negatif, motil bentuk batang, dan mempunyai sifat fermentatif, katalase, oksidase, methyl red, H_2S glukosa, laktosa, dan manitol positif. Sedangkan sellobiosa, fruktosa dan galaktosa negatif). membentuk kolom berukuran 0.8-1.2 cm yang berwarna kuning pada media TCBSA. Bakteri *Vibrio*

alginolyticus memiliki flagelata yang bercabang ke samping dan bergerombol dalam media padat kompleks (Feliatra, 1999).

2.3.2 Reproduksi dan Pertumbuhan

Bakteri *V. Alginolyticus* hanya mengenal satu macam pembiakan, yaitu aseksual atau vegetatif dengan cara membelah diri. Pembentukan ini terjadi dalam kurun waktu yang singkat, jika faktor-faktor lingkungannya menguntungkan. Pembelahan diri ini dibagi menjadi tiga fase menurut (Dwijoseputro, 1998), yaitu :

- Fase pertama, sitoplasma terbelah oleh sekat yang tumbuh tegak lurus pada arah memanjang.
- Fase selanjutnya, sekat diikuti oleh suatu dinding yang melintang.
- Fase yang terakhir adalah terpisahnya kedua sel.

2.4 Sistem Pertahanan Udang Windu

Sistem pertahanan tubuh udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) tidak mempunyai kemampuan mengingat antigen dan merupakan sistem kekebalan nonspesifik. Udang tidak memiliki antibodi dan karena itu mekanisme pertahanan tubuhnya sangat mengandalkan sistem imunitas bawaan (*innate imunity*) dalam membasmi patogen yang masuk ke dalam tubuhnya (Sritunyalucksana, 2000).

Menurut Marsoedi (2007) dalam Prasetio (2010), imunostimulan adalah sekelompok senyawa biologi sintesis yang dapat meningkatkan respon imun non spesifik. Keistimewaan imunostimulan adalah sifatnya yang tidak spesifik, artinya bahan tersebut mampu merangsang peningkatan ketahanan udang dan ikan terhadap berbagai penyakit.

Eksoskeleton adalah pertahanan pertama tubuh udang dalam mencegah infeksi penyakit melalui lendir yang dihasilkan oleh sel-sel ephitel terluar. Apabila eksoskeleton ini gagal menangkai masuknya patogen ke dalam tubuh maka selanjutnya mengandalkan pertahanan internal dalam merespon infeksi

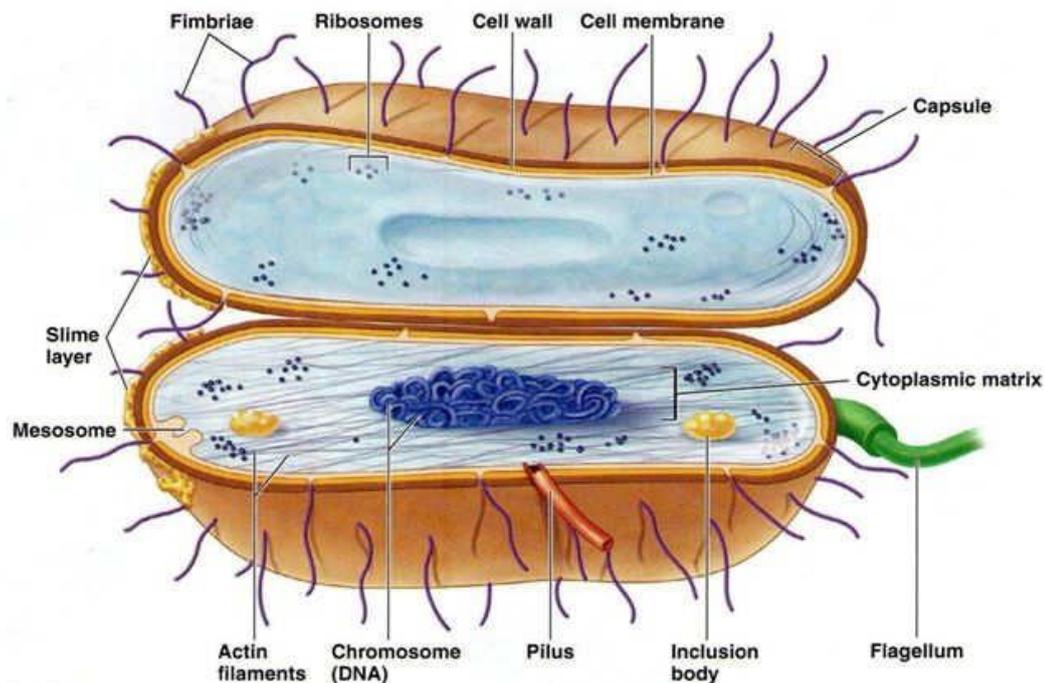
tersebut melalui respon seluler dan humoral (Supamattaya, Chittiwan dan Boonyaratpalin, 2000).

Invertebrata termasuk udang tidak dilengkapi dengan sel dan tidak memiliki memori seperti halnya pada ikan yang dapat memproduksi antibodi oleh limfosit dan memiliki memori secara spesifik. Oleh karena itu, udang sangat tergantung pada mekanisme imun non spesifik untuk melawan infeksi. Menurut (Danwattananusorn, 2009 *dalam* Sudioanto, 2010), substansi immunostimulan dapat dikelompokkan dalam:

- (a) struktur elemen bakteri (*lipopolysaccharides* / LPSs, *peptidoglycans* / PGs, *lipopeptides*, *capsular glycoprotein* dan *muramyl peptides*)
- (b) variasi β 1,3 glucan dari dinding sel fungi; (c) β 1,3 / 1,6-glucan dari dinding sel *baker's yeast*
- (d) struktur karbohidrat (*glycans*) dari rumput laut
- (e) *peptides* dalam ekstrak termasuk hewan atau enzim hidrolisis protein ikan
- (f) *nukleotides* dan
- (g) produk sintesis

2.5 Mekanisme Kerja Immunostimulan Pili *V. alginolyticus*

Pili atau *fimbriae* merupakan *appendages* seperti rambut yang lebih kecil dan lebih pendek dari flagel. Banyak terdapat pada bakteri gram negatif. Pili yang mampu mentransfer sejumlah gen kepada bakteri lain. *Fimbriae* berfungsi sebagai alat untuk melekatkan diri pada sel inang. Pada beberapa bakteri, permukaan selnya dikelilingi oleh puluhan sampai ratusan pili, dengan panjang 12 nm. Pili dapat berfungsi sebagai jalan pemindahan DNA pada saat konjugasi. (Setiawan, 2010). Struktur sel bakteri dapat dilihat pada Gambar 6 dibawah ini:



Gambar 6. Struktur sel bakteri (Madigan dan Martinko, 2006 dalam Setiawan, 2010)

Austin (2004) dalam Sudianto (2010), menyatakan bahwa bakteri *Vibrio alginolyticus* merupakan bakteri yang patogenik pada golongan ikan tetapi tidak patogenik pada udang. Di samping itu, bakteri tersebut bersifat sebagai probiotik yang ketika dikultur bersama udang dapat menurunkan total *Vibrio harveyi* di perairan (yang sangat patogenik pada udang) dan meningkatkan kesehatan udang budidaya. Penelitian lain yang sangat menunjang dilakukan Murdjani (2002), yang dapat mengeksplorasi produk ekstraseluler (ECP) *Vibrio alginolyticus* merupakan protein virulen yang dapat membangkitkan respon imun. Oleh karena itu peneliti memandang pili bakteri *Vibrio alginolyticus* dipandang sebagai bahan yang sangat penting untuk dijadikan sumber kajian pembangkit respon imun pada udang.

Penelitian yang dilakukan oleh Guterres (2010) menunjukkan bahwa protein pili *V. alginolyticus* memiliki potensi antagonistik terhadap *V. harveyi* karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*. Semakin tinggi

konsentrasi pili *V. alginolyticus* yang diberikan, maka daerah hambatan yang diberikan semakin besar. Hal ini disebabkan semakin tinggi konsentrasi pili *V. alginolyticus* maka jumlah senyawa antibakterinya semakin tinggi, sehingga daya hambat terhadap bakteri akan semakin tinggi pula.

Mekanisme kekebalan tubuh pada udang tidak seperti pada ikan dan mamalia yang mempunyai imunoglobulin. Imunoglobulin pada udang digantikan oleh *Prophenoloxidase Activating Enzim* (PPA) (Soderhall dan Holmblad, 1998). PPA adalah protein yang berlokasi di sel granular hemosit. PPA ini dapat diaktifkan oleh lipopolisakarida dan β 1,3-Glukan, yang akan merangsang *prophenoloksidase* menjadi *phenoloksidase*. Sebagai akibat dari perubahan ini akan dihasilkan protein *Opsonin Factor* yang dapat menginduksi sel-sel hyalin untuk melakukan proses fagositosis (internalisasi partikel asing yang kecil melalui sel - sel individu) (Johansson dan Soderhall, 1989 *dalam* Sudianto, 2010).

2.6 Histopatologi

Histopatologi adalah ilmu biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit yang bertujuan untuk melihat kemungkinan adanya mikroorganisme yang bersifat patogen dalam jaringan hewan atau manusia. Histopatologi juga bermanfaat untuk membedakan luka akibat racun atau bakteri dengan struktur normal (Rahman, 2010).

