

**PENGARUH PEMANFAATAN DIATOMAE (*Chaetoceros ceratosporum*)
DALAM FORMULA PAKAN TERHADAP KANDUNGAN ANION
SUPEROKSIDA PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon* Fab.)
YANG DIINFEKSI *Vibrio harveyi***

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

Oleh:
SULISTIOWATI
NIM. 0710850024-85



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

**PENGARUH PEMANFAATAN DIATOMAE (*Chaetoceros ceratosporum*)
DALAM FORMULA PAKAN TERHADAP KANDUNGAN ANION
SUPEROKSIDA PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon* Fab.)
YANG DIINFEKSI *Vibrio harveyi***

**Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana pada
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang**

Oleh:

**SULISTIOWATI
NIM. 0710850024-85**

Dosen Penguji I

**(Ir. Agoes Soeprijanto, MS.)
NIP. 19590807 198601 1 001
Tanggal:**

Dosen Penguji II

**(Ir. Anik Martinah H., M.Sc.)
NIP. 19610310 198701 2 001
Tanggal:**

**Menyetujui
Dosen Pembimbing I**

**(Ir. Arning Wilujeng E., MS.)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal :**

Dosen Pembimbing II

**(Dr. Ir. Mohamad Fadjar, M.Sc.)
NIP. 19621014 198701 1 001
Tanggal :**

**Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP**

**(Dr. Ir. Happy Nursyam, MS.)
NIP. 19600322 198601 1001
Tanggal :**

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam laporan skripsi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam laporan skripsi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur jiplakan, saya bersedia laporan skripsi ini dibatalkan serta diproses sesuai aturan yang berlaku.

Malang, Juli 2011

Sulistiowati



RINGKASAN

SULISTIOWATI. Pengaruh Pemanfaatan Diatomae (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam Formula Pakan terhadap Kandungan Anion Superoksida pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang Diinfeksi *Vibrio harveyi*. (di bawah bimbingan **Ir. Arning Wilujeng E., MS.** dan **Dr. Ir. Mohamad Fadjar, M.Sc.**).

Keragaman produksi udang secara nasional sejak 1994 sampai saat ini tidak menunjukkan peningkatan bahkan terjadi penurunan sekitar 100.000 ton/tahun menjadi 70.000 ton. Penurunan produksi udang hingga sekarang disebabkan penyakit. Salah satu kendala terbesar yang sering dihadapi pada budidaya udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) adalah serangan penyakit yang disebabkan virus, bakteri maupun jamur. *Vibrio harveyi* adalah bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit *Vibriosis* (*luminescent vibriosis*). Imunostimulan merupakan salah satu bahan yang dapat digunakan untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh udang terhadap serangan patogen. Salah satu bahan yang dapat digunakan adalah diatomae jenis *Chaetoceros ceratosporum*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan jumlah pemanfaatan Diatomae (*C. ceratosporum*) yang terbaik dalam formula pakan udang windu (*P. monodon* Fab.) terhadap daya tahan tubuh dengan pengukuran parameter anion superoksida. Penelitian ini dilaksanakan di Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo, Laboratorium Workshop Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan serta Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 22 Desember 2010 sampai 8 Maret 2011.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan dan tiga kali ulangan. Perlakuan tersebut yaitu: pemanfaatan Diatomae (*C. ceratosporum*) A (0%), B (3,04%), C (6,08%) dan D (9,12%) dalam formula pakan. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur, digunakan analisis keragaman atau uji F. Apabila nilai F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Parameter utama dalam penelitian ini adalah kandungan anion superoksida pada udang windu (*P. monodon* Fab.) sesudah dan sebelum diinfeksi dengan *V. harveyi*, sedangkan parameter penunjangnya adalah kualitas air yang terdiri dari suhu, oksigen terlarut, pH dan amonia.

Hasil penelitian menunjukkan rerata kandungan anion superoksida pada udang windu (*P. monodon* Fab.) sebelum diinfeksi bakteri *V. harveyi* meningkat, dimana kandungan anion superoksida optimum sebesar 1,01 dengan pemanfaatan *C. ceratosporum* 5,32%, setelah diinfeksi bakteri *V. harveyi* kandungan anion superoksida menurun pada semua perlakuan, dimana kandungan anion superoksida optimum sebesar 0,90 dengan pemanfaatan *C. ceratosporum* 4,78%. Kisaran pengukuran kualitas air yang didapatkan yaitu 28 – 29 °C; pH 7,67 – 8,45; DO 5,4 – 6,5; ammonia 0,012 – 0,044 mg/l.

Pemanfaatan diatomae *C. ceratosporum* dengan jumlah 4,78 – 5,32 % dalam formula pakan disarankan untuk digunakan dalam rangka meningkatkan kandungan anion superoksida serta mencegah serangan *V. harveyi* pada udang windu (*P. monodon* Fab)

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan mengucapkan puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala anugerah dan karunia-Mu, penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi yang berjudul **Pengaruh Pemanfaatan Diatomae (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam Formula Pakan terhadap Kandungan Anion Superoksida pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang Diinfeksi *Vibrio harveyi***. Laporan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan laporan ini dan keterbatasan yang dimiliki oleh penulis. Walau telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangtepatan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Akhir kata, penulis berharap semoga Laporan Skripsi ini dapat banyak berguna dan bermanfaat bagi pembaca pada umumnya serta bisa menjadi sumber informasi untuk penelitian berikutnya.

Malang, Juli 2011

Penulis



“Dialah yang menjadikan matahari bersinar dan bulan bercahaya dan ditetapkan-Nya manzilah-manzilah (tempat-tempat) bagi perjalanan-Nya, supaya kamu mengetahui bilangan tahun dan perhitungan. Allah tidak menciptakan yang demikian itu melainkan dengan haq. Dia menjelaskan tanda-tanda (kebesaran-Nya) kepada orang-orang yang mengetahui” Al Quran Surat (10) Yunus ayat 5.

Alhamdulillahirobilalamin..Puji syukur hamba panjatkan atas segala karunia, hikmah, hidayah, bimbingan-Mu pada setiap langkah hamba, kemudahan dan kelancaran yang telah kau limpahkan sehingga hamba mampu menyelesaikan studi dan mendapat gelar sarjana (S.Pi.)

Skripsi ini aku persembahkan kepada Ibunda Subariningrum dan ayahanda Samsiono yang telah memberikan dorongan semangat baik moril maupun materiil. Karena atas doa terindah, cinta kasih sayang, keikhlasan kesabaran, semangat dan dukungan yang sangat hebat sehingga ananda menjadi seorang sarjana.. they are my inspiration in my life..



Mbak, mz dan ponakan-ponakanku : Mb eri, mz fauzan, mz farid, mb narmi serta ponakan-ponakanku kakak haidar, mz idan, dek raya, amel dan nisa. Makasih atas doa, dukungan, semangat, hiburan serta banyak hal yang sangat membantuku. Aku sangat bahagia punya mbak2 dan mz2 yang begitu hebat, selalu penuh semangat dan selalu memberikan yang terbaik. Moga suatu hari nanti lilis dapat memberikan yang terbaik untuk bapak, ibu, mbak, mz dan ponakan2q. Amien...

iBu Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS. : Saya hanya dapat mengucapkan terimakasih atas kesempatan yang diberikan sehingga saya dapat turut serta dalam membantu penelitian S-3 ibu. Banyak ilmu, pengalaman, dukungan, semangat ,motivasi dan ilmu yang saya dapatkan dari ibu dan bapak tris. Semoga apa yang ibu dan bapak berikan dapat bermanfaat bagi saya sekarang maupun kelak. Amien..

Bapak Dr. Ir. Mohamad Fadjar, MS. : Terimakasih atas kesabaran, dukungan, motivasi dan ilmu yang telah bapak berikan. Maaf bila saya telah membuat bapak sering kemalang untuk bimbingan proposal dan laporan. Semoga ilmu yang bapak berikan dapat bermanfaat bagi saya sekarang maupun kelak. Amien..

iBu Ir. Anik Martinah H., MSc. : Terimakasih telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan saran untuk menyempurnakan laporan skripsi saya. Semoga ilmu yang ibu berikan dapat bermanfaat bagi saya sekarang maupun kelak. Amien..

Six aNgel : Coca, adek (yaYuk), mOti (muma), ruWet (Marinda), boHay (Mey) terimakasih atas persahabatan selama ini, banyak pengalaman yang sudah saya lewati bersama kalian selama ini, maaf kalau saya selama ini ada salah ataupun sering merepotkan, senang telah mengenal kalian teman..ku sayang kalian teman..



unTuk teman2 BP kHususny BP 07 (Fitray, Coca, arip, om jin, ruWet, tipu, vivi, cepu, tian, mamal, kiNtong, desay, adit, haris, paulus, bulet, bonay, win, adek, nDut, kaNyok, daNi, heNday, moTi, kiki, oCi, abdi, jeje, de su, begal, nayla)

Buat seluruh teman-teman asisten : kimia dasar (giTa, uLa, awe, henDri, mamal, dll), dasar-dasar aquaculture (daNi, kaNyok, coca, viVi, fiTray), ilmu tanah, pemupukan dan kesuburan perairan (Coca dan mamal yg selalu berdebat waktu review materi, beGal, nDut, kcil dan muJi), biokimia ikan (mB tyas, mZ nuu, mZ anGga, mb nepi, aRum, yOga), limnology (ruWet, coCa, adEk, mamal, nayla,dll), biologi perikanan (coca, ruWet, bulet, kaNyok, mamal, cepu, mili, budi, dll), nutrisi ikan (haris, tian, vivi, deci, dani, paulus, adit).

Senang bisa belajar, bekerja sama, dan berbagi ilmu bersama kalian selama ini. Untuk kOkquchiq tersayang Septian Kusuma Hardiansyah dan keluarga (iBu, mB ucik, mZ boby) yang sudah dengan sabar menemani, membantu, memberi semangat, motivasi dan berbagi ilmu, terimakasih banyak sayang.

Untuk KL-8o mbak2 dan adek2q : mB iPut, mB maYag, mB noPi, puPut dll..terimakasih sudah menjadi keluarga baruku selama di Malang..

Dan untuk semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu terimakasih banyak atas bantuan, dukungan serta doanya selama ini..Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan kalian semua... Amien.

“Bacalah dengan nama Tuhanmu yang menjadikan. Yang menjadikan manusia dari segumpal darah. Bacalah, dan Tuhanmu teramat Mulia. Yang mengajarkan dengan pena (tuliskan baca). Mengajarkan kepada manusia apa yang tidak diketahuinya”

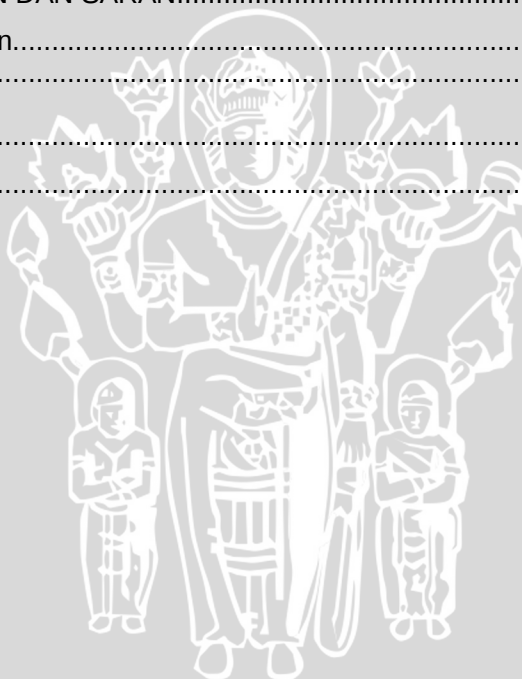
Al Quran Surat (96) Al 'Alaq ayat 1-5.

وَلَسَّالْمُرْعَلِكُمْ وَرَحْمَةُ اللَّهِ وَبَرَكَاتُهُ

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	5
1.5. Hipotesis	5
1.6. Tempat dan Waktu	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Biologi Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fab.).....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	6
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	8
2.1.3 Daur Hidup	9
2.1.4 Sifat, Kebiasaan, Cara Makan dan Makanannya	11
2.2. Diatomae (<i>C. ceratosporum</i>)	12
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	12
2.2.2 Habitat dan Pertumbuhan	13
2.2.3 Reproduksi dan Daur Hidup	14
2.3. <i>V. harveyi</i>	14
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	14
2.3.2 Aktivitas dan Pertumbuhan	16
2.3.3 Infeksi dan Tanda-tanda Penyerangannya.....	16
2.4. Sistem Pertahanan Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fab.)	17
2.5. Imunostimulan	18
2.6. Anion Superoksida pada Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fab.).....	20
BAB III. MATERI DAN METODE PENELITIAN	23
3.1 Materi Penelitian.....	23
3.1.1. Peralatan Penelitian.....	23
3.1.2. Bahan Penelitian.....	24
3.2. Metode dan Rancangan Penelitian	25
3.2.1. Metode Penelitian	25
3.2.2. Rancangan Penelitian.....	26
3.3. Prosedur Penelitian	26

3.3.1. Persiapan Penelitian	26
3.3.2. Pelaksanaan Penelitian	27
3.3.3. Percobaan Pakan terhadap Daya Tahan Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fab.)	28
3.4. Parameter Uji	34
3.4.1. Parameter Utama	34
3.4.2. Parameter Penunjang	34
3.5. Analisis Data	34
 BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	 35
4.1 Anion Superoksida	35
4.2 Kualitas Air	42
4.2.1. Suhu	42
4.2.2. Derajat Keasaman (pH)	43
4.2.3. Oksigen Terlarut (DO)	43
4.2.4. Amonia	44
 BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	 46
5.1 Kesimpulan.....	46
5.2 Saran.....	46
 DAFTAR PUSTAKA.....	 47
LAMPIRAN	51



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi kimia bahan penyusun pakan percobaan.....	25
2. Formulasi pakan percobaan.....	25
3. Data absorbansi anion superoksida pada Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fab.) yang diberi pakan percobaan.....	35
4. Sidik ragam anion superoksida udang windu (<i>P. monodon</i> Fab.) sebelum diinfeksi.....	35
5. Sidik ragam anion superoksida udang windu (<i>P. monodon</i> Fab.) setelah diinfeksi <i>V. harveyi</i>	36
6. Kisaran hasil pengukuran kualitas air media pemeliharaan udang windu (<i>P. monodon</i> Fab.) selama penelitian.....	42



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fab.).....	6
2. Morfologi udang penaeid.....	8
3. Siklus hidup udang laut <i>Penaeidae</i>	10
4. <i>C. ceratosporum</i> (Perbesaran 1.000x)	13
5. <i>V. harveyi</i>	15
6. Diagram alir uji anion superoksida	33
7. Hubungan antara persentase perlakuan dengan kandungan anion superoksida udang windu (<i>P. monodon</i> Fab.) sebelum diinfeksi dengan <i>V. harveyi</i>	37
8. Hubungan antara persentase perlakuan dengan kandungan anion superoksida udang windu (<i>P. monodon</i> Fab.) setelah diinfeksi dengan <i>V. harveyi</i>	38
9. Pola perubahan antara perlakuan pemanfaatan <i>C. ceratosporum</i> terhadap kandungan anion superoksida udang windu (<i>P. monodon</i> Fab.) sebelum dan setelah diinfeksi dengan <i>V. harveyi</i>	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Denah Penelitian.....	51
2. Pembuatan Pakan	52
3. Hasil Analisis Proksimat Pakan Percobaan.....	53
4. Pengujian Kandungan Anion Superoksida Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fab.)	54
5. Uji Normalitas Kandungan Anion Superoksida pada Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fab.) sebelum Diinfeksi <i>V. harveyi</i>	55
6. Uji Normalitas Kandungan Anion Superoksida pada Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fab.) setelah Diinfeksi <i>V. harveyi</i>	57
7. Analisis Data Penelitian sebelum Diinfeksi <i>V. harveyi</i>	59
8. Analisis Data Penelitian setelah Diinfeksi <i>V. harveyi</i>	65
9. Data Pengukuran Suhu Media Pemeliharaan Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fab.) selama Penelitian	71
10. Data Pengukuran pH Media Pemeliharaan Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fab.) selama Penelitian	74
11. Data Pengukuran DO Media Pemeliharaan Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fab.) selama Penelitian	75
12. Data Pengukuran Amonia (NH ₃) Media Pemeliharaan Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fab.) selama Penelitian.....	76

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) merupakan salah satu jenis udang perairan laut yang mempunyai nilai jual yang tinggi dan menduduki tempat penting di sektor perikanan, baik sebagai komoditi ekspor maupun sebagai sumber protein untuk konsumsi dalam negeri, sehingga udang windu sangat berpotensi untuk dikembangkan baik melalui pembenihan maupun pembesarannya (Lamadi, 2009).

Selama satu dasawarsa terakhir, produksi budidaya udang windu secara nasional mengalami penurunan menjadi 70 ribu ton per tahun. Meski tahun 2010 pemerintah menargetkan produksi udang nasional mencapai 699 ribu ton. Naik hampir dua kali lipat dari tahun sebelumnya sebesar 348,1 ribu ton (Sahana, 2010). Kebutuhan Udang Windu yang senantiasa meningkat, mendorong Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) meningkatkan target produksi. Tahun 2011 ini, KKP menargetkan produksi udang windu mencapai 130.000 ton. Peningkatan target produksi udang windu ini seiring dengan peningkatan kebutuhan benih udang windu. Tahun ini, permintaan benih udang windu diperkirakan mencapai 7,8 juta ekor. Jumlah ini tumbuh 4% dibandingkan kebutuhan 2010 yaitu 7,51 juta ekor (Anonymous, 2011^a).

Eksistensi udang windu (*P. monodon* Fab.) di Indonesia masih sangat diperlukan untuk meningkatkan produksi udang. Hal ini disebabkan sampai saat ini berbagai upaya untuk meningkatkan produksi udang dengan berbagai macam cara belum dapat berhasil sesuai target yang ditetapkan. Penyebab utama penurunan produksi udang hingga sekarang adalah kematian udang yang disebabkan penyakit (Mahasri, 2008).

Patogenitas adalah potensi suatu mikroorganisme (bakteri) menimbulkan penyakit atau menginfeksi. Penyakit yang menimbulkan masalah pada pembenihan udang adalah disebabkan jasad yang tergolong dalam alga, protozoa, jamur, bakteri dan virus yang bersifat oportunistis. Permasalahan yang paling serius dalam penyediaan benih udang windu adalah kematian masal yang disebabkan oleh serangan penyakit terutama bakteri menyala (*luminescent vibriosis*) atau yang dikenal dengan penyakit kunang-kunang (Prajitno, 2007).

