

Uji Invivo Ekstrak *Dunaliella salina* pada Pakan Komersil terhadap Gejala Klinis dan Patologi Anatomi Ikan Kerapu Cantang Pascainfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN)

In-Vivo Test of *Dunaliella salina* Extract to Commercial Feed on Clinical Symptoms and Anatomical Pathology of Cantang Grouper after Viral Nervous Necrosis (VNN) infection

Rani Yuwanita*, Ating Yuniarti

Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya,
Jalan Veteran Malang, Jawa Timur, 65145, Indonesia

*Korespondensi: raniyuwanita@ub.ac.id

ABSTRAK

Viral Nervous Necrosis (VNN) merupakan patogen yang sering ditemukan menginfeksi ikan kerapu cantang dan menyebabkan kematian masal hingga 100% dalam waktu yang singkat. VNN disebabkan oleh infeksi *Nodavirus* yang menginfeksi sistem saraf dan penglihatan pada ikan. Salah satu upaya pencegahan terhadap infeksi VNN pada ikan kerapu cantang adalah dengan menambahkan ekstrak *Dunaliella salina* yang memiliki kandungan β -karoten, *nephtalene*, tetradekana dan fenol yang berperan sebagai antivirus, anti mikroba dan anti inflamasi. Tujuan penelitian ini untuk menguji potensi ekstrak *D. salina* terhadap gejala klinis dan patologi anatomi ikan kerapu cantang pascainfeksi VNN. Ekstrak *D. salina* dengan dosis 250, 300, 350 dan 400mg/kg pakan ditambahkan pada pakan pellet komersil merk Stella B2 dengan kandungan protein 42%. Pakan diberikan pada ikan kerapu cantang berukuran 7-9 cm selama 10 hari pemeliharaan. Selanjutnya ikan diuji tantang menggunakan VNN sebanyak 0,2 ml/ekor melalui metode injeksi. Pengamatan gejala klinis dan patologi anatomi diamati selama 96 jam pasca infeksi. Gejala patologi klinis ikan yang terinfeksi VNN tampak berputar-putar, berenang secara horizontal, inflasi gelembung renang, perubahan warna sirip pectoral menjadi kemerahan, pembengkakan organ limfa, organ hati menguning dan warna tubuh yang menggelap. Senyawa yang ditemukan pada ekstrak *D. salina* dapat digunakan untuk meningkatkan respon imun dan menurunkan jumlah kematian ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN. Penambahan ekstrak *D. salina* yang lebih tinggi dari pada dosis lainnya dapat meningkatkan sistem imun sehingga kelangsungan hidupnya (SR) lebih tinggi seiring dengan meningkatnya dosis yang diberikan.

Kata kunci: *Dunaliella salina*, Kerapu Cantang, Patologi VNN

ABSTRACT

Viral Nervous Necrosis (VNN) is a pathogen that is often found infecting cantang grouper and causing mass mortality of up to 100% in a short time. VNN is caused by a Nodavirus infection that infects the nervous and visual systems of fish. One of the prevention efforts against VNN infection in cantang grouper is to add *Dunaliella salina* extract which contains β -carotene, *nephtalene*, tetradecane and phenol which acts as antiviral, anti-microbial and anti-inflammatory. The purpose of this study was to examine the potency of *D. salina* extract against clinical symptoms and anatomical pathology of cantang grouper after VNN infection. *D. salina* extract with doses of 250, 300, 350 and 400mg/kg of feed was added to commercial pelleted feed of the Stella B2 brand with a protein content of 42%. Feed was given to cantang grouper measuring 7-9 cm for 10 days

of maintenance. Furthermore, the fish were challenged using VNN as much as 0.2 ml/head through the injection method. Observations of clinical symptoms and anatomical pathology were observed for 96 hours after infection. Symptoms of clinical pathology of fish infected with VNN appear to be circling, swimming horizontally, inflation of the swim bladder, discoloration of the pectoral fins to reddish, swollen lymph organs, yellowing of the liver and darkening of the body color. The compounds found in the extract of *D. salina* can be used to increase the immune response and reduce the number of deaths of cantang grouper infected with VNN. The addition of *D. salina* extract which was higher than other doses could increase the immune system so that its survival (SR) was higher as the dose increased.

Keywords: *Dunaliella salina*, Cantang Grouper, VNN Pathology

PENDAHULUAN

Ikan kerapu cantang (*Epinephelus fucoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*) adalah ikan kerapu hibrid yang menjadi komoditas ekspor penting ke Hongkong, Jepang, Singapura dan Cina (Dedi, et al. 2018). Sutarmat dan Yudha (2013) menambahkan, larva ikan kerapu cantang hasil hibridisasi mempunyai pertumbuhan lebih cepat dibandingkan dengan kerapu macan. Pada kerapu hibrida umur 90 hari mempunyai rata-rata panjang 12 cm, sedangkan rata-rata panjang kerapu macan mencapai sekitar 7 cm. Ikan kerapu cantang menunjukkan selera makan yang baik dan pertumbuhan yang lebih cepat sehingga mudah untuk dibudidayakan (Luin, et al., 2013).

