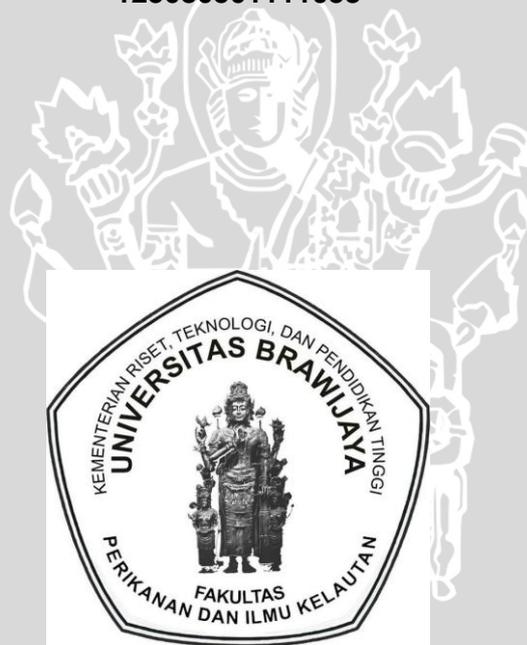


**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR TINTA CUMI-CUMI (*Loligo* sp.)
DENGAN PELARUT METANOL TERHADAP KELULUSHIDUPAN *POST*
LARVA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) YANG DIINFEKSI
BAKTERI *Vibrio harveyi***

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

Oleh:
WAHYU KURNIALLAH
125080501111053



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR TINTA CUMI-CUMI (*Loligo* sp.)
DENGAN PELARUT METANOL TERHADAP KELULUSHIDUPAN *POST*
LARVA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) YANG DIINFEKSI
BAKTERI *Vibrio harveyi***

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

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

Oleh:
WAHYU KURNIALLAH
125080501111053



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

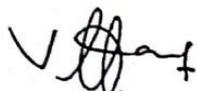
SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR TINTA CUMI-CUMI (*Loligo sp.*)
DENGAN PELARUT METANOL TERHADAP KELULUSHIDUPAN POST
LARVA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) YANG DIINFEKSI
BAKTERI *Vibrio harveyi*

Oleh:
WAHYU KURNIALLAH
125080501111053

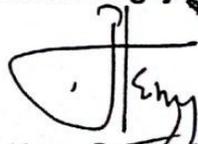
telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 11 Mei 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,
Dosen Penguji I



Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS
NIP. 19611106 198602 2 001
TANGGAL : 19 MAY 2016

Menyetujui,
Dosen Penguji II



Ir. Heny Suprastyani, MP
NIP. 19620904 198701 2 001
TANGGAL : 19 MAY 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I



Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc
NIP. 19621014 198701 1 001
TANGGAL : 19 MAY 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing II



Ir. Ellana Sanoesi, MP
NIP. 19630924 199803 2 002
TANGGAL : 19 MAY 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan
Manajemen Sumberdaya Perairan



Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP : 19620805 198603 2 001
TANGGAL :

19 MAY 2016

PERNYATAAN ORISINALITAS

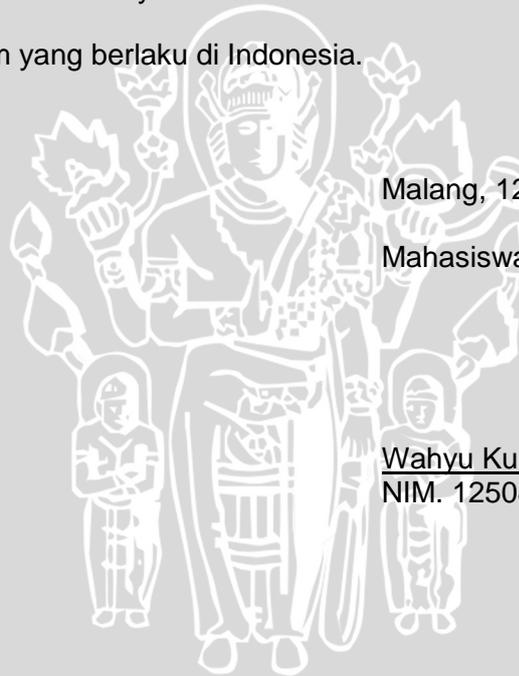
Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri di bawah payung penelitian Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc yang dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, melalui DIOA Universitas Brawijaya Nomor 023 04 2 41989/2014, Tanggal 5 Desember 2013 dan berdasarkan SK Rektor Universitas Brawijaya Nomor 157 Tahun 2014 Tanggal 10 April 2014.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 12 Mei 2016

Mahasiswa

Wahyu Kurniallah
NIM. 125080501111053



UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyadari bahwa pelaksanaan laporan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan moril dan materil dari semua pihak. Melalui kesempatan ini, dengan kerendahan hati perkenankan penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

- Allah S.W.T. karena atas berkah dan limpahan rahmat-Nya laporan ini dapat terselesaikan dengan tepat waktu.
- Ayah, Ibu, dan Kakak serta keluarga besar yang telah memberikan doa, motivasi, dan dukungan selama ini.
- Bapak Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc dan Ibu Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan dan nasehat bagi penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi ini dengan baik
- Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, MP selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan masukan selama penyusunan laporan.
- Tim penelitian skripsi tinta cumi-cumi yang telah bekerja sama dengan baik dalam melakukan penelitian dan penyusunan laporan.
- Teman-teman Budidaya Perairan 2012 yang telah membantu dan memberikan dukungan dalam proses penyusunan laporan skripsi ini.

Malang, Mei 2016

Penulis

RINGKASAN

WAHYU KURNIALLAH. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi (*Loligo* sp.) dengan Pelarut Metanol terhadap Kelulushidupan *Post* Larva Udang Vaname (*L. vannamei*) yang Diinfeksi Bakteri *Vibrio harveyi*. Dibawah bimbingan **Dr. Ir. M. Fadjar M.Sc** dan **Ir. Ellana Sanoesi, MP.**

Udang vaname merupakan salah satu jenis udang yang dibudidayakan di Indonesia karena memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi dengan pasar di manca negara yang luas dan cenderung meningkat. Produksi tinggi merupakan tujuan dari budidaya udang secara intensif untuk memenuhi kebutuhan pasar akan udang. Penyakit merupakan salah satu kendala yang harus dihadapi oleh pelaku usaha yang bergerak dalam bidang perikanan, penyakit pada udang vaname yaitu vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *V. harveyi*. Penggunaan antibiotik untuk pengendalian penyakit sudah dibatasi, karena dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten dan menimbulkan residu pada udang serta mengakibatkan pencemaran lingkungan. Oleh karena itu digunakannya bahan alami yang berfungsi sebagai antibakteri yaitu tinta cumi-cumi (*Loligo* sp)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dengan pelarut metanol terhadap kelulushidupan udang vaname (*L. vannamei*) yang diinfeksi bakteri *Vibrio harveyi*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya pada tanggal 16 November 2015 hingga 5 Desember 2015. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi menggunakan pelarut metanol dengan dosis 8 ppm (A), 10 ppm (B), 12 ppm (C), dan Kontrol (K). Parameter utama dalam penelitian adalah mengetahui kelulushidupan *post* larva udang vaname, sedangkan parameter penunjang dalam penelitian ini adalah kepadatan bakteri *V. harveyi*, gejala klinis dan kualitas air (pH, suhu, salinitas dan DO).

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol berpengaruh terhadap kelulushidupan *post* larva udang vaname. Adapun rerata kelulushidupan *post* larva udang vaname untuk perlakuan A (8 ppm) yaitu 73,33%, perlakuan B (10 ppm) yaitu 78,89% dan perlakuan C (12 ppm) yaitu 85,56%, sedangkan perlakuan K (Kontrol) yaitu 14,44%. Kelulushidupan terbaik *post* larva udang vaname yaitu pada perlakuan C (12 ppm). Hubungan antara dosis ekstrak kasar tinta cumi-cumi pelarut metanol terhadap kelulushidupan *post* larva udang vaname yaitu semakin tinggi dosis ekstrak yang digunakan maka kelulushidupan *post* larva udang vaname semakin tinggi. Grafik yang terbentuk adalah linier, dengan persamaan $y=48,702 + 3,0558x$ dan koefisien nilai determinasi (R^2) sebesar 0,869.

Pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol berpengaruh terhadap kepadatan bakteri *V. harveyi*. Adapun rata-rata kepadatan bakteri *V. harveyi* perlakuan A (8 ppm) yaitu $65,33 \times 10^5$ cfu/ml, perlakuan B (10 ppm) yaitu 46×10^5 cfu/ml, perlakuan C (12 ppm) yaitu $37,67 \times 10^5$ cfu/ml, dan perlakuan K (kontrol) yaitu 156×10^5 cfu/ml. Kepadatan bakteri *V.harveyi* yang terendah yaitu pada perlakuan C (12 ppm). Hubungan antara dosis ekstrak kasar tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol terhadap kepadatan bakteri *V. harveyi* adalah semakin tinggi dosis ekstrak maka kepadatan bakteri *V. harveyi* semakin rendah. Grafik yang terbentuk adalah linier $y=118,83 - 6,9167x$ dengan koefisien nilai determinasi (R^2) sebesar 0,835.

Hasil pengamatan gejala klinis *post larva* udang vaname yaitu *post larva* udang vaname yang telah diinfeksi dengan bakteri *V. harveyi* selama 24 jam memiliki tingkah laku berenang yang tidak beraturan dan ciri-ciri morfologi yang ditimbulkan yaitu pada tubuh dan ekor terdapat bercak berwarna merah. Sedangkan pada pengamatan hari ke-7 bercak merah pada *post larva* udang yang diberi ekstrak kasar tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol baik pada perlakuan A (8 ppm), B (10 ppm), C (12 ppm) sudah tidak terlihat. Namun pada perlakuan K (Kontrol) masih terdapat bercak warna merah pada ruas tubuh udang, ekor, serta rostrum.

Hasil dari pengamatan parameter kualitas air yang terdiri dari suhu, pH, salinitas dan oksigen terlarut (DO) menunjukkan hasil yang normal sehingga perbedaan hasil kelulushidupan *post larva* udang vaname selama penelitian berlangsung disebabkan oleh perlakuan dosis ekstrak kasar tinta cumi-cumi yang diberikan.



KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kepada Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Mu penulis dapat menyajikan laporan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi (*Loligo* sp.) dengan Pelarut Metanol terhadap Kelulushidupan *Post* Larva Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang Diinfeksi Bakteri *Vibrio harveyi*”. Pada tulisan ini disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi latar belakang, tujuan penelitian, waktu dan tempat penelitian, metode penelitian, hasil dan pembahasan, serta kesimpulan dan saran dari penelitian ini,

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, namun masih dirasakan banyak kekurang tepatan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 12 Mei 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Hipotesis	3
1.6 Tempat dan Waktu	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biologi Udang Vaname (<i>L. vannamei</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran Udang Vaname	6
2.1.3 Siklus Hidup	7
2.1.4 Kebiasaan Makan	8
2.1.5 Penyakit yang Menginfeksi Udang	9
2.2 Biologi Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	9
2.2.2 Habitat	10
2.2.3 Gejala Klinis Udang yang Terinfeksi	12
2.3 Kandungan Senyawa Aktif pada Tinta Cumi-Cumi	13
2.4 Pelarut Metanol	14
2.5 Ekstraksi	14
2.6 Antimikroba	15
3. METODE PENELITIAN	17
3.1 Materi Penelitian	17
3.1.1 Alat penelitian	17
3.1.2 Bahan Penelitian	18
3.2 Metode Penelitian	19
3.3 Teknik Pengambilan Data	20
3.4 Rancangan Penelitian	20
3.5 Prosedur Penelitian	22
3.5.1 Persiapan dan Pengambilan Tinta Cumi-cumi	22
3.5.2 Ekstraksi Tinta Cumi-cumi	23
3.5.3 Sterilisasi	23



3.5.4 Pembuatan Media <i>Tryptic Soy Broth</i> (TSB)	24
3.5.5 Kultur Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	24
3.5.6 Persiapan Alat dan Media Pemeliharaan	25
3.5.7 Persiapan Hewan Uji	25
3.5.8 Pelaksanaan Penelitian	26
3.6 Parameter Uji	27
3.6.1 Parameter Utama	27
3.6.2 Parameter Penunjang	27
3.7 Analisa Data	29
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Tinta Cumi-cumi	30
4.2 Kelulushidupan <i>Post Larva</i> Udang Vaname	30
4.2 Gejala Klinis <i>Post Larva</i> Udang Vaname yang Terinfeksi Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	34
4.3 Kepadatan Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	36
4.3.1 Rerata Kepadatan Bakteri Sebelum Pemberian Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol.....	36
4.3.2 Rerata Kepadatan Bakteri Sesudah Pemberian Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol.....	37
4.4 Kualitas Air	41
5. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Kesimpulan	44
5.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	50



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi Udang Vanamei (<i>L. vannamei</i>)	6
2. Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	10
3. Gejala Klinis Vibriosis pada Udang	13
4. Denah Penelitian	22
5. Hubungan antara Dosis Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol terhadap Kelulushidupan <i>Post Larva</i> Udang Vaname	32
6. Bercak Merah pada (Tanda Panah) Tubuh dan Ekor <i>Post Larva</i> Udang Vaname yang Terinfeksi Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	36
7. Hubungan antara Dosis Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol terhadap Kepadatan Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	39



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat-Alat Penelitian yang Digunakan	17
2. Bahan-Bahan Penelitian yang Digunakan.....	18
3. Uji Fitokimia Ekstrak Tinta Cumi-Cumi	30
4. Rerata Kelulushidupan Udang Vaname (<i>L. vannamei</i>) yang Terinfeksi Bakteri <i>V. harveyi</i> (%)	31
5. Sidik Ragam Kelulushidupan <i>Post Larva</i> Udang Vaname	31
6. Hasil Uji BNT Kelulushidupan <i>Post Larva</i> Udang Vaname	32
7. Hasil Pengamatan Visual Abnormalitas Berenang pada Udang Vaname selama Pemeliharaan	34
8. Rerata Kepadatan Bakteri Sebelum Pemberian Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol.....	36
9. Rerata Kepadatan Bakteri Sesudah Pemberian Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol (10^5 cfu/ml)	37
10. Sidik Ragam Kepadatan Bakteri <i>V. harveyi</i>	38
11. Hasil Uji BNT Kepadatan bakteri <i>V. harveyi</i>	38
12. Hasil Pengamatan Kualitas Air Selama Pemeliharaan	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat-Alat Penelitian yang Digunakan	50
2. Bahan Penelitian yang Digunakan	53
3. Proses Ekstraksi Tinta Cumi (<i>Loligo</i> sp.).....	56
4. Perhitungan Pembuatan Media	57
5. Surat Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Tinta Cumi-Cumi	58
6. Rata-Rata Kelulushidupan <i>Post</i> Larva Udang Vaname	60
7. Analisis Data Kelulushidupan (<i>Survival Rate</i>) <i>Post</i> Larva Udang Vaname (<i>L. vannamei</i>)	61
8. Rerata Kepadatan Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	67
9. Analisis Data Kepadatan Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	68
10. Data Kualitas Air selama Penelitian	74
11. Dokumentasi Penelitian	76



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Budidaya udang memberikan kontribusi yang besar bagi produksi sektor perikanan Indonesia. Ekspor produksi udang Indonesia pernah mencapai 50% dari seluruh ekspor perikanan pada tahun 2002 dan menempati urutan lima besar dalam komoditas ekspor non migas (Felix *et al.*, 2011). Udang memiliki nilai ekonomis tinggi (*high economic value*) serta permintaan pasar tinggi (*high demand product*). Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) menargetkan produksi udang di dalam negeri pada tahun 2013 dapat menembus hingga lebih dari 600.000 ton, sehingga dibutuhkan sinergi dari berbagai pihak terkait guna merealisasikan target tersebut. Tahun 2013, capaian produksi udang nasional diproyeksikan sebesar 608.000 ton (Anonim, 2013 *dalam* Assovaria, 2015). Udang merupakan salah satu komoditas perikanan yang bernilai ekonomis tinggi dengan pasar di manca negara yang luas dan cenderung meningkat (Garno, 2004).

Udang vaname merupakan salah satu jenis udang yang dibudidayakan di Indonesia karena memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi (Sari dan Haditomo, 2015). Udang vaname memiliki keunggulan yaitu dapat tumbuh secepat udang windu (3 gr/minggu), dapat dibudidayakan pada kisaran salinitas yang lebar (0,5-45 ppt), kebutuhan protein yang lebih rendah (20-35%) dibanding udang windu, mampu mengkonversi pakan dengan lebih baik (FCR 1,2-1,6) serta dapat ditebar dengan kepadatan tinggi hingga lebih dari 150 ekor/m² (Budiardi *et al.*, 2005).

Produksi tinggi merupakan tujuan dari budidaya udang secara intensif untuk memenuhi kebutuhan pasar akan udang. Menurut Suwoyo dan Mangampa (2010), perkembangan kegiatan budidaya perikanan yang pesat dengan penerapan sistem intensif telah menimbulkan permasalahan daya dukung

tambah bagi kehidupan udang yang dibudidayakan. Dampak lanjut yang ditimbulkan adalah terjadinya serangan penyakit yang menimbulkan kerugian besar.

Penyakit merupakan salah satu kendala yang harus dihadapi oleh pelaku usaha yang bergerak dalam bidang perikanan. Penyakit yang sering menginfeksi udang diantaranya virus, jamur, parasit dan bakteri. Beberapa jenis bakteri dari genus vibrio merupakan salah satu penyebab penyakit pada udang vaname yang dikenal sebagai vibriosis (Sari dan Haditomo, 2015). Arifuddin *et al.*, (2004) mengungkapkan *V. harveyi* merupakan agen utama penyebab penyakit vibriosis yang menginfeksi organisme vertebrata dan invertebrata laut. Akibat infeksi penyakit vibriosis, banyak organisme perairan yang dibudidayakan mengalami kematian massal sehingga menimbulkan kerugian ekonomi yang cukup tinggi (Nasi *et al.*, 2011). Penyakit yang diakibatkan oleh *V. harveyi* bersifat ganas karena dapat mematikan populasi larva udang yang terinfeksi dengan presentase 80-100 % dalam waktu 1 sampai 3 hari (Sari dan Haditomo, 2015)

Penggunaan antibiotik untuk pengendalian penyakit udang berpondar yang disebabkan bakteri *V. harveyi* saat ini sudah dibatasi, karena dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten dan menimbulkan residu pada udang serta mengakibatkan pencemaran lingkungan (Widanarni *et al.*, 2012). Oleh karena itu dibutuhkan alternatif pengendalian yang lebih ramah lingkungan dan tidak menimbulkan efek resisten terhadap bakteri, seperti memanfaatkan bahan-bahan herbal. Salah satu bahan yang dapat digunakan adalah tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.). Tinta cumi-cumi memiliki kemampuan antibakteri (Nair *et al.*, 2011). Menurut Fadjar *et al.*, (2015) ekstrak methanol tinta cumi dapat dipergunakan sebagai *inhibitor autoinducer quorum sensing* bakteri *V. harveyi*, dengan dosis 8 ppm.