Teknik histopatologi merupakan suatu cara yang dilakukan untuk melihat perubahan metabolisme dari perubahan jaringan yang terjadi. Pemeriksaan dapat dilakukan terhadap udang yang sakit, diduga sakit dan yang sudah mati. Pemeriksaan kondisi udang di tempat pemeliharaan dan lingkungan sangat membantu dalam menentukan diagnosis penyakit (Kurniasih, 1999 *dalam* Rahman, 2010).

Insang merupakan komponen penting dalam pertukaran gas. Insang terbentuk dari lengkungan tulang rawan yang mengeras, dengan beberapa filamen insang di dalamnya. Tiap-tiap filamen insang terdiri atas banyak lamella. Struktur lamella tersusun atas sel-sel epitel yang tipis pada bagian luar, membran dasar dan sel-sel tiang sebagai penyangga pada bagian dalam. Pinggiran lamella yang tidak menempel pada lengkung insang sangat tipis, ditutupi oleh epitelium dan mengandung jaringan pembuluh darah kapiler (Setiawan, 2010).

Secara visual warna udang menjadi merah pada setiap segmen, insang dan tubuh ditempeli oleh organisme epikomensial (Madeali, Tompo dan Muliani 1998). Kerusakan sel-sel insang ini menyebabkan gangguan sistem pernafasan, sehingga udang sering naik ke permukaan dan berenang ke pinggir tambak. Organ hepatopankreas pada udang berfungsi sebagai pusat metabolisme tubuh. Organ tubuh udang yang sering diserang oleh bakteri adalah hepatopankreas, apabila hepatopankreas sudah terserang maka udang akan mengalami gangguan pada metabolisme yang menyebabkan pembusukan sel dan lisis sel, pertumbuhan lambat, pergerakan lambat dan kematian pada udang tidak dapat dihindari (Yanto, 2006). Oleh karena itu, dalam pengamatan histopatologi dilakukan pada insang dan hepatopankreas udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang di infeksi *V. harveyi* pasca pemberian imunostimulan pili *V. alginolyticus* untuk dilihat tingkat kerusakannya akibat serangan bakteri tersebut.

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini (gambar pada Lampiran 1) adalah:

- Bak perlakuan
- Mikropipet
- Alat pengukur kualitas air (Refraktometer, pH meter, DO meter dan thermometer)
- Vortex
- Cover glass
- Objek glass
- Timbangan Sartorius
- Wax Dispenser
- Mikroskop
- Tissue Processor
- Blower
- Casset
- Appendorf
- Base mold
- Sput
- Mikrotom

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini (gambar pada Lampiran 1) adalah:

- Udang windu (*Penaeus monodon* Fabricius)
- Adjuvant Incomplete
- Tip
- Pili bakteri *Vibrio alginolyticus*
- Pellet
- Xylene
- Bakteri *Vibrio harveyi*
- Hepatopankreas udang windu
- Air laut
- Insang udang windu
- NaCl
- Eosin dan Haemotoxin
- Adjuvant Complete

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Nazir (2005) penelitian eksperimental adalah penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap obyek penelitian serta adanya kontrol.

Tujuan penelitian eksperimental adalah untuk menyelidiki kemungkinan saling hubungan sebab-akibat dengan cara mengenakan kepada satu atau lebih kelompok eksperimental satu atau lebih kondisi perlakuan dan membandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan (Suryabrata, 2006).

3.2.2 Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan objek yang akan diamati. Menurut Surachmad (1994), bahwa terdapat 2 variabel dalam suatu penelitian yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul akibat dari pengaruh variabel bebas. Pada penelitian ini, variabel bebas dan variabel terikat adalah sebagai berikut :

- Variabel bebas : penggunaan immunostimulan pili *Vibrio alginolyticus* yang berbeda
- Variabel terikat : histopatologi insang dan hepatopankreas udang windu

3.2.3 Rancangan Penelitian

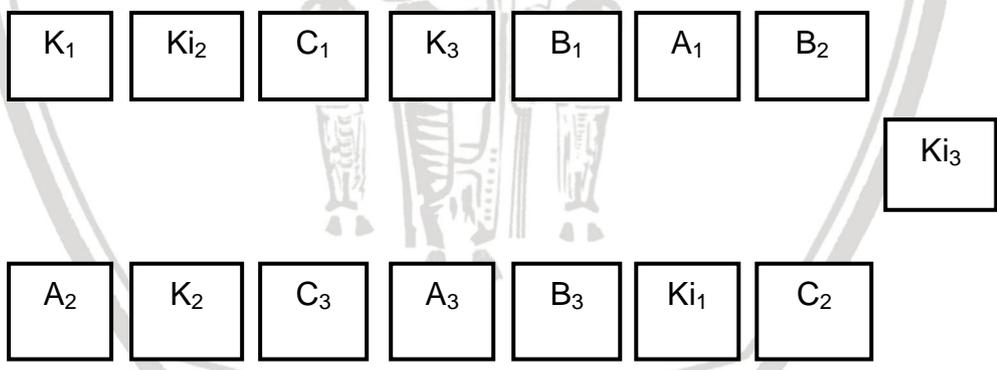
Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Variabel bebas berupa perlakuan pemberian immunostimulan pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 10, 20 dan 30 µg/ekor serta uji tantang infeksi *V. harveyi* dengan cara perendaman 10^7 sel/ml. Untuk mempermudah dalam menganalisis diperlukan kontrol-kontrol sebagai

pembandingan yaitu kontrol normal (tanpa pemberian imunostimulan serta tanpa infeksi bakteri *V. harveyi* dan kontrol infeksi yaitu tanpa pemberian imunostimulan serta dilakukan infeksi bakteri *V. Harveyi*). Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sehingga jumlah total sampel yang diamati adalah sebanyak 15 termasuk kontrol. Rancangan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rancangan Perlakuan

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
K	K 1	K 2	K 3
Ki	Ki 1	Ki 2	Ki 3
A	A 1	A 2	A 3
B	B 1	B 2	B 3
C	C 1	C 2	C 3

Untuk denah penelitian yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Denah Penelitian

Keterangan:

- K : Kontrol normal (tanpa pemberian imunostimulan pili *V. alginoliticus* serta tanpa infeksi bakteri *V. harveyi*) pada ulangan ke-n.
- Ki : Kontrol infeksi (tanpa pemberian imunostimulan pili *V. alginoliticus* serta pemberian infeksi bakteri *V. harveyi*) pada ulangan ke-n.



- A : Perlakuan pemberian imunostimulan pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 10 µg/ekor serta ujiantang infeksi bakteri *V. harveyi* pada ulangan ke-n.
- B : Perlakuan pemberian imunostimulan pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 20 µg/ekor serta ujiantang infeksi bakteri *V. harveyi* pada ulangan ke-n.
- C : Perlakuan pemberian imunostimulan pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 30 µg/ekor serta ujiantang infeksi bakteri *V. harveyi* pada ulangan ke-n.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Bak Pemeliharaan

Bak plastik yang berdiameter 46 cm dengan kapasitas 40 l dan tinggi bak 30,16 cm direndam menggunakan air selama kurang lebih tiga hari kemudian dibilas dengan menggunakan air bersih dan dikeringkan. Bak yang telah bersih diisi dengan air dan di aerasi secara terus-menerus selama 3 hari untuk menjaga kandungan oksigen terlarut.

3.3.2 Persiapan Hewan Uji

Udang windu diperoleh dari tambak di sekitar lokasi UPT Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil, Kabupaten Pasuruan dengan berat rata-rata $20 \pm 0,81$ gr disiapkan terlebih dahulu, udang berumur rata-rata 3 bulan sebanyak 45 ekor (penelitian pendahuluan penentuan dosis infeksi bakteri *V. harveyi*) dan 75 ekor (penelitian inti). Udang di aklimatisasi dalam bak perlakuan dengan kapasitas 30 l air dengan tinggi air 24,75 cm. Masing-masing bak diisi 5 ekor udang yang diadaptasi selama 3 hari. Selama masa pemeliharaan diberikan pakan komersil berupa pelet sebanyak 3 kali per hari setiap pukul 07.00 wib sebesar 1,5% dari berat tubuh udang, kemudian pada pukul 15.00 wib dan 21.00

wib secara *ad libitum* (apabila pakan tersebut habis maka setiap waktu pemberian pakan diberikan pakan sebesar 1,5% dan apabila pakan tersebut tidak habis maka akan diberi makan secukupnya).

Untuk menaikkan salinitas air pemeliharaan pada bak perlakuan selama penelitian dilakukan pengukuran salinitas setiap pagi hari dengan menggunakan refraktometer. Pada bak perlakuan yang sudah berisi air 30 l dengan salinitas air tambak sebesar 5 ppt akan digunakan masa adaptasi udang. Setelah itu salinitas dinaikkan sebesar 8 ppt sampai 26 ppt secara perlahan-lahan selama 2 minggu dengan cara air yang sudah terbuang akibat penyifonan setiap pagi hari akan ditambahkan air laut yang bersalinitas 29 ppt sampai volume air di dalam bak 30 l kemudian dilakukan pengukuran salinitas dari setiap bak perlakuan untuk mengetahui besarnya salinitas yang diinginkan.