Tingkat mortalitas yang tinggi pada benih maupun larva ikan kerapu menjadi kendala utama dalam kegiatan budidaya (Roza, et al., 2006). Penyebab kematian masal ikan kerapu dapat disebabkan oleh infeksi VNN (Hakim, et al., 2016) yang mampu menyebabkan kematian hingga 100% dalam waktu singkat dengan menginfeksi sistem saraf pusat dan penglihatan ikan (Tarsim, et al., 2013). Penyakit VNN telah menginfeksi lebih dari 40 spesies ikan pada fase larva dan juvenil, namun pada beberapa spesies ikan, VNN juga dapat menyerang ikan dewasa (Nazari, et al., 2014). Larva dan juvenil kerapu akan terserang VNN pada suhu 24,5°C-26°C yang merupakan suhu optimal dalam proses infeksi VNN. VNN biasanya menyerang pada larva umur 7-45 hari karena sistem saraf yang

masih sederhana (Sudaryatma, et al., 2012).

Salah satu manfaat alga yang dapat memproduksi agen antivirus telah banyak diketahui. Akan tetapi hanya beberapa penelitian saja yang telah membuktikan bahwa adanya komponen penghambat infeksi virus pada mikroalga laut. Beberapa jenis mikroalga yang memiliki aktivitas antivirus antara lain *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* dan *Dunaliella salina* (Priyadarshani dan Rath, 2012). Mikroalga *D. salina* dilaporkan memiliki kandungan β -karoten yang mencapai lebih dari 14% dari berat keringnya. β -karoten dan lutein merupakan karotenoid utama dari mikroalga *D. salina* dengan persentase sebanyak 90% dan 5% dari total karotenoid (Hexin, et al., 2016). Pigmen karotenoid mengandung aktivitas antioksidan pada hewan akuatik, selain itu juga dapat meningkatkan fungsi imun dan meningkatkan resistensi penyakit pada hewan tingkat tinggi (Madhumathi dan Rengasamy, 2011). Kandungan β -karoten pada *D. salina* juga berfungsi sebagai nutrisi esensial dan dapat diubah tubuh menjadi vitamin A, serta bertindak sebagai antioksidan lemah (Hadiyanto dan Azim, 2012). *D. salina* diketahui menjadi salah satu jenis mikroalga hijau yang dapat memproduksi fenol (Duan, et al., 2017). Fenol pada *D. salina* memiliki fungsi sebagai senyawa anti mikroba, anti oksidan, antivirus, anti alergi dan anti inflamasi (Cepeda, et al., 2018). Senyawa polisakarida juga ditemukan pada *D. salina* sebanyak 12-40% yang

dapat dimanfaatkan sebagai antitumor dan antivirus (Dai, et al., 2010). Supamattaya, et al. (2005) menyatakan bahwa pemberian ekstrak *D. salina* dengan dosis 300 mg/kg pakan dapat menghambat kematian ikan atau udang. Tujuan penelitian ini untuk menguji potensi ekstrak *D. salina* terhadap gejala klinis dan patologi anatomi ikan kerapu cantang pascainfeksi VNN.

Materi dan Metode

Materi

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan kerapu cantang ukuran 7-9 cm yang diperoleh dari BBAP Situbondo dan telah diadaptasikan selama 7 hari.

Pembuatan Ekstrak *D. salina*

Sebanyak 250 gr tepung *D. salina* yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Situbondo. Ekstrak *D. salina* didapatkan dengan menggunakan metode maserasi (perendaman) selama 24 jam dan disimpan dalam kondisi gelap. Tepung *D. salina* direndam menggunakan pelarut n-heksana dengan perbandingan 1:5 (g/ml). Filtrat yang dihasilkan ditampung dan dikumpulkan kemudian dievaporasi menggunakan rotator evaporator dengan suhu 50°C hingga filtrat mengental. Hasil evaporasi yang didapatkan berbentuk pasta kemudian ditimbang sesuai dosis yang telah ditentukan.

Repelleting

Pakan yang digunakan pada penelitian ini adalah pakan pellet merk Stella B2 dengan penambahan ekstrak *D. salina*. Keduanya ditimbang terlebih dahulu sesuai dosisnya, pelet dihancurkan sampai halus dan ekstrak *D. salina* ditambahkan ke dalamnya. Sebagai perekat, pakan ditambahkan tepung kanji sebanyak 10 gram secara sedikit demi sedikit sambil diaduk-aduk. Setelah semua bahan tercampur rata, pelet dicetak ulang dengan menggunakan

cetakan manual agar tidak merusak kandungan bioaktif *D. salina*, lalu pelet dikeringkan dan disimpan sebelum diberikan ke ikan kerapu cantang. Penyimpanan hasil *repelleting* tidak boleh lebih dari 14 hari agar tidak mereduksi atau merusak senyawa aktif yang terkandung dalam mikroalga *D. salina* (Udiarta, et al., 2015).

