

Penambahan Ekstrak *Gracilaria verrucosa* Terhadap Peningkatan Total Hemosit, Kelangsungan Hidup dan Respon Fisiologi Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii*)

Addition of *Gracilaria verrucosa* Extract To Increased Total Hemocytes, Survival and Physiological Response of Freshwater Giant Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)

Woro Hastuti Satyantini, Ananta Kurniawan dan Rahayu Kusdarwati

Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Kelautan,
Universitas Airlangga Surabaya

Email korespondensi: woro_hastuti@yahoo.com

Abstrak

Salah satu faktor yang mempengaruhi tingkat produksi udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*) adalah adanya serangan penyakit selain kebutuhan nutrisi yang optimum untuk pertumbuhannya. Lingkungan yang buruk, seperti adanya fluktuasi kualitas air yang ekstrim dapat mengakibatkan udang menjadi stress dan mudah terserang penyakit. *Gracilaria verrucosa* merupakan rumput laut jenis alga merah yang dapat digunakan sebagai imunostimulan. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh penambahan ekstrak *Gracilaria verrucosa* terhadap peningkatan total hemosit, tingkat kelangsungan hidup dan respon fisiologi udang galah setelah pemaparan suhu tinggi. Perlakuan yang diberikan adalah penambahan ekstrak *Gracilaria* pada pakan dengan dosis 0%, 1%, 2%, 3% dan 4%. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Udang galah yang digunakan berukuran 7 cm dengan kepadatan 10 ekor per akuarium (40x30x30 cm). Pemberian ekstrak *Gracilaria* dilakukan selama 14 hari dan selanjutnya pada hari ke 15 di uji stress suhu. Total hemosit tertinggi diperoleh pada perlakuan penambahan ekstrak *Gracilaria* 3% yaitu $38,49 \times 10^6$ sel/ml dibanding perlakuan lain dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap kontrol. Kelangsungan hidup menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$), sementara respon fisiologi udang galah setelah uji stress menunjukkan bahwa perlakuan pada penambahan ekstrak *Gracilaria* menunjukkan respon makan baik dan berenang normal pada jam ke 18 sementara perlakuan kontrol pada jam ke 24 dan 30 pasca stress.

Kata kunci: ekstrak, *Gracilaria verrucosa*, hemosit, kelangsungan hidup, udang galah,

Abstract

One of the factors that affect the level of production of freshwater giant prawns (*Macrobrachium rosenbergii*) is the presence of disease in spite of the addition of the optimum nutritional needs for growth. Bad environment, such as the extreme fluctuations in water quality can lead to stress shrimp and shrimp become susceptible to disease. *Gracilaria verrucosa* is a type of red algae seaweed that can be used as an immunostimulant. This study aims to determine the effect of the addition extracts of *Gracilaria verrucosa* to the increase in total hemocytes count, the survival rate and physiological responses of prawns after exposure to high temperatures. The treatment given is the addition of *Gracilaria* extract in the diet at doses of 0%, 1%, 2%, 3% and 4%. This research used experimental method with completely randomized design (CRD). The prawns used 7 cm with density 10 fish per aquarium 40x30x30 cm. Addition of *Gracilaria* extract was conducted for 14 days and then continued stress test in temperature on day 15. The highest total hemocytes count obtained in additional *Gracilaria* extract at dose 3% which is 38.49×10^6 cells / ml compared to other treatments and were significantly different ($P < 0.05$) to control. The survival rate showed were not significantly different ($P > 0.05$), while the physiological responses of prawns after stress test showed that the addition of *Gracilaria* extract showed good feed response and normally swim in 18 hours while the control on 24 and 30 hours post-stress test respectively.

Keywords: Freshwater giant prawn, extract, *Gracilaria verrucosa*, hemocyte, survival rate

Pendahuluan

Udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*) merupakan salah satu komoditas perikanan air tawar yang bernilai ekonomi tinggi dan merupakan salah satu spesies udang yang menjadi produk andalan ekspor. Pengembangan budidaya udang galah dilakukan untuk memenuhi kebutuhan pasar yang makin meluas. Peningkatan produksi udang galah dapat dilakukan dengan mengeliminasi semua faktor penghambat dan menyelesaikan permasalahan yang ada dalam budidaya udang galah. Salah satu faktor yang mempengaruhi tingkat produksi udang galah adalah adanya serangan penyakit pada udang galah selain kebutuhan nutrisi yang optimum untuk pertumbuhannya. Penyakit yang dapat menyerang pada pemeliharaan udang galah adalah yang diakibatkan oleh serangan bakteri maupun virus.