3.3.3 Metode Kultur *Vibrio*

Pada proses pengkayaan *Vibrio* dibutuhkan beberapa media yaitu media TCBSA (5gr *Yeast Extract Powder*, 10gr *Bacteriological Pepton*, 10gr *Sodium thosulphate*, 10gr *Sodium Citrat*, 8gr *Ox Bile*, 20gr Sukrosa, 10gr *Sodium Chloride*, 1gr *Ferrc Citrat*, 0.04gr *Bro-thymol blue*, 0.04gr *Thymol-blue*, 14gr Agar No.1), TSA (15gr *Tryptone*, 5gr *Soya Peptone*, 5gr *Sodium Chloride*, 15gr Agar) dan TSB (17gr *Pandreatic Digest of Casein*, 3gr *Papaic Digest of Soybean Meal*, 5gr *Sodium Chloride*, 2.5gr *Dibasic Potassium Phosphate*, 2.5gr *Dextrose*). Setelah media kultur yang dibutuhkan sudah siap maka langkah selanjutnya yaitu sterilisasi jarum ose lengkung dengan pemanasan diatas bunsen hingga pijar. Setelah ose panas dipastikan dingin dan bakteri *Vibrio* diambil dari stock dengan cara menyentuhkan ujung ose pada stock, goreskan dipermukaan media TCBSA dengan metode streaking kuadran untuk mendapatkan koloni terpisah. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Koloni murni yang tumbuh diidentifikasi ulang

untuk memastikan spesies bakteri. Apabila sudah terbukti spesies *Vibrio harveyi* maka dilakukan kultur pengkayaan untuk memproduksi dalam jumlah yang besar.

Dalam proses pengkayaan, koloni murni diambil dengan ose steril kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi media cair TSB. Erlenmeyer ditutup dengan kapas steril, setelah itu dimasukkan ke dalam *shaker waterbath* dan diinkubasi pada suhu 30°C dengan kecepatan *shaking* 100 rpm selama 2x24 jam. Hasil kultur diamati dibawah mikroskop dengan pewarnaan gram untuk memastikan tidak adanya kontaminasi. Dalam pewarnaan gram dibuat sediaan diatas kaca obyek, dikeringkan pada suhu kamar, jika sudah kering difiksasi dengan cara dipanaskan diatas nyala api 3-4 kali lalu dibiarkan dingin, setelah dingin diletakkan di atas rak pewarnaan dan dituangkan larutan kristal violet diatas sediaan, diamkan selama 1 menit. Sediaan dibilas dengan air, kemudian dituangi larutan lugol diamkan 1 menit dan bilas dengan air lagi. Sediaan di lunturkan dengan Alkohol 96% hingga warna violet memudar dan bilas dengan air. Kemudian sediaan dituangi larutan safranin diamkan 30 detik, dibilas dengan air, dikeringkan. Sediaan yang sudah kering dilakukan pengamatan dibawah mikroskop perbesaran 100 kali dengan minyak imersi.

Kepadatan bakteri kultur ditera dengan Mc Farland atau *Spectrofotometer* sehingga mendapatkan bakteri *Vibrio harveyi* dengan kepadatan 10^9 sel/ml. Dari hasil pengukuran OD (*Optical Dencity*) lakukan pengenceran sesuai dengan kepadatan bakteri yang diinginkan yaitu 10^7 sel/ml.

3.3.4 Proses Pencukuran Pili Bakteri *V. alginolyticus*

Proses pencukuran pili bakteri *Vibrio alginolyticus* menurut Ehara, Ishibasi, Ichinose, Iwanaga, Shimotori and Naito (1988) diawali dengan pencucian hasil biakan kepadatan bakteri $>10^9$ sel/ml pada media BHI dan TCG dengan cara

menambah larutan TCA sebanyak 3%. Bakteri yang telah dicuci kemudian dituang ke dalam botol sentrifugasi dan disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang dihasilkan kemudian dibuang sedangkan pada endapan (pelet) dilakukan sentrifugasi lagi. Endapan (pelet) hasil pencucian bakteri kemudian disuspensi dengan PBS pH 7,4 dan dicukur dengan *omnimixer full speed* selama 1 menit. Hasil cukuran dimasukkan dalam eppendorf dan disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 12.000 rpm pada suhu 4°C. Supernatan hasil sentrifugasi tersebut diambil dan dimasukkan dalam *eppendorf* dan disimpan pada suhu 4°C. Bagian endapan (pelet) diberi PBS dengan perbandingan 1:1 kemudian dicukur dengan *omnimixer* dan disentrifugasi dingin sebanyak 5 kali.

3.3.5 Pemberian Imunostimulan Pili Bakteri *Vibrio alginolyticus*

Pemberian imunostimulan pili bakteri *Vibrio alginolyticus* dilakukan dengan cara injeksi di bagian ventral udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) pada abdomen kedua sebanyak 50 µl (*booster* pertama). Injeksi kedua (*booster* kedua) dilakukan selang waktu satu minggu dari injeksi pertama dengan dosis yang sama seperti pada *booster* pertama. Pada pemberian imunostimulan pili 10 µl/ekor, 20 µl/ekor dan 30 µg/ekor untuk mendapatkan 50 µl yang harus disuntikkan ke tubuh udang dengan perhitungan menurut Maftuch (2006) di bawah ini:

- Dosis Imunostimulan Pili 10 µg/ekor

$$\text{Pili yang dibutuhkan} = 0,38889 \mu\text{l}$$

$$\text{Nafis yang dibutuhkan} = \text{adjuvant} - \text{pili}$$

$$= (1/2 \times 50 \mu\text{l}) - 0,38889 \mu\text{l}$$

$$= 25 \mu\text{l} - 0,38889 \mu\text{l}$$

$$= 24,61 \mu\text{l}$$

- Dosis Imunostimulan Pili 20 µg/ekor

Pili yang dibutuhkan = 0,77778 µl

$$\begin{aligned} \text{Nafis yang dibutuhkan} &= \text{adjuvant} - \text{pili} \\ &= (1/2 \times 50 \mu\text{l}) - 0,77778 \mu\text{l} \\ &= 25 \mu\text{l} - 0,77778 \mu\text{l} \\ &= 24,22 \mu\text{l} \end{aligned}$$

- Dosis Imunostimulan Pili 30 µg/ekor

Pili yang dibutuhkan = 1,16667 µl

$$\begin{aligned} \text{Nafis yang dibutuhkan} &= \text{adjuvant} - \text{pili} \\ &= (1/2 \times 50 \mu\text{l}) - 1,16667 \mu\text{l} \\ &= 25 \mu\text{l} - 1,16667 \mu\text{l} \\ &= 23,83 \mu\text{l} \end{aligned}$$

3.3.6 Penentuan Dosis Infeksi Bakteri *Vibrio harveyi*

Untuk menentukan dosis infeksi bakteri *V. harveyi* juga dilakukan di UPTBPBAP Bangil, Pasuruan. 45 ekor udang yang telah dipersiapkan di bagi dalam 3 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Perlakuan terdiri atas kontrol (tanpa infeksi), perendaman bakteri *V. harveyi* dengan dosis 10^6 dan 10^7 sel/ml dalam 15 l air selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah udang yang mati setelah 24 jam. *Vibrio harveyi* yang digunakan memiliki kepadatan awal 10^9 sel/ml dan dilakukan pengenceran hingga mencapai kepadatan 10^7 sel/ml pada bak perlakuan dengan perhitungan menurut Ekawati (2005) sebagai berikut:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 10^9 = 15 \text{ l} \times 10^7$$

$$V_1 = 15 \text{ l} \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{15 \text{ l} \times 10^7}{10^9}$$

$$V_1 = 0,15 \text{ l} = 150 \text{ ml}$$

Sehingga dibutuhkan 150 ml *Vibrio harveyi* dari kepadatan 10^9 sel/ml yang ditambahkan dengan 14.850 ml air laut untuk didapatkan media perlakuan dengan kepadatan *Vibrio harveyi* 10^7 sel/ml dalam 15 l air laut.

3.3.7 Infeksi *Vibrio harveyi*

Infeksi bakteri dilakukan satu minggu setelah *booster* kedua dengan cara perendaman udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) dengan bakteri *Vibrio harveyi* kepadatan 10^7 sel/ml dalam 15 l air selama 24 jam. *Vibrio harveyi* mempunyai kepadatan awal 10^9 sel/ml dan dilakukan pengenceran hingga mencapai kepadatan 10^7 sel/ml pada bak perlakuan. Setelah 24 jam *pasca* infeksi tersebut dilakukan pengambilan organ insang dan hepatopankreas. Pada pengambilan insang dan hepatopankreas hanya pada udang windu yang hampir mati.