Isolasi Virus

Pembuatan inokulum virus menggunakan organ mata dan otak ikan kerapu cantang yang digerus menggunakan *pellet pastle*, lalu ditambahkan PBS pH 7,2 dengan perbandingan 1:3 yang selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang telah didapat, disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 selama 30 menit. Supernatan kemudian disaring menggunakan membran filter ukuran 0,45 µm (Mahardika, et al., 2004).

Pemberian Pakan

Selama 10 hari masa pemeliharaan, ikan kerapu cantang diberi pakan hasil *repelleting* yang mengandung ekstrak *D. salina* 2 kali sehari, pada pagi dan sore hari sebanyak 5% dari berat biomassa secara *ad libitum*. Selama penelitian, dilakukan pengukuran suhu, pH, salinitas dan DO setiap hari pada pagi dan sore untuk mengontrol kualitas air.

Uji Tantang VNN

Metode uji tantang yang digunakan mengacu pada hasil uji LD₅₀ di tahap sebelumnya yaitu dilakukan pada masing-masing ikan dengan menyuntikkan sebanyak 0,2 ml virus VNN/ekor ikan dengan konsentrasi 10⁴ pada bagian intraperitoneal. Selanjutnya ikan dipelihara dalam kontainer yang ditambah aerasi.

Pengamatan Gejala Klinis dan Patologi Anatomi

Pengamatan gejala klinis dilakukan selama 5 hari dengan interval waktu 12 jam atau hingga mencapai LD₅₀. Pengamatan ini dilakukan terhadap perubahan warna tubuh, nafsu makan dan tingkah laku pasca infeksi. Pengamatan patologi anatomi dilakukan pada 96 jam pascainfeksi VNN. Untuk mengetahui patologi anatomi, tubuh ikan kerapu cantang dibedah kemudian diamati organ-organnya yang meliputi sirip limfa dan hati.

Deteksi VNN dengan PCR

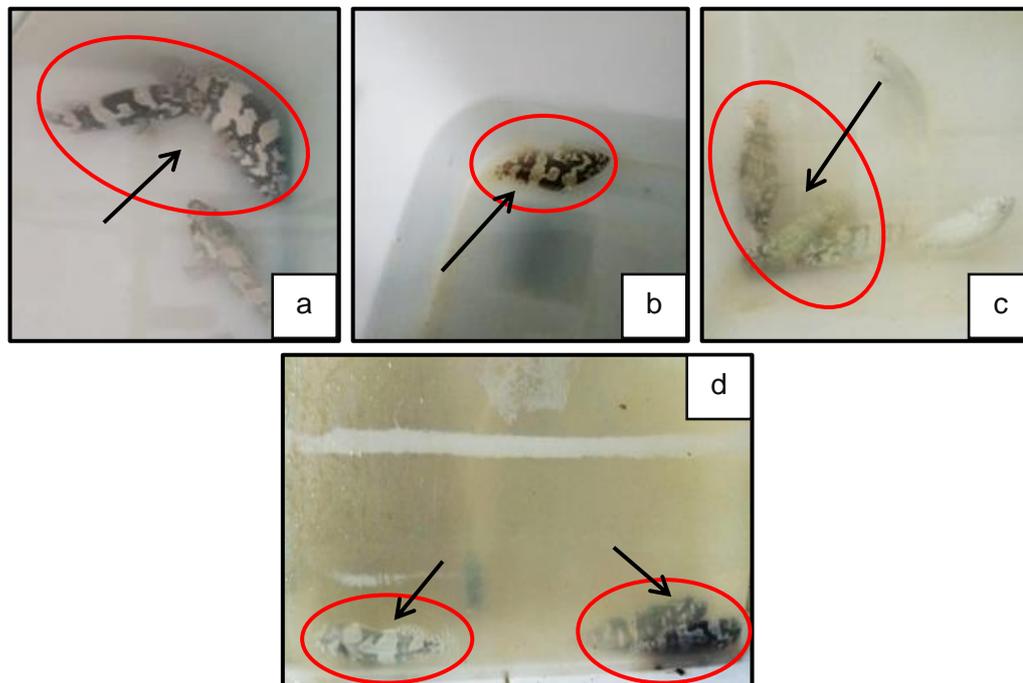
Amplifikasi dilakukan 2 kali agar fragmen VNN terlihat lebih spesifik. *First step PCR* menggunakan sepasang primer yang mengacu pada OIE (2019), yaitu F2 (5'-CGT-GTC-AGT-CAT-GTC-TCG-CT-3') dan R3 (5'-CGA-GTC-AAC-ACG-GGT-GAA-GA-3') dengan reagen dari *GoTaq PCR Core System (Promega)*, sedangkan *nested*

PCR menggunakan *GoTaq Green Master Mix* dengan sepasang primer yang digunakan mengacu pada OIE (2019), yaitu NF2 (5'-GTT-CCC-TGT-ACA-ACG-ATT-CC-3') dan NR3 (5'-GGA-TTT-GAC-GGG-GCT-GCT-CA-3'). Setelah itu produk PCR dielektroforesis pada 1,5% *agarose gel* selama 30 menit dengan larutan TAE 1X sebanyak 500 mL dengan voltase 100-150 V. Langkah terakhir yaitu pembacaan hasil menggunakan *UV Gel Documentation*. Hasil positif VNN apabila terlihat garis perpendaran pita DNA (*band*) dengan 294 bp (*base pair*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Klinis Ikan Kerapu Cantang Pascainfeksi

Gejala klinis ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN dengan pemberian ekstrak *D. salina* disajikan pada Gambar 1 dan Tabel 1.