Genus *Vibrio* adalah agen penyebab penyakit *vibriosis* yang menyerang hewan laut seperti ikan, udang dan kerang-kerangan. Spesies *Vibrio* umumnya menyerang larva udang dan penyakitnya disebut penyakit udang berpendar (Violy, 2010). Penyakit ini di kalangan petani tambak lebih dikenal dengan nama serangan penyakit udang menyala, karena udang yang sudah terserang pada lingkungan gelap akan tampak bercahaya (Rozi, 2008).

Pengendalian *vibriosis* harus dilakukan sejak dini dan dimulai dari awal budidaya, baik pada pembenihan maupun pembesaran udang windu. Hal yang harus diperhatikan dalam tindakan itu adalah keamanan, efisiensi dan ekonomi bagi penggunaan agen atau substansi yang dipakai. Bahan-bahan kimia yang dipakai dalam jangka panjang dapat menimbulkan dampak yang merugikan bagi lingkungan, kesehatan konsumen dan resistensi patogen (Budiardi, 2010).

Pada budidaya udang, metode pengendalian penyakit yang banyak dilakukan adalah melalui penggunaan imunostimulan dan probiotik. Hal ini dikarenakan sistem pertahanan tubuh udang tidak mempunyai kemampuan mengingat antigen dan merupakan sistem kekebalan non spesifik sehingga penggunaan vaksin tidak dapat bekerja secara efektif (Effendy *et al.*, 2004).

Pada penelitian ini digunakan *Chaetoceros ceratosporum* dalam formula pakan, karena menurut Setyaningsih (2004), *Chaetoceros sp.* mempunyai bahan antibiotik. Salah satunya adalah *Chaetoceros gracilis* yang menghasilkan

senyawa antimikroba. Sehingga *C. ceratosporum* diduga juga memiliki potensi sebagai immunostimulan yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh udang windu (*P. monodon* Fab.) terutama terhadap serangan *Vibrio harveyi*. Storseth *et al.*, (2003) melaporkan bahwa *Chaetoceros mulleri* mengandung β -glukan yang bisa digunakan sebagai imunostimulan pada ikan. Selain itu, alga coklat *Laminaria hyperborean* diketahui bisa digunakan sebagai imunostimulan.

Dewasa ini telah berhasil dikultur beberapa spesies fitoplankton yang digunakan sebagai pakan larva diantaranya *Chlorella* sp., *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* sp., *Tetraselmis chuii*, *Isochrysis galbana* dan *Dunaliella salina*. *Chaetoceros* sp. banyak digunakan sebagai pakan alami pada unit-unit pembenihan karena memiliki kandungan protein yang cukup tinggi. Kandungan nutrisi dari *Chaetoceros* sp. yaitu protein 35 %, lemak 6,9 %, karbohidrat 6,6 % dan kadar abu 28 % (Zulkifli, 2010).

Untuk menanggulangi penyakit *vibriosis* pada udang maka perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemanfaatan *Diatomae* (*C. ceratosporum*) dalam formula pakan untuk meningkatkan daya tahan tubuh pada udang windu (*P. monodon* Fab.) dengan pengukuran parameter anion superoksida sebelum dan setelah diinfeksi *V. harveyi*.

1.2 Perumusan Masalah

Penurunan produksi udang hingga sekarang disebabkan karena penyakit *vibriosis*. Penyebab *vibriosis* adalah bakteri *Vibrio* sp., yang saat ini dikenal sekitar 20 jenis yang menyerang berbagai komoditas perikanan seperti ikan, moluska, krustasea termasuk kepiting, lobster dan berbagai jenis udang.

Udang windu seperti halnya krustasea lainnya hanya memiliki respon kekebalan non spesifik, sehingga diperlukan cara untuk menginduksi kekebalan udang terhadap kemungkinan serangan patogen. Salah satu alternatif baru dan

mulai dikembangkan adalah upaya meningkatkan kekebalan tubuh tanpa adanya efek samping yaitu imunostimulan, senyawa yang merangsang aktivitas pertahanan tubuh sehingga meningkatkan sistem kekebalan tubuh non spesifik. Imunostimulan digunakan untuk meningkatkan efisiensi sistem imun dalam menghadapi patogen.

Mikroba yang memiliki β -glukan (terdapat pada dinding sel ragi) ataupun peptidoglikan dan lipopolisakarida (terdapat pada dinding sel bakteri) dapat menstimulasi fungsi sistem pertahanan non spesifik pada krustasea maupun bintang lainnya. Beberapa substansi diketahui mampu meningkatkan respon kekebalan seperti *C. gracilis* yang menghasilkan senyawa anti mikroba seperti β -glukan, sehingga diduga *C. Ceratosporum* mengandung β -glukan yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh udang windu (*P. monodon* Fab.) terutama terhadap serangan *V. harveyi*.

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Apakah pemanfaatan Diatomae (*C. Ceratosporum*) dalam formula pakan udang windu (*P. monodon* Fab.) akan berpengaruh terhadap daya tahan tubuh yang dapat diukur dengan parameter anion superoksida?
- Berapa jumlah pemanfaatan Diatomae (*C. Ceratosporum*) yang terbaik dalam formula pakan untuk meningkatkan daya tahan tubuh udang windu (*P. monodon* Fab.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

- Untuk mengetahui pengaruh pemanfaatan Diatomae (*C. ceratosporum*) dalam formula pakan udang windu (*P. monodon* Fab.) dengan jumlah yang berbeda terhadap daya tahan tubuh dengan pengukuran parameter anion superoksida.

- Untuk mengetahui pemanfaatan *Diatomae (C. ceratosporum)* dengan jumlah yang terbaik dalam formula pakan udang windu (*P. monodon* Fab.) terhadap daya tahan tubuh dengan pengukuran parameter anion superoksida.

1.4 Manfaat Penelitian

- Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai pemanfaatan *Diatomae (C. ceratosporum)* dalam formula pakan terhadap daya tahan tubuh udang windu (*P. monodon* Fab.).
- Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan salah satu solusi pencegahan penyakit pada udang windu (*P. monodon* Fab.) dengan memanfaatkan *Diatomae (C. ceratosporum)* dalam formula pakan.

1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga bahwa pemanfaatan *C. ceratosporum* dalam formula pakan tidak dapat meningkatkan daya tahan tubuh udang windu (*P. monodon* Fab.) melalui pengukuran parameter anion superoksida.

H_1 : Diduga bahwa pemanfaatan *C. ceratosporum* dalam formula pakan dapat meningkatkan daya tahan tubuh udang windu (*P. monodon* Fab.) melalui pengukuran parameter anion superoksida.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo pada tanggal 22 Desember 2010 sampai 28 Februari 2011, Laboratorium Workshop Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 1 sampai 8 Maret 2011 serta Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 1 dan 2 Maret 2011.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Biologi Udang Windu (*P. monodon* Fab.)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Dalam dunia internasional, udang windu seperti dalam Gambar 1 dikenal dengan nama *black tiger*, *tiger shrimp* atau *tiger prawn*. Soetomo (2000), menyatakan udang windu diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Arthropoda
Class	: Malacostraca
Ordo	: Decapoda
Family	: Penaeidae
Genus	: <i>Penaeus</i>
Species	: <i>P. monodon</i> Fab.



Gambar 1. Udang Windu (*P. monodon* Fab.) (Anonymous^b, 2011)

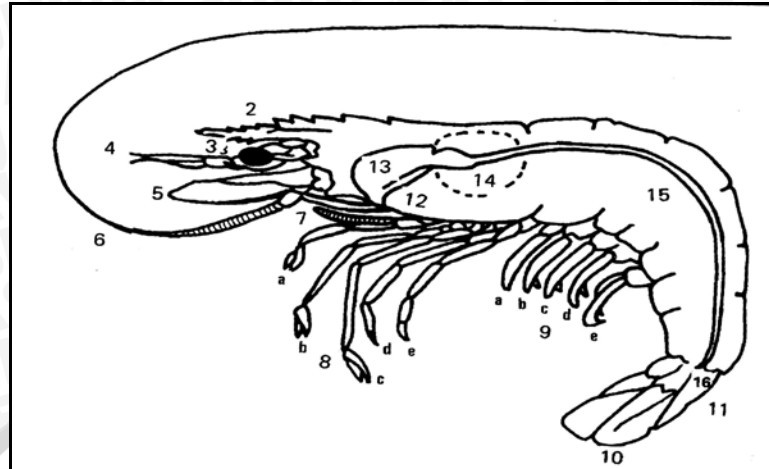
Ditinjau dari morfologinya dalam (Gambar 2), tubuh udang windu (*P. monodon* Fab.) terbagi menjadi dua bagian, yakni bagian kepala yang menyatu dengan bagian dada (kepala-dada) disebut *cepalotoraks* dan bagian perut (*abdomen*) yang terdapat ekor di bagian belakangnya. Semua bagian badan beserta anggota-anggotanya terdiri dari ruas-ruas (*segmen*). Kepala-dada terdiri dari 13 ruas, yaitu kepalanya sendiri 5 ruas dan dadanya 8 ruas., sedangkan

bagian perut terdiri atas *segmen* dan 1 *telson*. Tiap ruas badan mempunyai sepasang anggota badan yang beruas-ruas pula (Suyanto dan Mujiman, 2006).

Seluruh tubuh tertutup oleh kerangka luar yang disebut *eksoskeleton*, yang terbuat dari zat kitin. Bagian kepala ditutupi oleh cangkang kepala (*karapas*) yang ujungnya meruncing disebut *rostrum*. Kerangka tersebut mengeras, kecuali pada sambungan-sambungan antara dua ruas tubuh yang berdekatan. Hal ini memudahkan mereka untuk bergerak (Suyanto dan Mujiman, 2006). Udang betina lebih cepat tumbuh daripada udang jantan, sehingga pada umur yang sama tubuh udang betina lebih besar daripada udang jantan (Soetomo, 2000).

Di bagian kepala sampai dada terdapat anggota-anggota tubuh lainnya yang berpasang-pasangan. Berturut-turut dari muka ke belakang adalah sungut kecil (*antennula*), sirip kepala (*scaphocerit*), sungut besar (*antenna*), rahang (*mandibula*), alat-alat pembantu rahang (*maxilla*) dan kaki jalan (*pereiopoda*). Di bagian perut terdapat lima pasang kaki renang (*pleopoda*). Ujung ruas ke- 6 arah belakang membentuk ujung ekor (*telson*) dan di bawah pangkal ujung ekor terdapat lubang dubur (*anus*).

Udang jantan biasanya lebih besar, tubuh langsing dan ruang bawah perut sempit, sedangkan udang betina gemuk karena ruang perutnya membesar. (Soetomo, 2000). Jenis kelamin udang windu betina dapat diketahui dengan adanya *telikum* di antara kaki jalan ke- 4 dan ke- 5. *Telikum* berupa garis yang tipis dan akan melebar setelah terjadi fertilisasi. Sementara jenis kelamin udang windu jantan dapat diketahui dengan adanya *petasma*, yakni tonjolan di antara kaki renang pertama. Dalam habitatnya, pertumbuhan udang windu betina lebih cepat dibandingkan yang jantan. Demikian juga frekuensi pergantian kulit lebih banyak terjadi pada udang windu jantan (Murtidjo, 2003).



Gambar 2. Morfologi udang penaeid (Motoh, 1981)

Keterangan :

- | | |
|---------------------|-------------------|
| 1 = cangkang kepala | 9 = kaki renang |
| 2 = cucuk kepala | 10 = ekor kipas |
| 3 = mata | 11 = ujung ekor |
| 4 = sungut kecil | 12 = kerongkongan |
| 5 = sisik sungut | 13 = perut |
| 6 = sungut | 14 = hati |
| 7 = rahang | 15 = usus |
| 8 = kaki jalan | 16 = dubur |

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Udang windu digolongkan jenis binatang *euryhaline* atau binatang air yang dapat hidup dalam kisaran kadar garam 3 – 45 ppt (pertumbuhan optimal pada salinitas 15 – 30 ppt). Binatang ini aktif pada malam hari, sementara pada siang hari lebih suka membenamkan diri di tempat teduh atau lumpur. Di habitatnya, makanan udang bermacam-macam (*omnivorus*), seperti jenis krustasea rendah, siput kecil, cacing, larva serangga maupun sisa-sisa bahan organik baik tumbuhan maupun hewan. Udang juga bersifat kanibal, yang menjadi sasaran terutama udang yang sedang berganti kulit (Murtidjo, 2003).

Amri (2003) menyatakan bahwa habitat udang berbeda-beda tergantung dari jenis, persyaratan hidup dan tingkatan-tingkatan dalam daur hidupnya. Udang windu bersifat *euryhaline* yakni bisa hidup di laut yang berkadar garam tinggi hingga perairan payau yang berkadar garam rendah. Udang windu juga

bersifat *benthik*, hidup pada permukaan dasar laut yang lumer (*soft*) terdiri dari campuran lumpur dan pasir terutama perairan berbentuk teluk dengan aliran sungai yang besar. Pada stadium *post larva* ditemukan di sepanjang pantai dimana pasang terendah dan tertinggi berfluktuasi sekitar 2 meter dengan aliran sungai kecil, dasarnya berpasir atau pasir lumpur.

Toro dan Soegiarto (1979) menyatakan bahwa 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 berindung dari serangan arus dan aliran air yang deras serta terhindar dari binatang pemangsa.

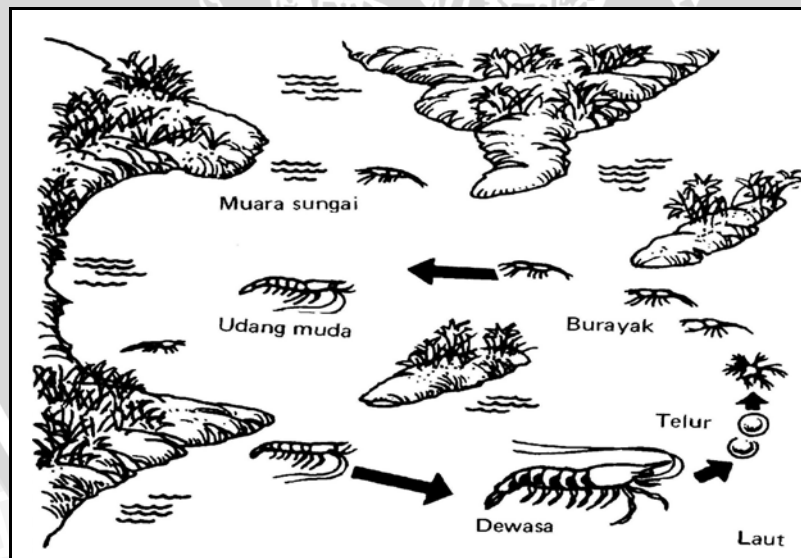
2.1.3 Daur Hidup

Udang windu daur hidupnya mempunyai beberapa tahap. Tahap pertama dimulai sejak udang tumbuh menjadi dewasa dan matang gonad kemudian bergerak ke laut dalam. Di sini udang akan melakukan perkawinan, memijah dan bertelur. Telur akan menetas dan berkembang menjadi larva, *naupli*, *protozoa* dan *mysis*. Kemudian tahap kedua dimulai dengan perubahan *mysis* menjadi *post larva* yang mulai bergerak ke daerah pantai dan mencapai estuari. Di sini udang sampai dewasa dan bergerak ke tengah laut untuk memijah lagi (Toro dan Soegiarto, 1979).

Habitat Udang Windu muda adalah air payau, misalnya muara sungai dan pantai. Semakin dewasa, udang semakin menyukai hidup di dasar laut. Udang Windu yang sudah dewasa kelamin mulai hijrah ke laut yang dalam. Mereka biasanya hidup berkelompok. Perkawinan berlangsung setelah udang betina berganti kulit. Dalam perkawinan, udang jantan memasukkan sperma dengan menggunakan *petasma* ke dalam *telikum* udang betina. Untuk beberapa saat lamanya, sperma akan tetap berada dalam *telikum* sampai tiba saatnya untuk

dikeluarkan bersama sel telur betina ke dalam air sehingga dapat saling membuahi. Telur-telur yang berhasil disebarkan selanjutnya akan terayun-ayun di dasar laut yang dalam. Setelah 15 jam telur akan menetas menjadi larva dan mulai memiliki sifat petualang, yakni bergerak mendekati permukaan laut. Selama berada di permukaan laut, larva hanya akan mengalami beberapa tahap perubahan bentuk. Larva *nauplius* berganti kulit enam kali menjadi *zoea*. *Zoea* berganti kulit tiga kali menjadi *mysis*. *Mysis* berganti kulit tiga kali menjadi *post larva*. *Post larva* masih membutuhkan pergantian kulit sampai 20 kali (PL 20). Mereka yang berhasil mengakhiri sub stadium *post larva* akan mencapai bentuk sempurna yang disebut juvenil atau udang muda. Selama perkembangan dari udang muda menjadi dewasa, udang juga mengalami pergantian kulit. Pada usia 1,5 tahun di habitatnya, Udang Windu sudah dewasa kelamin (Murtidjo, 2003).

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



Gambar 3. Siklus hidup udang laut *Penaeidae* (Motoh, 1981)

Menurut Amri (2003), setelah telur menetas, larva udang windu mengalami perubahan bentuk beberapa kali seperti berikut ini:

1. Periode *nauplius* atau periode larva udang. Periode ini dijalani selama 46 - 50 jam dan larva mengalami enam kali pergantian kulit.
2. Periode *zoea* atau periode kedua. Periode ini memerlukan waktu sekitar 96 - 120 jam dan pada saat itu larva mengalami tiga kali pergantian kulit.
3. Periode *mysis* atau periode ketiga. Periode ini memerlukan waktu 96 - 120 jam dan pada saat itu larva mengalami pergantian kulit sebanyak tiga kali.
4. Periode *post larva* (PL) atau periode keempat. Udang windu mencapai sub stadium pasca larva sampai 20 tingkatan. Ketika mencapai periode ini, udang lebih menyukai perairan payau dengan salinitas 15 - 20 ppt.
5. Periode *juvenil* atau periode kelima. *Juvenil* merupakan udang muda yang menyukai perairan dengan salinitas 20 - 25 ppt.
6. Periode udang dewasa. Periode ini berlangsung setelah periode juvenil hingga udang siap berkembang biak. Setelah matang kelamin dan matang gonad, udang dewasa akan kembali ke laut dalam untuk melakukan pemijahan. Udang dewasa menyukai perairan laut dengan salinitas 25 - 35 ppt.