Enterococcus-like bacterium adalah bakteri yang menyebabkan nekrosis pada otot udang galah (Cheng and Chen 1998), *Macrobrachium hepatopancreatic parvo-like virus* (MHPV), *Macrobrachium muscle virus* (MMV), *infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus* (IHHNV), *white spot syndrome virus* (WSSV), *Macrobrachium rosenbergii nodavirus* (MrNV), dan *extra small virus-like particle* (XSV) telah dilaporkan menyebabkan kegagalan dalam budidaya udang galah (Hameed, 2009). Lingkungan dapat menjadi *stressor* (penyebab penyakit), karena pada saat lingkungan memburuk, seperti adanya fluktuasi kualitas air secara ekstrim dapat mengakibatkan udang stress dan rentan terhadap serangan penyakit, serta dapat mengakibatkan kematian.

Saat ini penggunaan antibiotik untuk kontrol penyakit telah dilarang, karena mengakibatkan munculnya patogen yang tahan terhadap antibiotik (*antibiotic-resistant pathogen*) dan meninggalkan residu pada lingkungan maupun pada tubuh udang. Imunostimulasi merupakan strategi alternatif untuk menyiapkan sistem pertahanan (imun) udang sehingga meningkatkan resistensi udang melawan bakteri patogen (Rodriguez and Lee Moullac, 2000), dengan cara pemberian imunostimulan. Imunostimulan merupakan senyawa kimia, obat atau bahan lain yang

mampu meningkatkan mekanisme respon imun spesifik dan non spesifik ikan (Anderson, 1992). Sistem imun yang terdapat pada udang adalah sistem imun non spesifik yang meliputi reaksi seluler dan humoral yang terkait dengan hemolim udang. Di dalam hemolim udang terdapat hemosit (sel darah) yang memiliki peranan penting dalam sistem pertahanan udang terhadap infeksi patogen.

Stress merupakan kondisi dimana suatu organisme perairan mengalami perubahan pada tingkah laku karena adanya perlakuan selama pemeliharaan yang buruk, perubahan terhadap suatu kondisi lingkungan, dan penyakit. Stress merupakan kondisi dimana suatu organisme perairan mengalami perubahan pada tingkah laku karena adanya perlakuan selama pemeliharaan yang buruk, perubahan terhadap suatu kondisi lingkungan, dan penyakit.

Rumput laut *Gracilaria* sp. mengandung polisakarida sulfat yang tinggi, biopigmen dan mineral serta senyawa bioaktif lainnya. Ekstrak rumput laut merupakan salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai imunostimulan karena merupakan sumber senyawa bioaktif yang telah terdeteksi pada alga hijau, coklat dan merah. Dinding sel alga laut kaya akan polisakarida sulfat seperti karagenan yang terkandung dalam alga merah, dan memiliki banyak senyawa bioaktif menguntungkan sebagai antikoagulan, antioksidan, anti kanker, aktivasi modulasi imun, serta menstimulasi aktivitas sekresi radikal oksigen dan fagositosis (Wijesekara *et al.*, 2011).

Gracilaria sp. mempunyai kandungan polifenol dan flavonoid yang dibutuhkan untuk meningkatkan hemosit pada udang (Subagiyo, 2009), yang dapat menunjang kesehatan udang. Polisakarida dari alga merah dapat meningkatkan aktivitas *phagocytic macrophage* dan mampu melawan infeksi bakteri setelah disuntik secara intraperitoneal pada ikan *Cyprinus carpio* (Castro *et al.*, 2004). Polisakarida diketahui merupakan komponen esensial bagi semua organisme dan mempunyai berbagai fungsi vital biologis diantaranya adalah sebagai antitumor, antiinflamasi, antikoagulan, antikomplementer, imunologi dan antivirus.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak

Gracilaria verrucosa terhadap peningkatan total hemosit, kelangsungan hidup udang galah dan respon fisiologi udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*) setelah pemaparan suhu tinggi (uji stress suhu).

Bahan dan Metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga. Pengekstrakan rumput laut dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga dan analisis pakan akan dilakukan di Laboratorium Universitas Muhammadiyah Malang.

Rumput laut dicuci dengan menggunakan air tawar untuk menghilangkan garam, *epiphyte*, mikroorganisme dan bahan lainnya. Setelah bersih, rumput laut dikeringkan pada udara terbuka selama 3 hari. Rumput laut yang kering selanjutnya dipotong kecil-kecil dan dihaluskan dengan menggunakan penggilingan dan diayak dengan ayakan ukuran 60 *mesh*. Setelah mendapatkan tepung rumput laut, tepung ini dimasukkan ke dalam tabung *erlenmeyer* dan ditambahkan etanol dengan perbandingan 1:5 dan di *shaker* selama 12 jam. Tepung rumput laut yang sudah direndam selanjutnya disaring dengan menggunakan pompa vakum yang diberi kertas saring agar diperoleh supernatan yang benar-benar terpisah dari residunya. Endapan tepung rumput laut kembali direndam dengan etanol, proses tersebut dilakukan sebanyak 3 kali. Setelah dilakukan proses perendaman-penyaringan, larutan yang diperoleh di *rotatory evaporator* pada suhu 50°C selama 3 hari. Ekstrak *Gracilaria verrucosa* yang dihasilkan langsung disimpan pada tempat kering atau di tempat bersuhu dingin sampai waktu akan digunakan.

