

DAFTAR ISI

Halaman Sampul	i
Halaman Judul.....	ii
Halaman Pengesahan	iii
Halaman Pernyataan.....	iv
Halaman persembahan	v
Prakata.....	vi
Daftar Isi.....	viii
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Tabel	xii
Daftar Lampiran	xiii
Daftar Istilah.....	xiv
Intisari	xv
<i>Abstract</i>	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Permasalahan Penelitian	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.5 Keaslian Penelitian.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI	
2.1 Tinjauan Pustaka.....	9
2.1.1 Imunostimulan	9
2.1.2 Alginat	11
2.1.2.1 Struktur Alginat	11
2.1.2.2 Alginat dari Alga Coklat	12
2.1.2.3 Variasi Komposisi Penyusun Alginat.....	13
2.1.2.4 Pemanfaatan Alginat.....	15
2.1.2.5 Bioaktivitas Alginat sebagai Imunostimulan.....	15
2.1.3 <i>Padina</i> sp.	17
2.1.4 Udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	19
2.1.4.1 Fungsi berdasarkan Anatomi Udang Vaname	21
2.1.4.2 Siklus Hidup	21
2.1.5 Sistem Imun pada Udang.....	22
2.1.5.1 <i>Pattern Recognition Receptor</i> (PRR).....	23
2.1.5.1.1 LGBP	23
2.1.5.1.2 Lectin.....	25
2.1.5.1.3 Toll	26
2.1.5.2 Respon Imun Humoral	28
2.1.5.2.1 Gen ProPO	28
2.1.5.2.2 Mekanisme <i>prophenoloksidase</i>	28
2.1.5.2.3 <i>Superoxide dismutase</i> (SOD)	29
2.1.5.3 Respon Imun Selular.....	30

2.1.5.4 Mekanisme Aktivasi Sistem Imun	32
2.1.6 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	34
2.2 Landasan Teori	38
2.3 Hipotesis	40
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Alat dan Bahan	41
3.1.1 Alat Penelitian	41
3.1.2 Bahan Penelitian	41
3.2 Pengambilan Sampel dan Ekstraksi Alginat	42
3.2.1 Pengambilan Sampel	42
3.2.2 Ekstraksi Alginat	43
3.3 Analisis Alginat	43
3.3.1 Uji Kadar Air	43
3.3.2 Hidrolisis Alginat	44
3.3.3 Kromatografi Lapis Tipis	44
3.3.4 <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> (FTIR)	44
3.4 Pengujian Pakan dengan Penambahan Ca-alginat	45
3.4.1 Persiapan dan Perawatan Udang	45
3.4.2 Rancangan Percobaan	46
3.4.3 Pengambilan Sampel Haemolim	46
3.5 Analisis Parameter Hematologi	47
3.5.1 <i>Total haemocyte count</i> (THC)	47
3.5.2 Aktivitas fagositosis (AF) dan Indeks fagositosis (IF)	47
3.5.3 <i>Phenoloxidase</i> (PO)	48
3.5.4 <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD)	48
3.5.5 Total Protein Plasma (TPP)	49
3.6 Analisis Ekspresi Gen	49
3.6.1 Ekstraksi RNA	49
3.6.2 Sintesis cDNA (RT-PCR) dan qPCR	50
3.7 Analisis Data	51
3.8 Alur Penelitian	53
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Sampel <i>Padina</i> sp.	54
4.2 Ekstraksi dan Analisis Alginat	54
4.2.1 Ekstraksi <i>Padina</i> sp.	54
4.2.2 Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Alginat	56
4.2.3 Spektrum FTIR Ekstrak Alginat	58
4.3 Evaluasi Pemberian Ekstrak Alginat dari <i>Padina</i> sp melalui Pakan	61
4.4 Analisis Parameter Hematologi	62
4.4.1 <i>Total Hemocyte Count</i> (THC)	62
4.4.2 Aktifitas Fagositosis (AF) dan Indeks Fagositosis (IF)	63
4.1.3 Aktivitas Super Oxide Dismutase (SOD)	66
4.1.4 Aktivitas <i>Phenoloksidase</i> (PO)	67
4.1.5 Total Protein Plasma (TPP)	69
4.4 Analisis Ekspresi Gen	70
4.4.1 Optimasi qRT-PCR	70

4.4.2 Analisis hasil qRT-PCR.....	72
4.5 Mekanisme Aktivasi Imun Non-Spesifik oleh Ekstrak Alginat dari <i>Padina</i> sp.	76
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	81
5.2 Saran.....	81
Daftar Pustaka	83
Lampiran	92