2.1.4 Sifat, Kebiasaan, Cara Makan dan Makanannya

Udang windu bersifat omnivor, pemakan detritus dan sisa-sisa organik baik hewani maupun nabati. Udang ini mempunyai sifat dapat menyesuaikan diri dengan makanan yang tersedia di lingkungannya dan tidak bersifat terlalu memilih-milih (Toro dan Soegiarto, 1979). Sedang pada tingkat *mysis*, makanannya berupa campuran Diatomae dan zooplankton seperti *balanus*, *veligere*, *copepod* dan *trephophora* (Poernomo, 1976).

Udang windu merupakan organisme yang aktif mencari makan pada malam hari (*nokturnal*). Pada stadia benih, makanan utamanya adalah plankton (fitoplankton dan zooplankton). Udang windu dewasa menyukai daging binatang lunak atau *moluska* (kerang, tiram dan siput), cacing, *annelida* yaitu cacing

Polychaeta dan krustasea. Udang windu akan bersifat kanibal bila kekurangan makanan (Soetomo, 2000).

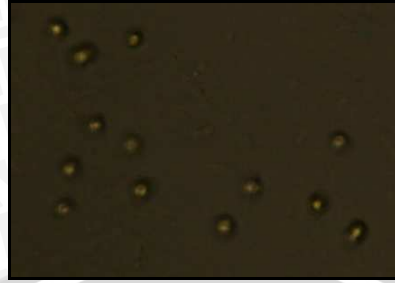
Udang windu bersifat *nokturnal*, artinya aktif mencari makan dan beraktivitas pada malam hari atau pada suasana gelap. Sebaliknya, pada siang hari aktivitasnya menurun dan lebih banyak membenamkan diri di dalam lumpur atau pasir. Makanan udang windu bervariasi baik jenis maupun komposisinya, tergantung dari umurnya. Makanannya berupa hewan-hewan kecil seperti invertebrata (hewan tidak bertulang belakang) air, udang kecil, kerang (*bivalvae*) dan ikan kecil. Induk udang memerlukan makanan alami yang mempunyai kandungan kolesterol tinggi yang berasal dari kerang-kerangan dan krustasea lain (kepiting). Jenis makanan ini diperlukan untuk mempercepat proses pematangan telur. Makanan yang biasa diberikan untuk induk udang adalah cacing *polychaeta*, cumi-cumi yang di cacah, kerang, lamis dan cacahan kepiting.

2.2 Diatomae (*C. ceratosporum*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Zipecodezoo (2009), *C. ceratosporum* seperti tampak pada Gambar 4 dapat diklasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Chromista
Phylum	: Ochrophyta
Class	: Coscinodiscophyceae
Order	: Chaetocerotales
Family	: Chaetocerotaceae
Genus	: <i>Chaetoceros</i>
Species	: <i>C. ceratosporum</i>



Gambar 4. *C. ceratosporum* (Perbesaran 1.000x)

Chaetoceros berbentuk bulat dengan diameter 4 - 6 mikron dan ada yang berbentuk segi empat dengan ukuran 8 - 16 x 7 - 18 μm . Dinding sel fitoplankton ini dibentuk dari silikon. Karatenoid dan diatomin merupakan pigmen yang dominan. Pada kultur fitoplankton ini berwarna kuning hingga coklat (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

2.2.2 Habitat dan Pertumbuhan

Chaetoceros toleran terhadap suhu tinggi, pada suhu 40 °C plankton ini masih dapat hidup, tetapi tidak berkembang. Chaetoceros tumbuh optimum pada suhu 25 – 35 °C dan masih dapat tumbuh pada suhu 37 °C. Kadar garam yang optimum untuk pertumbuhannya pada kisaran 17 - 25 ppt (Ekawati, 2005).

Pada umumnya Diatomae jenis *C. ceratosporum* dalam pustaka masih sangat terbatas namun secara umum genus *Chaetoceros* sp. memiliki habitat dan perkembangbiakan yang menurut Taghnul (2008), *Chaetoceros* sp. merupakan organisme yang memiliki kemampuan adaptasi terhadap suhu tinggi, namun tumbuh optimal pada kisaran suhu 25 – 30 °C. Salinitas memiliki peranan penting dalam pertumbuhan karena secara langsung berpengaruh pada tekanan osmose di dalam sel fitoplankton sehingga fluktuasi salinitas menyebabkan aktivitas sel menjadi terganggu. Namun berbeda dengan fitoplankton pada umumnya, *Chaetoceros* sp. tergolong organisme yang memiliki toleransi kisaran salinitas yang sangat lebar (*euryhaline*) yaitu 6 – 50 ppt tetapi tumbuh optimal pada kisaran 17 – 32 ppt.

Pertumbuhan *Chaetoceros* sp. sangat dipengaruhi oleh nutrisi yang ada di lingkungan tempat hidupnya. Oleh karena itu media kulturnya perlu diberi pupuk untuk menunjang ketersediaan unsur hara baik makro maupun mikro. Salah satu unsur hara makro (nutrient utama) yang sangat menunjang pertumbuhan *Chaetoceros* sp. adalah ketersediaan unsur nitrogen (N). Pada umumnya nitrogen yang dibutuhkan untuk media kultur yaitu dalam bentuk senyawa nitrat (Zulkifli, 2010).

2.2.3 Reproduksi dan Daur Hidup

Reproduksi *Chaetoceros* dapat secara aseksual maupun seksual. Silikat mempunyai peranan penting dalam proses reproduksi fitoplankton ini, sebagai bahan pembentuk cangkang baru (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Seperti halnya pembelahan sel pada umumnya, setiap sel baru yang berkembang dari bagian tutup kotak akan tumbuh besar menyerupai ukuran induknya. Namun, sel baru yang mendapatkan bagian dasar kotak akan tumbuh lebih kecil dari sel induk. Pembelahan ini terus berlanjut sehingga sel hasil pembelahan akan mempunyai ukuran yang semakin mengecil. Sampai batas terkecil ukuran sel, pembelahan terhenti sebentar dan sel akan keluar dari cangkangnya (Djarjah, 1995).

2.3 *V. harveyi*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Vibrio merupakan bakteri berbentuk batang, bersifat gram negatif dan sebagian besar hidup di perairan payau. Infeksi *vibrio* umumnya terjadi pada ikan air payau atau ikan air laut, meskipun ada laporan mengenai infeksi *Vibrio* pada ikan air tawar. Infeksi *Vibrio* dapat menyebabkan mortalitas hingga >50 % pada ikan budidaya (Irianto, 2004). Adapun klasifikasi bakteri *V. harveyi* seperti tampak pada Gambar 5 adalah sebagai berikut:

Divisio : Protophyta
Kelas : Schizomycetes
Ordo : Pseudomonadales
Sub Ordo : Pseudomonadineae
Famili : Spirillaceae
Genus : *Vibrio*
Species : *V. harveyi*



Gambar 5. *V. harveyi* (Violy, 2010)

Bakteri adalah sel prokariotik yang khas dan uniseluler. Sel berisi massa sitoplasma dan inti yang tidak memiliki membran inti. Sel bakteri berbentuk bulat, batang atau spiral. Reproduksi terutama dengan pembelahan biner sederhana yaitu proses aseksual (Pelczar dan Chan, 1986). Bakteri dibagi dalam golongan gram positif dan gram negatif berdasarkan reaksinya terhadap prosedur pewarnaan gram. Pada bakteri gram positif, kandungan utama dinding sel adalah peptidoglikan dan asam teikoat, sedangkan pada bakteri gram negatif dinding sel meliputi peptidoglikan dan membran luar (Fajariah, 2009).

Bakteri genus *Vibrio* mempunyai sifat-sifat gram negatif, sel tunggal berbentuk batang pendek yang bengkok (koma) atau lurus, berukuran panjang (1,4 - 5,0) μm dan lebar (0,3 - 1,3) μm , motil dan mempunyai flagella polar. Sifat biokimianya adalah oksidase positif (kecuali *V. Metschinkovii* dan *V. gazogenes*) dan fermentatif terhadap glukosa. DNA genumnya mengandung 38 - 51 % mol G+C (guanin dan sitosin). Tidak membentuk gas pada produksi asam dari

glukosa dan dapat menggunakan sukrosa sebagai sumber energi (Lagon, 1994 dalam Juliantok, 2002).

2.3.2 Aktivitas dan Pertumbuhan

Aktivitas dan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh faktor abiotik, meliputi faktor fisik seperti temperatur, cahaya, tekanan osmose dan radiasi. Selain itu juga faktor kimia seperti pH, salinitas, bahan organik dan zat-zat kimia lain yang bersifat bakteriosidal maupun bakteriostatik. Bakteri dapat bertahan hidup, tumbuh dan berkembang pada batas suhu tertentu. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio* spp berkisar antara 30 – 35 °C. Pada suhu 4 °C dan 45 °C bakteri tersebut tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55 °C akan mati (Prajitno, 2007).

Pada dasarnya *Vibrio* merupakan jasad oportunistik, berlangsungnya wabah *vibriosis* dapat terjadi akibat stres lingkungan. Stres lingkungan dapat dihindari melalui perbaikan kualitas air, penanganan yang baik, menurunkan padat tebaran dan pengendalian hadirnya agnesia patogenik lainnya (misalnya parasit). Parasit dapat menguntungkan bagi *Vibrio* dan bakteri patogen lainnya untuk memulai infeksi (Irianto, 2004).

2.3.3 Infeksi dan Tanda-tanda Penyerangannya

Bagian utama tubuh windu yang terserang baktei *V. harveyi* adalah organ dalam. Pada tingkat awal, hepatopankreas terlihat mengalami perubahan warna menjadi kecoklat-coklatan dan pada tingkat serangan yang parah hepatopankreas menjadi berwarna coklat kehitaman. Pada organ ini akan banyak ditemukan bakteri *V. harveyi* yang bergerak secara aktif. Kondisi hepatopankreas yang sudah mengalami penyusutan dan penghancuran tidak bisa berfungsi secara normal. Hal ini akan mengakibatkan larva menjadi lemah dan akhirnya mati (Subasinghe *et al.*, 1998).

Gejala eksternal dari adanya infeksi bakteri *V. harveyi* adalah terjadinya pembengkakan pada bagian perut (*inflamasi*), morfologi udang menjadi pucat, terjadi perubahan warna kemerahan pada bagian perut dan kaki renang, warna tubuh menjadi gelap, lebih banyak diam, nafsu makan berkurang, tubuh banyak mengeluarkan lendir, sungut (*barbel*) dan kaki renang mengalami perubahan warna kemerahan dan mulai terpotong.

2.4. Sistem Pertahanan Udang Windu (*P. monodon* Fab.)

Sistem pertahanan tubuh utama pada udang terdiri dari dua bagian yaitu sistem pertahanan tubuh seluler dan humoral. Sistem pertahanan seluler meliputi fagosit sel-sel hemosit, nodulasi dan enkapsulasi. Sistem pertahanan humoral mencakup phenoloxidase (PO), propenoloxidase (ProPO), lectin dan agglutinin. Kedua sistem pertahanan ini bekerja sama memberikan perlindungan tubuh terhadap infeksi organisme patogen dari lingkungan (Johansson dan Soderhall, 1989).

Sistem pertahanan tubuh udang windu (*P. monodon* Fab.) tidak mempunyai kemampuan mengingat antigen dan merupakan sistem kekebalan non spesifik. Seperti halnya hewan-hewan avertebrata yang lain, 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, 2001). Hal ini sejalan dengan pernyataan Van de Braak (2002), pada saat terjadinya serangan patogen yang pertama kali berperan dalam sistem pertahanan tubuh udang adalah kutikula yang memiliki kemampuan antimikroba melalui lendir yang dihasilkan. Pertahanan selanjutnya adalah hemosit yang memiliki peranan yang sangat penting dalam pertahanan internal udang (*innate imunity*).

Eksoskeleton adalah pertahanan pertama tubuh udang dalam mencegah infeksi penyakit melewati lendir yang dihasilkan oleh sel-sel epitel 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 *et al.*, 2000).

2.5. Imunostimulan

Imunostimulan merupakan suatu bahan kimia, obat atau stresor yang bekerja dengan cara meningkatkan pertahanan tubuh non spesifik atau respon kekebalan spesifik. Sistem kekebalan non spesifik memegang peranan penting yang lebih banyak pada hewan tingkat rendah seperti ikan, udang dan hewan air lainnya. Salah satu alternatif baru dan mulai dikembangkan adalah upaya meningkatkan kekebalan tubuh tanpa adanya efek samping yaitu imunostimulan, senyawa yang merangsang aktivitas pertahanan tubuh (Prajitno, 2007). Menurut Raa (2000), imunostimulan merupakan senyawa kimia yang dapat mengaktifkan sel darah dan karena itu dapat membuat hewan mampu lebih resisten oleh infeksi virus, bakteri, fungi dan parasit. Salah satu kemampuan imunostimulan adalah dapat meningkatkan ketahanan tubuh non spesifik yaitu dengan meningkatnya sel-sel fagositosis.

Lebih lanjut dijelaskan Citarasu *et al.*, (2006), imunostimulan merupakan senyawa biologis, sintesis atau bahan lainnya yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh non spesifik. Imunostimulan digunakan untuk meningkatkan efisiensi sistem imun dalam menghadapi patogen. Mikroba yang memiliki β -glukan (terdapat pada dinding sel ragi) ataupun peptidoglikan dan lipopolisakarida (terdapat pada dinding sel bakteri) dapat menstimulasi fungsi sistem pertahanan non spesifik pada krustasea maupun bintang lainnya (sebagai contoh: fagositosis, degranulasi dari *hemocyte granula* dan enzim

prophenoloksidase). Phenoloksidase memiliki peranan yang penting dalam menstimulus fagositosis dan akselerasi dari penggumpalan.

Sistem imun non spesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme. Oleh karena itu dapat memberikan respon langsung terhadap antigen. Sistem ini tidak ditujukan pada mikroorganisme tertentu tetapi telah ada dan siap berfungsi sejak lahir yang berupa permukaan tubuh dan berbagai komponen lain dalam tubuh (Baratawidjaja, 1996).

Imunitas non spesifik memiliki beberapa komponen. Komponen seluler imunitas non spesifik berupa sel-sel sitotoksik alami, granulosit (neutrofil, sel-sel eosinofilik bergranula) dan sel-sel monosit atau turunan makrofag. Adapun komponen humoralnya yaitu komplemen, transferin, lektin, interferon, protein reaktif-C, profenoloksidase dan faktor pembeku sejumlah enzim pertahanan (Irianto, 2004).

Menurut Tompo *et al.*, (2007), salah satu cara penanggulangan penyakit pada udang adalah dengan *immunoprofilaksis* yaitu meningkatkan kekebalan udang terhadap serangan penyakit yang dapat dipacu dengan pemberian imunostimulan. Penanggulangan penyakit dengan imunostimulan ini sangat cocok diterapkan pada udang karena udang hanya memiliki sistem pertahanan yang sederhana dan bersifat sementara, sehingga diperlukan stimulasi yang berulang untuk mengaktifkan sistem imunnya. Mekanisme kerja dari imunostimulan adalah mengikuti mekanisme kerja imunisasi secara umum dan berbeda dengan vaksinasi. Vaksinasi akan memicu timbulnya respon imun berupa antibodi untuk melawan serangan penyakit tertentu, sesuai dengan antigen yang masuk ke dalam tubuhnya. Sedangkan dalam imunostimulan respon kekebalan tidak harus sama dengan antigen yang masuk.

2.6 Anion Superoksida pada Udang Windu (*P. monodon* Fab.)

Kegiatan metabolisme menghasilkan kelebihan NADPH, yang pada gilirannya NADPH oksidase tereduksi akan mengubah oksigen menjadi anion superoksida.



Anion superoksida adalah radikal bebas yang dihasilkan oleh reduksi sebuah elektron dari molekul oksigen yang sangat reaktif dan dapat merusak sel mikroorganisme. Anion superoksida mengalami dismutasi dengan katalisator enzim *superoxide dismutase* (SOD) sehingga terbentuk hidrogen peroksida (H_2O_2).



Radikal bebas merupakan senyawa yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan dan mempunyai sifat antara lain tidak stabil, paramagnetik dan reaktif. Sifat radikal bebas mirip oksidan yang mempunyai kecenderungan untuk menarik elektron. Radikal bebas lebih berbahaya daripada oksidan yang bukan radikal karena dapat membentuk reaksi rantai dan membentuk radikal bebas baru. Oksidan yang terbentuk dalam proses patologi sebagian besar berasal dari proses biologis alami disebut *Reactive Oxygen Species* (ROS). Senyawa ROS antara lain radikal hidroksi (OH), anion superoksida (O_2^-), peroksida (ROO), radikal perhidroksi (HO_2) dan oksida nitrogen (NO dan NO_2) (Mulyadi *et al.*, 2008).

Beberapa ROS yang mempunyai peranan penting untuk disfungsi endotel; antara lain anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan peroksinitrit (ONO°). Berbagai enzim juga terlibat untuk pembentukan anion superoksida di sitosol endotel terutama NADPH oksidase yang merupakan protein transmembran dan berbagai enzim sitosolik lainnya seperti siklooksigenase (COX), nitrit oksida sintase (NOS), lipoksigenase (LO) dan sitokrom P-450.

Reaksi transpor elektron di mitokondria dapat menjadi sumber pembentukan O_2^- . Melalui aktivitas Mangan-superoksida-dismutase (MnSOD) pada mitokondria dan atau Cu / ZnSOD pada sitosol), anion superoksida (O_2^-) mengalami konversi menjadi H_2O_2 . Hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh glutathion peroksidase dan thiorredoksin peroksidase pada sitosol oleh katalase di peroksisom direduksi menjadi air. Makrofag juga dapat memproduksi anion superoksida (O_2^-) melalui aktivitas NADPH oksidase, kemudian mengalaminya dismutasi oleh SOD ekstraselular (Ec SOD) menjadi H_2O_2 . Enzim myeloperoksidase yang terdapat pada makrofag juga terlibat dalam pembentukan radikal hipoklorida (HOCL) yang lebih reaktif dari H_2O_2 . Pembentukan ROS dalam pembuluh darah sebagian besar dimulai dengan reduksi satu elektron pada molekul oksigen untuk membentuk anion superoksida (O_2^-) yang pembentukannya semakin meningkat pada proses aterosklerosis. Beberapa sumber penghasil anion superoksida (O_2^-) dalam pembuluh vaskular antara lain sel-sel fagosit (monosit dan makrofag) berinfiltrasi ke dalam subendotel, sel endotel vaskular, sel-sel otot polos vaskular (*vascular smooth muscle cells*, VSMC) dan fibroblas (Charis, 2010).