1.2 Rumusan Masalah

Kemunculan berbagai jenis penyakit di perairan yang disebabkan oleh bakteri *V. harveyi* telah berdampak terhadap penurunan hasil produksi budidaya perikanan. Berdasarkan uraian diatas dapat diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

- Apakah pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol mampu mempengaruhi kelulushidupan *post larva* udang vaname (*L. vannamei*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol terhadap kelulushidupan *post larva* udang vaname (*L. vannamei*) yang diinfeksi dengan bakteri *V. harveyi*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini untuk memberikan informasi kepada para pembudidaya untuk menggunakan bahan alami yang ramah lingkungan untuk mengendalikan serangan *V. harveyi* dengan menggunakan ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol sebagai upaya pemanfaatan bahan buangan di bidang perikanan.

1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga penggunaan ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol tidak berpengaruh terhadap kelulushidupan *post larva* udang vaname (*L. vannamei*) yang diinfeksi bakteri *V. harveyi*

H_1 : Diduga penggunaan ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol berpengaruh terhadap kelulushidupan *post larva* udang vaname (*L. vannamei*) yang diinfeksi bakteri *V. harveyi*

1.6 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboraturium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 16 November – 5 Desember 2015.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Udang Vaname (*L. vannamei*)

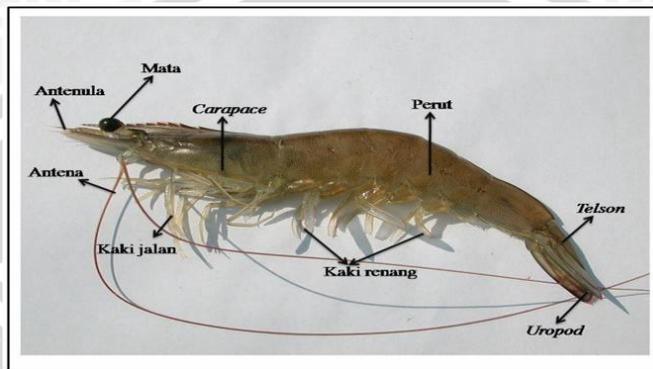
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi udang vaname menurut Effendie (1997) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Crustacea
Ordo	: Decapoda
Famili	: Penaeidae
Genus	: <i>Litopenaeus</i>
Spesies	: <i>Litopenaeus vannamei</i>

Kordi dan Tancung (2007) menjelaskan bahwa kepala udang putih terdiri dari antena, antenula, dan 3 pasang maxilliped. Kepala udang putih juga dilengkapi dengan 3 pasang maxilliped dan 5 pasang kaki berjalan (peripoda). Maxilliped sudah mengalami modifikasi dan berfungsi sebagai organ untuk makan. Pada ujung peripoda beruas-ruas yang berbentuk capit (*dactylus*). Dactylus ada pada kaki ke-1, ke-2, dan ke-3. Abdomen terdiri dari 6 ruas. Pada bagian abdomen terdapat 5 pasang (pleopoda) kaki renang dan sepasang uropods (ekor) yang membentuk kipas bersama-sama *telson* (ekor). Menurut Zakaria (2010), tubuh udang vaname yang dilihat dari luar terdiri dari bagian depan yang disebut *cephalothorax*, karena menyatunya bagian kepala dan dada serta bagian belakang (perut) yang disebut *abdomen* dan terdapat ekor (*uropod*) di ujungnya. Seluruh tubuh udang vaname tertutup oleh eksoskeleton yang terbuat dari bahan kitin. Tubuhnya beruas-ruas dan mempunyai aktivitas berganti kulit luar (eksoskeleton) secara periodik (molting). Bagian tubuh udang vaname

sudah mengalami modifikasi, sehingga dapat digunakan untuk beberapa keperluan antara lain: makan, bergerak dan membenamkan diri ke dalam lumpur, menopang insang, karena struktur insang udang mirip bulu unggas serta organ sensor seperti *antenna* dan *antennula*. Morfologi udang vanamei dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi Udang Vanamei (*L. vannamei*) (Akbaidar, 2013 dalam Assovaria, 2015)

Warna udang vaname adalah putih transparan dengan warna biru dekat bagian telson dan uropoda. Alat kelamin udang jantan disebut petasma, yang terletak pada pangkal kaki renang pertama. Sedangkan alat kelamin udang betina disebut juga dengan thelycum, terbuka dan terletak diantara pangkal kaki jalan ke-4 dan ke-5. Pada jantan dewasa petasma adalah simetris, semi-open, dan tidak bertudung. Bentuk dari spermatophorenya sangat kompleks, terdiri dari berbagai struktur gumpalan sperma yang terbungkus oleh suatu pelindung. Betina dewasa mempunyai thelycum terbuka dan ini adalah salah satu perbedaan yang paling mencolok pada udang vaname betina (Elovaara, 2001 dalam Panjaitan, 2012).

2.1.2 Habitat dan Penyebaran Udang Vaname

Udang putih mempunyai kemampuan beradaptasi terhadap salinitas yang luas dengan kisaran salinitas 0 sampai 50 ppt. Temperatur juga memiliki pengaruh yang besar pada pertumbuhan udang. Temperatur yang cocok bagi

pertumbuhan udang putih adalah 23 – 30 °C. Pengaruh temperatur pada pertumbuhan udang putih adalah pada spesifitas tahap dan ukuran. Udang muda dapat tumbuh dengan baik dalam air dengan temperatur hangat, tapi semakin besar udang tersebut, maka temperatur optimum air akan menurun (Wyban dan Sweeney, 1991).

Di alam, populasi udang vanamei dapat ditemukan di Pantai Pasifik Barat, sepanjang Peru bagian Utara, melalui Amerika Tengah dan Selatan sampai Meksiko bagian Utara, yang mempunyai suhu air normal lebih dari 20° C sepanjang tahun. Udang vaname hidup di habitat laut tropis. Udang dewasa hidup dan memijah di laut lepas dan larva akan bermigrasi dan menghabiskan masa larva sampai *post larva* di pantai, laguna atau daerah mangrove (Zakaria, 2010).

Udang vaname aktif pada kondisi gelap (*nocturnal*), yaitu beraktivitas pada malam hari. Pada siang hari, udang akan membenamkan tubuhnya dalam lumpur. Udang ini dapat hidup pada kisaran salinitas lebar (*euryhaline*) umumnya tumbuh optimal pada salinitas 15-30 ppt, suka memangsa sesama jenis (*canibal*), tipe pemakan lambat tetapi terus menerus (*continous feeder*), menyukai hidup di dasar (bentik) dan mencari makan lewat organ sensor (*chemoreceptor*) (Haliman dan Adijaya, 2005).

2.1.3 Siklus Hidup

Udang peneid dewasa hidup dan bertelur di laut, kemudian setelah telur menetas menjadi larva tingkat pertama yandisebut *nauplius* akan berkembang menjadi *protozoa* setelah 45-60 jam. *Protozoa* berkembang menjadi *mysis* setelah 5 hari. *Mysis* berkembang menjadi *post larva* setelah 4-5 hari. *Post larva* udang bergerak mendekati pantai dan menetap di dasar perairan estuari sampai berkembang menjadi udang muda atau juvenil. Pergerakan seperti inilah yang menyebabkan *post larva* ditemukan di sepanjang pantai dan paling banyak di

daerah mangrove. Perairan estuari lebih kaya nutrisi yang dibutuhkan larva dan parameter kualitas air yang lebih bervariasi dibandingkan di laut dalam. Setelah beberapa bulan di perairan payau, udang dewasa kembali ke laut dan melakukan pemijahan serta melepaskan telurnya (Panjaitan, 2012).

Siklus hidup udang putih dimulai dari udang dewasa yang melakukan pemijahan hingga terjadi fertilisasi. Setelah 16-17 jam dari fertilisasi, telur menetas menjadi larva (*nauplius*). Tahap naupli tersebut memakan kuning telur yang tersimpan dalam tubuhnya dan akan mengalami moulting, kemudian metamorphosis menjadi zoea. Zoea akan mengalami metamorfosis menjadi *mysis*. *Mysis* mulai terlihat seperti udang kecil memakan alga dan zooplankton. Setelah 3 sampai 4 hari, *mysis* mengalami metamorfosis menjadi *postlarva*. Tahap *postlarva* adalah tahap saat udang sudah mulai memiliki karakteristik udang dewasa. Keseluruhan proses dari tahap nauplii sampai *postlarva* membutuhkan waktu sekitar 12 hari. Kemudian *post larva* akan dilanjutkan ketahap *juvenil* (Wyban dan Sweeney, 1991).

2.1.4 Kebiasaan Makan

Udang vaname mempunyai sifat mencari makan pada siang dan malam hari (diurnal dan nokturnal) dan sangat rakus. Udang vaname mencari dan mengidentifikasi pakan menggunakan sinyal kimiawi berupa getaran dengan bantuan organ sensor yang terdiri dari bulu-bulu halus (seta). Dengan bantuan sinyal kimiawi yang ditangkap udang akan merespon untuk mendekati atau menjauhi sumber pakan (Nuhman, 2008).

Larva udang pada stadia nauplius belum memerlukan makanan, karena masih memiliki cadangan makanan dan sistem pencernaannya belum sempurna. Pada stadia zoea mulai aktif mencari makanan berupa fitoplankton, sedangkan pada stadia *mysis* lebih menyukai makanan berupa zooplankton. Pada stadia pascalarva akan bersifat benthik dan mencari makan di dasar perairan berupa

detritus dan sisa-sisa mikroorganisme (Martosudarmo dan Ranoemihardja, 1983). Udang vaname merupakan hewan karnivor yang memakan *crustascea* kecil, ampipod dan polikaeta (Wyban dan Sweeney, 1991). Apabila makanan yang tersedia tidak mencukupi, udang vaname dapat bersifat kanibal dan memangsa udang vaname lainnya yang berukuran lebih kecil atau lebih lemah dari dirinya.

2.1.5 Penyakit yang Menginfeksi Udang

Menurut Widarnani *et al.*, (2012), penyakit bakterial merupakan salah satu masalah penting yang sering timbul dalam usaha budidaya udang vaname. Penyakit udang berpendar merupakan penyakit bakterial yang banyak menginfeksi udang vaname. Bakteri *Vibrio harveyi* yang menyebabkan penyakit udang berpendar merupakan pathogen oportunistik yang umum dijumpai dilingkungan pemeliharaan dan bersimbiosis dengan udang atau ikan air laut. Jika kondisi udang menurun, maka bakteri ini akan bersifat pathogen.

Penyakit vibriosis pada udang baik di pembenihan maupun pembesaran, merupakan jenis penyakit yang sering menyebabkan kerugian akibat kematian yang ditimbulkannya (Assovaria, 2015). Seperti yang dijelaskan Sunaryanto *et al.*, (1987) dalam Nasi *et al.*, (2011), udang yang terinfeksi vibriosis mempunyai ciri badan terdapat bercak merah-merah (*red discoloration*) pada pleopod dan abdominal serta pada malam hari terlihat menyala. Gejala klinis yang ditimbulkan dari vibriosis tergantung tingkat serangan yaitu kronik atau akut. Pada tingkat kronik dan akut gejala yang ditimbulkan cukup jelas.

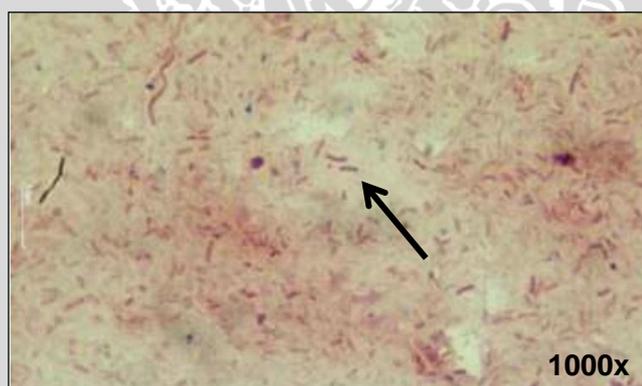
2.2 Biologi Bakteri *Vibrio harveyi*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Berdasarkan Bergey's Manual edisi ke-9 (Holt *et al.*, 1994 dalam Evan, 2009), klasifikasi bakteri *Vibrio harveyi* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Prokaryota
Divisi : Bacteria
Ordo : Eubacteriales
Family : Vibrionaceae
Genus : Vibrio
Spesies : *Vibrio harveyi*

Bakteri *Vibrio* sp. memiliki ciri morfologi dan fisiologi sebagai berikut: bentuk koloni bulat, elevasi cembung, berwarna krem dengan diameter 2-3 mm pada media agar SWC. Bersifat gram negatif, sel tunggal berbentuk batang pendek yang bengkok atau lurus, motil, oksidase positif, dan mempunyai flagella pada salah satu kutub selnya (Evan, 2009). Bentuk sel tunggal bakteri *Vibrio harveyi* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Bakteri *Vibrio harveyi* (Ajitama *et al.*, 2014)

Morfologi koloni bakteri *Vibrio harveyi* memiliki bentuk batang, tepian rata, elevasi cembung dan berwarna kuning, ciri lainnya adalah bentuknya seperti batang pendek, tidak membentuk spora, sumbu melengkung atau lurus, ukurannya 0,51 mm x 1 – 2 mm, bersifat gram negatif, tumbuh baik pada kadar NaCl 1–1,5 %, terdapat tunggal atau kadang-kadang bersatu dalam bentuk s atau spiral (Prajitno, 2005). *Vibrio harveyi* yang merupakan bakteri gram negatif yang hidup di laut dan beriklim tropis, memiliki bentuk tubuh menyerupai koma atau batang pendek, bengkok atau lurus, bersel tunggal, mempunyai alat gerak

berupa *flagella* kutub tunggal (*monotoric flagel*), ukuran sel 1-4 mm, tidak membentuk spora, oksidase positif, katalase positif, serta proses fermentasi karbohidratnya tidak membentuk gas (Hardiyani, 2014).

Menurut Lavilla-Pitogo *et al.*, (1990), *Vibrio harveyi* terlihat berpendar jika diamati di ruang gelap dan pendarannya dapat bertahan 2-3 hari pada media *Thiosulphate Citrate Bile-Salt Sucrose* (TCBS). Pada umumnya *Vibrio harveyi* bersifat patogen oportunistik, yaitu organisme yang dalam keadaan normal ada di lingkungan pemeliharaan yang bersifat saprofitik dan berkembang patogenik apabila kondisi lingkungan dan inangnya memburuk.

2.2.2 Habitat

Bakteri ini tumbuh secara optimal pada suhu 30°C, salinitas antara 20-30 ppt dengan pH 7,0 dan bersifat anaerobik fakultatif, yaitu dapat hidup baik dengan atau tanpa adanya oksigen (Lavilla-Pitogo *et al.*, 1990). *Vibrio* juga termasuk bakteri yang bersifat halofil, yaitu tumbuh dengan rentang toleransi salinitas 5-80 ppt dan tumbuh optimal pada salinitas 20-40 ppt (Taslihan, 1992 dalam Hardiyani, 2014).

Vibrio harveyi umumnya hidup di air laut dan payau, terutama air dangkal serta musim dimana temperatur air menjadi tinggi, ditemukan di habitat-habitat akuatik, sebagian pada air laut, lingkungan estuarin dan berasosiasi dengan hewan laut. Bakteri *Vibrio* spp. termasuk jenis bakteri halofit. Dapat tumbuh secara optimum pada salinitas 20 – 30 ppt, dan dapat tumbuh dengan baik pada kondisi alkali, yaitu pH optimum berkisar antara 7,5 – 8,5 (Prajitno, 2005).

Parameter fisika dan kimia kualitas air yang tidak baik menjadi penyebab melimpahnya jumlah bakteri *Vibrio* sp. pada air pembesaran dan pemeliharaan larva udang vaname. Selain itu, budidaya udang vaname skala intensif menjadi faktor penyebab mudahnya bakteri patogen menginfeksi udang vaname.

dikarenakan udang yang dibudidayakan mengalami stress akibat kepadatan populasi udang (Kharisma dan Manan, 2012).

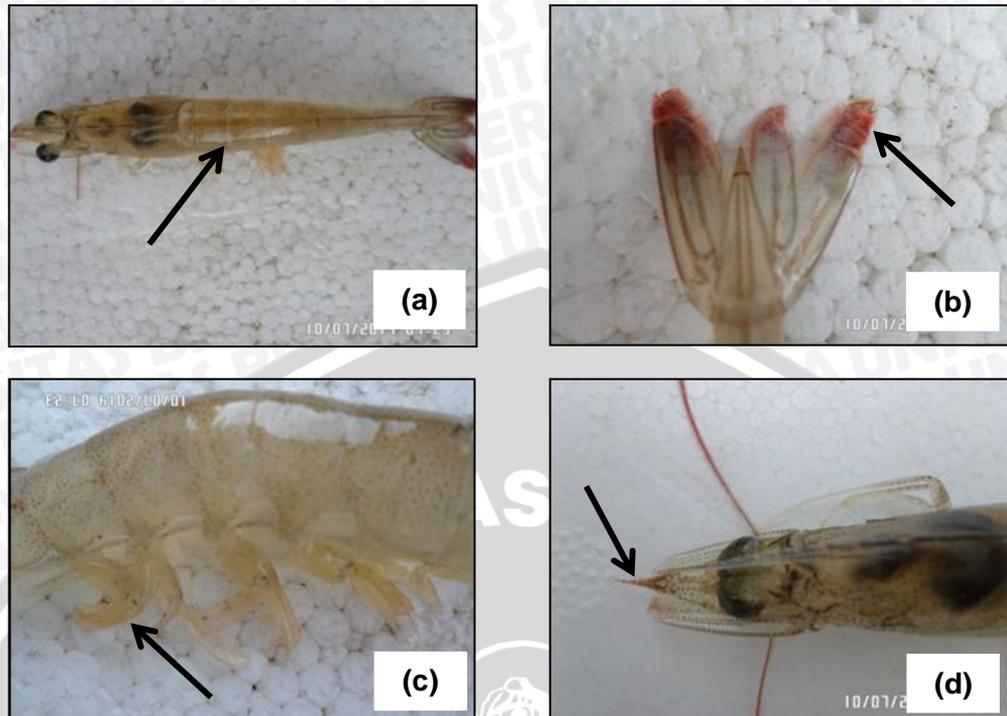
2.2.3 Gejala Klinis Udang yang Terinfeksi

Udang yang terinfeksi penyakit Vibriosis ini memiliki gejala nafsu makan menurun, gerakan lambat, tubuh penuh bercak-bercak merah dan kemudian mati. Selain itu udang terlihat bercahaya sehingga sering disebut penyakit kunang-kunang atau penyakit udang menyala pada malam hari (Assovaria, 2015).