Ekstrak rumput laut *Gracilaria verrucosa* dicampurkan ke dalam formulasi pakan sesuai dengan dosis yang digunakan

sebagai perlakuan. Bahan pakan yang telah tercampur merata dimasukan ke dalam loyang dan dikukus sampai 10 menit. Setelah adonan siap, kemudian dicetak dengan menggunakan mesin pellet atau mesin penggiling daging. Pellet yang sudah setengah jadi kemudian dikeringkan dengan suhu 60°C selama 24 jam dengan menggunakan oven, setelah di oven selama 24 jam pellet siap digunakan. Perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini adalah penambahan ekstrak *G. verrucosa* sebesar 0% (kontrol), 1%, 2%, 3% dan 4% ke dalam formulasi pakan udang galah. Komposisi pakan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan menggunakan 6 perlakuan dan 4 kali ulangan. Udang galah dipelihara dalam akuarium sebanyak 24 buah dengan ukuran 40x30x30 cm. Udang yang digunakan dalam penelitian ini adalah juvenil udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*) berukuran 7 cm yang sehat dan tidak terserang penyakit. Setiap akuarium (vol 36 liter) diisi 10 ekor udang galah yang telah diadaptasikan sebelumnya selama satu minggu.

Udang galah diberi makan tiga kali sehari yakni pada pukul 09.00, 13.00, dan 17.00 secara *ad libitum* selama dua minggu. Setelah dua minggu pemberian pakan dengan penambahan ekstrak *G. verrucosa*, selanjutnya udang diuji stress dengan cara dipelihara pada media pemeliharaan dengan suhu dinaikkan hingga 34°C untuk perlakuan kontrol positif (Po +), P1, P2, P3 dan P4, udang pada perlakuan kontrol negatif (Po -) pada suhu normal selama 48 jam (tidak diuji stress suhu).

Selama uji stress dilakukan pengamatan jumlah kematian udang setiap 6 jam sekali dalam 2 hari (48 jam). Hemolim udang diambil pada saat awal pemeliharaan, setelah pemberian ekstrak *G. verrucosa* (hari ke-14), dan 48 jam setelah uji stress (hari ke-16) untuk menghitung total hemosit.

Woro Hastuti Satyantini : Penambahan Ekstrak *Gracilaria Verrucosa* terhadap Peningkatan Total Hemosit, Kelangsungan Hidup dan Respon Fisiologi Udang Galah (*Macrobrachium Rosenbergii*)

Tabel 1. Komposisi dan analisis proksimat pakan udang galah yang digunakan dalam penelitian.
Table 1. Composition and prawns feed profimate analysis used in the study

No.	Bahan Pakan	Perlakuan / Pakan				
		Kontrol (- dan +)	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
1	Tepung ikan (%)	36	36	36	36	36
2	Bungkil kedelai (%)	30	30	30	30	30
3	Tepung jagung (%)	26	25	24	23	22
4	Minyak ikan (%)	2	2	2	2	2
5	Premix (%)	4	4	4	4	4
6	CMC (%)	2	2	2	2	2
7	Ekstrak <i>Gracilaria</i> (%)	0	1	2	3	4
Jumlah		100	100	100	100	100
Analisis Proksimat Pakan						
	Protein (%)	34,846	34,933	36,015	37,079	37,162
	Lemak (%)	7,834	7,334	6,841	6,291	6,083
	Abu (%)	7,269	7,455	7,767	7,918	8,267
	Serat (%)	3,832	3,985	4,046	4,090	4,132
	BETN (%)	34,568	33,890	33,212	32,534	31,856
	Energi(kal/100g)	429,611	425,843	422,969	420,500	417,982
	Air (%)	10,057	10,297	10,680	10,907	11,064

Parameter uji

Total hemosit

Penghitungan jumlah total hemosit (THC) dilakukan menggunakan haemocytometer dengan prosedur Campa-Cordova *et al.* (2002). Pengambilan hemolimfe udang dilakukan pada bagian pangkal pleopod pada segmen abdominal dekat lubang genital dengan menggunakan syringe 1 mL yang telah

dibasahi larutan antikoagulan (30 mM *trisodium citrate*, 0.34 M *sodium chloride*, 10 mM EDTA, pH 7.5). Hemolimfe diambil pada awal (sebelum perlakuan), hari ke 14 dan hari ke 16 pemeliharaan, selanjutnya ditempatkan dalam microtube steril dan disimpan dalam *cool box*. Penghitungan jumlah total hemosit (THC) dilakukan menggunakan haemocytometer dengan prosedur Campa-Cordova *et al.* (2002).

$$\text{Jumlah Hemosit} = \frac{\text{Jumlah sel hemosit yang di hitung} \times \text{pengenceran}}{\text{Volume yang di hitung}}$$

Kelangsungan hidup

Pengukuran kelangsungan hidup diukur dengan menghitung jumlah udang yang hidup di akhir penelitian dan terhadap jumlah udang

pada awal penelitian pada semua perlakuan. Penghitungan kelangsungan hidup udang galah dihitung berdasarkan rumus :

$$\text{SR (kelangsungan hidup)} = \frac{\text{jumlah udang di akhir penelitian}}{\text{jumlah udang di awal penelitian}} \times 100\%$$

Respon fisiologi

Respon fisiologi dilakukan dengan mengamati tingkah laku dan respon makan udang setelah

mendapatkan pemaparan suhu tinggi (34°C) selama 48 jam.