Radikal hidroksi OH dan radikal anion superoksida (O_2^-) merupakan jenis radikal bebas yang paling berbahaya diantara jenis radikal bebas lain yang dapat merusak membran lemak, protein dan DNA sehingga menimbulkan berbagai penyakit. Dalam darah, radikal hidroksi OH dapat mengoksidasi haemoglobin (Fe^{2+}) menjadi methemoglobin (Fe^{3+}) yang tidak dapat mengikat oksigen (O_2) sehingga transport oksigen ke jaringan terganggu. Radikal anion superoksida (O_2^-) merupakan produk oksidasi xanthine oxidase (XO) dari metabolisme nukleoprotein di samping produk asam urat dalam darah. Oleh karena itu diperlukan senyawa antioksidan yang bersifat sebagai radikal bebas *scavenging* untuk perlindungan tubuh (Mulyadi *et al.*, 2008).

Pada udang windu normal, level anion superoksida berada pada kisaran 25 - 30 unit dan berhubungan dengan proses fagositosis. Peningkatan jumlah hemosit pada udang akan diikuti pula dengan peningkatan jumlah anion superoksida dan hidrogen peroksida yang pada akhirnya akan meningkatkan kekebalan udang pada penyakit (Citarasu et al., 2006).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB III MATERI PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1. Peralatan Penelitian

a. Pemeliharaan Hewan Uji

Peralatan yang digunakan dalam pemeliharaan hewan uji yaitu bak pemeliharaan udang beserta perlengkapan pemeliharaannya seperti bak fiber sebagai penampungan awal udang berukuran diameter 150 cm dan tinggi 80 cm, akuarium yang berukuran 45x45x45 cm³ sebanyak 12 buah sebagai tempat pemeliharaan udang, timbangan digital "HIMATZU" untuk menimbang berat udang dengan ketelitian 0,01 gram, aerator, selang air, selang aerasi, batu aerasi, selang penyiponan, seser, thermometer, DO meter dan pH meter.

b. Pembuatan Pakan

Peralatan yang digunakan dalam pembuatan pakan antara lain:

- | | |
|-------------------------------|--------------------|
| - Oven | - Alas seng |
| - Timbangan Digital "HIMATZU" | - Sarung tangan |
| - Mangkok | - Pengaduk |
| - Ember plastik | - Penggiling pakan |

c. Uji Anion Superoksida

Peralatan yang digunakan dalam uji Anion Superoksida:

- | | |
|---------------------------|---------------------------------|
| - Syringe 1 ml | - Tabung eppendorf 1,5 ml |
| - Sentrifuse mikro 22R | - Spektrofotometer UV-1700 |
| - Mikropipet 1000µl | Pharma Spec |
| - Yellow tip dan Blue tip | - Cuvet 1,5 ml |
| - Inkubator | - Vortex Thermolyne (type 37600 |
| - Rak tabung reaksi | mixer) |
| - Tabung reaksi | - Cool box |

3.1.2 Bahan Penelitian

a. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu udang windu (*P. monodon* Fab.) yang diperoleh dari petani yang berada di dusun Keperan, desa Pecinan, kecamatan Mangaran, kabupaten Situbondo, Jawa Timur. Udang windu yang digunakan dengan bobot rata-rata $21,51 \pm 0,95$ gram/ekor.

b. Media Pemeliharaan

Media yang digunakan dalam penelitian ini berupa air laut. Air laut ditampung di tandon dengan salinitas 30 ppt kemudian dialirkan melalui pipa ke akuarium berukuran $45 \times 45 \times 45$ cm³, sebanyak 12 buah dengan ketinggian air 30 cm yang telah diberi aerasi untuk meningkatkan kandungan oksigen terlarut. Untuk menjaga kualitas air laut dilakukan penyiponan yang dilakukan sehari sekali yaitu pada pagi hari pukul 06.00 WIB. Penambahan air laut dilakukan setelah penyiponan. Banyaknya media uji yang ditambahkan sesuai dengan media yang dibuang pada saat penyiponan.

c. Formula Pakan

Formula pakan dengan kadar protein 39,02 kkal/g pakan dan kadar energi 3,58 kkal/g pakan sesuai hasil penelitian, dengan sumber karbohidrat pakan berasal dari energi tepung diatomae (*C. ceratosporum*) yang disubstitusikan dengan energi tepung tapioka. Penggunaan jumlah tepung diatomae (*C. ceratosporum*) yang berbeda dalam formula pakan yaitu 0 % (pakan A), 3,04 % (pakan B), 6,08 % (pakan C) dan 9,12 % (pakan D). Komposisi kimia dan formula pakan percobaan dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Komposisi kimia bahan penyusun pakan percobaan

Analisis	Tepung Rebon	Tepung Diatomae	Tepung Tapioka
Kadar Kering (%)*	86,34	85,38	89,4
Protein (%)*	62,98	3,99	-
Lemak (%)*	1,59	0,29	-
Kadar Abu (%)*	17,05	66,84	0,59
Serat Kasar (%)*	3,01	2,61	-
BETN **	15,37	26,26	99,41
Energi (kkal/gr) **	327,69	123,65	397,64

Keterangan :

- * : Hasil Analisis Laboratorium Universitas Brawijaya Fakultas Teknologi Pertanian jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan
 ** : BETN = 100-Protein-Lemak-Kadar Abu-Serat Kasar
 *** : Energi = (4x%Protein) + (9x%Lemak) + (4xBETN)

Tabel 2. Formula pakan percobaan

Bahan	Perlakuan (% Tepung Diatomae dalam Formula Pakan)			
	A (0 %)	B (3,04 %)	C (6,09 %)	D (9,12 %)
Tepung rebon	61,96	61,96	61,96	61,96
Tepung tapioka	15,77	14,38	13,88	12,93
Tepung diatomae	-	3,04	6,09	9,12
Minyak ikan	3,75	3,75	3,75	3,75
Minyak jagung	6,50	6,50	6,50	6,50
Vitamin miks	2,70	2,70	2,70	2,70
Mineral miks	2,00	2,00	2,00	2,00
CMC	7,32	5,22	3,13	1,02
Total	100	100	100	100

d. Bahan Uji Anion Superoksida

Bahan yang digunakan dalam uji Anion Superoksida yaitu:

- 100 µl Hemolim
- 100 µL HBSS
- 100 µl larutan NBT 0,3 %
- 4500 µL Metanol 70 %
- 4 ml KOH+DMS
- Alumunium foil

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian**3.2.1 Metode Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yaitu penelitian yang menguji hipotesis berbentuk hubungan sebab akibat melalui pemanipulasian variabel independen (misalnya: perlakuan) dan menguji perubahan-perubahan

yang diakibatkan oleh pemanipulasian tadi (Subana dan Sudrajat, 2005). Tujuan dari penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat, serta seberapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol untuk penelitian. Teknik pengumpulan data dilakukan dengan observasi langsung atau dengan pengamatan secara langsung.

3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Menurut Sastrosupadi (2000), rancangan acak lengkap digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan di laboratorium, rumah kaca dan peternakan. Karena media homogen maka media atau tempat percobaan tidak memberikan pengaruh pada respon yang diamati.

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan serta 3 ulangan. Perlakuan tersebut dengan jumlah pemanfaatan *C. ceratosporum* dalam formula pakan yaitu A (0 %), B (3,04 %), C (6,08 %) dan D (9,12 %). Lamanya pemberian pakan percobaan selama 30 hari. Untuk denah penelitian ini dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Penelitian

Sesuai dengan tujuan penelitian yang akan dicapai maka persiapan penelitian yang dilakukan yaitu:

- Formula pakan untuk udang windu (*P. monodon* Fab.) dengan pemanfaatan *C. ceratosporum*.

- Uji formula pakan skala Laboratorium untuk daya tahan udang windu (*P. monodon* Fab.) melalui parameter pengukuran anion superoksida sebelum dan setelah diinfeksi *V. harveyi*, menggunakan metode eksperimen dengan rancangan acak lengkap.
- Persiapan Hewan Uji

Udang windu diperoleh dari tambak tradisional di dusun Keperan, desa Pecinan, kecamatan Mangaran, kabupaten Situbondo dengan berat rata-rata $21,5 \pm 0,95$ gr/ekor. Untuk proses aklimatisasi, udang diadaptasikan dalam bak fiber selama 48 jam kemudian dipindahkan ke dalam masing-masing aquarium berisi 4 ekor udang untuk masa pemeliharaan selama 30 hari. Selama masa pemeliharaan diberikan pakan berupa pelet sebanyak 3x per hari yaitu pagi 30 %, sore 30 % dan malam 40 %, dengan jumlah pakan 3 % dari berat badan (biomass) per hari.

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini terdiri dari:

1) Formulasi Pakan

- Disiapkan bahan yang terdiri dari: *C. ceratosporum* kering hasil kultur, tepung rebon, minyak ikan, minyak jagung, vitamin miks, mineral miks dan CMC. Dibuat formula pakan dengan memanfaatkan *C. ceratosporum* sebagai pakan percobaan dengan komposisi kimia bahan penyusun pakan percobaan.
- Dibuat pakan sesuai dengan formula pakan udang windu (*P. monodon* Fab.) seperti tampak pada Lampiran 2. Dimulai dengan pencampuran bahan pakan mulai dari jumlah bahan pakan yang paling sedikit hingga ke jumlah bahan pakan terbesar agar pakan tercampur secara rata.
- Analisis proksimat pakan percobaan seperti tampak pada Lampiran 3.

2) Persiapan udang windu (*P. monodon* Fab.)

- Akuarium diisi air dengan ketinggian 30 cm.
- Sebelum udang windu dimasukkan ke dalam akuarium, terlebih dahulu dipasang aerasi untuk meningkatkan kandungan oksigen terlarut.
- Masing-masing akuarium diberi 4 ekor udang windu yang telah ditimbang beratnya dan dinyatakan sebagai berat awal populasi.
- Pakan diberikan sesuai perlakuan sebanyak 3 kali perhari yaitu pagi 30 %, sore 30 % dan malam 40 % pada pukul 08.00, 16.00 dan 21.00 WIB dengan jumlah pakan yang diberikan 3 % dari berat badan (biomass) per hari.
- Sebelum pemberian pakan, terlebih dahulu dilakukan penyiponan sisa feses dan pergantian air sebanyak ± 30 %/hari dari volume media pemeliharaan.
- Pengukuran suhu dan derajat keasaman (pH) dilakukan setiap hari pada pagi dan sore hari (pukul 06.00 dan 16.00 WIB).
- Pengukuran kandungan amonia dan oksigen terlarut dilakukan setiap 10 hari sekali pada pagi hari sebelum dilakukan sampling.
- Pada akhir penelitian setelah 30 hari pemeliharaan dilakukan daya tahan tubuh pada udang windu (*P. monodon* Fab.) terhadap parameter anion superoksida sebelum dan setelah diinfeksi dengan *V. harveyi*.

3.3.3 Percobaan Pakan terhadap Daya Tahan Udang Windu (*P. monodon* Fab.)

a) Pembuatan Media Kultur Bakteri *V. harveyi* selama Penelitian

Dalam penelitian ini dilakukan pembuatan media untuk kultur bakteri *V. harveyi* sebagai berikut:

- Media TCBSA (*Thiosulfate Citrate Bilesalt Sucrose Agar*)

1. Ditimbang 88 gram bubuk atau powder medium TCBSA.

2. Dimasukkan ke dalam erlemeyer.
3. Ditambahkan aquades sedikit demi sedikit sampai volume 1 liter sambil sesekali diaduk.
4. Dimasukkan dalam *waterbath* suhu 100 °C selama 15 menit.
5. Selama pemanasan di *waterbath* sesekali erlemeyer diaduk untuk membantu pelarutan agar homogen.
6. Jika sudah larut sempurna dengan tidak adanya agar yang menempel pada dinding erlemeyer, media dituang pada cawan steril ± 20 ml, tutup cawan dibiarkan sedikit terbuka untuk mengeluarkan uap panas.
7. Selanjutnya media dalam cawan tersebut diinkubasi 37 °C selama 24 jam untuk uji sterilitas medium.

- Media TSB + (*Tryptone Soya Broth*)

1. Ditimbang 40 gram bubuk atau powder medium TSB +.
2. Dimasukkan ke dalam erlenmeyer.
3. Ditambahkan aquades sedikit demi sedikit sampai volume 1 liter sambil sesekali diaduk.
4. Dimasukkan dalam *waterbath* suhu 100 °C selama 15 menit.
5. Selama pemanasan di *waterbath* sesekali erlemeyer diaduk untuk membantu pelarutan agar homogen.
6. Jika sudah larut sempurna dengan tidak adanya agar yang menempel pada dinding erlemeyer, medium dalam erlemeyer tersebut disterilisasi dalam autoclave dengan suhu 121 °C tekanan 2 Atm selama 15 menit.
7. Selanjutnya media dalam cawan tersebut diinkubasi 37 °C selama 24 jam untuk uji sterilitas medium.

b) Pembuatan Biakan Murni Bakteri *V. harveyi*

- Prosedur Kultur *V. harveyi*

1. Ose lengkung disterilisasi dengan pemanasan diatas bunsen hingga pijar.
2. Diambil bakteri *V. harveyi* dari stok dengan cara menyentuhkan ujung ose pada stok.
3. Digoreskan di permukaan media TCBSA, dengan metode streaking kuadran untuk mendapatkan koloni terpisah.
4. Media diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam.
5. Koloni murni yang tumbuh diidentifikasi ulang untuk memastikan spesies bakteri.
6. Setelah terbukti spesies *V. harveyi*, dilakukan kultur pengayaan untuk diproduksi dalam jumlah yang besar.

- Prosedur Kultur Pengayaan *V. harveyi*

1. Diambil koloni murni dengan ose steril dan dimasukkan ke dalam erlemeyer yang berisi media cair TSB +.
2. Erlemeyer ditutup kembali dengan kapas steril dan dimasukkan ke dalam shaker *waterbath*.
3. Diinkubasi pada suhu 30 °C dengan kecepatan getaran 100 rpm selama 2x 24 jam.
4. Diamati hasil kultur pastikan tidak ada kontaminasi dengan pewarnaan gram. Pewarnaan gram adalah pewarnaan diferensial yang sangat berguna dan paling banyak digunakan dalam laboratorium mikrobiologi, karena merupakan tahapan penting dalam identifikasi. Bakteri yang sudah ditumbuhkan pada media padat, selanjutnya dilakukan pewarnaan gram.

Tahapan pewarnaan gram yaitu:

- a. Semprot kaca objek dengan alkohol, kemudian lap dengan tissue dan dibakar pada api bunsen untuk menghilangkan sisa alkohol.
- b. Jarum ose dibakar sampai berpijar dan didiamkan sebentar sampai dingin.

- c. Biakan bakteri yang berasal dari cawan petri diambil menggunakan jarum ose dan diletakkan pada kaca objek.
- d. Selanjutnya dilakukan fiksasi sampel bakteri pada api bunsen dengan jarak 20 cm dari api supaya tidak terlalu panas sehingga tidak merusak bentuk sel bakteri.
- e. Tambahkan satu tetes pewarnaan kristal violet dan diamkan selama 2 menit., kemudian dicuci dengan air mengalir.
- f. Ditetesi lagi dengan lugol dan diamkan selama 1 menit. Bilas dengan alkohol selama 30 detik, kemudian baru dibilas dengan air mengalir.
- g. Diwarnai dengan safranin selama 15 detik dan dibilas kembali dengan air mengalir.
- h. Didiamkan dan dikeringkan untuk selanjutnya dapat diamati pada mikroskop.

5. Kultur bakteri yang telah tumbuh dispektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm.

6. Dari hasil pengukuran OD (*Optical Dencity*) lakukan pengenceran sesuai dengan kepadatan bakteri yang diinginkan (Lampiran 3).

c) Pengambilan Hemolim Udang Windu (*P. monodon* Fab.)