Menurut Evan (2009), gejala klinis yang unik pada penyakit vibriosis adalah larva yang terinfeksi *Vibrio harveyi* terlihat berpendar atau bercahaya (*luminescence*) ketika diamati pada malam hari. Selain itu, larva yang terinfeksi juga terlihat lemah dan tidak aktif berenang, larva yang secara normal transparan berubah menjadi putih buram, nafsu makan berkurang, berkumpul dan pada akhirnya larva akan mati.

Kemunculan vibriosis di perairan tambak udang dapat menyebabkan menurunnya tingkat produksi dan membawa kerugian bagi petambak. Udang yang terinfeksi vibriosis menunjukkan gejala klinis sebagai berikut, bagian hepatopankreas yang berwarna merah kecoklatan, tubuh terdapat bercak merah (*red discoloration*) pada pleopod dan abdominal, bagian ekor geripis dan berwarna merah kecoklatan (Hardiyani, 2014).

Menurut hasil penelitian Sari dan Haditomo (2015), gejala klinis ditimbulkan pasca infeksi bakteri yang mana udang mengalami perubahan tingkah laku dan morfologi pada tubuh udang. Selain itu, terjadi penurunan respon terhadap pakan yang diberikan, tubuh memerah (Gambar 2a), telson memerah (Gambar 2b), kaki renang memerah (Gambar 2c) dan rostrum memerah (Gambar 2d).



Gambar 3. Gejala Klinis Vibriosis pada Udang (Sari dan Haditomo, 2015)

2.3 Kandungan Senyawa Aktif pada Tinta Cumi-Cumi

Tinta cumi-cumi mengandung senyawa golongan *alkaloid* yang merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder yang beratom nitrogen dan bersifat basa, beberapa *alkaloid* dilaporkan ada yang memiliki manfaat dalam pengobatan (Agusandi *et al.*, 2013). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Lestari *et al.*, (2015), pada tinta cumi-cumi terdapat zat alkaloid dan saponin yang berfungsi sebagai antibakteri

Cumi-cumi merupakan keluarga dari Cephalopoda yang dikenal dapat menghasilkan tinta hitam. Ekstrak tinta mentah dari berbagai spesies cumi telah dipelajari sebagai antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, bakteri isolat klinis dan ragi patogen, pengawetan, dan antioksidan. *Tyrosinase* adalah sebuah enzim dalam tinta cumi-cumi yang diketahui berperan dalam pertahanan dari mikroba. Tinta cumi-cumi berbentuk cairan yang komponennya didominasi oleh melanin yang berwarna hitam pekat (Girija *et al.*, 2011).

2.4 Pelarut Metanol

Metanol merupakan salah satu pelarut alkohol yang penting dan paling sederhana. Metanol juga dikenal sebagai alkohol kayu atau spiritus dan merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Metanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku karena titik bekunya yang rendah yaitu -98°C , pelarut bahan bakar dan sebagai bahan aditif pada industri etanol. Penggunaan metanol terbanyak saat ini adalah sebagai bahan pembuat bahan kimia lainnya. Sekitar 40% metanol diubah menjadi formaldehid yang kemudian diaplikasikan dalam berbagai macam produk (Aji, 2014).

Menurut Akerina *et al.*, (2015), metanol merupakan golongan dari alkohol dan merupakan suatu pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi pendahuluan karena dapat mengekstraksi habis komponen aktif. Pelarut metanol dapat mengekstrak komponen alkaloid, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino, dan glikosida. Pelarut metanol merupakan pelarut yang banyak digunakan untuk ekstraksi senyawa-senyawa organik, karena metanol dapat mengikat senyawa yang bersifat polar, non polar dan semi polar (Pane, 2013).

2.5 Ekstraksi

Prinsip dasar ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non-polar dalam pelarut non-polar. Serbuk simplisia diekstraksi berturut-turut dengan pelarut yang berbeda polaritasnya. Proses ekstraksi merupakan penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dengan zat yang diinginkan larut (Voight, 1994).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi atau ekstraksi dengan cara dingin, karena maserasi merupakan cara ekstraksi paling sederhana yang dilakukan dengan merendam serbuk kasar simplisia dengan cairan pengekstrak

selama 24 jam. Metode ini juga dapat digunakan untuk senyawa-senyawa yang tidak tahan panas atau senyawa yang mudah terhidrolisis (Putri *et al.*, 2015).

Menurut Anonim (2000), maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukkan pada temperatur ruangan atau kamar. Dasar dari proses maserasi adalah larutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan ekstraksi (difusi) bahan kandungan yang masih utuh.

2.6 Antimikroba

Menurut Kee dan Hayes (1996), antimikroba adalah substansi yang menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri atau mikroorganisme lain (organisme mikroskopik termasuk bakteri, virus, jamur, protozoa dan riketsia). Secara teknik istilah antibiotik mengacu pada zat kimia yang dihasilkan oleh satu macam mikroorganisme yang menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme yang lain. Senyawa antibakteri harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin.

Kebutuhan antibiotik baru masih tinggi terutama yang dapat melawan bakteri patogen khususnya pada udang. Memodifikasi antibiotik yang sudah ada untuk mendapatkan senyawa turunan antibiotik baru telah dilakukan tetapi kenyataannya mikroorganisme memiliki kemampuan untuk bermutasi sehingga memiliki mekanisme resistensi terhadap antibiotik tersebut dan antibiotik tersebut tidak berpengaruh terhadap bakteri yang menginfeksi (Aji, 2014). Penggunaan antibiotik untuk pengendalian penyakit pada usaha perikanan saat ini sudah dibatasi, karena dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten dan menimbulkan residu pada udang serta mengakibatkan pencemaran pada lingkungan (Widanarni *et al.*, 2012).

Mekanisme kerja antibakteri menurut Pelczar dan Chan (1986) adalah sebagai berikut:

a. Kerusakan pada dinding sel

Struktur pada dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukan atau mengubahnya setelah selesai dibentuk.

b. Perubahan permeabilitas membrane sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuk bahan-bahan lain. Membran memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel.

c. Perubahan molekul protein asam nukleat

Hidupnya suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein pada asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini, yaitu mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi), *irreversible* (tidak dapat kembali) komponen-komponen seluler.

d. Penghambatan kerja enzim

Setiap enzim dari beratus-ratus enzim yang berbeda-beda dan terdapat di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat, banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimiawi, penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme

e. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA dan protein memegang peranan penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol terhadap keluluhidupan *post* larva udang vaname (*L. vannamei*) yang diinfeksi dengan bakteri *V. harveyi* dapat dilihat pada Tabel 1 sedangkan gambar peralatan dapat dilihat pada Lampiran 1.

Tabel 1. Alat-Alat Penelitian yang Digunakan

No	Alat	Kegunaan
1	Autoklaf	Sebagai alat untuk mensterilkan peralatan yang akan digunakan.
2	Kulkas	Sebagai tempat penyimpanan bahan pada suhu dingin.
3	Cawan Petri	Sebagai tempat untuk mengetahui kepadatan bakteri.
4	Erlenmeyer 500 ml dan 50 ml	Sebagai tempat pembuatan media dan maserasi
5	Gelas ukur 100 ml	Sebagai alat mengukur larutan
6	Bunsen	Untuk mencegah adanya kontaminasi pada saat perlakuan.
7	Tabung Reaksi	Sebagai tempat untuk peremajaan bakteri dan untuk proses pengenceran bakteri.
8	Hot Plate	Sebagai alat pemanas media
9	Timbangan digital	Sebagai alat penimbang dengan ketelitian 10^{-2} .
10	Timbangan Analitik	Sebagai alat penimbang bahan dengan ketelitian 10^{-3}
11	Vortex Mixer	Sebagai penghomogen larutan
12	Mikropipet 100-1000 μ	Sebagai alat untuk mengambil bahan yang berbentuk cairan
13	Mikropipet 10-100 μ	Sebagai alat untuk mengambil bahan yang berbentuk cairan
14	Nampan	Sebagai tempat menyimpan alat
15	Refraktometer	Sebagai alat untuk mengukur salinitas air
16	Washing bottle	Sebagai tempat menyimpan akuades dan tempat menyimpan alkohol untuk sterilisasi

Tabel 1. (Lanjutan)

17	Spatula	Sebagai alat penghomogen larutan
18	Oven	Sebagai alat untuk mengeringkan cawan petri
19	Jarum ose	Untuk mengambil bakteri saat akan dikultur
20	Toples kaca	Sebagai wadah pemeliharaan udang vaname
21	Aerator	Sebagai sumber oksigen pada wadah pemeliharaan udang vaname
22	Selang aerasi	Untuk menyalurkan O ₂ dari aerator ke media
23	Batu aerasi	Untuk memecah O ₂ yang dihasilkan oleh aerator ke air
24	Selang air	Untuk menyalurkan air dari kran ke dalam toples
25	Heater akuarium	Untuk memberikan suhu panas yang sesuai
26	Seser	Untuk mempermudah dalam memindahkan udang
27	Ember plastik	Sebagai wadah penampungan air laut
28	pH meter	Untuk mengukur besarnya pH dalam media pemeliharaan
29	Thermometer	Untuk mengetahui suhu media pemeliharaan
30	DO meter	Untuk mengukur kandungan DO dalam media pemeliharaan
31	Sprayer	Sebagai tempat menyimpan alkohol
32	Inkubator	Sebagai alat menginkubasi

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2 dan gambar bahan-bahan yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran2.

Tabel 2. Bahan-Bahan Penelitian yang Digunakan

No	Bahan	Kegunaan
1	Tinta cumi-cumi	Sebagai bahan yang akan dijadikan ekstrak
2	Aquades	Sebagai bahan pelarut
3	Metanol	Sebagai bahan pelarut
4	Udang vaname PL-12	Sebagai objek yang diuji
5	Alumunium foil	Sebagai bahan yang digunakan untuk membungkus semua bagian erlenmeyer saat di maserasi.

Tabel 2. (Lanjutan)

6	Kertas label	Sebagai bahan penanda
7	Alkohol 70%	Sebagai bahan untuk sterilisasi
8	Kapas	Sebagai bahan untuk menutupi alat pada saat sterilisasi
9	Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	Sebagai baketri yang digunakan untuk perlakuan
10	MgSO ₄	Sebagai bahan untuk media kultur bakteri
11	Tisu	Sebagai bahan pembersih
12	Air tawar	Sebagai media hidup udang vaname
13	Kertas Koran	Sebagai bahan untuk membungkus peralatan yang akan disterilisasi
14	Tali kasur	Sebagai bahan untuk mengikat peralatan yang disterilisasi
15	Air laut	Sebagai media hidup udang vaname
16	TCBS	Sebagai media untuk menumbuhkan bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .
17	Spirtus	Sebagai bahan bakar untuk bunsen
18	NaCl	Sebagai bahan untuk media kultur bakteri
19	Plastik warp	Sebagai pembungkus botol sampel
20	KCl	Sebagai bahan untuk media kultur bakteri

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini merupakan metode eksperimen. Pada dasarnya metode eksperimen yang dilakukan untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat dua variabel atau lebih, dengan mengendalikan pengaruh variabel yang lain. Metode eksperimen dilaksanakan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja (bersifat induce) kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya di dalam variabel terikat (Zulnaidi, 2007).

Metode penelitian eksperimen pada umumnya digunakan dalam penelitian yang bersifat laboratoris. Penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan terhadap variabel yang data-datanya belum ada sehingga perlu dilakukan proses

manipulasi melalui pemberian perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian yang kemudian diamati/diukur dampaknya (data yang akan datang) (Jaedun, 2011).

3.3 Teknik Pengambilan Data

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung. Menurut Chariri (2009), observasi partisipasi dilakukan dengan cara mengamati secara langsung perilaku individu dan interaksi yang ada dalam setting penelitian. Oleh karena itu, peneliti harus terlibat langsung dalam kehidupan sehari-hari subyek yang dipelajari. Dengan cara ini peneliti dapat memperoleh data khusus di luar struktur dan prosedur formal organisasi.

Dalam *participant observation*, peneliti melakukan kegiatan sebagai berikut :

- Melibatkan diri dalam aktivitas sehari-hari. Mencatat kejadian, perilaku dan setting social secara sistematis (apa yang terjadi, kapan, dimana, siapa, bagaimana). Adapun data yang dikumpulkan selama observasi adalah: deskripsi program, perilaku, perasaan, dan pengetahuan.
- Wujud data adalah catatan (*field note*): Apa yang terjadi, bagaimana terjadinya, siapa yang ada di sana.
- Catatan semua kejadian atau perilaku yang dianggap penting oleh peneliti (Bisa berupa *checklist* atau deskripsi rinci tentang peristiwa atau perilaku tertentu).

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian merupakan gambaran umum penelitian yang akan dilaksanakan oleh peneliti untuk mencapai tujuan tertentu. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Menurut Hanafiah (2013), Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan yang paling sederhana jika dibandingkan dengan rancangan-rancangan lainnya. Dalam rancangan ini

tidak terdapat lokal kontrol, sehingga sumber keragaman yang diamati hanya perlakuan dengan galat. Kondisi ini hanya dicapai di ruangan-ruangan terkontrol seperti di laboratorium.

Adapun model rancangan acak lengkap yang secara umum dinyatakan dalam model matematika adalah sebagai berikut :

$$Y = \mu + T + \varepsilon$$

Keterangan :

Y = Respon atau nilai pengamatan

μ = Nilai rerata harapan (mean)

T = Pengaruh perlakuan

ε = Pengaruh galat

Penelitian ini akan dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol pada dosis 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm dengan masing-masing tiga kali ulangan. Pada penelitian ini digunakan kontrol pembanding yaitu kontrol negatif dengan tiga kali ulangan, kontrol negatif sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri dan tanpa pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi, jadi total sampel sebanyak 12 sampel. Penentuan untuk dosis yang diberikan didapat dari hasil penelitian peneliti sebelumnya yang menguji daya hambat ekstrak kasar tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol terhadap bakteri *V. harveyi* secara *in vitro*.

Dosis yang diberikan pada setiap perlakuan adalah sebagai berikut:

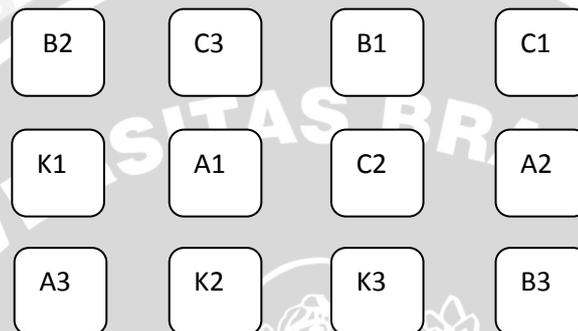
A : Perlakuan penginfeksi bakteri *V. harveyi* dan perendaman ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol dosis 8 ppm.

B : Perlakuan penginfeksi bakteri *V. harveyi* dan perendaman ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol dosis 10 ppm.

C : Perlakuan penginfeksi bakteri *V. harveyi* dan perendaman ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol dosis 12 ppm.

K : Perlakuan penginfeksi bakteri *V. harveyi* dan tanpa perendaman ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol.

Denah penelitian disajikan pada Gambar 4 di bawah ini:



Gambar 4. Denah penelitian

Keterangan:

A, B, C : perlakuan

K : kontrol

1,2,3 : ulangan

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan dan Pengambilan Tinta Cumi-Cumi

Tahap pertama yang harus dilakukan dalam penelitian ini adalah pengambilan tinta dari cumi-cumi. Cumi-cumi yang digunakan berasal dari Pasuruan, Jawa Timur dalam keadaan segar. Pengambilan tinta diawali dengan pemotongan bagian mantel (bagian bawah tubuh cumi-cumi) secara vertikal atau membujur. Alat yang digunakan untuk mengambil tinta cumi-cumi adalah pinset. Kemudian kantong tinta cumi-cumi diletakkan pada wadah. Kantong tinta cumi-cumi dipotong-potong dengan menggunakan gunting dan diperas untuk diambil tintanya. Komposisi tinta cumi-cumi merupakan air yang berwarna hitam pekat.

Tinta cumi-cumi yang sudah siap kemudian dimasukkan dalam freezer agar tinta tidak rusak. Cumi-cumi yang digunakan sebanyak 500 gram dan dihasilkan 61 ml tinta cumi-cumi.

3.5.2 Ekstraksi Tinta Cumi-Cumi

Proses ekstraksi diawali dengan melakukan maserasi. Maserasi merupakan upaya perendaman tinta cumi-cumi dengan pelarut. Pada penelitian ini pelarut yang digunakan adalah pelarut metanol. Perbandingan pencampuran antara tinta cumi-cumi dan pelarut (Metanol) adalah 1:3 yaitu 50 ml tinta cumi-cumi dengan 150 ml Metanol (Girija *et al.*, 2012). Pengambilan tinta cumi-cumi dilakukan dengan menggunakan gelas ukur sebanyak 50 ml dan metanol sebanyak 150 ml lalu dituangkan ke dalam Erlenmeyer 500 ml. Langkah selanjutnya yaitu pada mulut Erlenmeyer ditutup dengan menggunakan kapas dan alufoil kemudian ditali. Erlenmeyer 500 ml disimpan pada lemari pendingin dengan 4°C selama 7 hari. Setelah 7 hari dilakukan evaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator*. Setelah proses evaporasi dari 200 ml hasil maserasi tinta cumi dengan pelarut metanol didapatkan ekstrak kasar berbentuk pasta dengan berat 7,40 gram (Lampiran 3).

3.5.3 Sterilisasi

Sterilisasi merupakan upaya pemusnahan bakteri-bakteri yang tidak diinginkan. Proses sterilisasi dilakukan dengan metode sebagai berikut:

- Alat-alat yang akan disterilisasi dibungkus dengan menggunakan kertas koran, kemudian diikat dengan menggunakan benang (untuk tabung reaksi dan erlenmeyer bagian atas diberi kapas).
- Akuades dituang secukupnya dalam autoklaf, kemudian alat yang telah dibungkus kertas koran dimasukkan ke dalam autoklaf dan ditutup rapat.

- Saklar dinyalakan, kemudian pengatur suhu diputar pada tanda maksimal dan pengatur waktu pada 60 menit.
- Setelah uap keluar, tutup klep pada autoklaf dan ditunggu suhu sampai 121 °C
- Setelah mencapai suhu 121°C, pengatur suhu di kecilkan hingga lampu sterilisasi menyala. Kemudian pengatur waktu di putar pada 15 menit.
- Ditunggu proses sterilisasi hingga alarm berbunyi. Kemudian Saklar listrik dimatikan dan ditunggu sampai suhu 0 °C. Autoklaf dapat dibuka.
- Diambil alat yang sudah disterilisasi lalu disimpan dalam inkubator, bahan yang telah disterilisasi disimpan dalam lemari pendingin.