3.3.8 Proses Histopatologi

Prosedur pembuatan histopatologi pada udang menurut Tim Balai Karantina Ikan Juanda (2005), dibagi atas beberapa tahapan sebagaimana berikut:

a. *Tissue Preparation* (Persiapan Jaringan)

Pada persiapan jaringan terlebih dahulu udang disuntik pada bagian kepala kanan kiri dengan larutan fiksasi yaitu *Davidson's* sebanyak 2 ml.

b. *Tissue Fixation* (Fiksasi Jaringan)

Cephalothorax dan abdomen dipisahkan dengan cara dipotong. Karapas yang menutupi insang digunting agar larutan fiksasi masuk ke dalam insang. *Cephalothorax* di fiksasi ke dalam *Davidson's* selama 24-48 jam. Setelah 24 jam *cephalothorax* di fiksasi, jaringan insang dan hepatopankreas diambil kemudian

di fiksasi lagi dengan *Davidson's* selama 24 jam untuk memastikan bahwa jaringan tersebut sudah terfiksasi dengan benar.

c. *Tissue Processing* (Proses Jaringan)

Jaringan insang dan hepatopankreas dimasukkan *cassette* dan dibilas dengan air mengalir agar jaringan bersih dari larutan *Davidson's*. *Cassette* yang sudah berisi jaringan dimasukkan ke dalam alkohol 70%, 80%, 80%, 85%, 100%, 100%, 100% secara berurutan @ selama 2 jam. Setelah itu jaringan masuk ke dalam xylene 3 kali ulangan @ selama 30 menit. Langkah yang terakhir pada proses jaringan yaitu jaringan dimasukkan ke dalam paraffin cair 2 kali ulangan @ selama 2 jam. Dalam proses jaringan ini menggunakan *tissue processor* sehingga jaringan dikendalikan oleh mesin.

d. *Tissue Embedding* (Pengeblokan Jaringan)

Jaringan diambil didalam *cassette* dan dipindahkan ke *blok mold* dengan cepat. Jaringan diparaffin sampai menutupi bagian jaringan tersebut kemudian ditutup dengan *cassette* sebagai penutup. *Mold* yang sudah diparaffin dimasukkan kedalam *cold plate* untuk didinginkan. Setelah didinginkan akan mendapatkan jaringan blok.

e. *Sectioning* (Pemotongan)

Ketika blok sudah padat diletakkan pada *holder microtom*. Permukaan blok dipotong bagian tepinya sehingga hanya disisakan bagian paraffin yang ada jaringannya. Setelah posisi jaringan diatur sedemikian rupa agar ayatan sejajar dengan mata pisau, maka dilakukan pemotongan jaringan dengan ketebalan 5 μ . Hasil potongan yang tipis dan menyerupai pita diletakkan diatas permukaan air didalam *waterbath* (40°C) sampai jaringan mengembang dengan baik. Jaringan

kemudian diangkat menggunakan obyek glass dan dikeringkan menggunakan *slide drying bench* selama 10 menit.

f. *Staining* (Pewarnaan)

Pewarnaan histopatologi menggunakan *Harris's* Hematoksilin dan Eosin dengan langkah sebagai berikut :

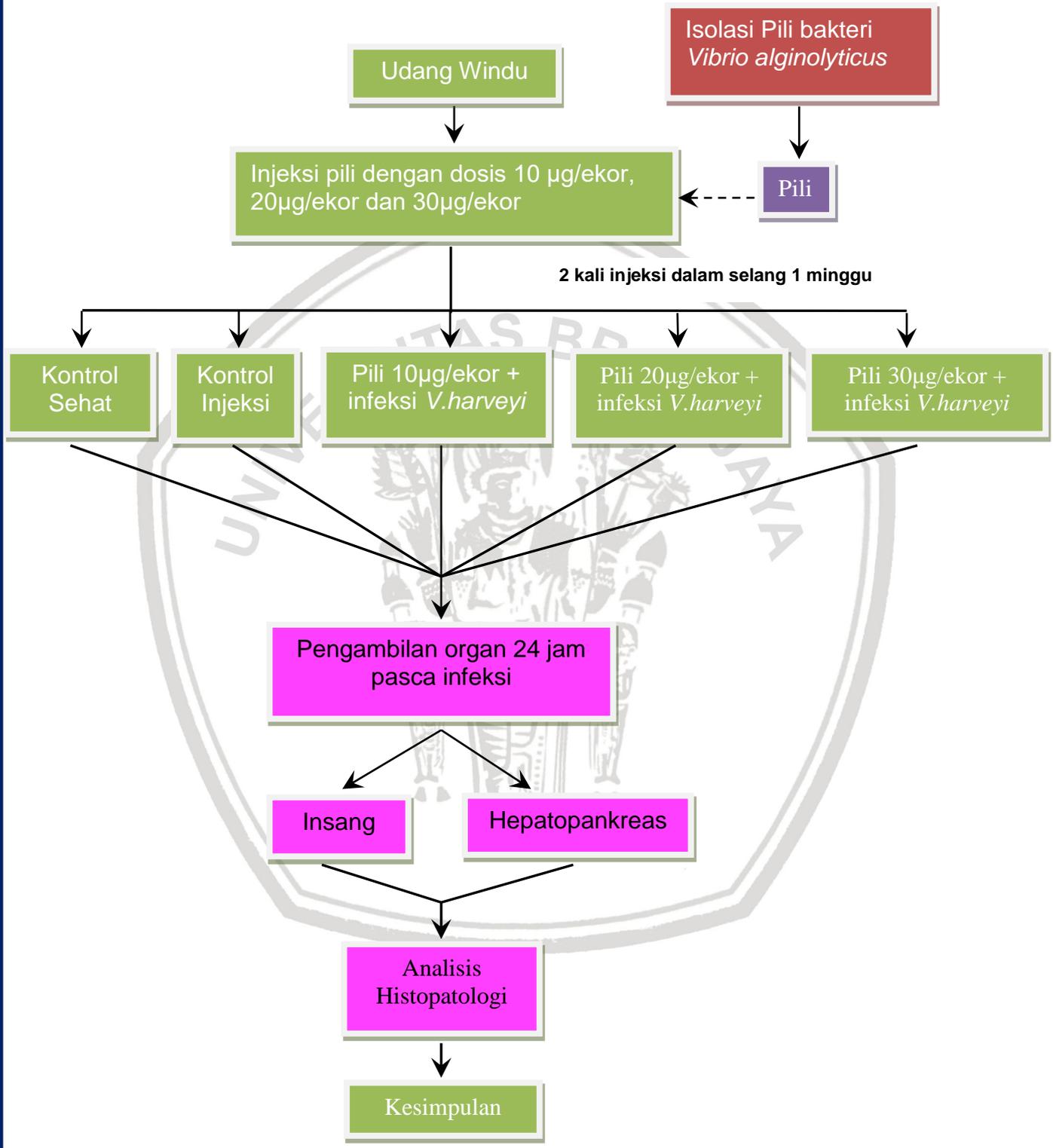
- *Xylene* – 5 menit
- *Xylene* – 5 menit
- 100% alkohol – 1 menit
- 100% alkohol – 1 menit
- 95% alkohol – 1 menit
- 95% alkohol – 1 menit
- Hematoxilin – 10 menit
- Aquades – 4 celup
- *Acid alcohol* – 4 celup
- Air mengalir – 10 menit
- Eosin – 2 menit
- 95% alkohol – 2 celup
- 95% alkohol – 2 celup
- 100% alkohol – 1 menit
- 100% alkohol – 1 menit
- *Xylene* – 2 menit
- *Xylene* – 2 menit
- *Xylene*–2menit

g. Pengamatan

Pengamatan jaringan insang dan hepatopankreas dilakukan dengan menggunakan mikroskop yang langsung disambungkan ke kamera digital. Hasil pengamatan dibandingkan antara jaringan normal dengan jaringan yang mengalami kelainan / gejala klinis menggunakan metode semi kuantitatif yang digunakan untuk menghitung jumlah area yang terwarnai dan dilakukan secara manual dengan menghitung persentasenya.

3.3.9 Alur Penelitian

Alur yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Alur Penelitian



3.4 Parameter Uji

3.4.1 Parameter Utama

Parameter utama dalam penelitian ini adalah histopatologi insang dan hepatopankreas udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) diinfeksi *Vibrio harveyi* yang menunjukkan tingkat kerusakan pada jaringan pasca pemberian imunostimulan pili *Vibrio alginolyticus*.

3.4.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah kualitas air yang meliputi salinitas, suhu, DO (oksigen terlarut) dan pH. Pengukuran kualitas air dilakukan selama 2 minggu. Untuk pengukuran DO menggunakan DO meter dan bersamaan dengan pengukuran pH menggunakan pH meter dilakukan 2 hari sekali setiap pukul 14.00 wib, pengukuran suhu dilakukan 3 kali sehari pada pukul 07.00; 15.00 dan 21.00 wib dengan menggunakan termometer yang ditali pada tampar dan ujung termometer menyentuh media air sehingga suhu dapat diamati kapanpun, sedangkan pada pengukuran salinitas dengan menggunakan refraktometer dilakukan sehari sekali setiap pukul 07.00 wib selesai penyifonan pada bak perlakuan.