Gambar 1. Gejala Klinis Ikan Kerapu Cantang Pasca Infeksi VNN. (a) warna tubuh ikan menggelap; (b) ikan berenang miring; (c) ikan bergerombol di tepi bak; dan (d) ikan berdiam di dasar bak

Tabel 1. Gejala Klinis Pascainfeksi VNN

Waktu Pengamatan (jam)	Dosis <i>D. salina</i> (mg/kg)	Gejala Klinis		
		Nafsu Makan	Tingkah Laku	Warna Tubuh
12	0	Normal	Berenang aktif	Normal
	250	Normal	Berenang aktif	Normal
	300	Normal	Berenang aktif	Normal
	350	Normal	Berenang aktif	Normal
	400	Normal	Berenang aktif	Normal
24	0	Normal	Berenang aktif	Normal
	250	Normal	Berenang aktif	Normal
	300	Normal	Berenang aktif	Normal
	350	Normal	Berenang aktif	Normal
	400	Normal	Berenang aktif	Normal
36	0	Normal	Berenang aktif	Normal
	250	Normal	Berenang aktif	Normal
	300	Normal	Berenang aktif	Normal
	350	Normal	Berenang aktif	Normal
	400	Normal	Berenang aktif	Normal
48	0	Menurun	Berenang pasif	50% menghitam
	250	Menurun	Berenang pasif	Normal
	300	Menurun	Berenang pasif	Normal
	350	Normal	Berenang aktif	Normal
	400	Normal	Berenang aktif	Normal
60	0	Menurun	Berenang pasif	50% menghitam
	250	Menurun	Berenang pasif, berdiam di dasar	50% menghitam
	300	Menurun	Berenang pasif, berenang miring	Normal
	350	Normal	Berenang mayoritas pasif	Normal
	400	Normal	Berenang aktif, beberapa berdiam di dasar	Normal
72	0	Menurun	Berenang pasif, beberapa berenang miring	50% menghitam
	250	Menurun	Berenang pasif, berdiam di dasar dan tubuh miring	50% menghitam
	300	Menurun	Berenang pasif, beberapa miring	50% menghitam
	350	Menurun	Berenang pasif, berdiam di dasar	25% menghitam
	400	Normal	Berenang aktif	25% menghitam
84	0	Menurun	Berenang pasif, tubuh miring	50% menghitam
	250	Menurun	Berenang pasif, tubuh miring	50% menghitam

96	300	Menurun	Berenang pasif, tubuh miring	50% menghitam
	350	Menurun	Berenang pasif, berdiam di dasar	25% menghitam
	400	Menurun	Berenang pasif	25% menghitam
	0	Menurun	Berenang pasif, tubuh miring, berdiam di dasar	50% menghitam
	250	Menurun	Berenang pasif, tubuh miring, berdiam di dasar	50% menghitam
	300	Menurun	Berenang pasif, tubuh miring	50% menghitam
	350	Menurun	Berenang pasif, berdiam di dasar	50% menghitam
	400	Menurun	Berenang pasif	25% menghitam

VNN dapat menginfeksi sistem imun non spesifik dan sistem imun spesifik ikan. VNN dapat ditularkan melalui air dari ikan yang terinfeksi ke ikan yang sehat dalam waktu 4 hari. Kemungkinan yang menjadi jalan masuknya VNN ke dalam sel inang adalah bagian sel epitel pada rongga hidung kemudian mencapai saraf *olfactory* dan menginvasi lobus *olfactory*. Di tempat ini virus akan melakukan replikasi. Sel epitel pada kulit dan usus juga memungkinkan menjadi jalan masuknya virus VNN. Ketika berada pada tubuh inang, VNN melakukan perbanyakan diri dan menyebar pada organ target melalui aliran darah sehingga menyebabkan terjadinya lesi pada bagian endokardium. VNN juga menyerang bagian CNS dengan cara perpindahan axonal melewati saraf otak, kemudian virus tersebut melakukan replikasi pada organ target, sehingga terjadi vakuolasi pada otak ikan yang terserang VNN (Woo dan Cipriano, 2017). Sudaryatma, et al. (2012) menambahkan bahwa virus yang masuk melalui permukaan tubuh dapat langsung bereplikasi di epitel permukaan saluran pencernaan dan masuk ke dalam sistem saraf pusat melalui saraf perifer nervus vagus.