3.5.4 Pembuatan Media *Tryptic Soy Broth* (TSB)

Media TSB adalah media cair yang digunakan untuk kultur bakteri. Proses pembuatan media TSB adalah sebagai berikut:

- Erlenmayer disiapkan dan diisi aquades sesuai dengan kebutuhan.
- Ditambahkan tiga garam (karena akan mengkultur bakteri laut) dengan ketentuan NaCl 18,4 gr/liter; KCl 0,75 gr/liter; dan MgSO₄ 6,94 gr/liter.
- media TSB ditimbang sebanyak yang diperlukan dengan ketentuan 30 gram/liter (Lampiran 4).
- Dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dihomogenkan.
- Media yang sudah dihomogenkan ditutup dengan menggunakan kapas dan alumunium foil pada bagian mulut erlenmeyer serta diikat tali.
- Dilakukan sterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media siap digunakan.

3.5.5 Kultur Bakteri *Vibrio harveyi*

Stok bakteri murni *V. harveyi* didapatkan dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara yang terdapat di media agar miring. Kultur

bakteri *V. harveyi* dilakukan pada media TSB dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- Biakan murni pada media agar miring diambil dengan menggunakan jarum ose sebanyak 1 gores.
- Ose yang sudah terdapat bakteri dicelupkan pada media TSB yang sudah disiapkan.
- Media disimpan pada *incubator shaker* dengan suhu 33°C selama 2x24 jam.
- Semua kegiatan pengkulturan dilakukan secara steril.
- Kepadatan bakteri hasil kultur dicocokkan menggunakan metode standar McFarland.

3.5.6 Persiapan Alat dan Media Pemeliharaan

Persiapan alat yang diperlukan seperti toples kaca 5 liter, dibersihkan dan dibilas menggunakan klorin 10%. Kemudian bilas lagi menggunakan air biasa. Kemudian disiapkan juga alat-alat pendukung, seperti *aerator set*, *heater*, DO meter, pH meter, dan sebagainya. Media penelitian untuk udang yang diamati menggunakan air payau bersalinitas 30 ppt, hal ini sesuai dengan pernyataan Hardiyani (2014), bahwa udang vaname tumbuh optimal pada salinitas 15-30 ppt.

Air tawar yang digunakan diperoleh dari air kran di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, sedangkan untuk air bersalinitas tinggi (40 ppt) dibeli dari pedagang ikan hias air laut. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga didapatkan media yang bersalinitas 30 ppt. Setelah itu toples diisi air dengan salinitas 30 ppt hingga tiga liter. Media pemeliharaan diberi aerasi sebagai suplai oksigen dan heater untuk memberikan daya panas dan suhu yang sesuai dengan media hidup udang dan bakteri.

3.5.7 Persiapan Hewan Uji

Hewan Uji yang akan digunakan yaitu *post larva* udang vaname (*L. vannamei*) yang didapatkan dari *hatchery* PT. Suri Tani Pemuka Banyuwangi sebanyak 2500 ekor dengan ukuran PL-4. Udang tersebut dipelihara sampai mencapai PL-12, kemudian udang yang digunakan sebanyak 10 ekor/liter, jadi masing-masing toples diisi dengan 30 ekor udang uji. Pada penelitian ini, keseluruhan udang yang digunakan berjumlah 360 ekor.

3.5.8 Pelaksanaan Penelitian

Post larva udang vaname (*L. vannamei*) dimasukkan toples pemeliharaan. Bakteri *V. harveyi* yang telah dikultur adalah bakteri dengan kepadatan 10^9 sel/ml, untuk mendapatkan kepadatan 10^7 sel/ml dilakukan pengenceran dengan menggunakan rumus :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan :

- N1 : Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)
- N2 : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)
- V1 : Volume suspense bakteri dalam TSB yang dibutuhkan
- V2 : Volume yang diinginkan

Setelah itu dilakukan langkah berikut:

- *Post larva* udang vaname dimasukkan masing-masing toples perlakuan dengan kepadatan 10 ekor/liter, kemudian dibiarkan 24 jam.
- Setelah 24 jam, dilakukan infeksi bakteri *V. harveyi* dalam media pemeliharaan udang sesuai dengan kebutuhan dan ditunggu kembali 24 jam.
- Sampel air dari setiap wadah diambil untuk menghitung kepadatan bakteri sebelum pemberian perlakuan, kemudian ekstrak kasar tinta cumi-cumi

(*Loligo* sp.) dengan pelarut metanol dimasukan ke dalam toples sesuai dengan perlakuan.

- Larva udang vanamei dipelihara selama tujuh hari dan diamati gejala klinis udang yang sudah diinfeksi bakteri *V. harveyi*.
- Dilakukan pengukuran kualitas air pada wadah pemeliharaan yang meliputi suhu, pH, salinitas dan DO setiap hari.
- Dilakukan penghitungan kelulushidupan udang vaname dan kepadatan bakteri dalam media pemeliharaan pada hari ke-7.

3.6 Paramater Uji

3.6.1 Parameter Utama

Parameter utama yang diuji pada penelitian ini adalah tingkat kelulushidupan atau *Survival Rate* (SR) dari *post* larva udang vaname. Tingkat kelangsungan hidup larva udang dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Goddard, 1996 dalam Evan, 2009) :

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = Tingkat kelangsungan hidup (%)

N_t = Jumlah larva udang yang hidup pada akhir pengamatan (ekor)

N_o = Jumlah larva udang pada awal pengamatan (ekor)

3.6.2 Parameter Penunjang

a. Gejala Klinis

Pengamatan secara visual dilakukan untuk mengamati tingkah laku dan perubahan morfologi yang terjadi pada larva udang uji. Pengamatan dilakukan setelah larva diinfeksi bakteri pada media pemeliharaan, yang diamati setiap 24 jam selama 1 minggu.

Pada pengamatan pergerakan larva pasca infeksi diklasifikasikan sebagai berikut:

- Berenang normal (+++) = larva berenang di dinding kolom air
- Berenang tanpa arah (++) = larva berenang tidak beraturan
- Berenang lemah di dasar (+) = sebagian besar larva berenang di dasar

b. Perhitungan Kepadatan Bakteri *Vibrio harveyi*

Langkah awal prosedur perhitungan kepadatan bakteri pada penelitian ini adalah dengan menumbuhkan isolat bakteri pada media *Thiosulphate Citrate Bile-Salt Sucrose* (TCBS). Menurut Felix *et al.*, (2011), *V. harveyi* mempunyai ciri koloni berwarna kuning pada media TCBS, sehingga kepadatan bakteri dapat dihitung karena warna koloni bakteri yang kontras dengan warna hijau TCBS.

Kepadatan total bakteri pada media pemeliharaan dihitung pada saat sebelum diberi perlakuan ekstrak dan hari ke tujuh masa pemeliharaan menggunakan metode hitungan cawan tuang dengan perhitungan sebagai berikut (Hadioetomo, 1993 *dalam* Evan, 2009) :

$$\Sigma \text{ bakteri} = N \times \frac{1}{fp}$$

Keterangan :

Σ bakteri = banyaknya sel bakteri (cfu/ml)

N = jumlah koloni bakteri (cfu)

fp = faktor pengenceran

c. Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur pada penelitian ini adalah tingkat oksigen terlarut atau *Dissolved Oxygen* (DO), suhu air pada media pemeliharaan, derajat keasaman (pH) dan salinitas. Pengukuran suhu, DO, pH, dan salinitas

yaitu dua kali sehari pada pagi hari dan sore hari. Pengukuran suhu menggunakan termometer Hg, yaitu dengan memasukkan termometer ke dalam toples pemeliharaan tunggu 1-2 menit, didapatkan hasilnya.

Pengukuran DO menggunakan alat digital yaitu DO meter, elektrode DO meter dimasukan ke dalam media pemeliharaan lalu tunggu hingga angka stabil. Setelah itu, catat hasil DO. Pengukuran pH air dalam toples pemeliharaan menggunakan pH meter, sedangkan pengukuran salinitas dilakukan dengan cara air sampel diteteskan pada alat refraktometer kemudian alat tersebut diarahkan pada cahaya sampai terlihat nilai salinitas yang tertera pada refraktometer.

3.7 Analisa Data

Data yang diperoleh akan dilakukan analisa secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan hasil terbaik taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%). Langkah-langkah analisa data dapat dilihat pada Lampiran 5.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Tinta Cumi-Cumi

Uji fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol ini. Pengujian dilakukan di UPT Materia Medica Batu dengan metode tabung yaitu dengan cara mengambil sedikit sampel ekstrak tinta cumi-cumi, lalu ditambahkan larutan sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Hasil uji fitokimia pada ekstrak tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol secara kualitatif disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Uji Fitokimia Ekstrak Tinta Cumi-cumi

Nama Sampel	Terpenoid		Alkaloid		Saponin
	Triterpenoid	Steroid	P. Meyer	P. Dragendorf	
Ekstrak <i>Loligo</i> sp. (Metanol)	+	-	+	+	-

Berdasarkan hasil uji fitokimia awal dapat diketahui bahwa ekstrak tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol mengandung berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid dan triterpenoid. Pada penelitian Lestari *et al.*, (2015) didapatkan hasil bahwa tinta cumi-cumi (*L. sumatrensis*) mengandung golongan senyawa alkaloid dan saponin, namun tidak terdapat kandungan steroid, sedangkan penelitian Kurniansyah (2015) mengungkapkan bahwa tinta cumi-cumi juga mengandung golongan senyawa triterpenoid.

Septyaningsih (2010) menjelaskan bahwa senyawa metabolit sekunder yang dapat larut dalam pelarut non polar yaitu steroid dan terpenoid. Dalam penelitian ini terpenoid ditemukan ekstrak tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol. Diduga karena adanya ikatan hidrogen antara terpenoid yang memiliki gugus hidroksil dengan metanol mengakibatkan senyawa tersebut tertarik oleh pelarut metanol.

4.2 Kelulushidupan *Post Larva Udang Vaname*

Berdasarkan penelitian pengaruh pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol didapatkan hasil rerata persentase kelulushidupan *post larva udang vaname (L. vannamei)* seperti yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata Kelulushidupan Udang Vaname (*L. vannamei*) yang Terinfeksi Bakteri *V. harveyi* (%).

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	70,00	76,67	73,33	220,00	73,33
B	80,00	80,00	76,67	236,67	78,89
C	86,67	83,33	86,67	256,67	85,56
Total				713,34	

Berdasarkan Tabel 4 di atas selanjutnya dilakukan perhitungan sidik ragam untuk mengetahui pengaruh ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol terhadap kelulushidupan *post larva udang vaname*. Hasil perhitungan sidik ragam kelulushidupan *post larva udang vaname* (Lampiran 7) yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Sidik Ragam Kelulushidupan *Post Larva Udang Vaname*

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	224,73	112,37	19,94**	5,14	10,92
Acak	6	33,81	5,63			
Total	8					

**) Berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel 5 diatas pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol memiliki pengaruh terhadap kelulushidupan *post larva udang vaname*. Hal ini ditunjukkan oleh hasil F Hitung yang lebih besar dari pada F 1%. Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Hasil uji beda nyata terkecil berdasarkan perhitungan yang dilakukan (Lampiran 7) dapat dilihat pada Tabel 6.

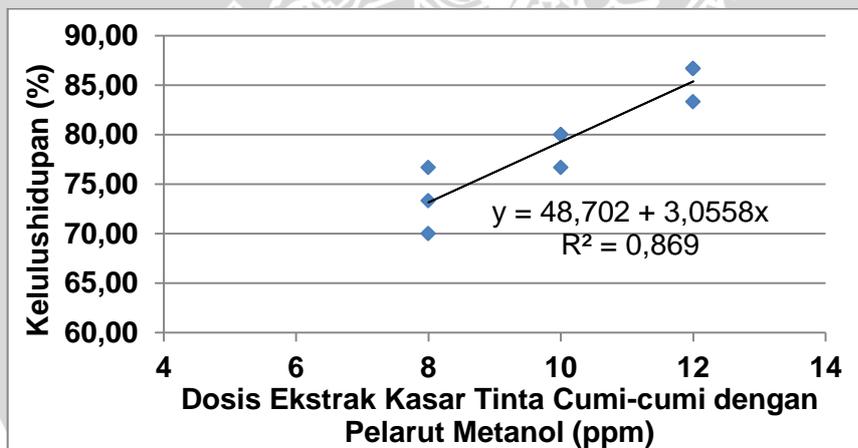
Tabel 6. Hasil Uji BNT Kelulushidupan *Post* Larva Udang Vaname

Perlakuan	Rerata	A (8 ppm)	B (10 ppm)	C (12 ppm)	Notasi
		73,33	78,89	85,56	
A (8 ppm)	73,33	-			a
B (10 ppm)	78,89	5,56*	-		b
C (12 ppm)	85,56	12,22**	6,67*	-	c

*) Berbeda nyata

***) Berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel 6 di atas dapat dijelaskan bahwa perlakuan A (8 ppm), B (10 ppm), maupun C (12 ppm) menunjukkan hasil yang berbeda, hal ini ditunjukkan dengan notasi yang berbeda pada tiap perlakuan. Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan perlakuan pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol tersebut terhadap kelulushidupan *post* larva udang vaname (*L. vannamei*) yang diinfeksi bakteri *V. harveyi* dilakukan perhitungan polinomial orthogonal (Lampiran 7) dan hasilnya dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hubungan antara Dosis Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol terhadap Kelulushidupan *Post* Larva Udang Vaname.

Hubungan antara perbedaan dosis ekstrak kasar tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol terhadap kelulushidupan *post* larva udang vaname (*L. vannamei*) menghasilkan hubungan atau grafik secara linier, dimana didapatkan persamaan $y = 48,702 + 3,0558x$ dengan koefisien nilai determinasi (R^2) sebesar 0,869. Berdasarkan Gambar 5 diatas dapat diketahui bahwa semakin tinggi dosis yang

digunakan maka nilai kelulushidupan *post* larva udang vaname juga semakin tinggi, hal ini dikarenakan adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak tinta cumi-cumi yang digunakan sehingga didapatkan hasil bahwa perlakuan C dengan dosis 12 ppm merupakan dosis terbaik yang memberikan nilai kelulushidupan tertinggi yaitu mencapai 85,56%. Menurut Posangi *et al.*, (2013), beberapa mekanisme yang dapat menjadi probabilitas efek antibakteri yang terdapat pada tinta cumi-cumi yaitu penghambatan metabolisme sel, sintesis protein sel, sintesis asam nukleat sel, serta mengganggu permeabilitas membran sel mikroba.

Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan, senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol yaitu senyawa golongan alkaloid, hal ini sesuai dengan pernyataan dari Agusandi *et al.*, (2013) bahwa tinta cumi-cumi mengandung senyawa golongan alkaloid yang merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder yang beratom nitrogen dan bersifat basa, beberapa alkaloid dilaporkan ada yang memiliki manfaat dalam pengobatan. Pada penelitian Lestari *et al.*, (2015) didapatkan hasil bahwa tinta cumi-cumi (*L. sumatrensis*) positif mengandung senyawa alkaloid.

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Rijayanti, 2014). Jadi, zat alkaloid pada ekstrak tinta cumi-cumi mempengaruhi perkembangan bakteri *V. harveyi* pada media pemeliharaan sehingga *post* larva udang vaname dapat bertahan lebih lama dan nilai kelulushidupan pun meningkat.

Selain itu kelulushidupan *post* larva juga dipengaruhi oleh kualitas air yang masih terjaga baik untuk kehidupan udang sehingga membantu larva udang untuk dapat bertahan hidup. Evan (2009) menyatakan air media

pemeliharaan merupakan ruang lingkup tempat hidup, tumbuh dan berkembang larva udang sehingga kualitasnya harus baik.

4.2 Gejala Klinis *Post Larva Udang Vaname yang Terinfeksi Bakteri Vibrio harveyi*

Pengamatan secara visual dilakukan untuk mengamati tingkah laku dan perubahan morfologi yang terjadi pada larva udang uji. Pengamatan dilakukan setelah larva diinfeksi bakteri pada media pemeliharaan, yang diamati pada saat sebelum pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi dan pada akhir pemeliharaan. Hasil pengamatan visual abnormalitas pada hewan uji dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Pengamatan Visual Abnormalitas Berenang pada Udang Vaname selama Pemeliharaan

Perlakuan	Waktu	Ulangan		
		1	2	3
K (Kontrol)	Awal	++	+++	+++
	Akhir	+	+	+
A (8 ppm)	Awal	++	++	++
	Akhir	+++	++	++
B (10 ppm)	Awal	++	+++	++
	Akhir	+++	+++	++
C (12 ppm)	Awal	++	++	+++
	Akhir	+++	++	+++

Keterangan:

- Berenang normal (+++) = larva udang berenang di dinding kolom air
- Berenang tanpa arah (++) = larva udang berenang tidak beraturan
- Berenang lemah di dasar (+) = sebagian besar larva udang berenang di dasar

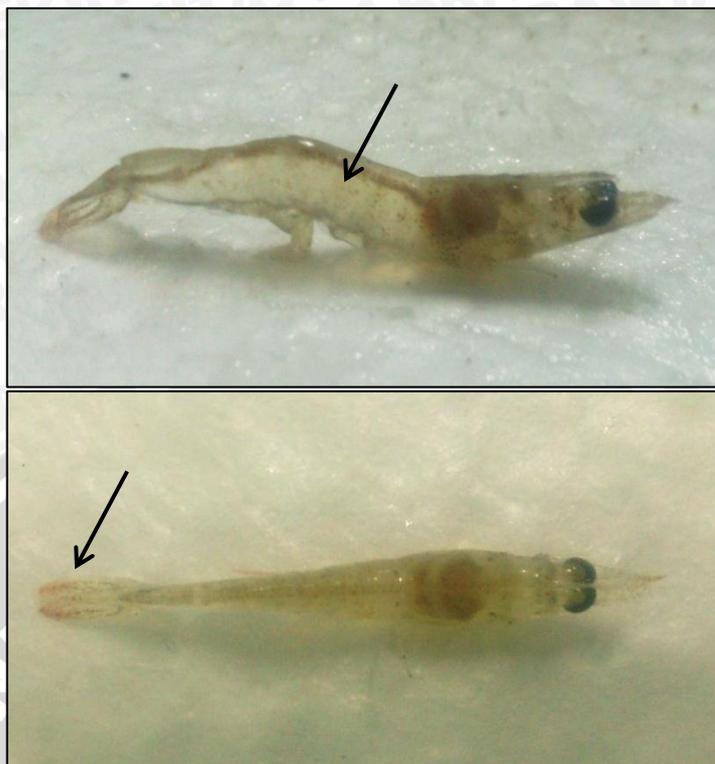
Berdasarkan data pada Tabel 7 dapat diketahui bahwa *post* larva udang vaname (*L. vannamei*) pada perlakuan kontrol mengalami perubahan tingkah laku berenang selama masa pemeliharaan karena sama sekali tidak diberi ekstrak kasar tinta cumi-cumi yaitu larva udang cenderung berenang lemah di dasar dikarenakan sudah tidak memiliki tenaga akibat menurunnya nafsu makan. Udang yang terinfeksi bakteri *V. harveyi* ini memiliki gejala nafsu makan

menurun, gerakan lambat, tubuh penuh bercak-bercak merah dan kemudian mati (Assovaria, 2015). Namun pada wadah pemeliharaan perlakuan A (8 ppm), B (10 ppm), dan C (12 ppm) rata-rata hewan uji di media yang diberi perlakuan tidak mengalami perubahan tingkah laku berenang yang menunjukkan bahwa udang semakin melemah karena infeksi bakteri *V. harveyi*.