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini merupakan hasil pengamatan mikroskop. Untuk hasil uji histopatologi insang dan hepatopankreas pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) menggunakan analisis secara deskriptif. Untuk mengetahui tingkat kerusakan jaringan insang dan hepatopankreas udang windu yang telah di imunostimulan pili *V. alginolyticus* dengan dosis berbeda maka dilakukan analisis statistik pemberian skoring menurut (Gaspersz,1991) dengan metode semi kuantitatif menurut Kakkilaya (2002) yang digunakan untuk menghitung jumlah area yang terwarnai dan dilakukan secara manual dengan

menghitung persentasenya. Pembacaan dimulai dari tepi kiri (sesuai dengan posisi ekor preparat) ke arah kepala kemudian turun ke bawah dan bergeser ke arah ekor kembali (gerak zigzag) dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Alur Perhitungan Skoring (Gerak Zigzag) (Siswandari, 2005)

Pada metode semi kuantitatif dilihat dari lima luas bidang lapang pandang sehingga mendapatkan hasil yang maksimal pada tingkat kerusakan jaringan. Setiap bidang lapang pandang diamati tingkat kerusakan jaringannya dengan kriteria nekrosis (kerusakan sel), fusi (penggabungan antar lamella), vakuolisasi (rongga sel yang membesar) (untuk insang) dan nekrosis (kerusakan sel), odem (pembengkakan sel), vakuolisasi (rongga sel yang membesar) (untuk hepatopankreas) kemudian dipersentase dengan pemberian skor dari angka 1 sampai 4. Angka 1 mempunyai tingkat persentase kerusakan jaringan 0-5%, angka 2 tingkat persentase kerusakan jaringan 6-25%, angka 3 tingkat persentase kerusakan jaringan 26-50% dan angka 4 tingkat persentase kerusakan jaringan >50% (Novak *et al.*, 2007).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penentuan Dosis Infeksi *Vibrio harveyi*

Data hasil penentuan dosis infeksi bakteri *Vibrio harveyi* (Tabel 2), memperlihatkan bahwa udang windu kontrol dan udang windu perlakuan (dosis infeksi 10^6 sel/ml dan 10^7 sel/ml) mengalami kematian sebelum 24 jam. Untuk udang kontrol mengalami kematian sebanyak 1 ekor udang windu dari 5 ekor udang windu pada ulangan ke 3 yang disebabkan udang *moulting* sehingga dimakan oleh udang yang lain, sedangkan udang windu yang kepadatan 10^6 sel/ml pada ulangan 1 mengalami kematian akibat sifat kanibal juga dan pada perendaman 10^7 sel/ml kematian udang windu paling banyak akibat infeksi *Vibrio harveyi*. Dari data tersebut, dapat disimpulkan bahwa LC_{50} yang patogen penggunaannya untuk bakteri *Vibrio harveyi* terhadap infeksi udang windu adalah 10^7 sel/ml.

Tabel 2. Data Hasil Penentuan Dosis Infeksi Bakteri *Vibrio harveyi*

Dosis Infeksi (24 jam)	SR (%)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
Kontrol	100%	100%	80%
10^6	80%	100%	80%
10^7	60%	40%	40%

Menurut Muliani (2002) dalam Sudianto (2010), bahwa mortalitas udang windu dewasa yang diinjeksi *Vibrio harveyi* tanpa pemberian imunostimulan dengan kepadatan 10^8 sel/ml sebesar 100%, dan udang yang diinfeksi dengan *Vibrio harveyi* dengan kepadatan 10^6 sel/ml sebesar 40%, setelah 24 jam diinfeksi dan pada kepadatan *Vibrio harveyi* 10^6 tanpa pemberian imunostimulan akan mengalami kematian total setelah 2 hari diinfeksi.

4.2 Histologi dan Histopatologi Udang Windu

4.2.1 Histologi dan Histopatologi pada Insang

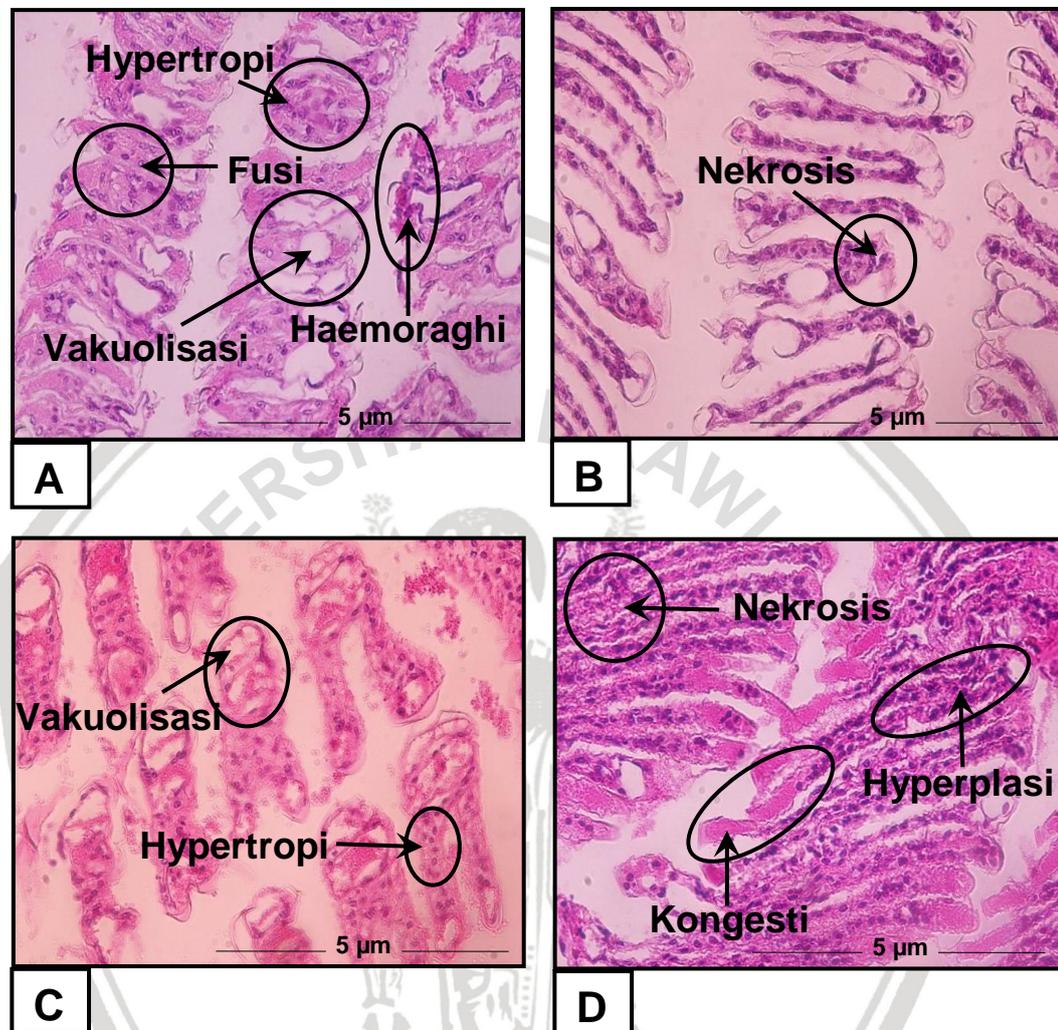
Insang merupakan organ yang sangat vital bagi udang. Sebagian besar kematian udang disebabkan oleh kerusakan organ insang akibat bahan pencemar atau patogen. Hal ini dikarenakan letaknya berhubungan langsung dengan air sebagai media hidupnya. Oleh karena itu, pada penelitian ini menggunakan imunostimulan untuk melihat jaringan insang udang yang terserang bakteri.

Penggunaan pili bakteri *V. alginolyticus* serta uji tantang dengan bakteri *V. harveyi* mengalami kerusakan struktur jaringan insang pada udang windu. Pada setiap perlakuan mengalami kerusakan struktur jaringan insang dengan tingkatan yang berbeda. Gambaran histologi insang udang windu tanpa diberi imunostimulan pili *Vibrio alginolyticus* dan tanpa infeksi *Vibrio harveyi* (kontrol normal) dapat dilihat pada Gambar 10 dengan perbesaran 400 kali.



Gambar 10. Histologi Insang Udang Windu Tanpa Perlakuan (Kontrol Normal); I: inti; L: Lamella; V: Vakuola; KL: Kapiler Lumen.

Histopatologi insang udang windu yang diberi perlakuan baik pemberian imunostimulan pili *V. alginolyticus*+uji tantang *V. harveyi* maupun uji tantang *V. harveyi* saja dengan perbesaran 400 kali dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Histopatologi Insang Udang Windu dengan Perlakuan A (Pili 10µg/ekor+Infeksi), Perlakuan B (Pili 20 µg/ekor+Infeksi), Perlakuan C (Pili 30µg/ekor+Infeksi) dan Perlakuan D (Kontrol Infeksi).

Histopatologi insang udang windu dengan pemberian imunostimulan pili *V. alginolyticus* dengan dosis yang berbeda serta uji tantang dengan *V. harveyi*, menunjukkan bentuk jaringan insang dengan tingkat kerusakan yang berbeda-beda juga. Gambar 10 menunjukkan bahwa histologi insang udang windu sehat (kontrol normal) ditandai dengan tidak adanya kerusakan pada jaringan,

sedangkan pada Gambar 11 dengan perlakuan A (pemberian imunostimulan pili 10 µg/ekor+infeksi) mengalami tingkat kerusakan jaringan yang berat (26-50%). Sesuai dengan tingkat skoring dari beberapa kriteria kerusakan jaringan diantaranya terjadi nekrosis (kerusakan sel), vakuolisasi (rongga sel yang membesar) dan fusi (penggabungan antar lamella) masing-masing adalah 3,0; 3,2 dan 3,3 (untuk nilai skoring lebih jelasnya dapat dilihat pada Lampiran 2). Hal ini dibuktikan dengan adanya vakuolisasi dan hypertropi (ukuran inti membesar) pada insang yang tinggi sehingga mengakibatkan terjadinya fusi yang dapat menyebabkan proses pernafasan akan terganggu, dengan adanya vakuolisasi pada jaringan tersebut juga mengakibatkan haemorrhagi di ujung lamella sekunder.