Ikan kerapu cantang mulai mengalami kematian pada waktu 72 jam pasca infeksi. Menurut Sumaryam, et al. (2011), pada umumnya gejala klinis

penginfeksi VNN terjadi dalam waktu yang lama sehingga bisa menampilkan gejala khas. Hal tersebut juga sesuai dengan laporan Johnny, et al. (2007) yang menyatakan bahwa gejala klinis pada ikan setelah diuji tantang dengan VNN adalah penurunan nafsu makan yang mulai terlihat pada hari ke 2, sehingga pada 24-36 jam pasca infeksi belum terlihat tanda-tanda infeksi VNN yang jelas. Selain itu, hasil gejala klinis ikan yang terinfeksi VNN adalah *whirling* atau berenang memutar, menengadahkan, berdiam diri di dasar seolah-olah mati, dan warna tubuh menjadi lebih gelap. VNN menyerang syaraf otak, sehingga motorik rusak. Hal tersebut mengakibatkan tidak seimbang antara keinginan makan maupun keseimbangan dalam air dengan motorik. VNN menyerang bagian otak sehingga menyebabkan ikan berenang berputar, mengambang di permukaan dengan perut menghadap ke atas dan pigmentasi yang lebih pekat pada warna ikan. Menurut Setyorini, et al. (2008), penggelapan warna tubuh akibat infeksi VNN berhubungan dengan produksi lendir. Sebagai respon fisiologis, ikan yang terinfeksi virus akan memproduksi lendir berlebih dan selanjutnya produksi lendir akan menurun drastis sehingga tubuh ikan terasa kesat dan kulit berwarna lebih gelap.

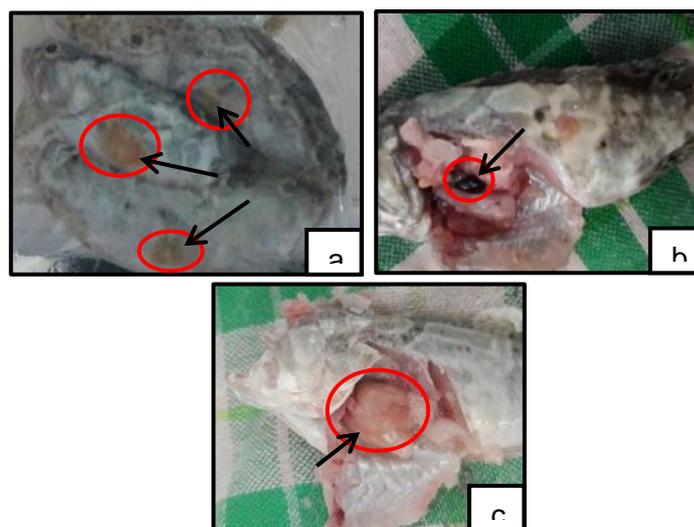
D. salina merupakan salah satu mikroalga laut yang dapat memproduksi

agen antivirus. Pemberian *D. salina* pada pakan mampu menambah daya cerna dan ketahanan tubuh ikan dan udang karena ada kandungan karotenoidnya (Ibanez dan Cifuentes, 2013). Kandungan karotenoid pada *D. salina* terakumulasi di dalam globula lemak di antara tilakoid dan terletak di dalam kloroplas yang kaya akan asam lemak omega 3 yang diketahui dapat meningkatkan pertumbuhan ikan dan menjaga kestabilan suhu tubuh (Cakmak, et al., 2014). Pigmen karotenoid pada *D. salina* juga mengandung aktivitas antioksidan yang dapat meningkatkan fungsi imun dan meningkatkan resistensi penyakit pada hewan tingkat tinggi (Madhumathi dan Rengasamy, 2011). Karotenoid dibutuhkan ikan untuk perlindungan intrasel melalui stabilitas membran, *survival* dan pertumbuhan dengan membuang radikal oksigen bebas (Yunanto, et al., 2013). Selain karotenoid, adanya polisakarida yang terkandung dalam *D. salina* mempunyai peran sebagai antivirus, antitumor, antioksidan, antikanker dan immunomodulator (Interclinical Laboratories, 2010). Polisakarida dari mikroalga mampu mencegah infeksi dari beberapa virus pada proses absorpsi sampai tahap uncoating. *D. salina* juga dapat meningkatkan aktivitas sel NK yang berperan dalam proses fagositik

pada tubuh ikan (Chuang, et al., 2014). Sel *Natural Killer* (NK cell) berperan dalam membatasi penyebaran virus dengan cara melisis sel-sel yang terinfeksi virus pada tahap awal penginfeksi.