Selain pengamatan visual abnormalitas dalam hal berenang, *post* larva udang vaname dalam semua wadah pemeliharaan baik kontrol maupun yang telah diberi perlakuan dengan dosis yang berbeda menunjukkan gejala klinis penyakit vibriosis setelah dilakukan perendaman dengan bakteri *V. harveyi* selama 24 jam. Hal ini dapat diperhatikan melalui ciri-ciri *post* larva udang yang mengalami bercak merah pada tubuhnya dan juga warna merah pada bagian ekor serta rostrum (Gambar 6).

Ciri-ciri tersebut sesuai dengan pernyataan Hardiyani (2014) bahwa udang yang terinfeksi vibriosis menunjukkan gejala klinis sebagai berikut, pada bagian tubuh terdapat bercak merah (*red discoloration*) pada pleopod dan abdominal, bagian ekor geripis dan berwarna merah kecoklatan. Gejala klinis udang yang terserang vibriosis yaitu kondisi tubuh lemah, nampak kusam, nampak kotor, berenang lambat, nafsu makan hilang, badan mempunyai bercak bercak merah (*red discoloration*) pada pleopod dan abdominal serta pada malam hari terlihat menyala (Aji, 2014).

Namun gejala klinis diatas jarang ditemukan pada *post* larva udang vaname saat pengamatan hari ke-7 pada media pemeliharaan yang diberi ekstrak kasar tinta cumi-cumi dengan dosis 8 ppm (A) dan 10 ppm (B) sedangkan pada perlakuan dengan dosis 12 ppm (C) hampir tidak terdapat *post* larva udang yang memiliki ciri-ciri tubuh atau ekor berwarna merah seperti terinfeksi bakteri *V. harveyi*.



Gambar 6. Bercak Merah (Tanda Panah) pada Tubuh dan Ekor *Post Larva* Udang Vaname yang Terinfeksi Bakteri *Vibrio harveyi*

4.3 Kepadatan Bakteri *Vibrio harveyi*

4.3.1 Rerata Kepadatan Bakteri Sebelum Pemberian Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol

Perhitungan kepadatan bakteri pada media pemeliharaan merupakan parameter penunjang pada penelitian ini. Hasil perhitungan kepadatan bakteri pada tiap wadah pemeliharaan sebelum dilakukan pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol (Lampiran 8) dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Rerata Kepadatan Bakteri Sebelum Pemberian Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol (10^7 cfu/ml)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
K (Kontrol)	61	62	65	188	62,67
A (8 ppm)	58	54	57	169	56,33
B (10 ppm)	54	64	56	174	58,00
C (12 ppm)	67	63	60	190	63,33

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah kepadatan bakteri pada media pemeliharaan *post* larva udang vaname yang telah diinfeksi menggunakan bakteri *V. harveyi* dengan kepadatan awal 10^7 cfu/ml dan kemudian telah dilakukan pengenceran hingga didapatkan hasil 10^7 cfu/ml atau 7 kali pengenceran. Kepadatan masing masing wadah perlakuan memiliki rata-rata yang relatif sama atau tidak berbeda jauh.

4.3.2 Perhitungan Kepadatan Bakteri Sesudah Pemberian Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol

Pada hari ketujuh atau hari terakhir masa pemeliharaan, air dari masing-masing wadah pemeliharaan diambil untuk dihitung kepadatan bakterinya dengan melakukan pengenceran hingga 5 kali. Hasil perhitungan rerata kepadatan bakteri dalam wadah pemeliharaan setelah pemberian ekstrak tinta cumi-cumi dengan perlakuan dosis yang berbeda pada udang vaname (*L. vannamei*) yang terinfeksi bakteri *V. harveyi* dapat dilihat pada Tabel 9 di bawah ini:

Tabel 9. Rerata Perhitungan Kepadatan Bakteri Sesudah Pemberian Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol (10^5 cfu/ml)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A (8 ppm)	59	72	65	196	65,33
B (10 ppm)	45	51	42	138	46,00
C (12 ppm)	30	44	39	113	37,67
Total				447	

Berdasarkan Tabel 9 di atas dapat dilihat hasil rerata perhitungan kepadatan bakteri sesudah pemberian perlakuan. Setelah itu dilakukan perhitungan sidik ragam (Lampiran 9) untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dengan pelarut metanol terhadap kepadatan bakteri *V. harveyi* pada media pemeliharaan. Hasil sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Sidik Ragam Kepadatan Bakteri *V. harveyi*

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1208,67	604,33	15,95**	5,14	10,92
Acak	6	227,33	37,89			
Total	8					

***) Berbeda sangat nyata

Berdasarkan tabel 10 diatas terlihat bahwa pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol memiliki pengaruh terhadap kepadatan bakteri *V. harveyi* pada media pemeliharaan. Hal ini ditunjukkan oleh hasil F Hitung yang lebih besar dari pada F 1%. Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan pengaruh setiap perlakuan ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol yang diberikan terhadap kepadatan bakteri *V. harveyi*. Hasil uji beda nyata terkecil berdasarkan perhitungan (Lampiran 9) dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil Uji BNT kepadatan bakteri *V. harveyi*

Perlakuan	Rerata	A	B	C	Notasi
		65,33	46,00	37,67	
A (8 ppm)	65,33	-			A
B (10 ppm)	46,00	19,33**	-		B
C (12 ppm)	37,67	27,67**	8,33 ^{ns}	-	B

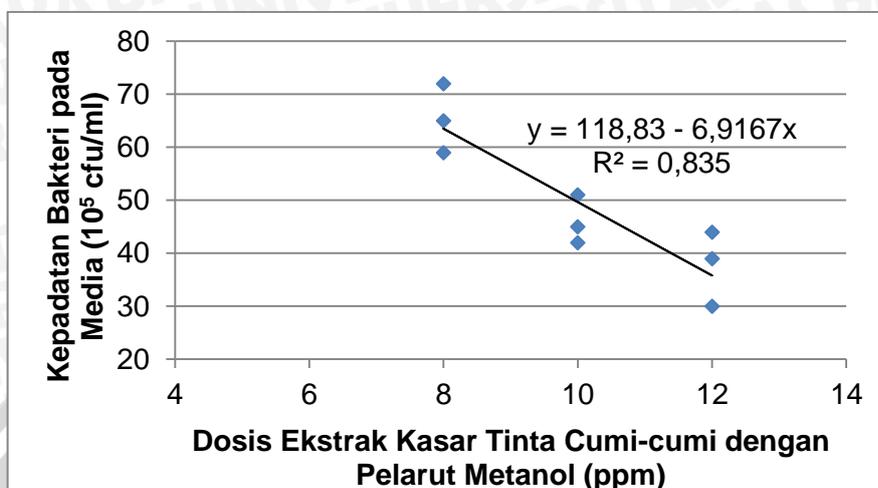
*) berbeda nyata

***) berbeda sangat nyata

^{ns}) tidak berbeda nyata

Berdasarkan Tabel 11 diatas, perlakuan B (10 ppm) dan C (12 ppm) menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A (10 ppm). Sedangkan perlakuan B (8 ppm) menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata terhadap perlakuan C (12 ppm), hal ini ditunjukkan dengan notasi yang berbeda pada tiap perlakuan. Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan antara pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol terhadap kepadatan bakteri *V. harveyi* pada media pemeliharaan dilakukan

perhitungan polinomial orthogonal (Lampiran 9) dan hasilnya dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Hubungan antara Dosis Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol terhadap Kepadatan Bakteri *V. harveyi*.

Hubungan antara perbedaan dosis ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dengan pelarut metanol terhadap kepadatan bakteri *V. harveyi* menghasilkan hubungan atau grafik secara linier dan didapatkan persamaan $y = 118,83 - 6,9167x$ dengan koefisien nilai determinasi (R^2) sebesar 0,835. Perhitungan kepadatan bakteri dalam media pemeliharaan *post* larva udang vaname pada masing-masing perlakuan masih dalam rentang yang memenuhi syarat dalam proses perhitungan dimana koloni dalam satu cawan tidak ada yang memiliki jumlah kurang dari 25 koloni atau lebih dari 250 koloni. Hal ini sesuai dengan pendapat Miranti *et al.*, (2013) yang menyatakan koloni bakteri yang memenuhi syarat untuk dihitung yaitu berkisar antara 25 - 250 koloni per cawan petri.

Berdasarkan Gambar 7 diatas dapat diketahui bahwa semakin tinggi dosis yang digunakan maka kepadatan bakteri *V. harveyi* akan semakin menurun. Dari ketiga perlakuan tersebut didapatkan hasil terbaik dan efisien yaitu perlakuan B dengan dosis ekstrak kasar tinta cumi-cumi 10 ppm karena memiliki nilai rata-rata kepadatan bakteri yang tidak jauh berbeda dari perlakuan C (12 ppm). Hal ini mendukung hasil nilai persentase kelulushidupan *post* larva

udang vaname yang diperoleh pada masing-masing perlakuan, karena dengan berkurangnya jumlah bakteri *V. harveyi* pada media pemeliharaan akan mengurangi resiko larva udang terinfeksi penyakit vibriosis sehingga nilai kelulushidupan *post* larva udang vaname juga akan meningkat.

Pada tinta cumi-cumi terkandung golongan senyawa triterpenoid yang bekerja sebagai antibakteri (Kurniansyah, 2015). Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Mahanani *et al.*, 2016). Hal ini yang mengakibatkan kepadatan bakteri *V. harveyi* pada media pemeliharaan menjadi berkurang selama pengamatan.

Menurut Posangi *et al.*, (2013) senyawa aktif antibakteri tinta cumi-cumi tersebut termasuk senyawa nonpolar, walaupun tinta cumi-cumi terlarut dalam pelarut polar. Namun penelitian yang dilakukan Mohanraju *et al.*, (2013) menunjukkan ekstrak kasar tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol dengan konsentrasi 0,5 mg/ml dan 1 mg/ml memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram negatif, seperti *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* dan *Klebsiella pneumoniae*.

Hal ini menunjukkan bahwa metanol dapat digunakan sebagai pelarut tinta cumi-cumi. Metanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa organik, baik polar maupun non polar dan metanol mempunyai titik didih rendah (67,5°C) sehingga mudah diuapkan (Handayani *et al.*, 2013). Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan

analit yang bersifat polar dan nonpolar. Metanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Thompson, 1985).

4.4 Kualitas Air

Kualitas air merupakan faktor yang harus diperhatikan selama pengobatan, karena kualitas air media dapat mempengaruhi kelulushidupan *post* larva udang yang diobati. Bila kualitas air tidak sesuai dengan daya tahan tubuh udang maka kemungkinan kematian udang dapat disebabkan karena kualitas air yang tidak dapat ditoleransi oleh *post* larva udang, sehingga keefektifan obat sukar diketahui. Kualitas air media pada penelitian ini masih berada dalam kisaran yang layak bagi kelangsungan hidup *post* larva udang vaname dan bakteri *V. harveyi* (Tabel 12).

Tabel 12. Hasil Pengamatan Kualitas Air Selama Pemeliharaan

Perlakuan	Kualitas air			
	Suhu (°C)	DO (mg/l)	pH	Salinitas (ppt)
K (Kontrol)	29,8 - 30,7	4,39 - 5,91	6,64 - 7,51	29 - 31
A (8 ppm)	29,6 - 30,5	4,81 - 5,54	6,65 - 7,49	29 - 30
B (10 ppm)	29,9 - 31,1	4,48 - 5,21	6,61 - 7,45	30
C (12 ppm)	29,9 - 30,7	4,70 - 5,86	6,63 - 7,47	29 - 31
Kadar Optimal	29 - 32 °C (Subaidah <i>et al.</i> , 2006)	5 - 7 mg/l (Wyban dan Sweeny, 1991)	6,5 - 9 (Subaidah <i>et al.</i> , 2006)	29 - 34 ppt (Anonim, 2006)

a. Suhu

Berdasarkan data yang didapatkan, suhu air pada masa pemeliharaan masih pada batas toleransi bagi *post* larva udang vaname yaitu pada kisaran 29,6 - 31,1 °C. Subaidah *et al.*, (2006) menyatakan bahwa suhu pemeliharaan bagi larva yang baik adalah sekitar 29 - 32 °C agar proses metabolisme larva berjalan lancar. Haliman dan Adijaya (2003) dalam Yustianti *et al.*, (2013) menambahkan bahwa suhu optimal pertumbuhan larva udang vaname berkisar antara 26 - 32 °C. Suhu pada wadah pemeliharaan selain berpengaruh pada udang, juga berpengaruh pada bakteri. Bakteri *V. harveyi* ini tumbuh secara

optimal pada suhu 30°C (Lavilla-Pitogo *et al.*, 1990). Sehingga suhu pada wadah pemeliharaan masih berada pada batas toleransi bakteri *V. harveyi*.

b. Oksigen Terlarut

Oksigen terlarut dalam wadah pemeliharaan udang vaname berada dikisaran 4,39 - 5,91 mg/l. Menurut Fegan (2003) dalam Yustianti *et al.*, (2013), konsentrasi oksigen terlarut selama pemeliharaan udang vaname berkisar antara 3-8 ppm. Wyban dan Sweeny (1991) juga menambahkan kadar oksigen terlarut yang dapat menunjang kehidupan pasca larva udang vaname adalah sekitar 5-7 mg/l.

Jadi, kisaran nilai tersebut menunjukkan bahwa kandungan oksigen yang terdapat pada media pemeliharaan masih berada pada kisaran yang baik dalam mendukung pertumbuhan udang vaname. Sedangkan Lavilla-Pitogo *et al.*, (1990) menyatakan bahwa bakteri *V. harveyi* bersifat anaerobik fakultatif, yaitu dapat hidup baik dengan atau tanpa adanya oksigen terlarut

c. Derajat Keasaman (pH)

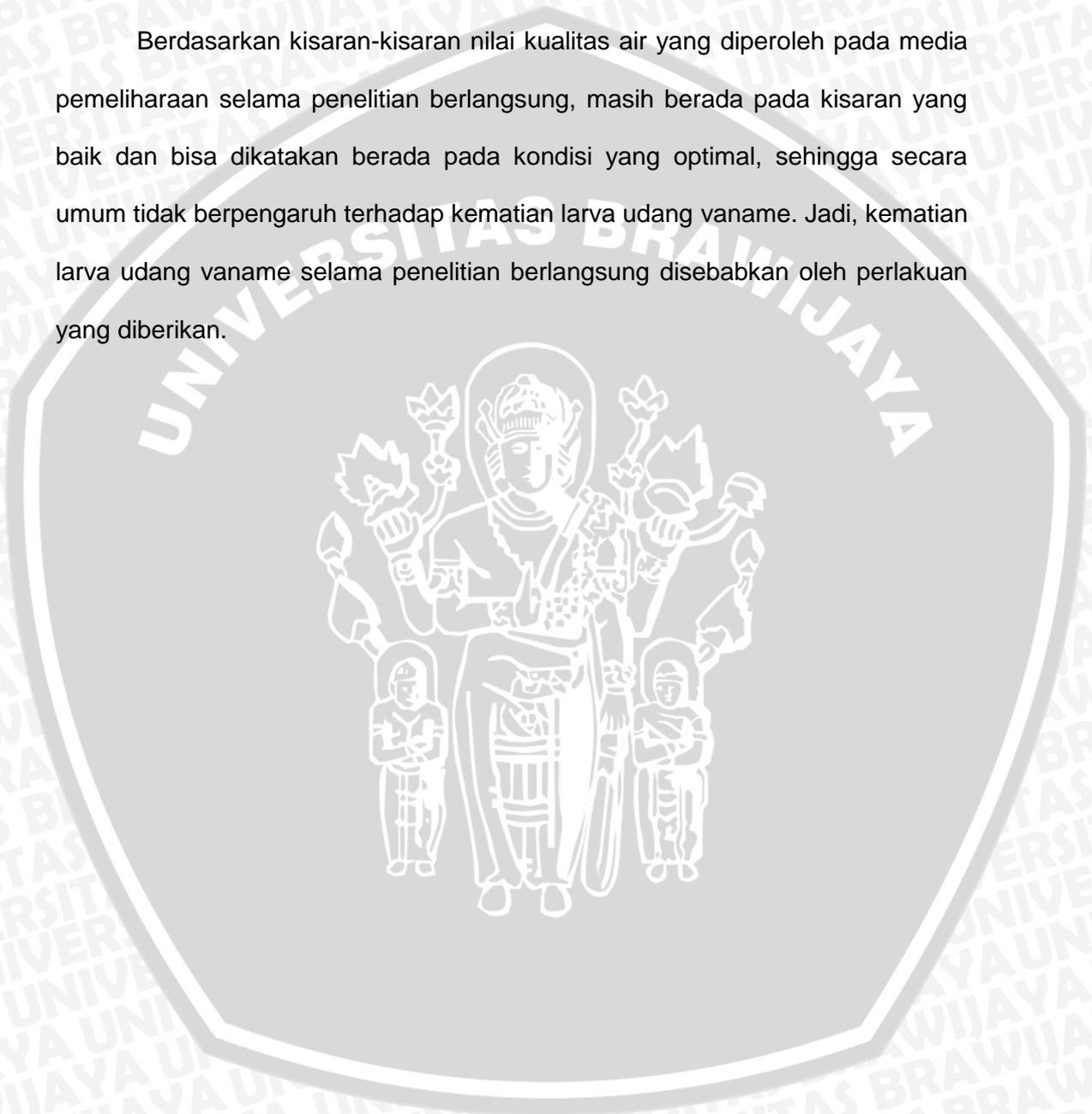
Nilai derajat keasaman (pH) pada semua wadah pemeliharaan berkisar diantara 6,61 – 7,51. Nilai tersebut berada dikisaran yang dianjurkan untuk pemeliharaan udang vaname, menurut Subaidah *et al.*, (2006) nilai pH untuk udang vaname yaitu berkisar antara 6,5-9. Kisaran nilai pH yang dapat diterima untuk pemeliharaan larva udang adalah 7-9 (Wyk, 1999). Sedangkan bakteri *V. harveyi* dapat tumbuh dengan baik pada kondisi alkali, yaitu pH optimum berkisar antara 7,5 – 8,5 (Prajitno, 2005).

d. Salinitas

Udang vaname memiliki toleransi yang cukup besar terhadap salinitas, namun demikian salinitas yang terbaik fase larva berdasarkan Anonim (2006) adalah berkisar antara 29 - 34 ppt. Sedangkan menurut Wyban dan Sweeny (1991), salinitas yang layak untuk stadia larva udang vaname adalah berkisar

antara 30 - 35 ppt. Berdasarkan pernyataan diatas, nilai salinitas pada semua wadah pemeliharaan sebesar 29 – 31 ppt yang masih berada pada batas toleransi untuk udang vaname. Sedangkan Prajitno (2005) menyatakan bahwa bakteri *V. harveyi* dapat tumbuh secara optimum pada salinitas 20 – 30 ppt.