Analisis data

Analisis data pengujian total hemosit dan tingkat keangsuran hidup dilakukan dengan ANOVA dan uji lanjut Duncan dengan menggunakan program SPSS versi 16. Respon fisiologi udang galah dianalisis secara deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Jumlah Total Hemosit Udang Galah

Jumlah total hemosit (THC) udang galah pada awal pemeliharaan (hari ke 0), hari ke 14 dan hari ke 16 (48 jam pasca uji stress suhu) terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah total hemosit udang galah
Table 2. Total hematocytes of prawns

Perlakuan	Total Hemosit (\pm SD x 10^6 sel/mL)		
	Hari ke-0	Hari ke-14	Hari ke-16
Kontrol (-)	20,4 ^a ± 1,89	23,53 ^c ± 0,91	24,24 ^d ± 1,14
Kontrol (+)	20,4 ^a ± 1,89	23,86 ^c ± 1,03	31,99 ^c ± 2,01
P1	20,4 ^a ± 1,89	25,96 ^{bc} ± 1,34	36,40 ^{ab} ± 2,27
P2	20,4 ^a ± 1,89	28,78 ^b ± 1,03	38,45 ^{ab} ± 3,34
P3	20,4 ^a ± 1,89	33,31 ^a ± 0,96	38,49 ^a ± 2,69
P4	20,4 ^a ± 1,89	34,29 ^a ± 3,11	34,48 ^{abc} ± 3,17

Keterangan:

Kontrol (-) = pakan buatan tanpa penambahan ekstrak *G. verrucosa*, tanpa uji stress suhu; Kontrol (+) = pakan buatan tanpa penambahan ekstrak *G. verrucosa*, diuji stress suhu; P₁ = pakan buatan + 1% ekstrak *G. verrucosa*, diuji stress suhu; P₂ = pakan buatan + 2% ekstrak *G. verrucosa*, diuji stress suhu; P₃ = pakan buatan + 3% ekstrak *G. verrucosa*, diuji stress suhu; P₄ = pakan buatan + 4% ekstrak *G. verrucosa*, diuji stress suhu; SD = standar deviasi. Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil berbeda nyata (p<0,05).

Jumlah total hemosit tertinggi hari ke 14 terdapat pada perlakuan P4 (34,29 x 10⁶ sel/ml) yang berbeda nyata (p<0,05) dengan Kontrol(-) (tanpa penambahan ekstrak *G. verrucosa*, tanpa uji stress suhu) (23,53 x 10⁶ sel/ml), Kontrol(+), (tanpa penambahan ekstrak *G. verrucosa*, diuji stress suhu) (23,86 x 10⁶ sel/mL), namun tidak berbeda nyata terhadap perlakuan P3 (33,31 x 10⁶ sel/ml). Pada hari ke 16 (48 jam pasca stress suhu), jumlah hemosit tertinggi dicapai pada perlakuan P3 (38,49 x 10⁶ sel/ml) yang berbeda nyata (P<0,05) terhadap Kontrol(-) (24,24 x 10⁶ sel/mL) dan Kontrol(+), (31,99 x 10⁶ sel/mL).

Kelangsungan Hidup Udang Galah

Kelangsungan hidup udang galah selama 14 hari pemeliharaan setelah pemberian ekstrak *G. verrucosa* menunjukkan kelangsungan hidup sebesar 100% masing-masing perlakuan (Tabel 3). Pada hari ke 16, kelangsungan hidup udang galah berkisar 93,75-100% dan

hasil uji analisa keragaman (Anova) menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata (P>0,05).

Respon Fisiologi Udang Galah Pasca Uji Stress Suhu

Perubahan respon fisiologi udang galah pasca uji stress suhu yang diamati melalui tingkah laku berenang udang galah dan respon makan tercantum dalam Tabel 4 dan Tabel 5. Udang galah pada perlakuan K(+) memperlihatkan respon aktivitas berenang normalnya pada 30 jam pasca uji stress suhu. Sementara udang galah yang mendapatkan perlakuan penambahan ekstrak *G. verrucosa* menunjukkan respon berenang normal lebih awal yaitu pada 18 jam pasca uji stress suhu. Respon aktivitas berenang udang galah pada perlakuan K(+) 12 lebih lambat dibandingkan udang galah dengan penambahan ekstrak *G. verrucosa*.