Perlakuan B (pemberian imunostimulan pili 20 µg/ekor+infeksi) menunjukkan tingkat kerusakan jaringan yang ringan (0-5%). Berdasarkan nilai skoring yang telah di dapat, perlakuan ini mempunyai nilai yang sangat rendah dari setiap kriteria dibanding dengan perlakuan A dan perlakuan C. Dengan kriteria jaringan nekrosis sebesar 1,2; vakuolisasi sebesar 1,3 dan fusi sebesar 1,1. Hal ini dibuktikan dengan adanya tempat lamella sekunder pada insang masih normal yang meminimalisir terjadinya fusi sehingga tidak mengganggu proses pernafasan dan tingkat nekrosisnya juga lebih sedikit.

Perlakuan C (pemberian imunostimulan pili 30 µg/ekor+infeksi) mengalami tingkat kerusakan jaringan yang sedang (6-25%). Hal ini dibuktikan dengan adanya nilai skoring pada setiap kriteria jaringan tidak terlalu tinggi dan tidak terlalu rendah yaitu pada tingkat nekrosisnya sebesar 2,1; vakuolisasinya sebesar 2,3 dan fusi sebesar 2,1. Pada perlakuan ini jaringan insang mengalami vakuolisasi dan hypertropi ringan yang dapat menyebabkan terjadinya fusi ringan sehingga proses pernafasan masih bisa dikendalikan. Perlakuan D (kontrol infeksi) menunjukkan struktur jaringan insang yang mengalami kerusakan yang

sangat berat. Hal ini dapat dibuktikan dengan adanya jaringan insang mengalami nekrosis dan hiperplasi (bertambahnya inti) tingkat tinggi yang dapat menyebabkan terjadinya penyempitan pada lamella sekunder, dengan adanya nekrosis dan hiperplasi pada jaringan tersebut juga menyebabkan kongesti (pendarahan didalam pembuluh darah) diujung lamella sekunder. Menurut Djawad dan Bertha (2009), konsentrasi yang cukup besar dapat menyebabkan basal hiperplasi yang mengakibatkan ukuran rongga (*capillary lumen*) mengalami penyempitan dan fusion pada lamella sekunder yang dapat mengganggu sistem pernafasan pada udang.

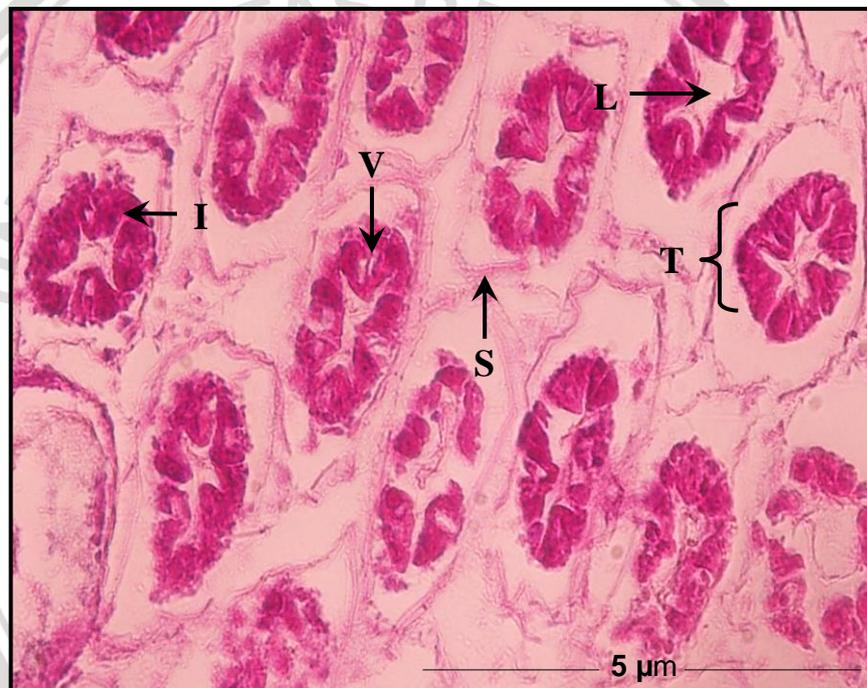
Saat pemberian imunostimulan terjadi peningkatan total hemosit udang windu. Sistem kekebalan tubuh udang akan meningkat seiring dengan peningkatan total hemosit. Organ dalam udang windu akan tereduksi sehingga kerusakan sel pada organ-organ tersebut dapat diminimalisir. Oleh karena itu, pada perlakuan B adalah perlakuan terbaik yang dilihat dari tingkat kerusakan jaringan pada insang udang windu dengan pemberian pili *V. alginolyticus* dosis 20 µg/ekor. Hal ini dikarenakan jumlah hemosit udang lebih tinggi dibanding dengan jumlah hemosit perlakuan A dan C serta imunostimulan yang diberikan cukup baik dosisnya sehingga dapat merangsang ketahanan tubuh udang terhadap penyakit dan mampu mencegah terjadinya nekrosis pada insang. Sesuai dengan pernyataan Marsoedi (2007) dalam Prasetio (2010), bahwa imunostimulan yang bersifat tidak spesifik mampu merangsang peningkatan ketahanan udang dan ikan terhadap berbagai penyakit.

4.2.2 Histologi dan Histopatologi pada Hepatopankreas

Hepatopankreas terletak pada *chepalothorax* yang merupakan salah satu organ yang dapat memproduksi enzim-enzim pencernaan, menyimpan hasil metabolisme dan membuang sisa metabolisme. Organ tersebut juga sangat peka terhadap peningkatan pestisida atau jenis bahan berbahaya lainnya (Djawad dan

Bertha, 2009). Tanda-tanda terserang akan tampak dengan hilangnya nafsu makan, warna kulit menjadi kusam/pucat, terjadi pembekakan pada organ-organ di dalam tubuh serta akan terjadi pendarahan. Menurut Van De Braak (2002), organ pada pankreas terdiri dari tubuli yang tertutup dan produksi enzim-enzim dialirkan melalui saluran hepatopankreas.

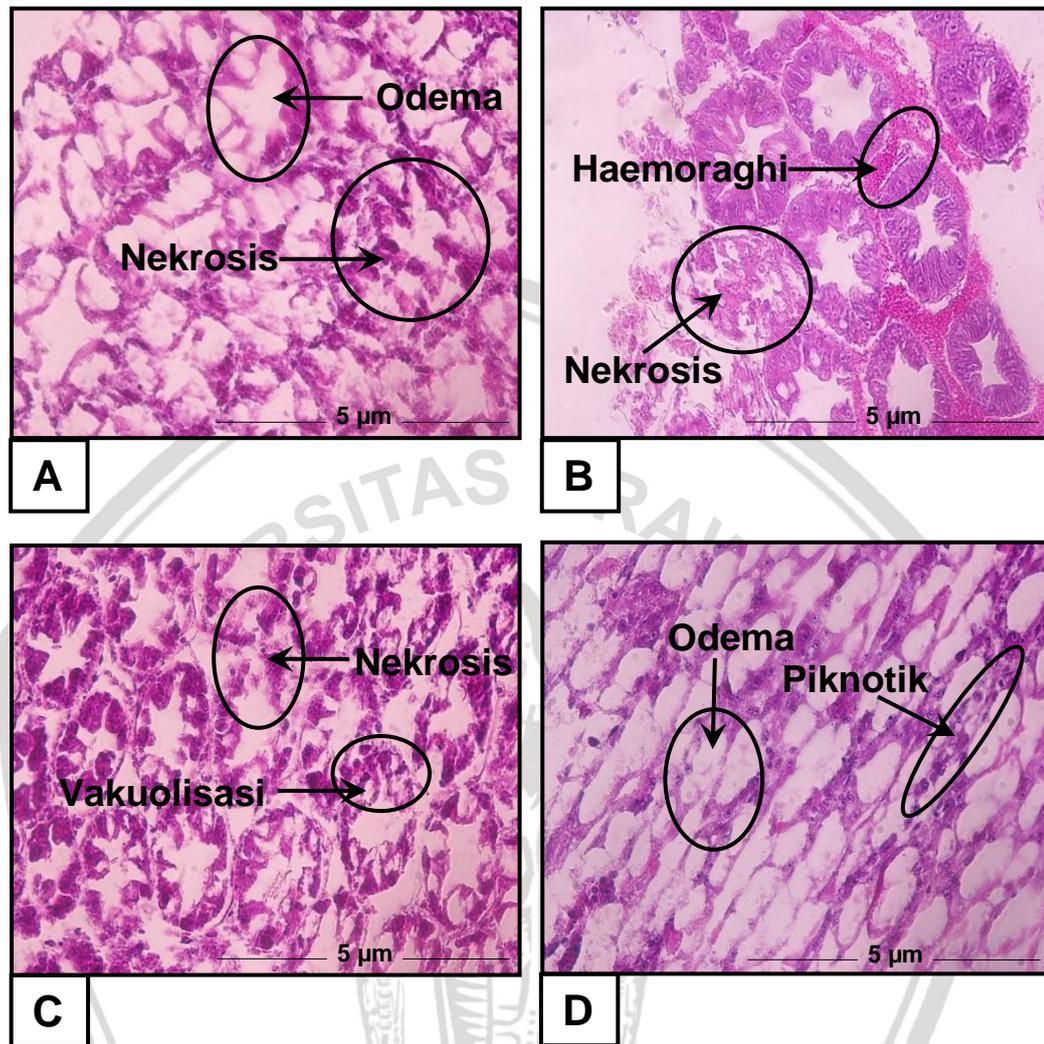
Pengamatan histologi hepatopankreas pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) tanpa perlakuan pemberian imunostimulan pili *Vibrio alginolyticus* serta tanpa ujiantang *Vibrio harveyi* (kontrol normal) dengan perbesaran 400 kali dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Histologi Hepatopankreas Udang Windu Tanpa Perlakuan (Kontrol Normal); I: inti; L: Lumen; V: Vakuola; S: Sinus; T: Tubuli.