Hemolim diambil dari udang windu (*P. monodon* Fab.) yang telah mendapat perlakuan dengan pemanfaatan *C. cerratosporum* dalam formula pakan seperti yang terdapat pada Lampiran 4. Hemolim udang windu (*P. monodon* Fab.) diambil dengan menggunakan spuit 1 ml yang disuntikan pada kaki jalan ketiga dengan perbandingan anti koagulan (natrium sitrat 10%, pH 7,2) dan hemolim yaitu 1 : 1.

d) Infeksi Udang Windu (*P. monodon* Fab.) dengan *V. harveyi*

Setelah udang windu (*P. monodon* Fab.) diberi perlakuan selama 30 hari, dilakukan infeksi dengan *V. harveyi* yang mengikuti metode Toban (2008) yaitu

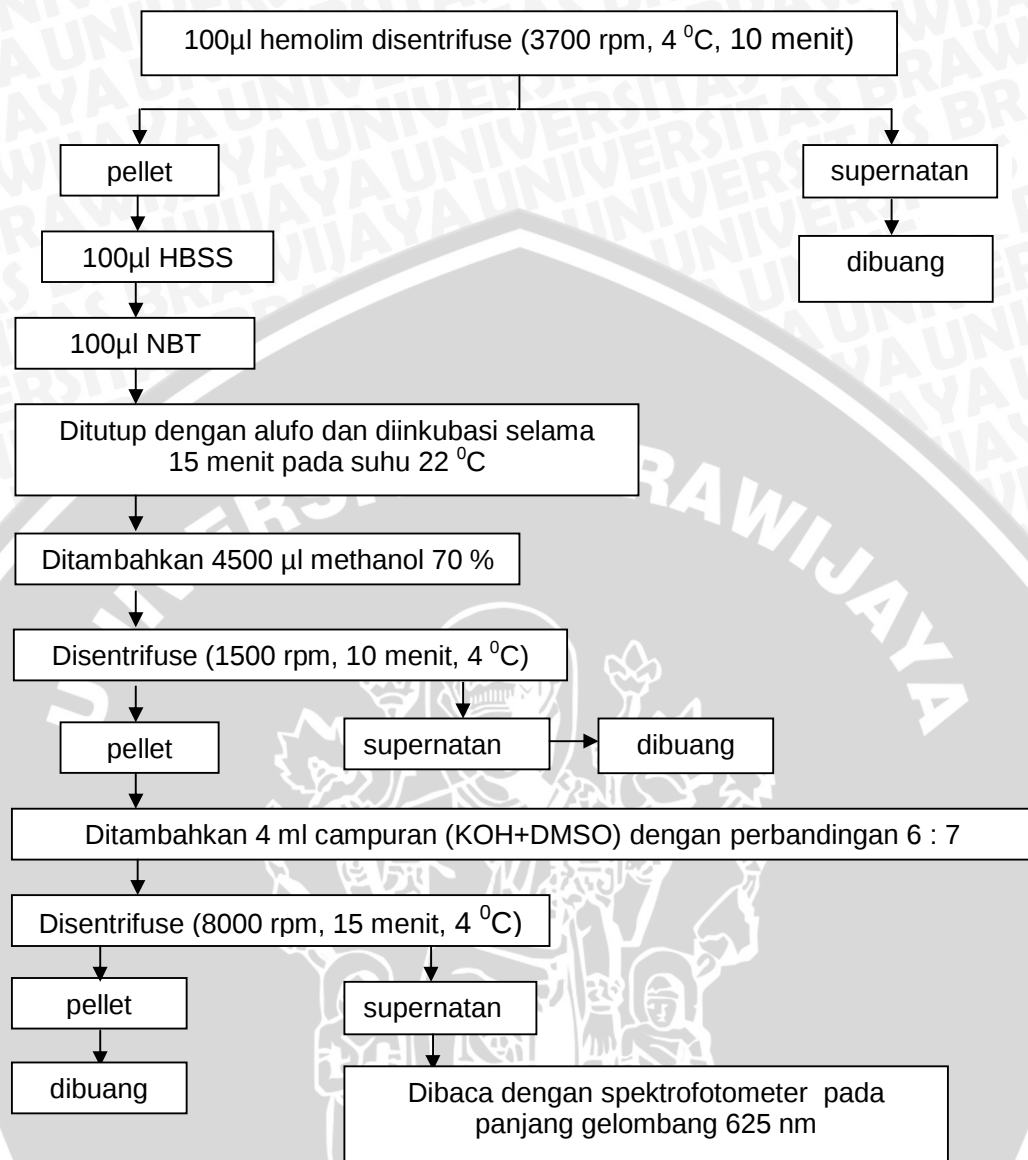
menginjeksikan bakteri tersebut secara intramuscular yaitu pada bagian ventral diantara abdomen ke- 2 dan 3 dengan kepadatan 10^6 sel/ml sebanyak 50 μ l. Setelah diinfeksi, 24 jam kemudian dilakukan pengamatan terhadap anion superoksida.

e) Uji Respon Imun

Udang windu (*P. monodon* Fab.) dengan berat $21,5 \pm 0,95$ gram/ekor diperoleh dari petani tambak dan dipilih udang yang sehat, dipelihara dengan pemberian pakan percobaan selama 30 hari. Pada akhir percobaan pada masing-masing perlakuan pakan dilakukan pengamatan terhadap kandungan anion superoksida sebelum dan setelah diinfeksi *V. harveyi* seperti tampak pada Gambar 6 dan Lampiran 4.

Menurut Thiagarajan *et al.*, (2006), uji kandungan anion superoksida dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- 100 μ l hemolim diambil dari tubuh udang kemudian disentrifuse pada 3.700 rpm dengan suhu 4 °C selama 10 menit.
- Supernatan dibuang, pelet dicuci menggunakan HBSS sebanyak 100 μ L dan 100 μ l larutan NBT 0,3 % kemudian divortex agar larutan homogen. Tutup dengan alumunium foil dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang 22 °C.
- Ditambahkan 4500 μ L metanol 70 % kemudian disentrifuse pada 1.500 rpm dengan suhu 4 °C selama 10 menit.
- Supernatan dibuang, pellet ditambahkan dengan 4 ml campuran (KOH+DMSO) dengan perbandingan 6 : 7. Kemudian disentrifuse pada 8.000 rpm dengan suhu 4 °C selama 15 menit.
- Pelet dibuang, dilakukan pembacaan pada supernatan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm.



Gambar 6. Diagram alir uji anion superoksida

3.4 Parameter Uji

3.4.1 Parameter Utama

Parameter utama yang digunakan adalah kandungan anion superoksida pada udang windu (*P. monodon* Fab.) sebelum dan setelah diinfeksi dengan *V. harveyi*.

3.4.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang digunakan adalah kualitas air, meliputi suhu, oksigen terlarut (DO), pH dan amonia. Suhu air diukur dengan termometer, oksigen terlarut (DO) diukur dengan DO meter dan pH diukur dengan pH meter.

3.5. Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh pemanfaatan *Diatomae* (*C. Ceratosporum*) dengan jumlah yang berbeda terhadap anion superoksida pada udang windu (*P. monodon* Fab.), maka dilakukan analisis keragaman satu arah (*One Way ANOVA*) atau uji F. Jika hasilnya menunjukkan perbedaan nyata atau sangat nyata ($F_{hitung} > F_{tabel}$), maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk membandingkan nilai antar perlakuan. Dari uji ini dilanjutkan dengan analisa regresi untuk mengetahui uji respon.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Anion Superoksida

Pengukuran absorbansi kandungan anion superoksida pada hemolim udang windu (*P. monodon* Fab.) dilakukan dalam 2 tahapan yaitu 30 hari setelah pemberian pakan percobaan sebelum dan setelah diinfeksi bakteri *V. harveyi*. Hasil penghitungan absorbansi kandungan anion superoksida seperti terlihat pada Tabel 3 berikut:

Tabel 3. Data absorbansi anion superoksida pada Udang Windu (*P. monodon* Fab.) yang diberi pakan percobaan

Perlakuan	Absorbansi anion superoksida sebelum diinfeksi	Absorbansi anion superoksida setelah diinfeksi
A	$0,825 \pm 0,013$	$0,577 \pm 0,012$
B	$0,956 \pm 0,023$	$0,812 \pm 0,022$
C	$1,023 \pm 0,032$	$0,942 \pm 0,03$
D	$0,906 \pm 0,04$	$0,632 \pm 0,041$

Nilai absorbansi anion superoksida pada udang windu sebelum diinfeksi berkisar antara 0,825 – 1,023 dan setelah diinfeksi *V. harveyi* berkisar antara 0,577 – 0,942. Data kemudian dianalisis menggunakan SPSS 15 dan uji Normalitas yang dilakukan menunjukkan data menyebar normal, dapat dilihat pada Lampiran 5 (data normalitas sebelum diinfeksi) dan Lampiran 6 (data normalitas setelah diinfeksi *V. harveyi*). Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap nilai anion superoksida sebelum diinfeksi maka dilakukan penghitungan statistik (Lampiran 7) dan hasil sidik ragam yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Sidik ragam anion superoksida udang windu (*P. monodon* Fab.) sebelum diinfeksi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	3	0,253	0,084	105,494**	4,07	7,59
Acak	8	0,006	0,001			
Total	11	0,259				

Keterangan : ** = Berbeda Sangat Nyata

Untuk pengaruh perlakuan terhadap nilai anion superoksida setelah diinfeksi maka dilakukan penghitungan statistik (Lampiran 8) dan didapatkan hasil sidik ragam yang dapat dilihat pada Tabel 5.

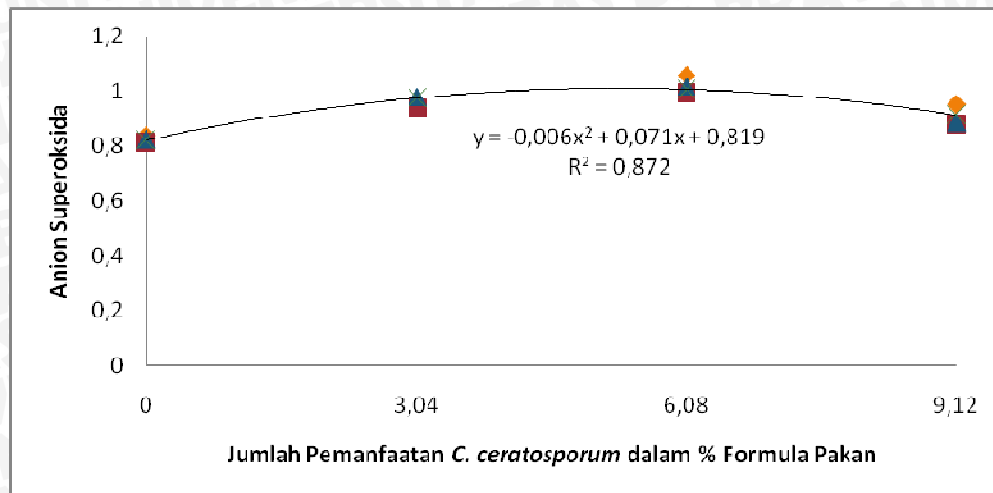
Tabel 5. Sidik ragam anion superoksida udang windu (*P. monodon* Fab.) setelah diinfeksi *V. harveyi*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	3	0,062	0,021	24,615**	4,07	7,59
Acak	8	0,007	0,001			
Total	11	0,069				

Keterangan : ** = Berbeda Sangat Nyata

Berdasarkan hasil sidik ragam pada Tabel 4 dan 5, menunjukkan bahwa pemanfaatan *C. ceratosporum* memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap nilai anion superoksida udang windu (*P. monodon* Fab.) dimana F hitung lebih besar dari F tabel 5 % dan 1 %. Kemudian dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk membandingkan nilai antar perlakuan dengan nilai rerata pada perlakuan sebelum dan setelah diinfeksi bakteri *V. harveyi*. Dari uji BNT diperoleh hasil yaitu perlakuan C dengan pemanfaatan *C. ceratosporum* 6,08 % dalam formula pakan percobaan sebelum dan setelah diinfeksi *V. harveyi* berbeda sangat nyata dengan perlakuan A, B dan D yaitu dengan pemanfaatan *C. ceratosporum* masing-masing 0 %, 3,04 % dan 9,12 % dalam formula pakan. Namun perlakuan B dengan pemanfaatan *C. ceratosporum* 3,04 % dalam formula pakan tidak berbeda nyata dengan perlakuan D (pemanfaatan *C. ceratosporum* 9,12 % dalam formula pakan).

Dari uji BNT dilanjutkan dengan analisa regresi untuk mengetahui uji respon (pengaruh perlakuan terhadap hasil atau berapa perubahan hasil per satuan perlakuan). Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan jumlah yang berbeda pada pemanfaatan *C. ceratosporum* dalam formula pakan percobaan terhadap kandungan anion superoksida udang windu (*P. monodon* Fab.) sebelum diinfeksi dengan *V. harveyi* maka dapat dilihat pada Gambar 7 berikut:



Gambar 7. Hubungan antara persentase perlakuan dengan kandungan anion superoksida udang windu (*P. monodon* Fab.) sebelum diinfeksi dengan *V. harveyi*

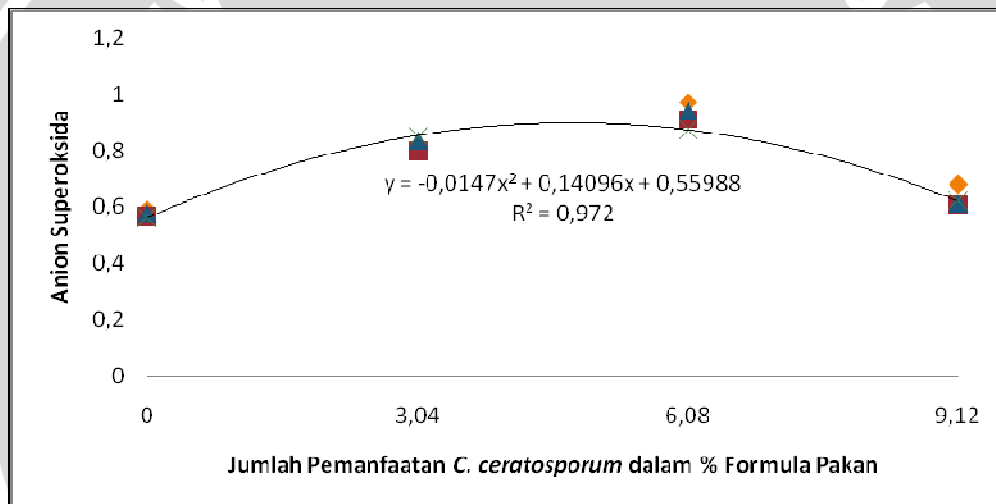
Keterangan :

- ◆— A : Ulangan 1
- B : Ulangan 2
- ▲— C : Ulangan 3
- ×— D : Hasil analisis polinomial ortogonal

Hubungan antara perlakuan pemanfaatan *C. ceratosporum* dengan jumlah yang berbeda pada formula pakan percobaan dengan nilai anion superoksida pada udang windu (*P. monodon* Fab.) sebelum diinfeksi menunjukkan persamaan $y = -0,006x^2 + 0,071x + 0,819$ dengan nilai $R^2 = 0,872$ (Gambar 7). Koefisien Determinasi (R^2) merupakan besaran yang dipakai untuk menunjukkan seberapa besar variabel bebas dijelaskan oleh variabel terikat. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0,872, hasil ini menunjukkan bahwa 87,2 % peningkatan absorbansi kandungan anion superoksida pada udang windu (*P. monodon* Fab.) ditentukan oleh variabel pemanfaatan *C. ceratosporum*, sedangkan 12,8 % dipengaruhi oleh variabel lain. Dari hasil persamaan uji polinomial orthogonal pada Lampiran 6 didapatkan nilai perlakuan optimum pada jumlah pemanfaatan *C. ceratosporum* 5,32 % dalam formula pakan percobaan dengan nilai

kandungan anion superoksida sebesar 1,01. Dari hasil tersebut, jumlah pemanfaatan *C. ceratosporum* 5,32 % dalam formula pakan percobaan mampu memberikan peningkatan terhadap kandungan anion superoksida sebesar 22,42 % jika dibandingkan dengan perlakuan pemanfaatan *C. ceratosporum* 0 % dalam formula pakan percobaan.

Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan pemanfaatan *C. ceratosporum* dengan jumlah yang berbeda dalam formula pakan percobaan terhadap anion superoksida pada udang windu (*P. monodon* Fab.) setelah diinfeksi dengan *V. harveyi* maka dapat dilihat pada Gambar 8 berikut:



Gambar 8. Hubungan antara perlakuan dengan kandungan anion superoksida udang windu (*P. monodon* Fab.) setelah diinfeksi dengan *V. harveyi*

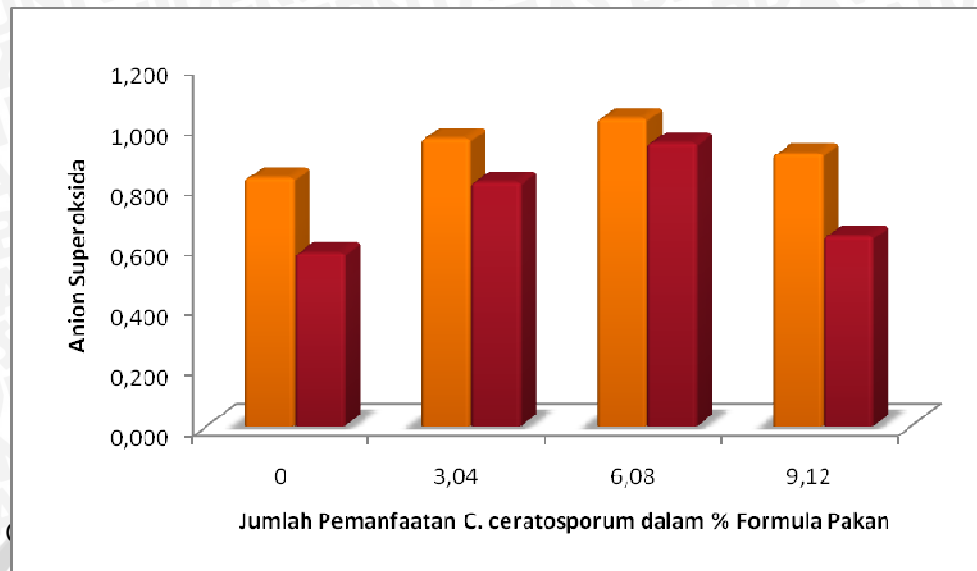
Keterangan :

- ◆ A : Ulangan 1
- B : Ulangan 2
- ▲ C : Ulangan 3
- × D : Hasil analisis polinomial ortogonal

Hubungan antara perlakuan pemanfaatan *C. ceratosporum* dengan jumlah yang berbeda pada formula pakan percobaan dengan nilai anion superoksida setelah diinfeksi menunjukkan persamaan $y = -0,0147x^2 + 0,141x + 0,5599$ dengan

nilai $R^2 = 0,972$ (Gambar 8). Koefisien Determinasi (R^2) merupakan besaran yang dipakai untuk menunjukkan seberapa besar variabel bebas dijelaskan oleh variabel terikat. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0,972 hasil ini menunjukkan bahwa 97,2 % peningkatan absorbansi kandungan anion superoksida pada udang windu (*P. monodon* Fab.) ditentukan oleh variabel pemanfaatan *C. ceratosporum*, sedangkan 2,8 % dipengaruhi oleh variabel lain. Dari hasil persamaan uji polinomial orthogonal pada Lampiran 7 didapatkan nilai perlakuan optimum pada pemanfaatan *C. ceratosporum* 4,78 % dalam formula pakan percobaan dengan nilai kandungan anion superoksida sebesar 0,90. Dari hasil tersebut, jumlah pemanfaatan *C. ceratosporum* 4,78 % dalam formula pakan percobaan mampu memberikan peningkatan terhadap kandungan anion superoksida setelah diinfeksi *V. harveyi* sebesar 9,09 % jika dibandingkan dengan jumlah pemanfaatan *C. ceratosporum* 0 % dalam formula pakan percobaan pada udang windu (*P. monodon* Fab.) sebelum diinfeksi *V. harveyi* dan 55,97% jika dibandingkan dengan perlakuan tanpa pemanfaatan *C. ceratosporum* dalam formula pakan percobaan pada udang windu (*P. monodon* Fab.) setelah diinfeksi *V. harveyi*. Sehingga bisa dikatakan bahwa pemanfaatan *C. ceratosporum* dalam formula pakan memberikan pengaruh yang baik terhadap daya tahan tubuh udang windu (*P. monodon* Fab.) jika ditinjau dari peningkatan kandungan anion superoksida.