Woro Hastuti Satyantini : Penambahan Ekstrak *Gracilaria Verrucosa* terhadap Peningkatan Total Hemosit, Kelangsungan Hidup dan Respon Fisiologi Udang Galah (*Macrobrachium Rosenbergii*)

Tabel 3. Tingkat kelangsungan hidup udang galah
Table 3. Survival rate of prawns

Perlakuan	Tingkat Kelangsungan Hidup (%) ± SD		
	Hari ke-14	Hari ke-16	Transformasi √y
Kontrol -	100 ^a ± 0	100,00 ^a ± 0	10,00 ^a ± 0
Kontrol +	100 ^a ± 0	96,87 ^a ± 5,41	9,84 ^a ± 0,29
P1	100 ^a ± 0	96,87 ^a ± 5,41	9,84 ^a ± 0,29
P2	100 ^a ± 0	96,87 ^a ± 5,41	9,84 ^a ± 0,29
P3	100 ^a ± 0	96,87 ^a ± 5,41	9,84 ^a ± 0,29
P4	100 ^a ± 0	93,75 ^a ± 10,83	9,66 ^a ± 0,58

Keterangan:

Kontrol (-) = pakan buatan tanpa penambahan ekstrak *G. verrucosa*, tanpa uji stress suhu; Kontrol (+) = pakan buatan tanpa penambahan ekstrak *G. verrucosa*, diuji stress suhu; P₁ = pakan buatan + 1% ekstrak *G. verrucosa*, diuji stress suhu; P₂ = pakan buatan + 2% ekstrak *G. verrucosa*, diuji stress suhu; P₃ = pakan buatan + 3% ekstrak *G. verrucosa*, diuji stress suhu; P₄ = pakan buatan + 4% ekstrak *G. verrucosa*, diuji stress suhu; SD = standar deviasi. Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil berbeda nyata (p<0,05).

Respon makan udang galah pada perlakuan K(+) dan P4 (penambahan 4% ekstrak *G. verrucosa*) muncul pada 36 jam pasca uji stress suhu, udang galah pada

perlakuan P2 (penambahan 2% ekstrak *G. verrucosa*) dan P3 (penambahan 3% ekstrak *G. verrucosa*) menunjukkan respon makan pada 30 jam pasca uji stress suhu (Tabel 5).

Tabel 4. Respon aktivitas berenang udang galah pasca uji stress suhu
Table 4. Response of prawns swimming activity after temperature stress test

Perlakuan	6 jam	12 jam	18 jam	24 jam	30 jam	36 jam	42 jam	48 jam
K(-)	BN	BN	BN	BN	BN	BN	BN	BN
K(+)	DD	DD	DD	BL	BN	BN	BN	BN
P1	DD	BL	BN	BN	BN	BN	BN	BN
P2	DD	BL	BN	BN	BN	BN	BN	BN
P3	DD	BL	BN	BN	BN	BN	BN	BN
P4	DD	BL	BN	BN	BN	BN	BN	BN

Keterangan : DD = diam di dasar, BL = berenang lemah, BN = berenang normal

Tabel 5. Respon makan udang galah pasca uji stress suhu
Table 5. Response of prawns feeding after temperature stress test

Perlakuan	6 jam	12 jam	18 jam	24 jam	30 jam	36 jam	42 jam	48 jam
K(-)	MM	MM	MM	MM	MM	MM	MM	MM
K(+)	BM	BM	BM	BMM	BMM	MM	MM	MM
P1	BM	BM	BM	BMM	MM	MM	MM	MM
P2	BM	BM	BMM	BMM	MM	MM	MM	MM
P3	BM	BM	BMM	BMM	MM	MM	MM	MM
P4	BM	BM	BMM	BMM	BMM	MM	MM	MM

Keterangan : BM = belum mau makan, BMM = ada sebagian belum mau makan, MM = mau makan

Data kualitas air terukur selama 14 hari masih berada dalam kondisi yang optimal untuk pertumbuhan udang galah yaitu suhu 27-29°C, pH 7-8, kelarutan oksigen (DO) 5-6 ppm,

amoniak 0-0,3 ppm, dan pada 16 hari pemeliharaan (48 jam pasca uji stress) menunjukkan kondisi yang sama dengan hari ke 14 kecuali parameter suhu terukur 34°C sebagai perlakuan uji stress suhu.

Pembahasan

Udang galah termasuk golongan krustase yang tidak memiliki sel darah merah (eritrosit) dan darah udang disebut hemolim yang terdiri dari plasma dan korpuskel (sel darah). Darah udang tidak memiliki hemoglobin, hemoglobin pada darah udang digantikan dengan hemosianin, suatu protein yang mengandung Cu dan dapat berikatan dengan oksigen. Hemosianin berfungsi dalam transpor oksigen, sebagai *buffer* dalam darah krustasea dan berperan penting dalam osmotik darah (Maynard, 1960 dalam Harijanto, 2012).