Hasil pengamatan histopatologi hepatopankreas pada udang windu dengan perlakuan pemberian imunostimulan pili *V. alginolyticus*+infeksi *V.harveyi* serta infeksi *V. harveyi* saja tanpa pemberian imunostimulan pili *V.harveyi* (kontrol infeksi) terdapat tingkat kerusakan struktur jaringan yang berbeda-beda.

Gambaran jaringan tersebut dengan perbesaran 400 kali dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Histopatologi Hepatopankreas Udang Windu dengan Perlakuan A (Pili 10 µg/ekor+Infeksi), Perlakuan B (Pili 20 µg/ekor+Infeksi), Perlakuan C (Pili 30 µg/ekor+Infeksi) dan Perlakuan D (Kontrol Infeksi).

Struktur jaringan hepatopankreas tiap perlakuan rata-rata rusak akibat infeksi bakteri *V. harveyi*. Gambar 12 (kontrol normal) menunjukkan kondisi jaringan sehat, sangat berbeda bila dibandingkan dengan perlakuan D (kontrol infeksi) pada Gambar 13 yang menunjukkan kerusakan sel yang sangat berat, yang ditandai dengan banyaknya pembengkakan sel (odema), pecahnya sel (nekrosis) dan pelebaran inti sel (piknotik). Pada perlakuan A (pemberian

imunostimulan pili 10 $\mu\text{g/ekor+infeksi}$) dan perlakuan C (pemberian imunostimulan pili 30 $\mu\text{g/ekor+infeksi}$) kerusakan jaringan pada hepatopankreas hampir sama yaitu mengalami vakuolisasi dan nekrosis tetapi pada perlakuan A tingkat kerusakannya lebih berat dibanding dengan perlakuan C karena pada perlakuan A beberapa jaringannya sudah odema, nekrosis dan tingkat vakuolisasinya lebih banyak. Hal ini dapat dilihat dari nilai skoring (Lampiran 2) dengan kriteria jaringan mengalami nekrosis, vakuolisasi dan odema secara berurutan yaitu 3,3; 3,0 dan 3,3 (perlakuan A) dan 2,3; 2,1 dan 2,1 (perlakuan C).

Pemberian imunostimulan pili 20 $\mu\text{g/ekor+infeksi}$ (perlakuan B) tingkat kerusakan jaringannya lebih ringan walaupun di dalamnya terdapat kerusakan sel dan haemorhagi tetapi jarak antar tubuli pada perlakuan B masih mendekati jaringan normal karena masih terdapat sinusnya. Kerusakan pada perlakuan B lebih ringan dapat dibuktikan dengan adanya nilai skoring yg lebih kecil dengan tingkat nekrosis, vakuolisasi dan odema secara berurutan yaitu 1,3; 1,1 dan 1,0. Dengan adanya kerusakan-kerusakan pada perlakuan A, B, C dan D dengan tingkat yang berbeda dapat menyebabkan hepatopankreas tidak dapat berfungsi normal dan mengakibatkan kelemahan pada udang sehingga udang mengalami kematian. Hal ini sesuai dengan pernyataan Djawad dan Bertha (2009), bahwa dengan adanya penyusutan sel yang tidak lagi berada pada tempatnya akan mengakibatkan hepatopankreas tidak dapat berfungsi dengan normal yang mengakibatkan udang menjadi lemah dan akhirnya mengalami kematian.

Perlakuan terbaik tampak pada perlakuan B (dosis imunostimulan 20 $\mu\text{g/ekor}$). Hal ini terjadi karena semakin banyak hemosit yang diproduksi oleh udang maka kerusakan organ hepatopankreas yang diserang bakteri akan dapat diminimalisir. Menurut Soderhall dan holmblad (1998), bahwa hemosit sangat penting dalam sistem pertahanan tubuh udang windu menghancurkan bakteri *V.*

harveyi yang masuk dalam *haemacoel* melalui fagositosis, enkapsulasi, agregat nodulasi, melanisasi, *cytotoksitas* dan komunikasi antar sel.

Bakteri menginfeksi inang melalui insang, kulit dan saluran pencernaan. Tanda-tanda terserang akan tampak dengan hilangnya nafsu makan, warna kulit menjadi kusam/pucat, terjadi pembekakan pada organ-organ didalam tubuh serta akan terjadi pendarahan. Jika dilakukan pembedahan dan dilakukan pengamatan akan tampak pembengkakan dan kerusakan pada organ, seperti insang dan pankreas (Inglis, Roberts dan Bromage, 1993).

4.2 Kualitas Air

Pengamatan kualitas air dilakukan sebagai data penunjang dalam penelitian. Menurut Haliman dan Adijaya (2006), kualitas air berkaitan erat dengan kondisi kesehatan udang. Hal itu berhubungan dengan faktor stres udang akibat perubahan parameter kualitas air. Parameter kualitas air yang diukur pada saat penelitian adalah suhu, salinitas, pH dan DO (oksigen terlarut). Parameter tersebut akan mempengaruhi proses metabolisme tubuh udang seperti keaktifan mencari pakan, proses pencernaan dan pertumbuhan udang. Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 3 dan Lampiran 4.

Tabel 3. Parameter Kualitas Air pada Media Penelitian

No.	Parameter Kualitas Air	Kisaran parameter kualitas air pada perlakuan	Suyanto dan Takarina (2009)
1.	Suhu	27,5-31 °C	27-30 °C
2.	Salinitas	5-26 ppt	15-30 ppt
3	pH	7,8-8,0	7,5-8,5
4	Oksigen terlarut	4,00-4,85 ppm	≥3 ppm

Berdasarkan hasil parameter kualitas air di atas (Tabel 3) menunjukkan bahwa air sebagai media pemeliharaan udang windu masih memenuhi syarat

kualitas air sehingga tidak berpengaruh terhadap penurunan kondisi fisiologisnya. Menurut Murtiati, Simbolon, Wahyuni dan Juyana (2007), bahwa manajemen lingkungan merupakan salah satu aspek penting yang berperan sangat besar dalam keberhasilan usaha pemeliharaan udang. Sebagaimana hewan akuatik lainnya, aktivitas hidup udang sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungannya, bahkan udang memiliki kerentanan yang tinggi terhadap kualitas media pemeliharaan yang kurang baik. Proses ganti kulit (*moulting*) pada udang yang merupakan kondisi rentan terhadap perubahan lingkungan dan serangan patogen, juga menjadi dasar pentingnya manajemen lingkungan pemeliharaan secara seksama.



2. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka kesimpulan yang didapat adalah sebagai berikut :

- Pada histopatologi insang dan hepatopankreas udang windu perlakuan A (dosis pili 10 $\mu\text{g}/\text{ekor}$) jaringannya mengalami hipertropi (inti membesar) dan vakuolisasi (rongga sel yang kosong) sehingga dapat menyebabkan fusi (penggabungan antar lamella) serta odema (pembengkakan sel) pada jaringan hepatopankreasnya; perlakuan B (dosis pili 20 $\mu\text{g}/\text{ekor}$) irisan jaringan masih normal; perlakuan C (dosis pili 30 $\mu\text{g}/\text{ekor}$) jaringannya mengalami vakuolisasi dan hipertropi ringan yang dapat menyebabkan terjadinya fusi ringan juga, dan untuk perlakuan D (kontrol infeksi) jaringan sudah nekrosis dan mengalami hiperplasi (bertambahnya inti) yang dapat menyebabkan terjadinya kongesti (pendarahan di dalam pembuluh darah) serta terjadi piknotik (peleburan inti) pada hepatopankreas sehingga organ tidak dapat berfungsi dengan normal.
- Pengamatan histopatologi hepatopankreas dan insang udang menunjukkan perlakuan terbaik dengan tingkat kerusakan jaringan paling ringan pada perlakuan B (dosis pili 20 $\mu\text{g}/\text{ekor}$) dengan nilai skoring kerusakan 0-5%.