Pola perubahan antara perlakuan pemanfaatan *C. ceratosporum* dengan jumlah yang berbeda dalam formula pakan percobaan terhadap kandungan anion superoksida pada udang windu (*P. monodon* Fab.) setelah diinfeksi dengan *V. harveyi* dapat dilihat pada Gambar 9 berikut:



Fab.) sebelum dan setelah diinfeksi dengan *V. harveyi*

Keterangan :

- A : Sebelum diinfeksi
- B : Setelah diinfeksi

Pada perlakuan pemanfaatan *C. ceratosporum* terlihat bahwa kandungan anion superoksida udang windu mengalami peningkatan dibandingkan dengan kontrol (tanpa pemanfaatan *C. ceratosporum*). Nilai optimum rerata persentase pemanfaatan *C. ceratosporum* terhadap anion superoksida pada udang windu (*P. monodon* Fab.) sebelum maupun setelah diinfeksi adalah pada perlakuan C dengan dosis 6,08 %. Sementara titik minimum berada pada perlakuan kontrol dengan dosis 0 % (tanpa pemanfaatan *C. ceratosporum*). Akan tetapi, nilai antara perlakuan C dengan jumlah *C. ceratosporum* 6,08 % dalam formula pakan percobaan dengan perlakuan D dengan jumlah *C. ceratosporum* 9,12 % dalam formula pakan percobaan mengalami penurunan. Hal tersebut diduga di dalam tubuh makhluk hidup termasuk udang bersifat homeostatis, dimana tubuh masih dapat menerima asupan dari luar seperti pakan yang masih sesuai dengan kondisi di dalam tubuh. Jika asupan pakan dari luar yang berlebihan maka tubuh akan sulit untuk menerima asupan tersebut. Menurut Siagian (2004), bahwa

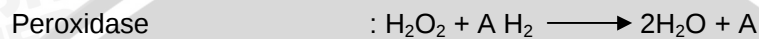
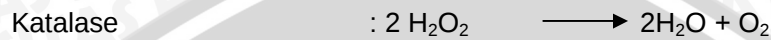
homeostatis pada dasarnya adalah untuk menstabilkan cairan disekitar sel-sel organisme multisel yaitu cairan ekstrasel, yang merupakan *interface* antara sel dan lingkungan luar. Sel-sel tubuh harus mengandung zat-zat terlarut tertentu dalam kadar atau dosis tertentu demi kelangsungan proses-proses dalam sel.

Selain pada udang bersifat homeostasis, pakan perlakuan C mengandung sumber energi yang sesuai untuk udang windu (*P. monodon* Fab.). Sumber energi tersebut berasal dari karbohidrat tepung Diatomae (*C. ceratosporum*) yang merupakan sumber energi yang dapat menggantikan sumber energi dari protein. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hemre *et al.* (2002), karbohidrat merupakan sumber energi yang dapat menggantikan sumber energi protein. Selain itu sumber karbohidrat juga digunakan untuk menjaga stabilitas kandungan air pada pakan ikan dan udang.

Setelah diinfeksi dengan bakteri *V. harveyi* selama 24 jam, terjadi penurunan kandungan anion superoksida pada semua perlakuan dengan rerata untuk perlakuan yang diberi imunostimulan masih lebih tinggi dibandingkan kontrol. Hal ini diduga bahwa setelah 24 jam kandungan anion superoksida mengalami penurunan dikarenakan selama 24 jam penuh aktivitas anion superoksida telah bekerja untuk mempertahankan daya tahan tubuh udang dari serangan bakteri *V. harveyi*. Penelitian yang dilakukan Citarasu *et. al.* (2006) menunjukkan bahwa penurunan jumlah hemosit udang windu pasca infeksi virus *White spot* diikuti pula dengan menurunnya kandungan anion superoksida sehingga jelas terlihat adanya korelasi diantara keduanya. Perubahan tersebut berkaitan dengan proses fagositosis yang dilakukan oleh sel-sel hemosit.

Anion superoksida merupakan substansi yang pertama kali dihasilkan pada saat terjadinya lonjakan respirasi (*respiratory burst*) yang dikatalis oleh enzim NADPH oxidase sehingga pengukurannya dapat dijadikan dasar untuk menentukan intensitas *respiratory burst*. Selanjutnya metabolit ini akan

dikonversi menjadi hydrogen peroksidase dismutase (SOD) dan pada akhirnya akan dikonversi menjadi air dan oksigen oleh enzim katalase dan peroxidase (Holmblad and Soderhall, 1999). Secara skematik, proses tersebut dapat digambarkan sebagai berikut:



Kelompok *reactive oxygen* ini dihasilkan di vakuola fagositosis dan ketika dikeluarkan tidak menutup kemungkinan dapat merusak sel inang. Untuk mencegah kerusakan tersebut, sel maupun organisme menggunakan tiga strategi pertahanan. Yang pertama adalah dengan melibatkan antioksidan dengan berat molekul rendah antara lain ascorbate, α -tocopherol dan glutathione yang langsung berinteraksi dengan ROS (*Reactive Oxygen Species*) untuk menetralkan. Dua pertahanan yang lain adalah melibatkan enzim yang berperan dalam metabolisme ROS (SOD, katalase dan glutathione peroxidase) atau memperbaiki kerusakan makromolekul menjadi asam nukleat, protein dan lemak (enzim perbaikan DNA, protease dan lipase) yang disebabkan oleh ROS (Holmblad and Soderhall, 1999).

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 sebagai penunjang yang diukur pada penelitian ini adalah suhu, pH, DO dan NH_3 . Selama penelitian parameter kualitas air berusaha dijaga kondisinya agar tetap stabil dan hasilnya tersaji pada Tabel 6.

Tabel 6. Kisaran hasil pengukuran kualitas air media pemeliharaan udang windu (*P. monodon* Fab.) selama penelitian

Perlakuan	Parameter Kualitas Air				
	Suhu (°C)		pH	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)
	Pagi	Siang			
A	28 - 29	28 - 29	7,84 - 8,44	5,4 - 6,5	0,018 - 0,038
B	28 - 29	28 - 29	7,81 - 8,45	5,5 - 5,7	0,018 - 0,044
C	28 - 29	28 - 29	7,77 - 8,25	6 - 6,5	0,012 - 0,026
D	28 - 29	28 - 29	7,67 - 8,21	5,6 - 6	0,014 - 0,044

4.5.1 Suhu

Hasil pengukuran suhu pada media pemeliharaan udang windu (*P. monodon* Fab.) selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 9 dengan kisaran pagi hari 28 – 29 °C, dan siang hari 28 – 29 °C. Menurut Lamadi (2009), suhu air mempunyai peranan paling besar dalam perkembangan dan pertumbuhan udang. Kecepatan metabolisme udang meningkat cepat sejalan dengan meningkatnya suhu lingkungan. Secara umum suhu optimal bagi udang windu adalah 25 – 30 °C. Suhu diatas 30 °C masih dianggap baik bagi budidaya udang. Udang akan kurang aktif apabila suhu air turun di bawah 18 °C dan pada suhu 15 °C atau lebih rendah akan menyebabkan udang stress bahkan mati. Berdasarkan pernyataan tersebut, media pemeliharaan berada pada kisaran yang baik.

4.5.2 Derajat Keasaman (pH)

Perubahan pH didalam perairan terutama dipengaruhi oleh karbondioksida dan ion-ion yang berada dalam kesetimbangan dengannya sehingga pH akan sangat dipengaruhi oleh fluktuasi karbondioksida di perairan. Pada saat pH mencapai nilai minimum terutama pada sore hari, maka perairan akan bersifat basa dan sebaliknya apabila karbondioksida mencapai nilai maksimum pada saat menjelang fajar maka perairan akan bersifat asam. Meskipun pH sangat

dipengaruhi oleh karbondioksida tersebut tidak membuat air lebih rendah dari pH 4,5 (Boyd, 1982).

Hasil pengukuran pH pada media pemeliharaan udang windu (*P. monodon* Fab.) selama penelitian yang diukur dengan menggunakan pH meter dapat dilihat pada Lampiran 10 dengan kisaran nilai pH antara 7,67 - 8,45. Menurut Lamadi (2009), pH merupakan indikator keasaman dan kebasaan air. pH perlu dipertimbangkan karena mempengaruhi metabolisme dan proses fisiologis udang. Kisaran pH yang optimal untuk pertumbuhan udang windu adalah 6,5 - 8,5. Berdasarkan pernyataan tersebut, media pemeliharaan berada pada kisaran yang baik.

4.5.3 Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut (DO) merupakan salah satu parameter kualitas air yang sangat berpengaruh terhadap perkembangan ikan atau udang. Oksigen terlarut merupakan parameter yang menunjukkan jumlah atau nilai dari kandungan oksigen dalam suatu media pemeliharaan.

Hasil pengukuran oksigen terlarut (DO) pada media pemeliharaan udang windu (*P. monodon* Fab.) selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 11 dengan kisaran nilai DO antara 5,4 – 6,5 mg/L. Menurut Lamadi (2009), Konsentrasi oksigen terlarut minimum untuk menunjang pertumbuhan optimal udang adalah 4 ppm. Konsentrasi oksigen terlarut yang rendah adalah faktor yang paling lazim menyebabkan mortalitas dan kelambatan pertumbuhan udang. Kelarutan oksigen dalam air dipengaruhi oleh suhu dan kadar garam. Kelarutan oksigen akan menurun jika suhu dan kadar garam meningkat atau tekanan udara menurun. Berdasarkan pernyataan tersebut, media pemeliharaan berada pada kisaran yang baik.

4.5.4 Amonia

Dalam budidaya udang, selalu ditemukan amonia dalam jumlah yang besar, karena amonia adalah bentuk ekskresi bernitrogen pada *Crustacea*. Hal ini berkaitan dengan nutrisi pada pakan yang mengandung protein, karena amonia merupakan hasil metabolisme protein. Telah diketahui toksisitas amonia memberi pengaruh pada kelangsungan hidup, amonia dan *moulting*. Toksisitas amonia mempengaruhi pH perairan, jika toksisitas amonia meningkat maka pH akan meningkat (Lamadi, 2009).

Di air amonia nitrogen mempunyai dua bentuk yaitu amonia (NH_3) bukan ion dan ion amonia (NH_4^+). NH_3 bukan ion adalah racun untuk ikan sedangkan ion NH_4^+ tidak berbahaya kecuali bila konsentrasinya sangat tinggi. Hasil pengukuran amonia pada media pemeliharaan udang windu (*P. monodon* Fab.) selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 12 dengan nilai NH_3 rata-rata pada semua perlakuan antara 0,012 - 0,044 mg/l. Menurut Cholik (1986), tingkat daya racun amonia (NH_3) bukan ion adalah antara 0,6 – 2,0 mg/l. Batas pengaruh yang mematikan dapat terjadi bila konsentrasi NH_3 bukan ion pada air berkisar 0,1 – 0,3 mg/l. Berdasarkan pernyataan tersebut, media pemeliharaan berada pada kisaran yang baik.

Amonia atau hasil oksidasinya (nitrit) pada lingkungan dapat menyebabkan peningkatan konsumsi oksigen. Perubahan status nitrit pada lingkungan dapat menginduksi *hypoxia* pada jaringan dan mengganggu metabolisme respirasi pada udang *Penaeid*. Amonia (NH_3) tidak terionisasi bersifat toksik sedangkan ion amonia memiliki tingkat toksisitas yang rendah atau tidak sama sekali toksik (Lamadi, 2009).

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian tentang pengaruh pemanfaatan *Diatomae* (*C. ceratosporum*) dalam formula pakan terhadap kandungan anion superoksida pada udang windu (*P. monodon* Fab.) yang diinfeksi *V. harveyi*, dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Pemanfaatan *Diatomae* (*C. ceratosporum*) dalam formula pakan dengan jumlah yang berbeda memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap daya tahan tubuh udang windu (*P. monodon* Fab.) dengan adanya peningkatan kandungan anion superoksida.
- Pemanfaatan *Diatomae* (*C. ceratosporum*) yang terbaik dalam formula pakan udang windu (*P. monodon* Fab.) terhadap daya tahan tubuh dengan pengukuran parameter anion superoksida adalah dengan jumlah 4,78 – 5,32 % tepung *Diatomae* (*C. ceratosporum*) dalam formula pakan.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diharapkan adanya penambahan *Diatomae* (*C. Ceratosporum*) dengan jumlah 4,78 – 5,32 % dalam formula pakan untuk meningkatkan kandungan anion superoksida dan mencegah serangan *V. harveyi* pada udang windu (*P. monodon* Fab.).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2011^a. KKP Targetkan Produksi Udang Windu 130.000 Ton. <http://www.kkp.go.id>. Diakses tanggal 20 April 2011 pukul 11.00 WIB.
- _____. 2011^b. Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.). <http://tambakblog.blogspot.com>. Diakses tanggal 25 Mei 2011 pukul 14.30 WIB.
- Amri, K. 2003. Budidaya Udang Windu Secara Intensif. Agromedia Pustaka. Jakarta. 98 hal.
- Baratawidjaja, K. G. 1996. Imunologi Dasar. Edisi ketiga. Penerbit Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Hal 4.
- Boyd, E. C. 1982. Water Quality in Ponds for Aquaculture. Birmingham Publishing Co. Alabama. 481 hal.
- Budiardi, T. 2010. Budidaya Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) Berwawasan Lingkungan. <http://singkil.webs.com>. Diakses tanggal 22 Februari 2011 pukul 12.00 WIB.
- Charis. 2010. Anion Superoksida. <http://wordpress.com>. Diakses tanggal 20 April 2011 pukul 11.00 WIB.
- Cholik F., Artati dan Arifudin R. 1986. Pengelolaan Kualitas Air Kolam Ikan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta 52 hal.
- Citarasu T. V. S, Grasian I., Namita R. and Vadivel M. 2006. Influence of Selected Indian Immunostimulant Herbs Againsts White Spot Syndrome Virus (WSSV) Infection in Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon* with Reference to Haematological, Biochemical and Immunological Changes. *Fish&Shellfish Immunology*21: 372 - 384.
- Djarajah. 1995. Pakan Ikan Alami. Kanisius. Yogyakarta. 87 hal.
- Effendy, S., Alexander R. dan Akbar T. 2004. Peningkatan Haemosit Benur Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius) Pasca Perendaman Ekstrak Ragi Roti (*Saccharomyces cerevisiae*) pada Konsentrasi Yang Berbeda. *Jurnal Sains dan Teknologi*, Agustus 2004, Vol 14 No2: 46-53.
- Ekawati, A. W. 2005. Budidaya Makanan Alami. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 101 hal.
- Fajariah, I. N. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae* serta Bioautografinya. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Haliman dan Adijaya. 2005. Udang Vannamei. Penebar Swadaya. Jakarta.

- Hemre, G. I., T. P. Mommsen and A. Krogh. 2002. Carbohydrates in Fish Nutrition: Effects on Growth, Glucose Metabolism and Hepatic Enzymes. *Aquaculture Nutrition*, 8:175-194.
- Holmblad, T. and K. Soderhall. 1999. Cell Adhesion Molecules and Antioxidative Enzymes in a Crustacean, Possible Role in Immunity. *Aquaculture* 172: 111-123.
- Irianto, A. 2004. Patologi Ikan Teleostei. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 256 hal.
- Isnansetyo dan Kurniastuty. 1995. Teknik Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton. Kanisius. Yogyakarta. 111 hal.
- Johansson M. W. and K. Soderhall 1989. Cellular Immunity in Crustaceans and the proPO System. *Parasitology Today*. 5 : 171-176.
- Juliantok, E. 2002. Isolasi dan Seleksi Bakteri *Vibrio* sp. sebagai Biokontrol untuk Penyakit Kunang-kunang pada Larva Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.). <http://iirc.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/22114/1/C02eju.pdf>.
- Lamadi, A. 2009. Pembenihan Udang Windu (*Penaeus monodon*) VEDCA. Politeknik Negeri Jember. Jember.
- Mahasri, G. 2008. Respon Imun Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius) yang Diimunisasi dengan Protein Membran Imunogenik mp 38 dari *Zoothamnium penaei*. Program Studi Budidaya Perairan, FKH-Unair. Surabaya.
- Motoh, H. 1981. Studies on the Fisheries Biology of the Giant Tiger Prawn *Penaeus monodon* in the Philippines. SEAFDEC Aquaculture Department. Technical Report no. 7. Iloilo City. 128 page.
- Mulyadi, Y., Mochamad, U. K. A. dan Kiki, H. 2008. Penggunaan Limbah Kambang Jenis Duckweeds dan Azola dalam Pakan dan Implikasinya pada Ikan Nilem. Laporan Penelitian. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjajaran. Tidak diterbitkan. 32 hal.
- Murtidjo, B. A. 2003. Benih Udang Windu Skala Kecil. Kanisius. Yogyakarta. 75 hal.
- Pelczar, M. I. dan E. C. S. Chan. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi. Jilid 1. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 441 hal.
- Poernomo, A. 1976. Budidaya Udang Windu di Tambak Potensial Budidaya Produksi dan Udang sebagai Lahan Makanan di Indonesia. Proyek Penelitian Potensi Sumberdaya Ekonomi. Lembaga Organisasi (LIPI) Jakarta. 41 Halaman.
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan-Udang. Universitas Negeri Malang Press. Malang. 115 hal.