Berdasarkan kisaran-kisaran nilai kualitas air yang diperoleh pada media pemeliharaan selama penelitian berlangsung, masih berada pada kisaran yang baik dan bisa dikatakan berada pada kondisi yang optimal, sehingga secara umum tidak berpengaruh terhadap kematian larva udang vaname. Jadi, kematian larva udang vaname selama penelitian berlangsung disebabkan oleh perlakuan yang diberikan.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penggunaan ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol berpengaruh terhadap pada kelulushidupan *post* larva udang vaname (*L. vannamei*) yang terinfeksi bakteri *V. harveyi* dengan dosis terbaik yang didapatkan yaitu sebesar 12 ppm (Perlakuan C) yang menghasilkan persentase kelulushidupan mencapai 85,56%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disarankan untuk menggunakan ekstrak kasar tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol dalam penanggulangan penyakit vibriosis pada tambak udang vaname. Sehingga dapat mengurangi resiko kematian massal dan kerugian materi yang tinggi.

Selain itu perlu dilakukannya penelitian lanjutan untuk penentuan dosis optimal penggunaan ekstrak kasar tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan pelarut metanol pada kelulushidupan *post* larva udang vaname (*L. vannamei*) yang terinfeksi bakteri *V. harveyi*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusandi, A. Supriyadi dan S.D. Lestari. 2013. Pengaruh penambahan tinta cumi-cumi (*Loligo sp*) terhadap kualitas nutrisi dan penerimaan sensoris mi basah. *J. Fishtec.* **2**(1): 23-37.
- Aji, M.B. 2014. Aktivitas senyawa antimikroba dari bakteri biokontrol D2.2 terhadap bakteri patogen pada udang dan ikan secara *In Vitro*. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 45 hlm.
- Ajitama, P., D. Suryanto dan Yunasfi. 2014. Jenis-jenis bakteri gram negatif potensial patogen pada ikan kerapu lumpur (*Epinephelus tauvina*) di keramba jaring apung perairan Belawan. *Jurnal Aquacoastmarine* **5** (4): 132-146.
- Akerina, F.O., T. Nurhayati dan R. Suwandu. 2015. Isolasi dan karakterisasi senyawa antibakteri dari bulu babi. *JPHPI* **18** (1): 61-73.
- Anonim. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral POM. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 103-113.
- Anonim. 2006. *Produksi Benih Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Kelas benih sebar*. Badan Standarisasi Nasional (BSN) 01-7252. 7 hlm.
- Arifuddin, Sukenda dan D. Dana. 2004. Pengaruh Bahan Aktif Hidrokuinon Dari Buah *Sonneratia caseolaris* Terhadap Parameter Hemolimph Udang Windu, *Penaeus monodon* FAB., yang Diinfeksi Secara Buatan dengan *Vibrio harveyi*. *Jurnal Akuakultur Indonesia* **3**(1): 23-28.
- Assovaria. 2015. Penapisan isolat bakteri penghambat *Vibrio harveyi* pada pemeliharaan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 42 hlm.
- Budiardi, T., A. Muzaki dan N.B.P. Utomo. 2005. Produksi Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) di Tambak Biocrete dengan Padat Penebaran Berbeda. *Jurnal Akuakultur Indonesia* **4** (2): 109-113.
- Chariri, A. 2009. Landasan Filsafat dan Metode Penelitian Kualitatif. *Workshop Metodologi Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif*. Laboratorium Pengembangan Akuntansi (LPA). Fakultas Ekonomi Universitas Diponegoro Semarang. 27 hlm.
- Effendie, M. I. 1997. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusantara. Bogor. 163 hlm.
- Evan, Y. 2009. Uji Ketahanan Beberapa Strain Larva Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor: Bogor. 44 hlm.
- Fadjar, M., K. Zaelanie dan A.R. Faqih. 2015. Ekstrak tinta cumi (*Loligo sp.*) sebagai *inhibitor autoinducer quorumsensing* bakteri *Vibrio harveyi* pada

budidaya udang vanamei (*Litopenaeus vannamei*). Laporan Akhir Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi. Universitas Brawijaya. Malang. 71 hlm.

Felix F., T.T Nugroho., S. Silalahi dan Y. Octavia. 2011. Skrining Bakteri *Vibrio* sp. Asli Indonesia Sebagai Penyebab Penyakit Udang Berbasis Teknik 16s Ribosomal DNA. *Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis* **3** (2): 85-99.

Garno, Y.S 2004. Pengembangan Budidaya Udang dan Potensis Pencemarnya Pada Perairan Pesisir. *Jurnal Teknik Lingkungan* **5** (3): 187-192.

Girija, S., V. Priyadharsini J., P. Suba K., Hariprasad P. and Raghuraman R. 2011. Isolation and characterization of lolduvn-s: a novel antimicrobial protein from the ink of india squid *Loligo duvauceli*. *International Journal of Current Research and Review* **7** (3): 4-14.

_____. 2012. Antibacterial effect of squid ink on ESBL producing strains of *E. Coli* and *K. pneumoniae*. *Indian Journal of Geo Marine Science*. **41**(4): 338-343.

Haliman, R.W. dan D.S. Adijaya. 2005. *Udang Vaname*. Penebar Swadaya. Jakarta. 75 hlm.

Hanafiah, K. A.. 2013. Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi Edisi 3. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 259 hlm.

Handayani, D., M. Deapati, Marlina dan Meilan. 2013. Skrining aktivitas antibakteri beberapa biota laut dari perairan Pantai Painan, Sumatera Utara. *Jurnal Teknik Lingkungan* **8** (1): 94-99.

Hardiyani, S. 2014. Uji patogenisitas dan studi *in vivo* bakteri biokontrol *Bacillus* sp. D2.2 terhadap *Vibrio alginolyticus* pada pemeliharaan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 44 hlm.

Jaedun, A. 2011. Metodologi Penelitian Eksperimen. *Artikel*. Fakultas Teknik Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta. 62 hlm.

Kee J.L dan E.R Hayes. 1996. Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan. Penerbit Buku kedokteran EGC. 802 hlm

Kharisma, A. dan A. Manan. 2012. Kelimpahan Bakteri *Vibrio* sp. pada air pembesaran udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) sebagai deteksi dini serangan penyakit vibriosis. *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan* **4** (2): 24-28.

Kordi, M. G. H. K., dan A. B. Tancung. 2007. Pengelolaan Kualitas Air dalam Budidaya Perairan. Rineka Cipta, Jakarta. 210 hlm.

Kurniansyah, W. 2015. Uji toksisitas ekstrak tinta cumi-cumi (*Photololigo duvaucelii*) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan. 89 hlm.

- Lavilla-Pitogo, C.R., L.J. Albright, M.G. Paner and N.A. Sunaz. 1992. Studies on the source of luminescent *V. harveyi* in *Penaeus monodon* hatcheries. In Shariff, I.N., Subasinghe, R.P., Arthur, R.J, (Eds.), Diseases in Asia Aquaculture. Fish Health Section Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 157-164.
- Lestari, A. N., W. Abdulkadir dan H. Hasan. 2015. Uji efek sitotoksik tinta cumi (*Loligo sumatrensis*) terhadap larva udang (*Artemia salina* L) menggunakan metode BSLT (*Bhrine Shrimp Lethality Test*). *Jurnal Farmasi* **3** (3): 1-11.
- Mahanani, R., D. Praharani dan Purwanto. 2012. Daya antibakteri ekstrak daun pare (*Momordica charantia*) dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus viridans*. Artikel Hasil Penelitian. Unej Press. 7 hlm.
- Martosudarmo dan B.S. Ranoemihardja. 1983. *Biologi Udang Penaeid. Pedoman Pembenihan Udang Penaeid*. Ditjen Perikanan. Departemen Pertanian. BPBAP Jepara. 21 hlm.
- Miranti, M., Prasetyorini dan C. Suwary. 2013. Perbandingan aktivitas antiakteri ekstrak etanol 30% dan 96% kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Ekologia* **13** (1): 9-18
- Mohanraju, R., D. B. Marri, P. Karthick, S. Narayana, K. N. Murthy and Ch. Ramesh. 2013. Antibacterial activity of certain cephalopods from Andamans, India. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences* **3** (2): 451-455.
- Nair, J.R., D. Pillai, S.M. Joseph, P. Gomanthi, P.V. Senan and P.M. Shereief. 2011. Cephalopod research and bioactive substance. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences* 4091: 13-27.
- Nasi, L., S.B. Prayitno dan Sarjito. 2011. Kajian bakteri penyebab vibriosis pada udang secara biomolekuler. *Journal of Coastal Resources Management* **3** (1): 1-22.
- Nuhman. 2008. Pengaruh prosentase pemberian pakan terhadap kelangsungan hidup dan laju pertumbuhan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Berkala Ilmiah Perikanan* **3** (1): 35-39.
- Pane, E.R. 2013. Uji aktivitas senyawa antioksidan dari ekstrak metanol kulit pisang raja (*Musa paradisiaca* Sapientum). *Valensi* **3** (2): 76-81.
- Panjaitan, A.S. 2012. Pemeliharaan Larva Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931) dengan Pemberian Jenis Fitoplankton yang Berbeda. *Tesis*. Universitas Terbuka. Jakarta. 132 hlm.
- Pelczar, M.J dan E. C. S. Chan. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi I*. Universitas Indonesia. Jakarta. 443 hlm.
- Posangi, J., Juliatri, R. Bara, J. Tairas dan J. Wuisan. 2013. Uji efek antibakteri tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) terhadap bakteri saluran akar gigi. Universitas Sam Ratulangi. Manado. 7 hlm.

- Prajitno, A. 2005. Parasit dan Penyakit Ikan. Diklat Kuliah. Universitas Brawijaya. Malang. 104 hlm.
- Putri, R,W., W, Tjajaningsih dan D, Handijatno. 2008. Daya antibakteri pigmen pyocyanin dari isolate *Pseudomonas aeruginosa* terhadap *Aeromonas hydrophila* secara in vitro. *Jurnal berkala ilmiah perikanan* 3 (1): 65-73.
- Rijayanti, R. K. 2014. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Naskah Publikasi*. Universitas Tanjungpura. Pontianak. 18 hlm.
- Sari, R.R.B. dan A.H.C. Haditomo. 2015. Pengaruh penambahan serbuk daun binahong (*Anredera cordifolia*) dalam pakan terhadap kelulushidupan dan histopatologi hepatopankreas udang vaname (*L. vannamei*) yang diinfeksi bakteri *Vibrio harveyi*. *Journal of Aquaculture Management and Technology* 4(1): 26-32.
- Septyaningsih, D. 2010. Isolasi dan Identifikasi Komponen Ekstrak Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus* lanik). FMIPA Universitas Negeri Sebelas Maret. Surakarta. 63 hlm.
- Subaidah, S., S. Pramudjo, A. Mizab, I. Tabah, G. Sukadana, N. Detrich dan Cahyaningsih S. 2006. *Pembenihan Udang Vaname (Litopenaeus vanamei)*. Balai Budidaya Air Payau Situbondo. Situbondo. 33-40.
- Suwoyo, H.S. dan M. Mangampa. 2010. Aplikasi probiotik dengan konsenytrasi berbeda pada pemeliharaan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*. 239-247.
- Thompson, E. B. 1985. *Drug Bioscreening*. Graceway Publishing Company, Inc. America. 118 hlm.
- Voight, R. 1994. *Buku Teknologi Farmasi edisi V*. Universitas Gajah Mada Pres. Yogyakarta. 170 hlm.
- Widanarni, P. Widagdo, dan D. Wahjuningrum. 2012. Aplikasi Probiotik, Prebiotik, dan Sinbiotik Melalui Pakan pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi Bakteri *Vibrio harveyi*. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 11 (1) : 54-63.
- Wyban, A. James and N. J. Sweeney. 1991. Intensive Shrimp Production Technology. The Oceanic Institue Makapuu Point Honolulu. Hawaii USA. 156 hlm.
- Wyk, P.V. 1999. Nutrition and feeding of *Litopenaeus vannamei* in intensive culture systems. In: P. Van Wyk, M. Davis-Hodgkins, R. Laramore, K.L. Main, J. Mountain & J. Scarpa. (eds.). *Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services. Harbor Branch Oceanic Institute, Florida, pp. 125-139
- Yustianti, M.N. Ibrahim dan Rusliani. Pertumbuhan dan sintasan larva udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) melalui substitusi tepung ikan dengan usus ayam. *Jurnal Mina Laut Indonesia* 1 (1): 93-103.

Zakaria, RR. A. S. 2010. Manajemen Pembesaran Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) di Tambak Udang Binaan Dinas Kelautan dan Perikanan Kabupaten Pamekasan. *Laporan Praktek Kerja Lapang*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 54 hlm.

Zulnaidi. 2007. Metode Penelitian. Universitas Sumatera Utara. Medan. 20 hlm.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat-Alat Penelitian yang Digunakan



Oven



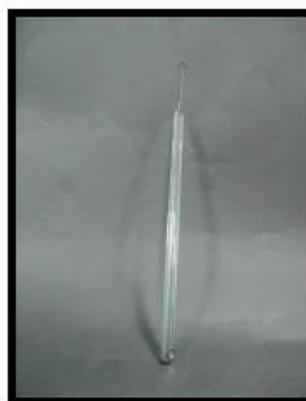
Autoklaf



Kulkas



Tabung Reaksi



Jarum Ose



Erlenmeyer 250



Toples



Mikropipet 100-1000 μ l



Gelas ukur 100 ml

Lampiran 1. (Lanjutan)



Hotplate



Vortex mixer



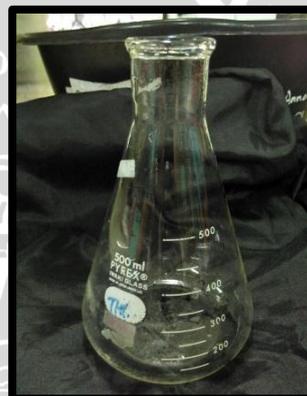
Laminary Air Flow



Bunsen



Cawan Petri



Erlenmeyer 500 ml



Timbangan Digital



Timbangan Analitik



Inkubator

Lampiran 1. (Lanjutan)



Thermometer



Aerator Set



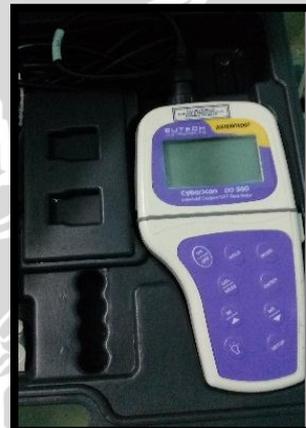
Heater Aquarium



Refraktometer



pH meter



DO meter



Spatula



Seser



Sprayer

Lampiran 2. Bahan Penelitian yang Digunakan



Bakteri *Vibrio harveyi*



TSB (*Tryptic Soy Broth*)



Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol



KCl



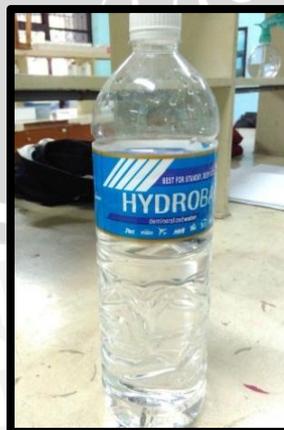
NaCl



MgSO₄



Aluminium Foil



Aquadest

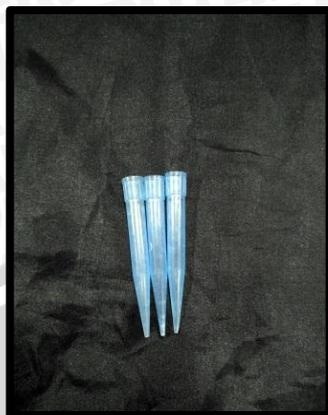


Alkohol 96%

Lampiran 2. (Lanjutan)



Spiritus



Bluetip



Benang kasur dan kapas



Plastik Wrap



Sarung Tangan



Tissue



Metanol



TCBSA



TSB

Lampiran 2. (Lanjutan)



Post Larva Udang
Vaname
(*Litopenaeus
vannamei*)



Masker



Kertas label



Lampiran 3. Proses Ekstraksi Tinta Cumi (*Loligo* sp.)



Penyaringan tinta cumi

Maserasi Tinta Cumi-Cumi
Menggunakan Pelarut
Metanol dengan
Perbandingan 1:3

1 Minggu



Evaporasi dengan Alat *Vaccum*
Rotary Evaporator



Hasil

Lampiran 4. Perhitungan Pembuatan Media

a. Pembuatan Media TSB (*Tryptic Soy Broth*)

Berdasarkan petunjuk penggunaan pada kemasan media TSB (*Tryptic Soy Broth*) tertera pembuatan media cair TSB dalam 1 liter menggunakan 30 gram Media yang diinginkan adalah 400 ml. Jadi, perhitungannya sebagai berikut:

$$\begin{aligned}\text{TSB} &= \frac{30 \text{ gr}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{400 \text{ ml}} \\ &= 12 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{NaCl} &= \frac{18,4 \text{ gr}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{400 \text{ ml}} \\ &= 7,36 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{KCl} &= \frac{0,75 \text{ gr}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{400 \text{ ml}} \\ &= 0,3 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{MgSO}_4 &= \frac{6,94 \text{ gr}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{400 \text{ ml}} \\ &= 2,78 \text{ gram}\end{aligned}$$

b. Pembuatan Media TCBSA

Berdasarkan petunjuk penggunaan pada kemasan media TCBSA tertera pembuatan media agar TCBSA dalam 1 liter menggunakan 88 gram, media yang diinginkan 200 ml. Jadi, perhitungannya adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned}\text{TCBSA} &= \frac{88 \text{ gr}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{200 \text{ ml}} \\ &= 17,6 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{NaCl} &= \frac{18,4 \text{ gr}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{200 \text{ ml}} \\ &= 3,68 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{KCl} &= \frac{0,75 \text{ gr}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{200 \text{ ml}} \\ &= 0,15 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{MgSO}_4 &= \frac{6,94 \text{ gr}}{1000 \text{ ml}} = \frac{x}{200 \text{ ml}} \\ &= 1,89 \text{ gram}\end{aligned}$$

Lampiran 5. Surat Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Tinta Cumi-Cumi



DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR

UPT MATERIA MEDICA

Jalan Lahor No. 87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)

KOTA BATU

Nomor : 074 / 232 / 101.8 / 2016 Halaman: 1 dari 2
 Sifat : Biasa
 Perihal : Surat Keterangan Skrining Fitokimia

Memenuhi permohonan saudara:

Nama	NIM	Fakultas
Jefri Anjaini	125080500111003	Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang
Wahyu Kurniallah	125080501111053	
Retno Wulandari	125080500111015	
Deeda Amaliya H.	125080501111039	
Nurviana Wulandari	125080500111004	

Kami menenrangkan bahwa yang bersangkutan telah melakukan Skrining Fitokimia untuk bahan penelitian dari Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (*Loligo* sp.) dengan menggunakan pelarut Methanol dan N-Hexan.