Respon imunitas pada hewan merupakan upaya proteksi terhadap infeksi maupun fisiologik homeostasi (Mori, 1990). Udang tidak memiliki respon imun spesifik, sehingga sistem pertahanan tubuhnya bergantung pada respon imun non spesifik. Hemosit adalah sel darah udang yang memiliki fungsi sama seperti sel darah putih (leukosit) pada hewan vertebrata. Hemosit memegang peranan penting dalam sistem pertahanan krustase (Johansson *et al.*, 2000; Rodriquez and Le Moullac, 2000). Pertama, hemosit mengeluarkan partikel asing dalam hemocoel melalui fagositosis, enkapsulasi dan agregasi nodular. Kedua, hemosit berperan dalam penyembuhan luka melalui *cellular clumping* serta membawa dan melepaskan prophenoloxidase system (proPO) (Manoppo, 2011). Phenoloksidase (PO) krustase berada di dalam hemosit granular sebagai in-aktif pro-enzim disebut prophenoloxidase (proPO) dan proPO berubah menjadi PO melibatkan beberapa reaksi yang dikenal sebagai sistem aktivasi proPO (Vargas-Albores *et al.*, 1998).

Imunostimulasi merupakan strategi alternatif untuk menyiapkan sistem pertahanan (imun) udang sehingga meningkatkan resistensi udang melawan bakteri patogen (Rodriguez dan Lee Moullac, 2000). LPS (lipopolisakarida) dan β -glukan mampu menstimulasi hemosit udang untuk melepaskan komponen-komponen seluler. β -glukan menstimulasi sistem aktivasi proPO, sedangkan LPS dapat menstimulasi sistem proPO dan sistem koagulasi melalui aktivasi populasi hemosit yang berbeda (Vargas-Albores *et al.*, 1998). Jumlah hemosit dapat bervariasi berdasarkan spesies, respon terhadap infeksi, stres lingkungan, aktivitas endokrin selama siklus molting (Johansson *et al.*, 2000).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada hari ke 14 terjadi peningkatan total hemosit yang signifikan pada udang galah yang mendapat perlakuan penambahan ekstrak *G. verrucosa* (Tabel 2). Total hemosit tertinggi dicapai oleh perlakuan P3 dan diikuti oleh P4, dikarenakan pada perlakuan P3 dan P4 mendapat penambahan ekstrak *G. verrucosa* sebesar 3% dan 4% masing-masing. Peningkatan jumlah hemosit udang ini menunjukkan bahwa ekstrak *G. verrucosa* yang mengandung polisakarida mampu untuk meningkatkan respon imun. Hal ini juga mengindikasikan bahwa ekstrak ini mampu merangsang pembentukan sel-sel hemosit yang kemudian dilepaskan ke dalam hemolim udang. Sehingga produksi hemosit meningkat. Hal ini didukung oleh penelitian Subagiyo (2009) bahwa pemberian ekstrak *Halimeda* memberikan pengaruh dengan meningkatkan jumlah total hemosit 22,43% (hari ke-8) dan 96,24% (hari ke-12). Dikatakan pula oleh Yeh and Chen (2009) bahwa udang *L. vannamei* yang diberi imunostimulan berupa alginat, karagenan atau polisakarida ekstrak air panas alga merah maupun *V. alginolyticus* melalui injeksi memperlihatkan proliferasi hemosit melalui hematopoiesis. Ali dan Rini (2009) juga menyatakan bahwa aktifitas fagositosis pada udang vaname yang diberi perlakuan dengan ekstrak *Dictyota* sp., *Gracilaria* sp. dan *Sargassum* sp. pada hari ke-8 meningkat.

Jumlah total hemosit mengindikasikan kemampuan inang dalam merespon material asing dalam tubuhnya. Semakin tinggi jumlah total hemosit, maka semakin tinggi pula aktifitas fagositosis yang diberikan inang dalam mengendalikan mikroorganisme asing (Sukenda dkk., 2007). Perbedaan pemberian dosis ekstrak *Gracilaria verrucosa* pada pakan selama 14 hari pemeliharaan mempengaruhi jumlah total hemosit udang galah. Gambaran yang sama juga ditunjukkan oleh hasil penelitian Selvine *et al.* (2004) yang membuktikan bahwa rumput laut *Ulva* secara signifikan meningkatkan faktor-faktor pertahanan tubuh diantaranya adalah peningkatan aktivitas fagositosis. Penelitian lain dengan menggunakan perlakuan injeksi *hot-water extract G. tenuistipitata* dengan dosis 6 $\mu\text{g g}^{-1}$ pada *L. vannamei* meningkatkan THC (*total hemocyte count*), aktivitas fenoloksidase, *respiratory burst*, aktivitas

Woro Hastuti Satyantini : Penambahan Ekstrak *Gracilaria Verrucosa* terhadap Peningkatan Total Hemosit, Kelangsungan Hidup dan Respon Fisiologi Udang Galah (*Macrobrachium Rosenbergii*)

fagositosis dan *clearance efficiency* terhadap *V. alginolyticus* (Hou & Chen, 2005).