Patologi Anatomi

Pengamatan patologi anatomi menunjukkan adanya perubahan warna sirip pektoral menjadi kemerahan (Gambar 2a), organ limfa membengkak (Gambar 2b) dan organ hati menguning (Gambar 2c). Pembengkakan pada limpa ikan yang terserang VNN diduga karena pada organ tersebut mendapatkan aliran darah yang mengandung bahan genetik replikasi dari virus VNN langsung dari jantung dan pembuluh darah balik dari otak. Hal tersebut mengakibatkan terjadinya pembengkakan pada organ internal terutama hati dan limpa yang dilewati oleh aliran darah. Perubahan pada organ internal, terutama hati dan limpa akan terjadi akibat adanya viremia pada ikan yang terinfeksi virus penyebab VNN (Lio-Po dan Pena, 2004). VNN bersifat neurotropik dan dapat bereplikasi dalam saraf dan dapat secara cepat menyerang organ lain yang dilalui oleh sistem saraf perife (Korsnes, 2008).



Gambar 2. Lesi Anatomi Ikan Kerapu Cantang pasca infeksi VNN. (a) sirip pektoral kemerah-merahan; (b) pembengkakan pada organ limfa; dan (c) organ hati menguning

PCR

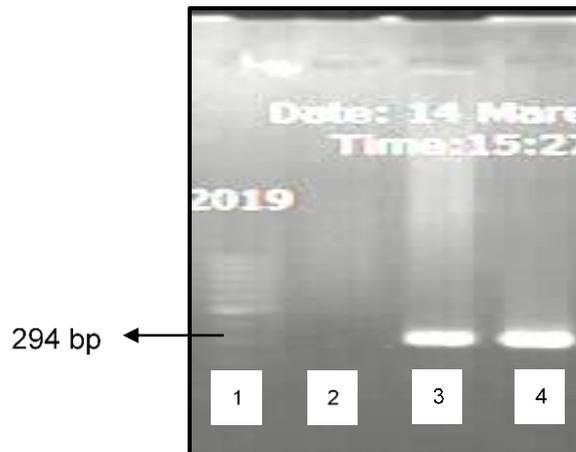
Hasil uji PCR yang dilakukan menunjukkan hasil positif (+) VNN, yang ditandai dengan adanya *band* yang sejajar dengan ukuran marker (294 bp) yang digunakan yakni pada kontrol negatif VNN dan sampel ikan yang terinfeksi VNN (Gambar 3).

Berdasarkan hasil uji PCR tersebut didapatkan hasil bahwa sampel ikan kerapu cangang yang diuji positif terinfeksi oleh VNN karena terdapat *band* yang sejajar dengan ukuran marker 294 bp atau sejajar dengan kontrol positif VNN yaitu pada 294 bp. Sementara pada kontrol negatif VNN tidak ditemukan adanya kemunculan *band* yang menunjukkan bahwa hasil uji PCR tersebut akurat karena tidak mengalami kontaminasi ketika sedang melakukan prosedur pengujian PCR. Hasil pengujian PCR tersebut juga sesuai dengan gejala

klinis dan patologis yang ditimbulkan setelah ikan diinfeksi dengan VNN. Nodavirus sebagai agen penyebab VNN pada ikan dapat dideteksi keberadaannya meskipun tanpa adanya gejala klinis (Novriadi, et al., 2014). PCR dapat digunakan untuk menentukan keberadaan suatu penyakit, selain itu PCR juga dapat digunakan untuk menentukan kandungan materi genetik baik DNA maupun RNA (Fajri, et al., 2015).

Survival Rate (SR)

Setelah uji tantangan didapatkan nilai SR yang berbeda-beda setiap perlakuan dengan total 28 ekor ikan mati pada 96-108 jam pasca infeksi VNN. Dari 50 ekor ikan pada penelitian, menyisakan 22 ekor ikan hingga hari kelima pascainfeksi VNN (Tabel 2).



Gambar 3. Hasil Elektroforesis Ikan Kerapu Cangang Positif VNN. Keterangan: 1. Marker, 2. Kontrol Positif, 3. Kontrol negatif, 4. Sampel 1 Positif VNN

Tabel 2. SR Ikan Kerapu Cangang Selama Penelitian

Dosis <i>D. salina</i> (mg/kg)	Jumlah ikan awal (ekor)	Jumlah ikan akhir (ekor)	SR (%)
0	10	1	10
250	10	2	20
300	10	4	40
350	10	5	50
400	10	6	60

Tabel 3. Hasil Pengukuran Parameter Kualitas Air Selama Pemeliharaan

Parameter	Nilai	Literatur (Adipu, et al., 2013)
Suhu (°C)	27-30	24-32
Derajat Keasaman (pH)	7,11-7,82	7,0-8,5
Oksigen Terlarut (DO) (ppm)	5,1-8,2	5,0-8,2
Salinitas (ppt)	31-34	28-35

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa ikan kerapu cantang yang diinjeksi 0,2 ml VNN mencapai LD₅₀ atau kematian 50% pada hari ke-5 pasca infeksi. Kelangsungan hidup paling tinggi terjadi pada perlakuan dengan pemberian dosis *D. salina* 400mg/kg pakan, yaitu mencapai 60%. Senyawa yang ditemukan pada ekstrak *D. salina* dapat digunakan meningkatkan respon imun pada tubuh ikan. Selain itu, senyawa yang terkandung dalam ekstrak *D. salina* berguna sebagai antimikroba dan antioksidan untuk menekan produksi radikal bebas yang berlebihan. Flavonoid dan tanin juga berfungsi sebagai antivirus yang dapat menghambat pertumbuhan VNN dan mematikan sel virus sehingga menurunkan jumlah kematian ikan kerapu cantang. Tingkat kelulushidupan yang rendah pada ikan yang terserang VNN diduga karena sifat dari virus VNN yang tidak dapat dimatikan dan bersifat aktif dalam sel inang yang mendukung kehidupannya.