5.2 Saran

Dari penelitian ini disarankan bahwa histopatologi insang dan hepatopankreas pada udang windu (*Penaeus monodon* Fabricius) yang diinfeksi *Vibrio harveyi* pasca pemberian imunostimulan pili *Vibrio alginolyticus* dengan dosis 20 $\mu\text{g}/\text{ekor}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous^a. 2010. *Penaeus monodon*. <http://google.com>. Diakses tanggal 29 November 2010.
- _____^b. 2010. *Vibrio harveyi*. <http://google.com>. Diakses tanggal 29 November 2010.
- _____^c. 2010. *Vibrio alginolyticus*. <http://google.com>. Diakses tanggal 29 November 2010.
- Amri, K. 2003. **Budidaya Udang Windu: Secara Intensif**. PT.Agromedia Pustaka. Jakarta. 98 hal.
- Armando, R., A. Subhan dan M. Syahid. 2006. **Budidaya Udang Organik Secara Polikultur**. Penebar Swadaya. Jakarta. 75 hal.
- Bauman P.A.L, Furniss and I.V.Lee. 1984. **Facultatively anaerobic gram negatif rods: genus I vibrio** In Krieg N.R. and Hot. J.G.(Eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriologi*. Williams and Wilkins Baltimore. USA. 538 page.
- Djawad, M.I dan N. Bertha. 2009. **Efektifitas tiram bakau (*Crassostrea sp.*) dalam mereduksi Cu pada air pemeliharaan udang windu (*Penaeus monodon*)**. Laboratorium Fisiologi Hewan Air, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanuddin. V1(2) 2009:1-10 hal.
- Dwidjoseputro, D. 1998. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Penerbit Djambatan. Jakarta. 206 hal.
- Ehara, M., Ishibasi, M., Ichinose, Y., Iwanaga, M., Shimotori, S. and Naiti, T. 1988. **Purificatin and partial caracterization of fimbriae of vibrio chlorela O1**. Vaccine 5: 283-288 page.
- Ellis, A.E. 1988. **Fish Vaccination**. Academic Press. London. 284 page.
- Ekawati, A. W. 2005. **Budidaya Makanan Alami**. Diktat Kuliah. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya (Tidak Diterbitkan). Malang. 100 hal.
- Fahri, M. 2009. **Bakteri pathogen pada budidaya perikanan *Vibrio alginolyticus***. <http://elfahrybima.blogspot.com>. Diakses tanggal 7 Desember 2010 pukul 19.00 WIB.
- Feliatra, 1999. **Identifikasi bakteri patogen (*Vibrio sp.*) di perairan nongsa Batam Propinsi Riau**. Jurnal Natur Indonesia. V11(1): 28 - 33.

- Gaspersz, V. 1991. **Teknik analisis dalam penelitian percobaan**. Tarsito, Bandung.
- Guterres, H.A.D.S. 2010. **Potensi Antagonistik Protein Pili *Vibrio alginolyticus* terhadap *Vibrio harveyi* Secara In Vitro**. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang. 66 hal.
- Haliman, R.B. dan D. Adijaya. 2006. **Udang Vannamei**. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal 48
- Inglis, V., J Roberts, and N.R. Bromage. 1993. **Bacterial Disease Of Fish**. Institute of Aquaculture. Blackwell Science Ltd. Oxford. 312 page.
- Irawan, A.HSR. 2000. **Menanggulangi Hama dan Penyakit Ikan**. Penerbit CV. Aneka Solo. 81 hal.
- Irianto, A. 2005. **Probiotik Akuakultur**. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 123 hal.
- Kakkilaya, B. S. 2002. **Peripheral smear Examination For Malaria Parasite**. Dr. B. S. Kakkilaya's Malaria Web site.
- Madeali, M. I., A. Tompo dan Muliani. 1998. **Diagnosis penyakit viral pada udang windu (*Penaeus monodon*) secara histopatologis dan antibody poliklonal dengan metode elisa**. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia, 4 (3):1-18.
- Maftuch. 2006. **Outer Membran Protein (Omp) *Vibrio alginolyticus* Sebagai Vaksin Untuk Mengendalikan Penyakit *Vibriosis* Yang Disebabkan *V. alginolyticus* Pada Ikan Kerapu Tikus Di Perairan**. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya (Tidak Diterbitkan). Malang.
- Motoh, H. 1981. **Studies on the fisheries biology of the giant tiger prawn *Penaeus monodon* in the Philippines**. SEAFDEC Aquaculture Departement. Technical Report no.7. Iloilo City. 128 page.
- Murdjani. 2002. **Identifikasi dan Patologi Bakteri *Vibrio alginolyticus* Pada Ikan Kerapu *Cromileptes altivelis***. Disertasi. Universitas Brawijaya. Malang. 117 hal.
- Murtiati, K. Simbolan, T. Wahyuni, Juyana. 2007. **Penggunaan biokatalisator pada budidaya udang**. Jurnal Budidaya Air Tawar. V4(1) 2007:19-26.
- Murtidjo, B. A. 2003. **Benih Udang Windu Skala Kecil**. Kanisius. Yogyakarta. 75 hal
- Nazir, M. 2005. **Metode Penelitian**. Ghalia Indonesia. Jakarta. 65 hal.

- Noel, Krieg and John. 1984. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Volume I. Penerbit Williams and Wilking. USA. 964 page .
- Novak M, Madej JA, Dziegeil P. 2007. **Intensity of Cox 2 expression inCell of Soft Tissue Fibrosarcomas in Dog As Related to Grade of Tumor malignation**. Bull Vet inst Pulawy 51, 275-279. 2007.
- Prajitno, A. 2005. **Diktat Kuliah Parasit dan Penyakit Ikan**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 105 hal.
- _____. 2007. **Penyakit Ikan-Udang: Bakteri**. Cetakan I. Universitas Negeri Malang. Malang. 115 hal.
- Prasetyo, E. 2010. **Peran Imunostimulan OMP *Vibrio alginolyticus* dan Uji Tantang *Vibrio harveyi* terhadap Proliferasi Sel Hemosit Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius)**. Tesis Program Pasca Sarjana Budidaya Perairan (Tidak Diterbitkan). Universitas Brawijaya. Malang. 62 hal.
- Rahman, S. 2010. **Aplikasi histopatologi**. <http://sandizoneblog.com.html>. Diakses pada tanggal 8 November 2010 pukul 18.52 WIB.
- Santoso, H. B. dan A, Nurliani. 2005. **Efek doksisisiklin selama masa organogenesis pada struktur histologi organ hati dan ginjal fetus mencit**. Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lampung Mangkurat. BIOSCIENTIAE 3(1): 15-27 hal.
- Siswandari, W. 2005. **Nilai Diagnosi Pemeriksaan Imunositokimia Limfosit Sediaan Apus Darah Tepi Dibandingkan Analisis Kromosom Pada Penderita Dengan Dugaan Sindroma Fragile x**. Tesis (Diterbitkan). UNDIP. Semarang. 74 hal.
- Setiawan, W.A. 2010. **Sel dan Strukturnya**. <http://blog.unila.ac.id/wasetiawan>. diakses pada tanggal 25 November 2010 pukul 16.56 WIB.
- Soderhall, K. and T. L. Holmblad. 1998. **Cell adhesion molecules and antioxidative enzymes in a crustacean, possible role in immunity**. Department of Physiological Botany, University of Uppsala, Villaågen6, SE-75236 Uppsala, Sweden. Aquaculture 172(1999):111–123 page.
- Sritunyalucksana. 2000. **Characteristic of some immune genes in the black tiger shrimp, *Penaeus monodon***. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from The Faculty of Science and Technology. Uppsala University.Sweden. Diakses tanggal 9 November 2010 pukul 19.30 WIB pada www.diva-portal.org/diva/. 45 page.
- Sudiana, I.K., 1998. **Teknik Pembuatan Sediaan Histologi**. Laboratorium Patologi Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya. 52 hal.
- Sudianto, A. 2010. **Analisa Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Protease pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius) yang Diinfeksi *Vibrio harveyi* Pasca Pemberian Imunostimulan OMP *Vibrio***

alginolyticus. Tesis Program Pasca Sarjana Budidaya Perairan (Tidak Diterbitkan). Universitas Brawijaya. Malang. 62 hal.

Supamattaya, K; N. Chittivan and M. Boonyaratpalin. 2000. ***Immunological factors in black tiger shrimp, Penaeus monodon. Fabricius***. Diakses tanggal 12 April 2010 pukul 20.00 WIB pada <http://aquafeed.com/docs/ns/Supamattayaetal.pdf>. 15 page.

Suryabrata, S. 2006. **Metodologi Penelitian**. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. 165 hal.

Surachmad, W. 1994. **Pengantar Penelitian Ilmiah Dasar**. Penerbit Tarsito. Bandung. 118 hal.

Suyanto, S. R. dan E. P. Takarina. 2009. **Budidaya Udang Windu**. Penebar Swadaya. Jakarta. 212 hal.

Tim Balai Karantina Ikan Juanda. 2005. **Prosedur Kerja Histologi**. Balai Karantina Ikan Juanda. Surabaya. 98 hal.

Toro, V. dan A. Sugiarto. 1979. **Biologi udang windu**. Proyek Penelitian Sumberdaya Ekonomi, Lembaga Oceano LIPI. Jakarta. 144 hal.

Van de Braak, K. 2002. ***Haemocyte Defence in The Black Tiger Shrimp (Penaeus monodon)***. Disertasi. Wageningen University. Netherland. 159 hal.

Volk, W.A. and M.F. Wheeler. 1993. **Mikrobiologi Dasar**. Editor : Soenartono Adisoemarto. Erlangga. Jakarta. 396 hal.

Yanto, H. 2006. **Diagnose identifikasi penyakit udang asal tambak intensif dan panti benih di Kalimantan Barat**. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Muhammadiyah Pontianak. Jurnal Penelitian Sains & Teknologi. V7(1) 2006:1-32 hal.