Adapun Proses skrining dilakukan di laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica batu dengan perincian sebagai berikut:

Bahan : Larutan Uji Asam Asetat Anhidrat Pereaksi Meyer H₂SO₄
 Pereaksi Dragendorf Etanol 96% Aqdest HCl Pekat

Alat : Tabung reaksi Penjepit tabung reaksi Beaker glass Bunsen
 Pipet volume Spatula stainlesssteel Pipet tetes Labu ukur
 Corong gelas

Cara Kerja:

I. Identifikasi Alkaloid

0,5 ml sampel dalam masing-masing tabung reaksi → ditambahkan Pereaksi Bouchardat, Meyer, Dragendorf beberapa tetes → hasil positif: endapan coklat bouchardat, endapan putih meyer, dan endapan jingga dragendorf.

II. Identifikasi Terpenoid

0,5 ml sampel → ditambahkan 0,25 ml etanol → ditambah 0,25 asam asetat anhidrat → 1 ml H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung → warna hijau biru (**Steroid**) warna orange, jingga kecoklatan (**Triterpenoid**)

III. Identifikasi Saponin

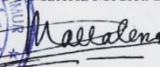
1 ml sampel → ditambahkan 2 ml air panas → dikocok kuat → hasil positif: terbentuk buih permanen tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm → ditambahkan HCl pekat 1 tetes → hasil positif: busa permanen tidak hilang

Hasil:

Nama Sampel	Terpenoid		Alkaloid		Saponin
	Triterpenoid	Steroid	P. Meyer	P. Dragendorf	
Ekstrak <i>Loligo</i> sp. (Methanol)	+	-	+	+	-
Ekstrak <i>Loligo</i> sp. (N-Hexan)	+	-	+	+	-

*Hasil Foto Terlampir

Demikian keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 11 April 2016
 Kepala UPT Materia Medica Batu

 Dr. Husin RM, Drs. Apt. MKes.
 NIP.19611102 199103 1 003

Lampiran 5. (Lanjutan)



DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR
 UPT MATERIA MEDICA
 Jalan Lahor No. 87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)
 KOTA BATU

Lampiran.
 Foto Hasil Uji Skrining Fitokimia

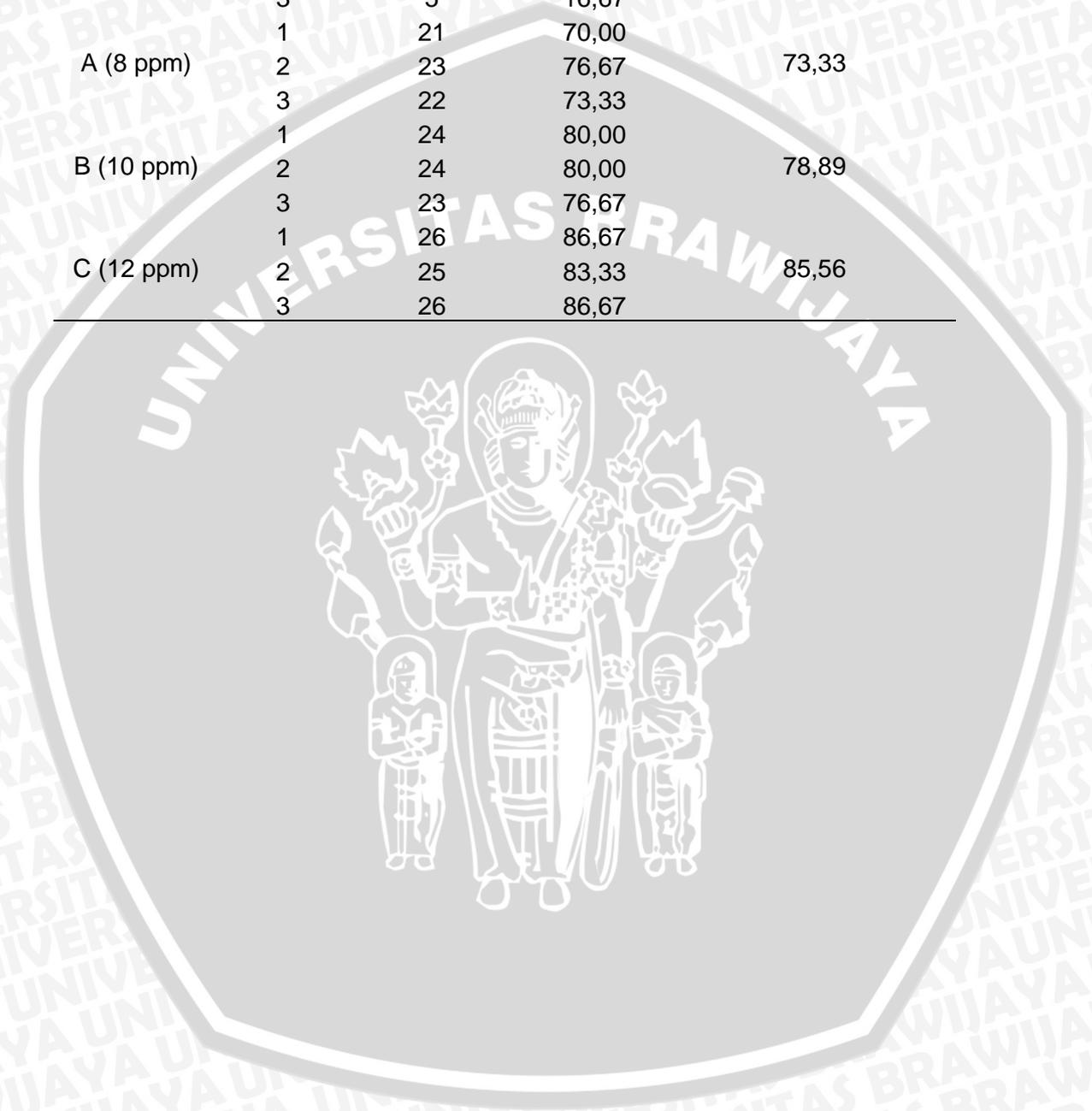
Halaman: 2 dari 2

Hasil Uji		Nama Sampel	
		Ekstrak <i>Loligo</i> sp. (Methanol)	Ekstrak <i>Loligo</i> sp. (N-Hexan)
Terpenoid	Triterpenoid	+	+
			
	Steroid	-	-
			
Alkaloid	P. Meyer	+	+
			
	P. Dragendorf	+	+
			
Saponin	-	-	
			



Lampiran 6. Rata-Rata Kelulushidupan *Post Larva* Udang Vaname

Perlakuan	Ulangan	Udang yang Hidup (ekor)	Nilai SR (%)	Nilai Rata-Rata SR (%)
K (Kontrol)	1	2	6,67	14,44
	2	6	20,00	
	3	5	16,67	
A (8 ppm)	1	21	70,00	73,33
	2	23	76,67	
	3	22	73,33	
B (10 ppm)	1	24	80,00	78,89
	2	24	80,00	
	3	23	76,67	
C (12 ppm)	1	26	86,67	85,56
	2	25	83,33	
	3	26	86,67	



Lampiran 7. Analisis Data Kelulushidupan (*Survival Rate*) Post Larva Udang Vaname (*L. vannamei*)

a. Rerata Kelulushidupan Udang Vaname (*L. vannamei*) yang Terinfeksi Bakteri *Vibrio harveyi* (%)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	70,00	76,67	73,33	220,00	73,33
B	80,00	80,00	76,67	236,67	78,89
C	86,67	83,33	86,67	256,67	85,56
Total				713,34	

Perhitungan

- Faktor Koreksi

$$= \frac{(\sum X)^2}{n \times r}$$

$$= \frac{713,34^2}{3 \times 3}$$

$$= 56539,33$$
- Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$= \sum X_{ij}^2 - FK$$

$$= (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (C_3)^2 - FK$$

$$= (70,00)^2 + (76,67)^2 + \dots + (86,67)^2 - 56539,33$$

$$= 258,54$$
- Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$= \frac{\sum (\sum X_i)^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2}{3} - FK$$

$$= \frac{(220,00)^2 + (236,67)^2 + (256,67)^2}{3} - 56539,33$$

$$= 224,73$$
- Jumlah Kuadrat Acak (JKA)

$$= JKT - JKP$$

$$= 258,54 - 224,73$$

$$= 33,81$$
- db Total

$$= (n \times r) - 1$$

$$= (3 \times 3) - 1$$

$$= 8$$

Lampiran 7. (Lanjutan)

$$6. \text{ db Perlakuan} = n-1$$

$$= 3-1$$

$$= 2$$

$$7. \text{ db Acak} = n (r-1)$$

$$= 3 (3-1)$$

$$= 6$$

$$8. \text{ Kuadrat Tengah Perlakuan} = \frac{JKP}{db}$$

$$= \frac{224,73}{2}$$

$$= 112,37$$

$$9. \text{ Kuadrat Tengah Acak} = \frac{JKA}{db}$$

$$= \frac{33,81}{6}$$

$$= 5,63$$

$$10. \text{ F Hitung} = \frac{KT_{Perlakuan}}{KT_{Acak}}$$

$$= \frac{112,37}{5,63}$$

$$= 19,94$$

b. Sidik Ragam Kelulushidupan *Post* Larva Udang Vaname

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	224,73	112,37	19,94**	5,14	10,92
Acak	6	33,81	5,63			
Total	8					

Berdasarkan hasil analisa sidik ragam di atas menunjukkan bahwa nilai F hitung 19,94 lebih besar dari F tabel 5% yaitu 5,14 maupun F tabel 1% sebesar 10,92 maka H0 ditolak, hal ini berarti bahwa perbedaan perlakuan berpengaruh sangat nyata. Untuk mengetahui tingkat perbedaan dari masing-masing perlakuan maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Lampiran 7. (Lanjutan)

1. SED = $\sqrt{\frac{2xKTA}{3}}$
 = $\sqrt{\frac{2x5,63}{3}}$
 = 1,94
2. BNT 5% = t tabel 5% (db galat) x SED
 = 2,447 x 1,94
 = 4,747
3. BNT 1% = t tabel 1% (db galat) x SED
 = 3,707 x 1,94
 = 7,191

c. Hasil Uji BNT Kelulushidupan Post Larva Udang Vaname

Perlakuan	Rerata	A (8 ppm)	B (10 ppm)	C (12 ppm)	Notasi
		73,33	78,89	85,56	
A (8 ppm)	73,33	-			a
B (10 ppm)	78,89	5,56*	-		b
C (12 ppm)	85,56	12,22**	6,67*	-	c

*) berbeda nyata

***) berbeda sangat nyata

Berdasarkan notasi di atas dapat dijelaskan bahwa semua perlakuan A (8 ppm), B (10 ppm), maupun C (12 ppm) menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Dari ketiga perlakuan tersebut didapatkan hasil terbaik yaitu perlakuan C dengan dosis ekstrak kasar tinta cumi-cumi 12 ppm. Kemudian diikuti oleh perlakuan B dengan dosis ekstrak 10 ppm dan selanjutnya perlakuan A dengan dosis ekstrak sebanyak 8 ppm. Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan antara pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol tersebut terhadap kelulushidupan *post* larva udang vaname yang diinfeksi bakteri *V. harveyi* dilakukan uji polinomial orthogonal.

Lampiran 7. (Lanjutan)

d. Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A (8 ppm)	220	-1	1
B (10 ppm)	236,67	0	-2
C (12 ppm)	256,67	1	1
Q		36,67	3,33
Hasil Kuadrat		2	6
KR		6	18
JK		224,11	0,62

Perhitungan:

- Q Linier = $\sum (C_i \times T_i)$
 $= (-1 \times 220) + (0 \times 236,67) + (1 \times 256,67)$
 $= 36,67$
- Q Kuadratik = $\sum (C_i \times T_i)$
 $= (1 \times 220) + (-2 \times 236,67) + (1 \times 256,67)$
 $= 3,33$
- Hasil Kuadrat Ci Linier = $(-1)^2 + (0)^2 + (1)^2$
 $= 2$
- Hasil Kuadrat Ci Kuadratik = $(1)^2 + (-2)^2 + (1)^2$
 $= 6$
- KR Linier = $\sum C_i^2 \times r$
 $= 2 \times 3$
 $= 6$
- KR Kuadratik = $\sum C_i^2 \times r$
 $= 6 \times 3$
 $= 18$
- JK Linier = Q^2 / KR
 $= 36,67^2 / 6$
 $= 224,11$

Lampiran 7. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 8. \text{ JK Kuadrat} &= Q^2 / KR \\
 &= 3,33^2 / 18 \\
 &= 0,62 \\
 9. \text{ Total JK Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Regresi} \\
 &= 224,11 + 0,62 \\
 &= 224,73
 \end{aligned}$$

e. Tabel Sidik Ragam Regresi Polinomial Orthogonal Kelulushidupan *Post Larva* Udang Vaname

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	224,73			5,14	10,92
- Linier	1	224,11	224,11	39,77**		
- Kuadrat	1	0,62	0,62	0,11 ^{ns}		
Acak	6	33,81	5,63			
Total	8					

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} \\
 &= 0,869
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kuadrat} &= \frac{JK \text{ Kuadrat}}{JK \text{ Kuadrat} + JK \text{ Acak}} \\
 &= 0,018
 \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan sidik ragam di atas menunjukkan bahwa nilai F hitung linier 39,77 lebih besar dari F tabel 5% yaitu 5,14 maupun F tabel 1% sebesar 10,92, sedangkan F hitung kuadrat lebih rendah dari F tabel 5% yaitu 5,14 maupun F tabel 1% sebesar 10,92. Kemudian nilai regresi linier lebih besar dari nilai regresi kuadrat sehingga grafik yang dibuat adalah grafik linier. Dosis yang digunakan tiap perlakuan dijadikan sebagai sumbu x sedangkan data survival rate dijadikan sebagai sumbu y, sehingga akan didapatkan garis linier pada grafik hubungan dosis ekstrak kasar tinta cumi-cumi terhadap kelulushidupan post larva udang vaname yang terinfeksi bakteri *V. harveyi*.

Lampiran 7. (Lanjutan)

f. Tabel Sumbu x dan y

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
A1	8	70,00	560,00	64
A2	8	76,67	613,36	64
A3	8	73,33	586,64	64
B1	10	80,00	800,00	100
B2	10	80,00	800,00	100
B3	10	76,67	766,70	100
C1	12	86,67	1040,04	144
C2	12	83,33	999,96	144
C3	12	86,67	1040,04	144
Total	90	713,34	7206,74	924
Rata – Rata	10	79,26		

Perhitungan:

$$b_1 = \frac{(\sum xy - (\sum x \cdot \sum y / n))}{\sum(x^2) - (\sum x)^2 / n}$$

$$= \frac{(7206,74 - (90 \cdot 713,34 / 9))}{924 - (8100 / 9)}$$

$$= 3,0558$$

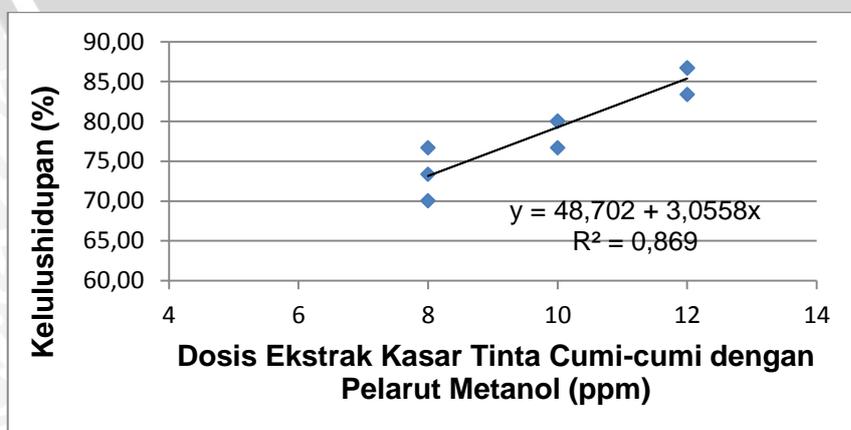
$$b_0 = \frac{\sum y}{n} - (b_1 \cdot \frac{\sum x}{n})$$

$$= 79,26 - (3,0558 \cdot 10)$$

$$= 48,7017$$

Berdasarkan perhitungan b_0 dan b_1 maka didapatkan persamaan linier yaitu $y = 3,0558x + 48,702$.

g. Grafik Hubungan antara Konsentrasi Dosis Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol terhadap Kelulushidupan *Post Larva* Udang Vaname (%)



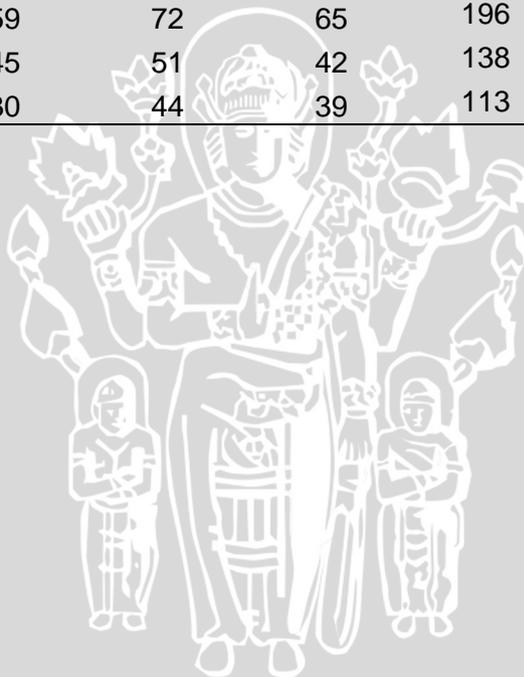
Lampiran 8. Rerata Kepadatan Bakteri *Vibrio harveyi*

a. Sebelum Diberi Perlakuan (10^7 cfu/ml)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
K (Kontrol)	61	62	65	188	62,67
A (8 ppm)	58	54	57	169	56,33
B (10 ppm)	54	64	56	174	58,00
C (12 ppm)	67	63	60	190	63,33

b. Sesudah Diberi Perlakuan pada Hari ke-7 (10^5 cfu/ml)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-Rata
	1	2	3		
K (Kontrol)	144	154	170	468	156,00
A (8 ppm)	59	72	65	196	65,33
B (10 ppm)	45	51	42	138	46,00
C (12 ppm)	30	44	39	113	37,67