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur monomer dan polimer alginat	11
Gambar 2.2. <i>Padina</i> sp.....	17
Gambar 2.4 <i>Litopenaeus vannamei</i>	19
Gambar 2.5. Struktur gen LGBP <i>L. vannamei</i>	24
Gambar 2.6. Struktur gen Lectin (LvLT) yang diambil dari hepatopankreas <i>L. vannamei</i>	26
Gambar 2.7. Struktur gen reseptor LvToll1-3 <i>L. vannamei</i>	27
Gambar 2.8. Struktur gen proPO <i>L. vannamei</i>	28
Gambar 2.9. Mekanisme prophenoloksidase di dalam sel haemosit	29
Gambar 2.10 Garis besar mekanisme aktivasi sistem imun udang.....	32
Gambar 2.11 qPCR menggunakan pendekatan probe.....	37
Gambar 2.12 Ilustrasi SBYR Green yang bereaksi terhadap dsDNA selama proses qPCR.....	37
Gambar 4.1 Herbarium sampel <i>Padina</i> sp.	54
Gambar 4.2 Hasil TLC ekstrak alginat dan asam alginat standar.....	57
Gambar 4.3 hasil TLC alginat sampel EPS dari biofilm bakteri <i>P. Aeruginosa</i> SG81	58
Gambar 4.4 Overlay spektrum FTIR ekstrak alginat dan asam alginat standar.....	60
Gambar 4.5 Hasil elektroforesis amplifikasi produk RT-PCR	71
Gambar 4.6 Contoh <i>melting curve</i> yang dihasilkan setelah proses amplifikasi cDNA menggunakan <i>real time</i> PCR.....	72
Gambar 4.7 Prediksi mekanisme aktivasi imun non-spesifik oleh alginat dari <i>Padina</i> sp.	78

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Rendemen alginat dari beberapa jenis rumput laut dan wilayah pengambilan sampel	13
Tabel 2.2	Variasi komposisi penyusun alginat dari berbagai spesies alga cokelat	14
Tabel 2.3	Pemanfaatan sodium alginat sebagai imunostimulan pada budidaya perikanan	16
Tabel 2.4	Fungsi berdasarkan anatomi udang vaname.....	21
Tabel 2.5	Tipe haemosit udang	31
Tabel 3.1	Primer yang digunakan dalam pengujian tingkat ekspresi gen	50
Tabel 4.1	Rendemen dan kadar air hasil ekstraksi alginat <i>Padina</i> sp.....	55
Tabel 4.2	Perbandingan hasil pembacaan spektra FTIR alginat dan asam alginat standar	60
Tabel 4.3	Tingkat konsumsi pakan udang vaname selama 15 hari pemeliharaan	61
Tabel 4.4	Hasil pengamatan THC udang vaname yang diberi alginat secara oral pada berbagai konsentrasi	62
Tabel 4.5	Hasil pengamatan AF udang vaname yang diberi alginat secara oral pada berbagai konsentrasi	64
Tabel 4.6	Hasil pengamatan IF udang vaname yang diberi alginat secara oral pada berbagai konsentrasi	66
Tabel 4.7	Hasil pengamatan rasio aktivitas SOD relatif udang vaname yang diberi alginat secara oral pada berbagai konsentrasi	66
Tabel 4.8	Hasil pengamatan aktivitas PO udang vaname yang diberi alginat secara oral pada berbagai konsentrasi	68
Tabel 4.9	Hasil pengamatan TPP udang vaname yang diberi alginat secara oral pada berbagai konsentrasi	69
Tabel 4.10	Kondisi RT-PCR sebelum dan sesudah optimasi suhu dan jumlah siklus PCR.....	71
Tabel 4.11	Kondisi qPCR sebelum dan sesudah optimasi suhu dan jumlah siklus PCR	72
Tabel 4.12	Matriks perbandingan berbagai parameter hematologi udang vaname pada pengamatan hari ke-10	73
Tabel 4.13	Matriks perbandingan berbagai parameter hematologi udang vaname pada pengamatan hari ke-15	73
Tabel 4.14	Analisis data Ct kontrol dan perlakuan alginat dosis 4 g/kg pakan pada hari ke-15	76

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Kurva standar Total Protein Plasma	92
Lampiran 2	Hasil uji sidik ragam <i>total haemocyt count</i>	93
Lampiran 3	Hasil uji sidik ragam aktivitas fagositosis	96
Lampiran 4	Hasil uji sidik ragam indeks fagositosis	99
Lampiran 5	Hasil uji sidik ragam aktivitas <i>superoxide dismutase</i>	102
Lampiran 6	Hasil uji sidik ragam aktivitas phenoloksidase	105
Lampiran 7	Hasil uji sidik ragam total protein plasma	108
Lampiran 8	Konsentrasi total RNA hasil isolasi untuk	111
Lampiran 9	Grafik linier RT-PCR gen LGBP, toll, lectin, proPO dan β -actin	112
Lampiran 10	Grafik Tm RT-PCR gen LGBP, toll, lectin, proPO dan β -actin	113

DAFTAR ISTILAH

AF	Aktivitas fagositosis
AMP	<i>Anti microbia peptide</i>
FTIR	<i>Fourier transformed infrared spektroskopi</i>
IF	Indeks fagositosis
IL	Interleukin
IMNV	<i>Infectious myonecrosis virus</i>
KLT	Kromatografi lapis tipis
L-DOPA	L-dihidroksipenilalanin
LGBP	<i>Lipopolisakarida-1,3-β-glucan binding protein</i>
LRR	<i>Leucin rich repeat</i>
NBT	<i>Nitroblue tetrazolium</i>
PAMPS	<i>Pathogen associated molecular patterns</i>
PCR	<i>Polimerase chain reaction</i>
PO	Phenoloksidase
proPO	Prophenoloksidase
PRR	<i>Pattern recognition receptor</i>
qRT-PCR	<i>Quantitative real time polimerase chain reaction</i>
ROS	<i>Reactive oxygen spesies</i>
SOD	<i>Superoxide dismutase</i>
TFA	<i>Triflouroacetic acid</i>
THC	<i>Total haemocyt count</i>
TSV	<i>Taura syndrom virus</i>
WSSV	<i>White spot syndrom virus</i>