Pada uji stress suhu, semua perlakuan mengalami peningkatan jumlah total hemosit. Jumlah total hemosit selama 48 jam setelah uji stress suhu pada udang galah tertinggi adalah P3 ($38,49 \times 10^6$ sel/ml), sementara jumlah total hemosit pada perlakuan kontrol positif menunjukkan nilai yang rendah ($31,99 \times 10^6$ sel/ml). Peningkatan total hemosit pada udang disebabkan karena udang berusaha mempertahankan keadaan homeostasis dengan cara memproduksi hemosit. Menurut Tayibu (2012) bahwa peningkatan hemosit diakibatkan kontraksi jantung pada udang meningkat sebagai upaya homeostasis yang dikembangkan karena keadaan lingkungan yang berubah. Udang galah dengan perlakuan penambahan ekstrak *G. verrucosa* menunjukkan produksi hemosit yang lebih tinggi dibandingkan kontrol (+), ini menunjukkan bahwa penambahan ekstrak *G. verrucosa* memberikan kemampuan homeostasi yang tinggi dibandingkan tanpa penambahan ekstrak *G. verrucosa*. Hal ini didukung oleh penelitian Fagutao *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa proPO terlibat dalam pemeliharaan homeostasi udang.

Suhu air pada media pemeliharaan umumnya berpengaruh terhadap pertumbuhan dan tingkat kelangsungan hidup udang karena mempengaruhi sistem imun udang. Stress merupakan kondisi dimana keseimbangan atau homeostasis yang normal pada tubuh udang terganggu karena faktor lingkungan. Gejala stress dapat dilihat dari perubahan fisiologis yang diekspresikan dalam respon perilaku yang bertujuan untuk menyeimbangkan kembali fungsi tubuh dengan melalui osmoregulasi. Osmoregulasi merupakan sistem homeostasis pada udang untuk menjaga keseimbangan konsentrasi osmotik antara cairan intrasel dan ekstrasel sehingga proses fisiologis tubuh berjalan normal.

Udang akan menjadi lemah karena terkena stress. Hal ini dikarenakan dalam kondisi stress, udang mengalami penurunan nafsu makan yang terlihat dari kurang responnya terhadap pakan yang diberikan. Jika hal tersebut berlanjut secara berkepanjangan, maka udang akan mudah terserang penyakit karena sistem imun pada udang menurun. Hal ini sesuai dengan pendapat Tidwel (1998), lingkungan bisa menjadi *stressor* (penyebab

munculnya penyakit) karena pada saat lingkungan memburuk seperti adanya fluktuasi kualitas air secara ekstrim, udang akan mudah stress dan akibatnya rentan terhadap penyakit, serta dapat mengakibatkan kematian atau penurunan kelangsungan hidup udang.

Pada penelitian ini memperlihatkan bahwa udang pada perlakuan kontrol (+) menunjukkan respon berenang normal pada 30 jam pasca stress suhu, sementara udang pada perlakuan dengan penambahan ekstrak *G. verrucosa* menunjukkan respon berenang normal pada 18 jam pasca stress suhu. Kondisi ini memperlihatkan bahwa udang pada perlakuan kontrol (+) masih berada dalam kondisi yang stress karena fungsi fisiologisnya belum berjalan normal dengan ditunjukkan pada kondisi berenang yang belum normal. Respon makan menunjukkan bahwa udang pada perlakuan P1 hingga P3 mau makan pada 30 jam pasca stress suhu, perlakuan kontrol (+) mau makan pada 36 jam pasca stress suhu (6 jam lebih lambat dibandingkan perlakuan P1, P2 dan P3). Lebih lanjut, Tayibu (2012) menyatakan bahwa udang yang mengalami stress terlihat dari kurang responnya terhadap pakan yang diberikan dan cenderung diam di sudut. Udang yang berada dalam kondisi stress secara terus menerus akan melemahkan tubuhnya sehingga akan mudah terinfeksi penyakit dan akhirnya mati. Kondisi ini menunjukkan bahwa penambahan ekstrak *G. verrucosa* mampu mengembalikan kondisi homeostasi udang lebih cepat dibandingkan udang tanpa penambahan ekstrak *G. verrucosa*, hal ini akan memberikan proteksi pada udang dari serangan penyakit.

Simpulan

Penambahan ekstrak *G. verrucosa* mampu meningkatkan jumlah total hemosit dan respon fisiologi udang galah pasca uji stress suhu.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka untuk aplikasi di lapangan disarankan untuk menggunakan penambahan ekstrak *G. verrucosa* dengan dosis 3% guna meningkatkan total hemosit dan kelangsungan hidup terhadap stress suhu pada udang galah.