Penambahan ekstrak *D. salina* yang lebih tinggi daripada dosis lainnya dan dapat meningkatkan sistem imun pada ikan kerapu cantang sehingga kelangsungan hidupnya (SR) lebih tinggi seiring dengan meningkatnya dosis yang diberikan. Ikan kerapu cantang pada dosis yang lebih tinggi (400 mg/kg) lebih tahan terhadap VNN karena kandungan β-karoten yang lebih banyak pada dosis tersebut dapat meningkatkan aktivitas *lysozyme*. Chuang, et al. (2014) mengatakan bahwa *lysozyme* merupakan zat yang disekresikan oleh leukosit yang berfungsi untuk meningkatkan aktivitas fagositik dan aktivitas sel NK (*Natural Killer*) yang berperan dalam proses fagositik. NK *cell* merupakan populasi limfosit yang dapat berkontribusi pada respon perlindungan terhadap berbagai

infeksi dan menghasilkan sitokin dan kemokin tertentu dalam jumlah yang banyak.

Kualitas Air

Hasil pengukuran parameter kualitas air pada bak-bak percobaan yang diukur setiap pagi dan sore hari didapatkan hasil bahwa kisarannya selama penelitian masih berada dalam kisaran optimal untuk kelangsungan hidup kerapu cantang selama masa pemeliharaan (Tabel 3).

KESIMPULAN

Berdasarkan tes in vivo pada penelitian ini diketahui bahwa perubahan gejala klinis dan patologi ikan kerapu cantang yang diberi ekstrak *D. salina* lebih lambat dibandingkan yang tidak diberi sama sekali, dan semakin tinggi dosis yang diberikan, perubahan tersebut juga semakin berkurang.

DAFTAR PUSTAKA

- Adipu, Y., Lumenta, C, Kaligis, E dan H. J. Sinjal. (2013). Kesesuaian lahan budidaya laut di perairan Kabupaten Bolaang Mongondow Selatan, Sulawesi Utara. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*. **9** (1): 19-26.
- Cakmak, Y. S., Kaya, M and M. Asan-Ozusaglam. (2014). Biochemical composition and bioactivity screening of various extracts from *Dunaliella salina*, a green microalga. *EXCLI Journal*. **13**: 679-690.
- Cepeda, G. N., B. B. Santoso, M. M. Lisangan dan I. Silamba. (2018). Kandungan fenol, flavonoid dan terpenoid ekstrak metanol daun

- akway (*Drimys piperita* Hook f.). *Agrotek*. **1**: 35-40.
- Chuang, W., Ho. Y, Liao. J and F. Lu. (2014). *Dunaliella salina* exhibits an antileukemic immunity in a mouse model of WEHI-3 leukemia cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **62** (47): 11479-11487.
- Dai, J., Wu. Y, Chen. S, Zhu. S, Yin. H, Wang. M and J. Tang. (2010). Sugar compositional determination of polysaccharides from *Dunaliella salina* by modified RP-HPLC method of precolumn derivatization with 1-phenyl-2methyl-5-pyrazolone. *Carbohydrate Polymers*. **82** (3): 629-635.
- Dedi, H. Irawan dan W. K. A. Putra. (2018). Pengaruh pemberian hormone tiroksin pada pakan pelet megami terhadap pertumbuhan benih ikan kerapu cantang *Epinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*. *Intek Akuakultur*. **2** (2): 33-48.
- Duan, W., F. Meng, Y. Lin and G. Wang. (2017). Toxicological effects of phenol on four marine microalgae. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. **52**: 170-176.
- ajri, N. A., M. Ali dan S. N. Depamede. (2015). Deteksi WSSV (*White Spote Syndrome Virus*) pada lobster air tawar (*Procambarus clarkii*) menggunakan metode real-time PCR. *Jurnal Sains Teknologi dan Lingkungan*. **1**(1): 30-36.
- Hadiyanto dan M. Azim. (2012). Mikroalga: Sumber Pangan dan Energi Masa Depan. Edisi Pertama. UPT UNDIP Press. Semarang. 138 hlm.
- Hakim, M. A., Indriasih dan W. Wiyani. (2016). Penyakit Ikan Kerapu: Bab VII Penyakit Viral. LP2IL. Serang. 75 hlm.
- Hexin, X. Cui, F. Wahid, F. Xia, C. Zhong and S. Jia. (2016). Analysis of the physiological and molecular responses of *Dunaliella salina* to macronutrient deprivation. *Plos One*. **11**(3): 1-19.
- Ibanez, E and A. Cifuentes. (2013). Benefit of using algae as natural source of functional ingredient. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **93** (4): 703-709.
- InterClinical Laboratories. (2010). *Dunaliella salina*-Marine Phytoplankton. Practitioner Information.
- Johnny, F., Mahardika. K, Giri, I. N. A dan D. Roza. (2007). Penambahan vitamin c dalam pakan untuk meningkatkan imunitas benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* terhadap infeksi *Viral Nervous Necrosis*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **6** (1): 43 – 53.
- Korsnes, K. (2008). Nervous Necrosis Virus (VNN) in farmed Norwegian fish species. Thesis of Philosophiae Doctor (PhD) University of Bergen. Norway: Bergen.
- Lio-Po, G. D and L. D. de la Pena. (2004). Viral Diseases Chapter 1. Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center. Philippines. Hlm 3-18.
- Luin, M., F. F. Ching and S. Senoo. (2013). Sexual maturation and gonad development in Tiger Grouper (*Epinephelus Fuscoguttatus*) X Giant Grouper (*E. Lanceolatus*) hybrid. *J Aquac Res Development*. **5**(2): 1-5.
- Madhumathi, M. and R. Rengasamy. (2011). Antioxidant status of *Penaeus monodon* fed with *Dunaliella salina* supplemented diet and resistance against WSSV. *International Journal of Engineering Science and Technology*. **3**(10): 7249-7159.
- Mahardika, K. dan I. Mastuti. (2013). Studi histopatologi: pembentukan sel-sel membesar pada organ ikan