- Raa, J. 2000. *The Use of Immune-Stimulants in Fish and Shellfish Feeds*. Avances en Nutricion Acuicola V. memoras del V Simposium Internacional de Nutricion Acuicola. 19 - 22 Nopember 2000. Merida, Yucatan. Mexico.
- Rozi, F. A. 2008. Budidaya Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) Ramah Lingkungan. <http://singkil.webs.com>. Diakses tanggal 20 April 2011 pukul 11.30 WIB.
- Sahana. 2010. Produksi Udang Turun Akibat Serangan Virus. <http://news.okezone.com>. Diakses tanggal 20 April 2011 pukul 11.00 WIB.
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius. Yogyakarta. 276 hal
- Setyaningsih, I. 2004. Resistensi Bakteri dan Antibiotik Alami dari Laut . Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 11 hal.
- Siagian, M. 2004. Homeostatis: Keseimbangan yang Halus dan Dinamis. Departemen Ilmu Faal. Universitas Indonesia. 4 hal. <http://staff.ui.ac.id.internal130683855/materialhomeostatosmsho/pdf>.
- Subana dan Sudrajat. 2005. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta. 212 hal.
- Soetomo, M. J. A. 2000. Teknik Budidaya Udang Windu (*Penaeus monodon*). Kansius. Yogyakarta.
- Sritunyalucksana, K. 2001. 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. ISBN 91-554-5087-3. www.diva-portal.org/diva/9: 21–30.
- Storseth, T. R., K. Hansen, J. Skjermo and J. Krane. 2003. Characterization of a b-D-(1fi3)-glucan from the marine diatom *Chaetoceros mulleri* by high-resolution magic-angle spinning NMR spectroscopy on whole algal cells. Carbohydrate Research 339 (2004) 421–424
- Subasinghe, R. P, Devin M. B, Sharon M. and Uwe .B. 1998. Sustainable Shrimp Culture Development: Biotechnological Issues and Challenges. Proceedings to the Special Session on Shrimp Biotechnology 5th Asian Fisheries Forum Chiangmai, Thailand 11 - 14 November 1998.
- Supamattaya, K; N Chittiwan and M Boonyaratpalin. 2000. Immunological Factors in Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*. *Fabricus*. <http://aquafeed.com/docs/ns/Supamattayaetal.pdf>.
- Suyanto, S. R. dan A. Mujiman. 2006. Budidaya Udang Windu. Penebar Swadaya. Jakarta. 213 hal.

Taghnul. 2008. Mikroalgae. <http://www.Tghnul-blogspot.com>. Diakses tanggal 17 November 2010.

Thiagarajan, R., Gopalakrishnan, S., and Thilagam, H. 2006. Immunomodulation in The Marine Green Mussel *Perna viridis* Exposed to Sub Letal Concentration of Cu and Hg. Arch. Environ. Contam. Toxicol, 51, 392-399.

Toban, M. H. 2008. Perubahan Jumlah Hemosit, Kandungan Superoksida dan Aktivitas Enzim Protease Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) Pasca Pemberian Imunostimulan *Gracilaria Verrucosa*. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya. Malang.

Tompo, A., E. Susianingsih dan M. I. Madeali. 2007. Frekuensi Vaksinasi untuk Pencegahan Penyakit pada Budidaya Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabr.) di Tambak. Jurnal Riset Akuakultur. Vol 2 No 1. Hal 93-101.

Toro, V. dan Soegiarto. 1979. Biologi Udang Windu. Proyek Penelitian Sumberdaya Ekonomi. Lembaga Oceanologi LIPI. Jakarta. 144 Halaman.

Zipecodezoo. 2009. *Chaetoceros ceratosporum*. <http://zipecodezoo.com>. Diakses tanggal 2 Desember 2010 pukul 14.00 WIB.

Zulkifli, 2010. Konsentrasi Nitrat yang Berbeda pada Media Kultur terhadap Pertumbuhan *Chaetoceros* Sp. <http://Id-Id.Facebook.Com/Qflyandis>. Diakses tanggal 28 November 2010 pukul 07.28 WIB.

Violy, A. 2010. Vibrio. <http://nonagetha.blogspot.com>. Diakses tanggal 22 Februari 2011 pukul 12.00 WIB.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Denah Penelitian

D ₂	A ₂	C ₁	B ₃	A ₁	B ₂	C ₃	D ₃	B ₁	C ₂	A ₃	D ₁
----------------	----------------	----------------	----------------	----------------	----------------	----------------	----------------	----------------	----------------	----------------	----------------

Keterangan:

- A_n : Kontrol (perlakuan pemanfaatan 0 % *C. ceratosporum* dalam formula pakan) pada ulangan ke-n.
- B_n : Perlakuan pemanfaatan 3,04 % *C. ceratosporum* dalam formula pakan pada ulangan ke-n.
- C_n : Perlakuan pemanfaatan 6,08 % *C. ceratosporum* dalam formula pakan pada ulangan ke-n.
- D_n : Perlakuan pemanfaatan 9,12 % *C. ceratosporum* dalam formula pakan pada ulangan ke-n.

Lampiran 2. Pembuatan Pakan



Bahan formulasi pakan



Ditimbang



Digiling dan dikeringkan pada oven



Bahan dicampurkan



Dihaluskan sesuai ukuran

Lampiran 3. Hasil Analisis Proksimat Pakan Percobaan

Analisis	Pakan Percobaan			
	A (0%)	B (3,04%)	C (6,08%)	D (9,12%)
Air (%)*	10,05	9,79	10,98	10,67
Protein (%)*	39,43	39,7	38,61	38,61
Lemak (%)*	11,22	11,24	11,25	11,26
Kadar Abu (%)*	12,89	14,92	16	17,81
Serat Kasar (%)*	1,61	1,68	1,75	1,82
BETN**	9,61	9,56	9,5	9,44

Keterangan :

* : Hasil Analisis Laboratorium Universitas Brawijaya Fakultas Teknologi
Pertanian Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan

** : $BETN = 100 - \text{Protein} - \text{Lemak} - \text{Kadar Abu} - \text{Serat Kasar}$

Lampiran 4. Pengujian Kandungan Anion Superoksida Udang Windu
(*P. monodon* Fab.)



Pengambilan Hemosit



Bahan yang digunakan (HBSS;
NBT 0,3%; Metanol 70%;
KOH+DMSO)



Sentrifuse



Inkubator



Sampel pada pengukuran
anion superoksida



Spektrofotometer UV

Lampiran 5. Uji Normalitas Kandungan Anion Superoksida pada Udang Windu (*P. Monodon Fab.*) sebelum Diinfeksi *V. Harveyi*

Perlakuan		Kandungan Anion Superoksida	Rerata	Standart Deviasi
A	A ₁	0.838	0,825	0,013
	A ₂	0.812		
	A ₃	0.826		
B	B ₁	0.951	0,956	0,023
	B ₂	0.935		
	B ₃	0.981		
C	C ₁	1.056	1,023	0,032
	C ₂	0.992		
	C ₃	1.02		
D	D ₁	0.952	0,906	0,04
	D ₂	0.878		
	D ₃	0.887		

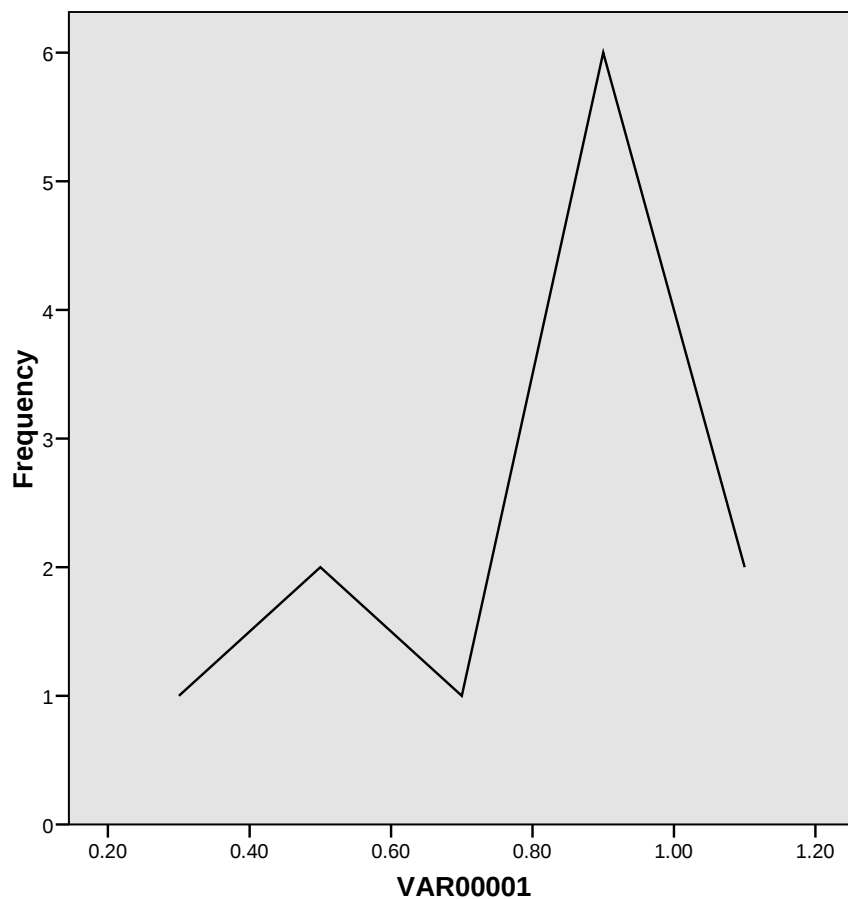
One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		VAR00001
N		12
Normal Parameters(a,b)	Mean	,8108
	Std. Deviation	,26081
Most Extreme Differences	Absolute	,257
	Positive	,174
	Negative	-,257
Kolmogorov-Smirnov Z		,890
Asymp. Sig. (2-tailed)		,407

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Lampiran 5 (Lanjutan)



Mean =0.8108
Std. Dev. =0.26081
N =12



Lampiran 6. Uji Normalitas Kandungan Anion Superoksida pada Udang Windu (*P. Monodon Fab.*) setelah Diinfeksi *V. harveyi*

Perlakuan		Kandungan Anion Superoksida	Rerata	Standart Deviasi
A	A ₁	0,589	0,577	0,012
	A ₂	0,565		
	A ₃	0,576		
B	B ₁	0,804	0,812	0,022
	B ₂	0,795		
	B ₃	0,836		
C	C ₁	0,972	0,942	0,03
	C ₂	0,912		
	C ₃	0,942		
D	D ₁	0,679	0,632	0,041
	D ₂	0,603		
	D ₃	0,614		

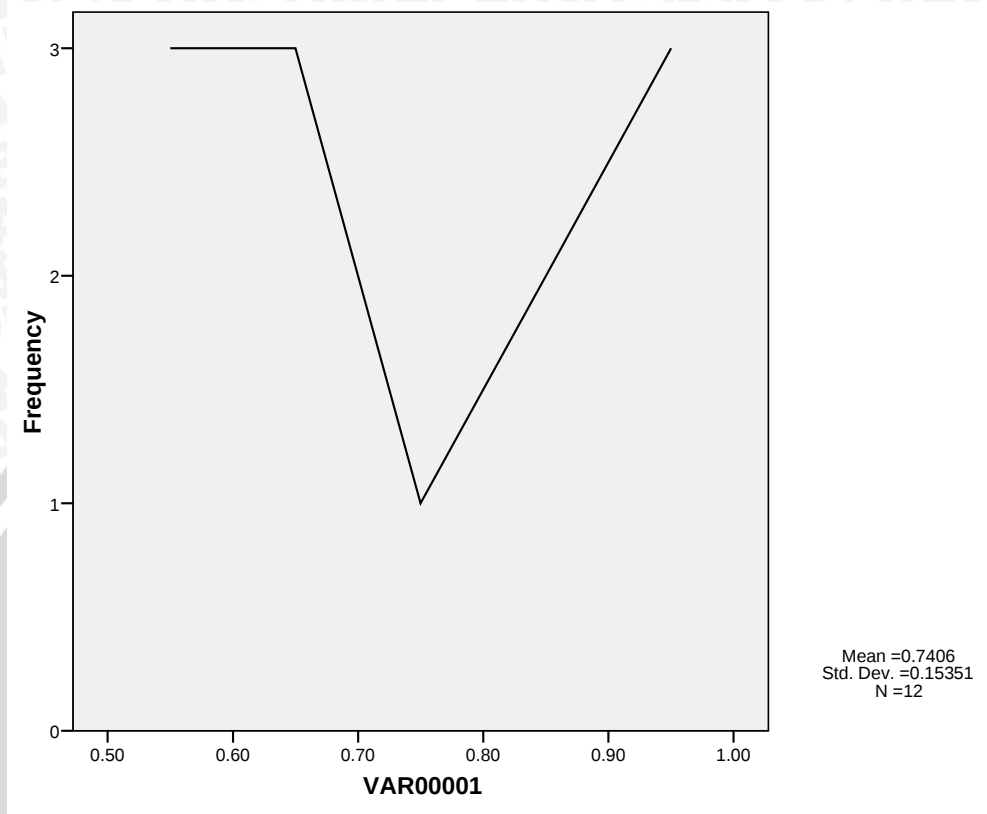
One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		VAR00001
N		12
Normal Parameters(a,b)	Mean	,7406
	Std. Deviation	,15351
Most Extreme Differences	Absolute	,212
	Positive	,212
	Negative	-,139
Kolmogorov-Smirnov Z		,734
Asymp. Sig. (2-tailed)		,654

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Lampiran 6 (Lanjutan)



Lampiran 7. Analisis Data Penelitian sebelum Diinfeksi *V. harveyi*

Perlakuan	Ulangan			Total	r	Rata-rata	Standart deviasi
	1	2	3				
A	0,838	0,812	0,826	2,476	3	0,825	0,013
B	0,951	0,935	0,981	2,867	3	0,956	0,023
C	1,056	0,992	1,02	3,068	3	1,023	0,032
D	0,952	0,878	0,887	2,717	3	0,906	0,040
Total				11,128	12		

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{G^2}{r} = \frac{11,128^2}{12}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= 10,319 \\ &= (0,838^2 + 0,812^2 + 0,826^2 + 0,951^2 + 0,935^2 + 0,981^2 + \\ &\quad 1,056^2 + 0,992^2 + 1,02^2 + 0,952^2 + 0,878^2 + 0,887^2) - \text{FK} \\ &= 10,388 - 10,319 \\ &= 0,069 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{(2,476)^2 + (2,867)^2 + (3,068)^2 + (2,717)^2}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{31,145}{3} - 10,319 \\ &= 0,062 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 0,069 - 0,062 \\ &= 0,007 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

Sumber keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	3	0,062	0,021	24,615**	4,07	7,59
Acak	8	0,007	0,001			
Total	11	0,069				

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata (*High significant*)

Lampiran 7 (Lanjutan)

Karena $F \text{ tabel } 5\% < F \text{ hitung } > F \text{ tabel } 1\%$, maka dapat dikatakan pemanfaatan *C. ceratosporum* berpengaruh terhadap kandungan anion superoksida pada udang windu (*P. monodon* Fab.). Maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2KT_{\text{Acak}}}{\text{Ulangan}}} \\ &= \sqrt{\frac{2(0,00084358)}{3}} \\ &= 0,024 \end{aligned}$$

$$\text{BNT } 5\% = t \ 5\% \times \text{SED}$$

$$= 2,31 \times 0,024$$

$$= 0,055$$

$$\text{BNT } 1\% = t \ 1\% \times \text{SED}$$

$$= 3,36 \times 0,024$$

$$= 0,08$$

Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rerata Perlakuan	A=0,825	D=0,906	B=0,956	C=1,023	Notasi
A=0,825	-	-	-	-	a
D=0,906	0,080*	-	-	-	b
B=0,956	0,130**	0,05 ^{ns}	-	-	b
C=1,023	0,197**	0,117**	0,067*	-	c

Keterangan : (ns) = Tidak berbeda nyata

(*) = Berbeda nyata

(**) = Sangat berbeda nyata

Lampiran 7 (Lanjutan)

Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	2,476	-3	1	-1
B	2,867	-1	-1	3
C	3,068	1	-1	-3
D	2,717	3	1	1
$Q = \sum (C_i T_i)$		0,924	-0,742	-0,362
$Kr = \sum (C_i^2)r$		60	12	60
$JK \text{ Reg.} = Q^2/Kr$		0,014	0,046	0,002

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5 %	F 1%
Perlakuan	3					
Linear	1	0,014	0,014	16,868*	5,32	11,26
Kuadratik	1	0,046	0,046	54,387**		
Kubik	1	0,002	0,002	2,589 ^{ns}		
Acak	8	0,007	0,001			
Total	11					

Keterangan : ^{ns} = Tidak Berbeda Nyata
 * = Berbeda Nyata
 ** = Berbeda Sangat Nyata

$$R^2 \text{ linear} = \frac{JK_{\text{Linear}}}{JK_{\text{Linear}} + JK_{\text{Acak}}}$$

$$= \frac{0,014}{0,014 + 0,007}$$

$$= 0,678$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK_{\text{Kuadratik}}}{JK_{\text{Kuadratik}} + JK_{\text{Acak}}}$$

$$= \frac{0,046}{0,046 + 0,007}$$

$$= 0,872$$

Lampiran 7 (Lanjutan)

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,002}{0,002 + 0,007}$$

$$= 0,245$$

Dari hasil perhitungan R^2 Kubik < R^2 kuadratik > R^2 Linier sehingga regresi kuadratik sesuai untuk kurva respon.