Woro Hastuti Satyantini : Penambahan Ekstrak *Gracilaria Verrucosa* terhadap Peningkatan Total Hemosit, Kelangsungan Hidup dan Respon Fisiologi Udang Galah (*Macrobrachium Rosenbergii*)

Daftar Pustaka

- Ali R. dan Rini P. 2009. Aplikasi Ekstrak Rumput Laut Sebagai Agen Immunostimulan Sistem Pertahanan Non Spesifik Pada Udang (*Litopennaeus vannamei*). *Jurnal Ilmu Kelautan*. 14 (3): 133-137.
- Anderson DP. 1992. Immunostimulant, adjuvants and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. *Ann. Rev. Fish Dis.* 2:281-307.
- Castro, R. I. Zarrab, and J. Lamas. 2004. Water-soluble Seaweed Extract Modulate the *Pantoea agglomerans* lipopolysaccharide (LPS). *Fish Shellfish Immunol*, 10: 505-14.
- Campa-Courdova, A.I., N.Y. Hernaandez-Saavedra, R. De Phillipis, & F. Ascentio, 2002, Generation of Superoxide Anion and SOD Activity in Haemocytes and Muscle of American White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as a Response to β -glucan and Respiratory Burst Activity of Turbot Phagocytes, *Aquaculture* 229: 67-78
- Cheng W and Jiann-Chu Chen. 1998 Isolation and characterization of an *Enterococcus* like bacterium causing muscle necrosis and mortality in *Macrobrachium rosenbergii* in Taiwan. *Diseases of Aquatic Organisms*. 34: 93-101.
- Fagutao, F.F., H. Kondo., T. Aoki and I. Hirono. Fagutao, F.F., Kondo, H., Aoki, T. and Hirono, I. 2011. Prophenoloxidase has a role in innate immunity in penaeid shrimp, pp. 171-176. In Bondad-Reantaso, M.G., Jones, J.B., Corsin, F. and Aoki, T. (eds.). *Diseases in Asian Aquaculture VII*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Selangor, Malaysia. 385 pp.
- Harijanto. 2012. Kemampuan Proteksi Protein Membran Immunogenik Zoothamnium penaei terhadap Zoothamniosis Pada Udang Vanamei. Thesis. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal 1-4.
- Hou, W.Y. & J.C. Chen, 2005, The immunostimulatory effect of hot-water extract of *Gracilaria tenuistipitata* on the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology* 19: 127-138.
- Itami T. 1994. Body defense system of penaeid shrimp. Paper presented on Seminar on Fish Physiology and Prevention of Epizootic. Dept. of Aquaculture and Biology. Shimonosheki Univ. of Fisheries. Japan.
- Johansson M W, P. Keyser, K. Sritunyalucksana, & K Soderhall, 2000. Crustacean Haemocytes and Haematopoiesis, *Aquaculture*. 191 : 45-52
- Manoppo H. 2011. Peran nukleotida sebagai immunostimulan terhadap respon imun non spesifik dan resistensi udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Disertasi. Sekolah Passarjana. IPB. Bogor. 121 hal.
- Mori, K. 1990. The Present State of Immunological Research in Marine Aquaculture. Proceeding of the Third International Colloquium on Pathology in Marine Aquaculture. 2-6 October 1988. Virginia, USA. Page 465-467
- Prayitno, S.B., Hardyta, N.R. dan Alfabetian H.C.H. 2014. Infeksi White Spot Syndrome Virus (WSSV) Pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabr.) Yang Dipelihara Pada Salinitas Media Yang Berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(3): 25-34.
- Rodriguez L., and Le Moullac G. 2000. State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture* 191: 109-119.
- Selvina, J., A.J. Huxleya, & A.P. Lipton, 2004. Immunomodulatory potential of marine secondary metabolites against bacterial diseases of shrimp. *Aquaculture*. 230: 241-248
- Subagiyo. 2009. Uji pemanfaatan Rumput Laut *Halimeda sp* sebagai Sumber makanan fungsional pada Udang putih.

- DEP.ILMU KELAUTAN. Fakultas Perikanan dan Kelautan.UNDIP.SEMARANG: 142-149 hal.
- Sukenda, Y., Tri Anggoro, D., Wahyuningrum dan Rahman. 2007. Penggunaan Kitosan untuk Pengendalian Infeksi *Vibrio harveyi* pada Udang Putih *Litopenaeus vannamei*. Jurnal Akuakultur Indonesia. 6 (2):205-209.
- Tidwell, J.H., Coyle S.D. and Schulmeister G. 1998. Effect of added substrate on the production and population characteristics of freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii* in ponds. *Journal of The World Aquaculture Society*.29: 17-22.
- Vargas-Albores, F., Hernandez-Lopez, J., Gollas-Galvan, T., Montano-Perez, K., Jimenez-Vega, F. and Yepiz-Plascencia, G. 1998. Activation of shrimp cellular defence functions by microbial products. *In* Flegel, T.W. (ed.). *Advances in Shrimp Biotechnology*, National Centre for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok. p. 161-166.
- Wijesekara I, Pangestuti R, and Kim S-K. 2011. Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydrate polymers*. 84: 14-21.
- Yeh, S.T., & J.C. Chen, 2009. White shrimp *Litopenaeus vannamei* that received the hot-water extract of *Gracilaria tenuistipitata* showed earlier recovery in immunity after a *Vibrio alginolyticus* injection. *Fish Shellfish Immunol*.26:724-730.