- kerapu setelah terinfeksi *Megalocytivirus*. Konferensi Akuakultur Indonesia. 132-138.
- Nazari, A., M. D. Hassan, M. J. Zorriehzahra, T. I. Azmi and S. S. Arshad. (2014). Pathogenicity of viral nervous necrosis virus for guppy fish, *Poecilia reticulata*. *Irian Journal of Fisheries Science*. **13**(1): 168-177.
- Novriadi, R., S. Agustatik, S. Bahri, D. Sunantara dan E. Wijayanti. (2014). Distribusi patogen dan kualitas lingkungan pada budidaya perikanan laut di Provinsi Kepulauan Riau. *Depik*. **3**(1): 83-90.
- Roza, D., F. Johnny dan Tridjoko. (2006). Peningkatan respon imun non-spesifik benih Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) dengan imunostimulan dan bakterin terhadap infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN). *Jurnal Perikanan*. **8**(1): 25-35.
- Priyadarshani, I. dan B. Rath. (2012). Commercial and industrial applications of micro algae- a review. *J. Algal Biomass Utiln*. **3**(4): 89-100.
- Setyorini, N., Khusnah. A dan L. Widajatiningrum. (2008). Kelangsungan hidup ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi KHV (*Koi Herpes Virus*). *Berkala Ilmiah Perikanan*. **3** (1): 57-65.
- Sudaryatma, P. E., A. T. Lestari, N. L. Sunarsih, K. S. Widiarti, S. N. Hidayah, D. Srinoto. (2012). Imunositokimia *Streptavidin Biotin*: deteksi dini *Viral Nervous Necrosis Virus* pada lendir ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Jurnal Sain Veteriner*. **30**(1): 99-109.
- Sumaryam., Kusyairi, Oetami. S, Suprpto. H dan G. C. de Vries. 2011. Kultur sel otak dan mata ikan kerapu (*Chromileptes altivelis*) untuk replikasi *Viral Nervous Necrosis* (VNN). *Berita Biologi*. **10** (4): 505-510.
- Sutarmat, T dan H. T. Yudha. (2013). Analisis keragaan pertumbuhan benih kerapu hibrida hasil hibridisasi kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dengan kerapu kertang (*Epinephelus lanceolatus*) dan kerapu batik (*Epinephelus microdon*). *J. Ris. Akuakultur*. **8** (3): 363-372.
- Tarsim., A. Setyawan, E. Harpen dan A. R. Pratiwi. (2013). The efficacy of Black Cummin (*Nigella sativa*) as immunostimulant in Humpback Grouper (*Cromileptes altivelis*) againsts VNN (Viral Nervous Necrosis) infection. Seminar Nasional Sains dan Teknologi V Lembaga Penelitian Universitas Lampung. 525-532.
- Udiarta, P., E. N. Dewi dan Romadhoni. (2015). Pengaruh pemberian $MgCO_3$ dan $ZnCl_2$ terhadap stabilitas kandungan pigmen klorofil pada mikroalga *Spirulina platensis*. *Journal of Fisheries Science and Technology*. **10**(2): 114-118.
- Woo, P. T. K. and R. C. Cipriano. (2017). *Fish Viruses and Bacteria Pathobiology and Protection*. CABI. UK. 364 p.
- Yunanto, Y., H. P. Kusumaningrum dan S. Pujiyanto. (2013). Fusi protoplas interspesies *Chlorella pyrenoidosa* dan *Dunaliella salina*. *Jurnal Sains dan Matematika*. **21**(1): 15-30.