Lampiran 9. Analisis Data Kepadatan Bakteri *Vibrio harveyi*

a. Rerata Kepadatan Bakteri *V. harveyi* (10^5 cfu/ml)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A (8 ppm)	59	72	65	196	65,33
B (10 ppm)	45	51	42	138	46,00
C (12 ppm)	30	44	39	113	37,67
Total				447	

Perhitungan

1. Faktor Koreksi

$$= \frac{(\sum X)^2}{n \times r}$$

$$= \frac{447^2}{3 \times 3}$$

$$= 22201$$

2. Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$= \sum X_{ij}^2 - FK$$

$$= (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (C_3)^2 - FK$$

$$= (59)^2 + (72)^2 + \dots + (39)^2 - 22201$$

$$= 1436$$

3. Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$= \frac{\sum (\sum X_i)^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2}{3} - FK$$

$$= \frac{(196)^2 + (138)^2 + (113)^2}{3} - 22201$$

$$= 1208,67$$

4. Jumlah Kuadrat Acak (JKA)

$$= JKT - JKP$$

$$= 1436 - 1208,67$$

$$= 227,33$$

5. db Total

$$= (n \times r) - 1$$

$$= (3 \times 3) - 1$$

$$= 8$$

Lampiran 9. (Lanjutan)

$$6. \text{ db Perlakuan} = n-1$$

$$= 3-1$$

$$= 2$$

$$7. \text{ db Acak} = n (r-1)$$

$$= 3 (3-1)$$

$$= 6$$

$$8. \text{ Kuadrat Tengah Perlakuan} = \frac{JKP}{db}$$

$$= \frac{1208,67}{2}$$

$$= 604,33$$

$$9. \text{ Kuadrat Tengah Acak} = \frac{JKA}{db}$$

$$= \frac{227,33}{6}$$

$$= 37,89$$

$$10. \text{ F Hitung} = \frac{KTPerlakuan}{KT Acak}$$

$$= \frac{604,33}{37,89}$$

$$= 15,95$$

b. Analisa Sidik Ragam Kepadatan Bakteri *V. harveyi*

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1208,67	604,33	15,95**	5,14	10,92
Acak	6	227,33	37,89			
Total	8					

Berdasarkan hasil analisa sidik ragam di atas menunjukkan bahwa nilai F hitung 15,95 lebih besar dari F tabel 5% yaitu 5,14 maupun F tabel 1% sebesar 10,92 maka H0 ditolak, hal ini berarti bahwa perbedaan perlakuan berpengaruh sangat nyata. Untuk mengetahui tingkat perbedaan dari masing-masing perlakuan maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Lampiran 9. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} 4. \text{ SED} &= \sqrt{\frac{2xKTA}{3}} \\ &= \sqrt{\frac{2x37,89}{3}} \\ &= 5,026 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 5. \text{ BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db galat) x SED} \\ &= 2,447 \times 5,026 \\ &= 12,298 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 6. \text{ BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db galat) x SED} \\ &= 3,707 \times 5,026 \\ &= 18,631 \end{aligned}$$

c. Hasil Uji BNT Kepadatan Bakteri *V. harveyi*

Perlakuan	Rerata	A (8 ppm)	B (10 ppm)	C (12 ppm)	Notasi
A (8 ppm)	65,33	-	-	-	a
B (10 ppm)	46,00	19,33**	-	-	b
C (12 ppm)	37,67	27,67**	8,33 ^{ns}	-	b

ns) tidak berbeda nyata

***) berbeda sangat nyata

Berdasarkan notasi di atas dapat dijelaskan bahwa perlakuan B (10 ppm) dan C (12 ppm) menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A (10 ppm). Sedangkan perlakuan B (8 ppm) menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata terhadap perlakuan C (12 ppm). Dari ketiga perlakuan tersebut didapatkan hasil terbaik yaitu perlakuan C dengan dosis ekstrak kasar tinta cumi-cumi 12 ppm karena memiliki nilai rata-rata kepadatan bakteri lebih rendah dari pada perlakuan B (10 ppm). Selanjutnya untuk mengetahui hubungan antara pemberian ekstrak kasar tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol terhadap kepadatan bakteri *V. harveyi* dilakukan uji polinomial orthogonal.

Lampiran 9. (Lanjutan)

d. Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A (8 ppm)	196	-1	1
B (10 ppm)	138	0	-2
C (12 ppm)	113	1	1
Q		-83	33
Hasil Kuadrat		2	6
KR		6	18
JK		1148,17	60,50

Perhitungan:

- Q Linier = $\sum (C_i \times T_i)$
 $= (-1 \times 196) + (0 \times 138) + (1 \times 113)$
 $= -83$
- Q Kuadratik = $\sum (C_i \times T_i)$
 $= (1 \times 196) + (-2 \times 138) + (1 \times 113)$
 $= 33$
- Hasil Kuadrat Ci Linier = $(-1)^2 + (0)^2 + (1)^2$
 $= 2$
- Hasil Kuadrat Ci Kuadratik = $(1)^2 + (-2)^2 + (1)^2$
 $= 6$
- KR Linier = $\sum C_i^2 \times r$
 $= 2 \times 3$
 $= 6$
- KR Kuadratik = $\sum C_i^2 \times r$
 $= 6 \times 3$
 $= 18$
- JK Linier = Q^2 / KR
 $= (-83)^2 / 6$
 $= 1148,17$

Lampiran 9. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 8. \text{ JK Kuadrat} &= Q^2 / KR \\
 &= 33^2 / 18 \\
 &= 60,5 \\
 9. \text{ Total JK Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Regresi} \\
 &= 1148,17 + 60,5 \\
 &= 1208,67
 \end{aligned}$$

e. Tabel Sidik Ragam Regresi Polinomial Orthogonal Kelulushidupan *Post* Larva Udang Vaname

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1208,67			5,14	10,92
- Linier	1	1148,14	1148,17	30,3**		
- Kuadrat	1	60,5	60,5	1,60 ^{ns}		
Acak	6	227,33	37,89			
Total	8					

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} \\
 &= 0,835
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kuadrat} &= \frac{JK \text{ Kuadrat}}{JK \text{ Kuadrat} + JK \text{ Acak}} \\
 &= 0,210
 \end{aligned}$$

Berdasarkan hasil analisa sidik ragam di atas menunjukkan bahwa nilai F hitung linier lebih besar dari F tabel 5% yaitu 5,14 maupun F tabel 1% sebesar 10,92, sedangkan F hitung kuadrat lebih rendah dari F tabel 5% yaitu 5,14 maupun F tabel 1% sebesar 10,92. Kemudian nilai regresi linier lebih besar dari nilai regresi kuadrat sehingga grafik yang dibuat adalah grafik linier. Dosis yang digunakan tiap perlakuan dijadikan sebagai sumbu x sedangkan data survival rate dijadikan sebagai sumbu y, sehingga akan didapatkan garis linier pada grafik hubungan dosis ekstrak kasar tinta cumi-cumi dengan pelarut metanol terhadap kepadatan bakteri *V. harveyi* pada media pemeliharaan.

Lampiran 9. (Lanjutan)

f. Tabel Sumbu x dan y

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
A1	8	59	472,00	64
A2	8	72	576,00	64
A3	8	65	520,00	64
B1	10	45	450,00	100
B2	10	51	510,00	100
B3	10	42	420,00	100
C1	12	30	360,00	144
C2	12	44	528,00	144
C3	12	39	468,00	144
Total	90	447	4304	924
Rata - Rata	10	49,67		

Perhitungan:

$$b_1 = \frac{(\sum xy - (\sum x \cdot \sum y / n))}{\sum(x^2) - (\sum x)^2 / n}$$

$$= \frac{(4304 - (90 \cdot 447 / 9))}{924 - (8100 / 9)}$$

$$= -6,917$$

$$b_0 = \frac{\sum y}{n} - (b_1 \cdot \frac{\sum x}{n})$$

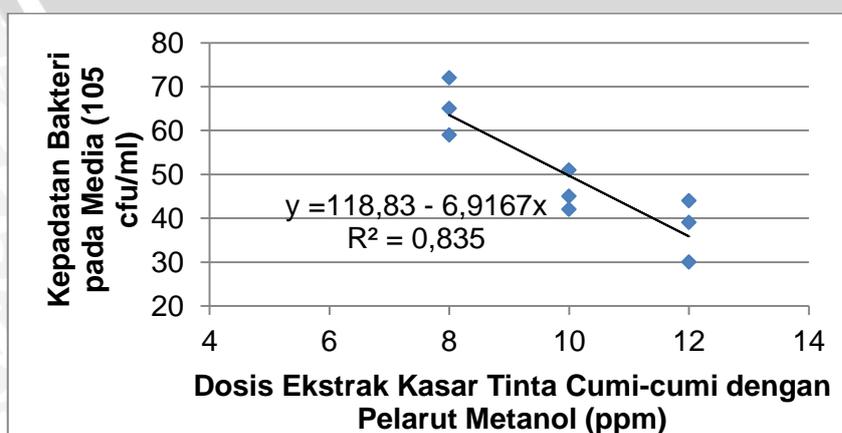
$$= 49,67 - (-6,917 \cdot 10)$$

$$= 118,83$$

Berdasarkan perhitungan b_0 dan b_1 maka didapatkan persamaan linier

yaitu $y = -6,917x + 118,83$.

g. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Dosis Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi dengan Pelarut Metanol terhadap Kepadatan Bakteri *Vibrio harveyi* (10^5 cfu/ml)



Lampiran 10. Data Kualitas Air selama Penelitian

a. Suhu (°C)

Perlakuan	Ulangan	Pengukuran Hari Ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
K (Kontrol)	1	29,6	30,9	31,1	30,2	30,5	29,2	31,3
	2	30,3	29,8	29,9	30,0	29,8	30,3	30,5
	3	30,8	29,4	30,3	30,8	31,2	29,8	30,2
	Rata-Rata	30,3	30,0	30,4	30,3	30,5	29,8	30,7
A (8 ppm)	1	31,0	30,6	29,6	30,3	29,4	29,9	30,1
	2	29,5	30,9	29,2	30,7	29,0	31,2	29,9
	3	31,0	30,0	30,1	30,0	31,4	29,6	29,8
	Rata-Rata	30,5	30,5	29,6	30,3	29,9	30,2	29,9
B (10 ppm)	1	29,8	30,5	29,2	31,4	30,6	30,2	30,5
	2	30,6	29,5	29,7	31,0	29,2	29,8	30,3
	3	30,3	30,0	30,8	30,9	31,1	31,4	30,0
	Rata-Rata	30,2	30,0	29,9	31,1	30,3	30,4	30,2
C (12 ppm)	1	29,9	31,1	30,6	29,9	30,5	29,5	29,8
	2	30,5	30,5	29,3	30,2	30,3	30,5	31,2
	3	29,9	30,2	29,9	30,0	31,4	29,9	30,4
	Rata-Rata	30,1	30,6	29,9	30,0	30,7	30,0	30,4

b. Oksigen Terlarut (mg/l)

Perlakuan	Ulangan	Pengukuran Hari Ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
K (Kontrol)	1	4,35	5,06	4,69	4,98	4,80	4,85	4,67
	2	4,40	6,64	5,00	4,80	4,71	4,70	5,72
	3	4,43	6,03	4,82	4,70	4,83	4,67	4,67
	Rata-Rata	4,39	5,91	4,84	4,83	4,78	4,74	5,02
A (8 ppm)	1	4,96	5,73	4,98	5,30	4,78	5,03	4,69
	2	4,82	5,18	4,87	5,26	4,83	4,70	4,87
	3	4,67	5,72	4,67	4,69	4,87	4,70	4,70
	Rata-Rata	4,82	5,54	4,84	5,08	4,83	4,81	4,75
B (10 ppm)	1	4,50	5,42	5,24	4,80	4,81	4,50	4,65
	2	4,39	5,01	4,63	5,02	5,20	4,90	4,58
	3	4,54	5,20	4,92	5,29	4,71	4,83	4,51
	Rata-Rata	4,48	5,21	4,93	5,04	4,91	4,74	4,58
C (12 ppm)	1	4,81	5,82	5,25	4,82	4,93	4,48	4,74
	2	4,76	5,98	5,01	5,21	4,90	4,56	4,98
	3	4,78	5,78	5,73	4,90	4,81	5,05	4,51
	Rata-Rata	4,78	5,86	5,33	4,98	4,88	4,70	4,74

Lampiran 10. (Lanjutan)

c. Derajat Keasaman (pH)

Perlakuan	Ulangan	Pengukuran Hari Ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
K (Kontrol)	1	7,59	7,10	6,78	6,69	6,78	6,57	6,95
	2	7,50	7,16	6,82	6,66	6,75	6,55	6,49
	3	7,44	7,15	7,08	6,67	6,76	6,45	6,47
	Rata-Rata	7,51	7,14	6,89	6,67	6,76	6,52	6,64
A (8 ppm)	1	7,50	7,23	6,79	6,65	6,72	6,70	6,59
	2	7,46	7,15	7,18	6,58	6,80	6,52	6,92
	3	7,52	7,16	6,83	6,71	6,76	6,54	6,98
	Rata-Rata	7,49	7,18	6,93	6,65	6,76	6,59	6,83
B (10 ppm)	1	4,50	7,53	7,18	6,81	6,66	6,85	6,54
	2	4,39	7,36	7,15	6,83	6,83	6,82	6,58
	3	4,54	7,47	7,11	7,03	6,61	6,86	6,71
	Rata-Rata	7,45	7,15	6,89	6,70	6,84	6,61	6,75
C (12 ppm)	1	7,44	7,12	7,16	6,59	6,88	6,62	7,00
	2	7,48	7,14	6,77	6,67	6,91	6,59	6,82
	3	7,50	7,17	6,79	6,63	6,85	6,71	6,91
	Rata-Rata	7,47	7,14	6,91	6,63	6,88	6,64	6,91

d. Salinitas (ppt)

Perlakuan	Ulangan	Pengukuran Hari Ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
K (Kontrol)	1	30	31	29	31	30	31	31
	2	29	29	29	31	29	30	30
	3	29	29	29	31	30	31	29
	Rata-Rata	29	30	29	31	30	31	30
A (8 ppm)	1	29	29	29	30	29	31	31
	2	29	31	31	29	30	31	31
	3	29	30	29	31	31	29	29
	Rata-Rata	29	30	30	30	30	30	30
B (10 ppm)	1	30	30	31	29	30	30	31
	2	31	29	30	31	31	30	30
	3	29	31	30	31	30	30	29
	Rata-Rata	30	30	30	30	30	30	30
C (12 ppm)	1	31	30	31	30	29	30	29
	2	30	30	29	30	30	29	30
	3	31	30	31	29	31	31	29
	Rata-Rata	31	30	30	30	30	30	29

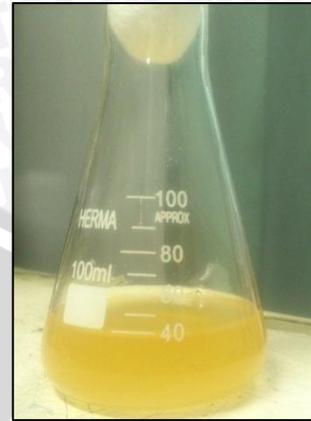
Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian



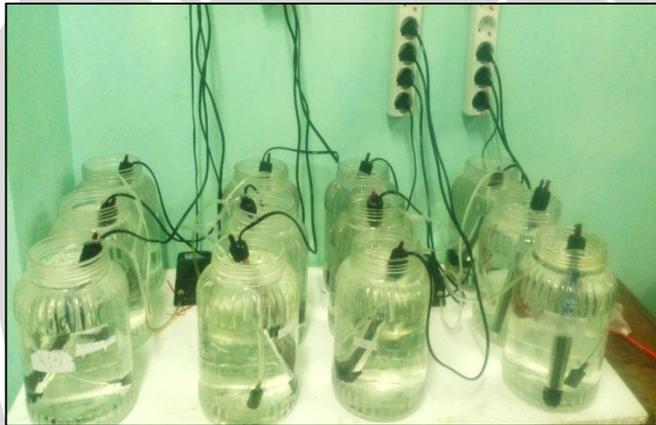
Stok Murni Bakteri
V. harveyi



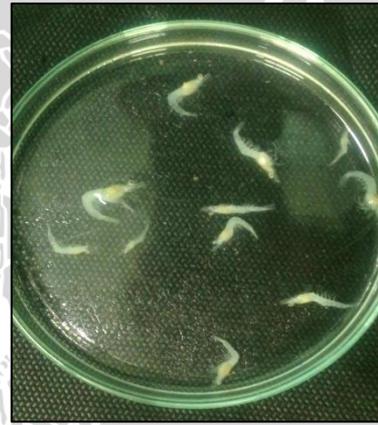
Kultur Bakteri
V. harveyi



Bakteri *V. harveyi* pada
media TSB



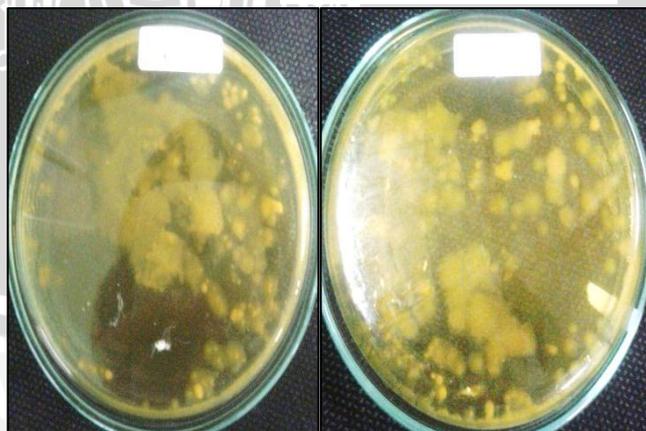
Wadah Pemeliharaan Udang Vaname saat
Penelitian



Post Larva Udang
Vaname yang Mati



Pengenceran Bakteri
untuk Ditanam pada
Media TCBSA



Bakteri *V. harveyi*
pada Media TCBSA