UJ	-1,5	-0,5	0,5	1,5	Rerata
Perlakuan	0	3,04	6,08	9,12	4,56
xrata	456,0%				
Perlakuan	0	3,04	6,08	9,12	
n= 12	0,838	0,951	1,056	0,952	
	0,812	0,935	0,992	0,878	
	0,826	0,981	1,02	0,887	
Yij	2,476	2,867	3,068	2,717	11,128
UJ	-1,5	-0,5	0,5	1,5	0
Uj ²	2,25	0,25	0,25	2,25	5
Uj ⁴	5,063	0,063	0,062	5,062	10,25
ΣUjYij	-3,714	-1,434	1,534	4,076	0,462
ΣUj2Yij	5,571	0,717	0,767	6,113	13,168

$$y = b_0 + b_1 x_j + b_2 x_j^2$$

untuk mencari koefisien b_0 , b_1 dan b_2 digunakan persamaan normal :

$$\sum Y_{ij} = b_0 n + b_2 r \sum U_j^2$$

$$\sum U_j Y_{ij} = b_1 r \sum U_j^2$$

$$\sum U_j^2 Y_{ij} = b_0 r \sum U_j^2 + b_2 r \sum U_j^4$$

Keterangan :

Yij : nilai pengamatan

Xj : nilai taraf dari pada faktor

n : banyaknya pengamatan

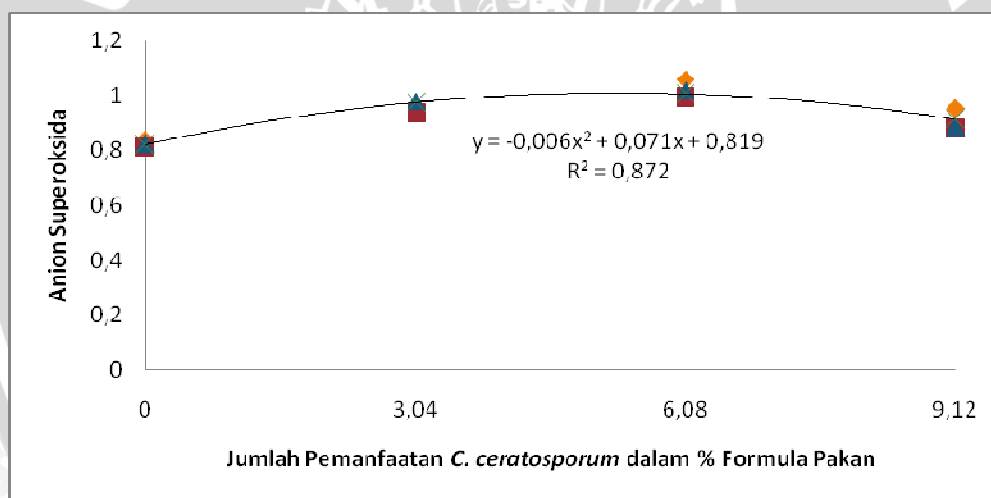
Lampiran 7 (Lanjutan)

$$y = 0,81930 + 0,07115x - 0,0067x^2$$

x	y
0	0,82
3,04	0,97
6,08	1,00
9,12	0,91

Untuk Membuat Grafik Trend line berdasar seri 4 dari y

Sumbu x	Sumbu y			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Hasil Anion Superoksida dari Persamaan
0	0,838	0,812	0,826	0,82
3,04	0,951	0,935	0,981	0,97
6,08	1,056	0,992	1,02	1,00
9,12	0,952	0,878	0,887	0,91



Keterangan :

- ◆ A : Ulangan 1
- B : Ulangan 2
- ▲ C : Ulangan 3
- ✕ D : Hasil analisis polinomial ortogonal

Lampiran 7 (Lanjutan)

Untuk mendapatkan nilai maksimum dari persamaan orthogonal polynomial maka persamaan diturunkan:

$$y = 0,81930 + 0,07115x - 0,0067x^2$$

$$y' = 0,07115 - 0,013x \rightarrow y' = 0 \text{ maka, } -0,07115 = -0,013x$$

$$x = \frac{-0,07115}{-0,013}$$

$$x = 5,32$$

nilai x dimasukkan dalam persamaan:

$$y = 0,81930 + 0,07115x - 0,0067x^2$$

$$= 0,81930 + 0,07115 \times 5,32 - 0,0067 \times (5,32)^2$$

$$= 1,01$$

Sehingga didapatkan nilai perlakuan pemanfaatan *C. ceratosporum* optimum dari persamaan polynomial orthogonal adalah 5,32 % *C. ceratosporum* dalam formula pakan dengan nilai anion superoksida sebesar 1,01.

Lampiran 8. Analisis Data Penelitian setelah Diinfeksi *V. harveyi*

Perlakuan	Ulangan			Total	R	Rata-rata	Standart deviasi
	1	2	3				
A	0,589	0,565	0,576	1,73	3	0,577	0,012
B	0,804	0,795	0,836	2,435	3	0,812	0,022
C	0,972	0,912	0,942	2,826	3	0,942	0,030
D	0,679	0,603	0,614	1,896	3	0,632	0,041
Total				8,887	12		

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{G^2}{r} = \frac{8,887^2}{12}$$

$$= 6,582$$

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= (0,589^2 + 0,565^2 + 0,576^2 + 0,804^2 + 0,795^2 + 0,836^2 + \\ &0,972^2 + 0,912^2 + 0,942^2 + 0,679^2 + 0,603^2 + 0,614^2) - \text{FK} \\ &= 6,841 - 6,582 \\ &= 0,259 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{(2,993)^2 + (5,929)^2 + (7,986)^2 + (3,595)^2}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{20,503}{3} - 6,582 \\ &= 0,253 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 0,259 - 0,253 \\ &= 0,006 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam

Sumber keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	3	0,253	0,084	105,494**	4,07	7,59
Acak	8	0,006	0,001			
Total	11	0,259				

Keterangan: ** = Berbeda sangat nyata (*High significant*)

Lampiran 8 (Lanjutan)

Karena $F \text{ tabel } 5 \% < F \text{ hitung } > F \text{ tabel } 1 \%$, maka dapat dikatakan pemanfaatan *C. ceratosporum* berpengaruh terhadap kandungan anion superoksida pada udang windu (*P. monodon* Fab.). Maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2KT \text{ Acak}}{\text{Ulangan}}} \\ &= \sqrt{\frac{2(0,001)}{3}} \\ &= 0,023 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5 \% &= t \ 5 \% \times \text{SED} \\ &= 2,31 \times 0,023 \\ &= 0,053 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1 \% &= t \ 1 \% \times \text{SED} \\ &= 3,36 \times 0,023 \\ &= 0,078 \end{aligned}$$

Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rerata Perlakuan	A = 0,577	D = 0,632	B = 0,812	C = 9,420	Notasi
A = 0,577	-	-	-	-	a
D = 0,632	0,055*	-	-	-	b
B = 0,812	0,235*	0,180 ^{ns}	-	-	b
C = 9,420	0,365**	0,310**	0,130 ^{ns}	-	c

Keterangan: (^{ns}) = Tidak berbeda nyata

(*) = Berbeda nyata

(**) = Sangat berbeda nyata

Lampiran 8 (Lanjutan)

Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	1,73	-3	1	-1
B	2,435	-1	-1	3
C	2,826	1	-1	-3
D	1,896	3	1	1
$Q = \sum (C_i T_i)$		0,889	-1,635	-1,007
$Kr = \sum (C_i^2)r$		60	12	60
$JK \text{ Reg.} = Q^2/Kr$		0,013	0,223	0,017

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	3					
Linear	1	0,013	0,013	16,487**	5,32	11,26
Kuadratik	1	0,223	0,223	278,839**		
Kubik	1	0,017	0,017	21,155**		
Acak	8	0,006	0,001			
Total	11					

Keterangan : ^{ns} = Tidak Berbeda Nyata

* = Berbeda Nyata

** = Berbeda Sangat Nyata

$$R^2 \text{ linear} = \frac{JK_{\text{Linear}}}{JK_{\text{Linear}} + JK_{\text{Acak}}}$$

$$= \frac{0,013}{0,013 + 0,006}$$

$$= 0,673$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK_{\text{Kuadratik}}}{JK_{\text{Kuadratik}} + JK_{\text{Acak}}}$$

$$= \frac{0,223}{0,223 + 0,006}$$

$$= 0,972$$

Lampiran 8 (Lanjutan)

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,017}{0,017 + 0,006}$$

$$= 0,726$$

Dari hasil perhitungan R^2 kuadrat $>$ R^2 Linier sehingga regresi kuadrat sesuai untuk kurva respon.

UJ	-1,5	-0,5	0,5	1,5	Rerata
Perlakuan	0	3,04	6,08	9,12	4,56
xrata	456,0%				
Perlakuan	0	3,04	6,08	9,12	
n= 12	0,589	0,804	0,972	0,679	
	0,565	0,795	0,912	0,603	
	0,576	0,836	0,942	0,614	
Yij	1,73	2,435	2,826	1,896	8,887
UJ	-1,5	-0,5	0,5	1,5	0
Uj ²	2,25	0,25	0,25	2,25	5
Uj ⁴	5,063	0,063	0,062	5,062	10,25
ΣUjYij	-2,595	-1,218	1,413	2,844	0,4445
ΣUj ² Yij	3,893	0,609	0,706	4,266	9,474

$$y = b_0 + b_1 x_j + b_2 x_j^2$$

untuk mencari koefisien b_0 , b_1 dan b_2 digunakan persamaan normal:

$$\sum U_j Y_{ij} = b_1 r \sum U_j^2$$

$$\sum Y_{ij} = b_0 n + b_2 r \sum U_j^2$$

$$\sum U_j^2 Y_{ij} = b_0 r \sum U_j^2 + b_2 r \sum U_j^4$$

Keterangan:

Yij : nilai pengamatan

Xj : nilai taraf dari pada faktor

n : banyaknya pengamatan

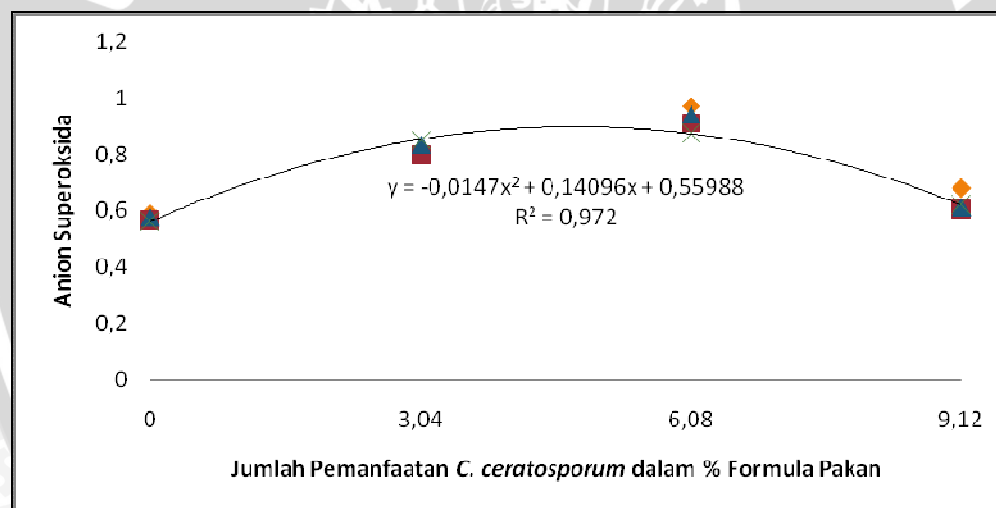
Lampiran 8 (Lanjutan)

$$y = 0,559 + 0,141x - 0,014x^2$$

x	Y
0	0,56
3,04	0,85
6,08	0,87
9,12	0,62

Untuk Membuat Grafik Trend line berdasar seri 4 dari Y

Sumbu x	Sumbu y			Hasil Anion Superoksida dari Persamaan
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
0	0,589	0,565	0,576	0,56
3,04	0,804	0,795	0,836	0,85
6,08	0,972	0,912	0,942	0,87
9,12	0,679	0,603	0,614	0,62



Keterangan:

- ◆ A : Ulangan 1
- B : Ulangan 2
- ▲ C : Ulangan 3
- ✕ D : Hasil analisis polinomial ortogonal

Lampiran 8 (Lanjutan)

Untuk mendapatkan nilai maksimum dari persamaan orthogonal polynomial maka persamaan diturunkan:

$$y = 0,559 + 0,141x - 0,014x^2$$

$$y' = 0,141 - 0,029x \rightarrow y' = 0 \text{ maka, } -0,141 = -0,029x$$

$$x = \frac{-0,141}{-0,029}$$

$$x = 4,78$$

nilai x dimasukkan dalam persamaan:

$$y = 0,559 + 0,141x - 0,014x^2$$

$$= 0,559 + 0,141(4,78) - 0,014(4,78)^2$$

$$= 0,90$$

Sehingga didapatkan nilai perlakuan pemanfaatan *C. ceratosporum* optimum dari persamaan polynomial orthogonal adalah 4,78 % *C. ceratosporum* dalam formula pakan dengan nilai anion superoksida sebesar 0,90.

Lampiran 9. Data Pengukuran Suhu Media Pemeliharaan Udang Windu (*P. monodon* Fab.) selama Penelitian

Data Suhu Pagi Hari

PERLAKUAN	HARI KE-									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A ₁	29	29	28,5	29	28	28	28	28,5	28,5	28
A ₂	29	28,5	28	28	28	28	28,5	28	28	28
A ₃	29	29	29	29	28	28	29	29	28	28
B ₁	29	28,5	28	28	28	28	28,5	28	28	28
B ₂	29	29	28	29	28	28	28,5	28	28	28
B ₃	29	29	28,5	29	28	28,5	28,5	28,5	28,5	28
C ₁	29	29	28,5	29	28	28,5	29	29	28	28,5
C ₂	29	28,5	28	28	28	28	28,5	28	28	28
C ₃	29	28,5	28	28,5	28	28	28,5	28	28	28
D ₁	29	28,5	28	28	28	28	28,5	28	28	28
D ₂	29	29	28,5	29	28	28	29	28,5	28	28,5
D ₃	29	28,5	28	28	28	28	28,5	28	28	28

PERLAKUAN	HARI KE-									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
A ₁	28,5	28	28	28	28,5	28,5	28	28	29	29
A ₂	28	28	28	28	28	28	28,5	28	28	29
A ₃	28	28	28	28	28	28	28	28	29	29
B ₁	28	28	28	28	28	28	28	28	28,5	29
B ₂	28	28	28	28	28,5	28,5	28,5	28	29	29
B ₃	28	28	28	28	28,5	28	28	28	29	29
C ₁	28	28	28	28	28,5	28	28	28	29	29
C ₂	28	28	28	28,5	28	28	28	28	28,5	29
C ₃	28	28	28	28	28,5	28	28,5	28	29	29
D ₁	28	28	28	28	28	28	28	28	28	29
D ₂	28	28	28	28	28	28	28	28	29	29
D ₃	28	28	28	28	28,5	28	28	28	28,5	29

PERLAKUAN	HARI KE-									
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
A ₁	29	28,5	29	29	29	29	29	29	28,5	29
A ₂	29	28,5	29	29	29	28,5	29	29	28	29
A ₃	29	28,5	29	29	29	29	29	29	28,5	29
B ₁	29	28,5	29	29	29	29	29	29	28	29
B ₂	29	28,5	29	29	29	29	29	29	28,5	29
B ₃	29	28,5	29	29	29	29	29	29	28,5	29
C ₁	29	28,5	29	29	29	29	29	29	28,5	29
C ₂	29	28,5	29	29	29	28,5	29	29	28	29
C ₃	29	28,5	29	29	29	29	29	29	28	29
D ₁	28,5	28,5	29	29	29	28,5	29	29	28	29
D ₂	29	28,5	29	29	29	29	29	29	28,5	29
D ₃	29	28,5	29	29	29	29	29	29	28	29

Data Suhu Siang Hari

PERLAKUAN	HARI KE-									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A ₁	29	26,5	26,5	29	28	28	28,5	28,5	28	28
A ₂	29	26,5	26	29	28	28	28	28	28	28
A ₃	29	26	28	29	28	28,5	28,5	28	28	28
B ₁	28,5	26	26	29	28	28	28	28	28	28
B ₂	29	26,5	26,5	29	28	28	28,5	28,5	28	28
B ₃	29	26,5	26	29	28	28,5	28,5	28,5	28	28
C ₁	29	26,5	28,5	29	28	28	28,5	28	28	28,5
C ₂	29	26	28	29	28	28	28,5	28	28	28
C ₃	28,5	26	28,5	29	28	28	28,5	28	28	28
D ₁	29	26	28,5	29	28	28	28	28	28	28
D ₂	29	28	29	29	28	28	29	28	28	29
D ₃	28,5	26	28	29	28	28	28	28	28	28

PERLAKUAN	HARI KE-									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
A ₁	28	28	28	28,5	29	28	28,5	29	29	29
A ₂	28	28	28,5	28	28,5	28	28	29	29	29
A ₃	28	28	28	28	28,5	28	28	29	29	29
B ₁	28	28,5	28,5	28,5	29	28	28	29	29	29
B ₂	28	28,5	28	28,5	29	28,5	28,5	29	29	29
B ₃	28	28,5	28	28,5	29	28	28	29	29	29
C ₁	28	28	28	28,5	28,5	28	28,5	29	29	29
C ₂	28	28	28	28,5	28	28	28	29	29	29
C ₃	28	28,5	28	28,5	28,5	28	28	29	29	29
D ₁	28	28	28	28,5	28	28	28	29	29	28,5
D ₂	28	28	28	28	28	28	29	29	29	29
D ₃	28	28,5	28	29	28,5	28	28,5	29	29	29

PERLAKUAN	HARI KE-									
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
A ₁	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
A ₂	29	28,5	29	29	29	29	29	29	29	28,5
A ₃	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
B ₁	29	28,5	29	29	29	29	29	29	29	28,5
B ₂	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
B ₃	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
C ₁	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
C ₂	29	28,5	29	29	29	29	29	29	29	28,5
C ₃	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
D ₁	29	28,5	29	29	29	29	29	29	29	28,5
D ₂	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
D ₃	29	28,5	29	29	29	29	29	29	29	29

Lampiran 10. Data Pengukuran pH Media Pemeliharaan Udang Windu (*P. monodon* Fab.) selama Penelitian

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan Hari ke-			
		0	10	20	30
A	1	8,44	7,93	7,92	7,87
	2	8,35	7,95	7,87	7,84
	3	8,44	7,95	7,91	7,87
B	1	8,37	7,93	7,87	7,81
	2	8,40	7,90	7,84	7,87
	3	8,45	7,95	7,91	7,84
C	1	8,21	8,03	7,85	7,85
	2	8,24	8,05	7,77	7,81
	3	8,25	8,00	7,78	7,79
D	1	7,67	8,21	7,94	7,77
	2	7,70	8,20	7,97	7,84
	3	7,72	8,18	7,82	7,71



Lampiran 11. Data Pengukuran DO Media Pemeliharaan Udang Windu (*P. monodon* Fab.) selama Penelitian

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan Hari ke-			
		0	10	20	30
A	1	6,5	6,5	5,4	5,4
	2	6,0	5,6	5,6	5,6
	3	6,0	5,9	5,9	6,0
B	1	5,6	5,6	5,6	5,6
	2	5,5	5,5	5,6	5,6
	3	5,6	5,7	5,5	5,6
C	1	6,0	6,0	6,0	6,0
	2	6,5	6,5	6,5	6,5
	3	6,0	6,0	6,0	6,0
D	1	5,7	5,6	5,7	5,7
	2	6,0	6,0	6,0	6,0
	3	5,6	5,6	5,6	5,6



Lampiran 12. Data Pengukuran Amonia (NH₃) Media Pemeliharaan Udang Windu (*P. monodon* Fab.) selama Penelitian

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan Hari ke-			
		0	10	20	30
A	1	0,018	0,035	0,035	0,038
	2	0,021	0,031	0,030	0,033
	3	0,018	0,035	0,034	0,035
B	1	0,018	0,041	0,043	0,042
	2	0,018	0,043	0,041	0,042
	3	0,022	0,041	0,042	0,044
C	1	0,012	0,019	0,020	0,021
	2	0,014	0,023	0,022	0,021
	3	0,012	0,025	0,024	0,026
D	1	0,014	0,042	0,042	0,044
	2	0,014	0,041	0,042	0,041
	3	0,015	0,043	0,043	0,042

