

**ANALISA STATUS MIKRONUKLEI DAN MAKRONUKLEI IKAN KERAPU
CANTANG (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Ephinephelus lanceolatus*) YANG
DIINFEKSI VNN (*Viral Nervous Necrosis*) DENGAN
PEMBERIAN EKSTRAK *Dunaliella salina***

SKRIPSI

Oleh:

**ARIFUL FIKRI
NIM. 155080500111039**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

**ANALISA STATUS MIKRONUKLEI DAN MAKRONUKLEI IKAN KERAPU
CANTANG (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Ephinephelus lanceolatus*) YANG
DIINFEKSI VNN (*Viral Nervous Necrosis*) DENGAN
PEMBERIAN EKSTRAK *Dunaliella salina***

SKRIPSI

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

Oleh:

**ARIFUL FIKRI
NIM. 155080500111039**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

SKRIPSI

ANALISA STATUS MIKRONUKLEI DAN MAKRONUKLEI IKAN KERAPU CANTANG (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Ephinephelus lanceolatus*) YANG DIINFEKSI VNN (*Viral Nervous Necrosis*) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK *Dunaliella salina*

Oleh:
ARIFUL FIKRI
NIM. 155080500111039

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 14 juni 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Pembimbing 1

Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS.
NIP. 19611106 198602 2 001
Tanggal: 04 JUL 2019

Menyetujui,
Dosen Pembimbing 2

Rani Yuwanita, S. Pi., MP.
NIK. 201506 860612 2 001
Tanggal: 04 JUL 2019

Mengetahui,
Ketua Jurusan
Manajemen Sumberdaya Perairan



(Dr. W. M. Firdaus, MP)
NIP. 19630919 200501 1 001
Tanggal: 04 JUL 2019



IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **ANALISA STATUS MIKRONUKLEI DAN MAKRONUKLEI IKAN KERAPU CANTANG (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*) YANG DIINFEKSI VNN (*Viral Nervous Necrosis*) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK *Dunaliella salina***

Nama Mahasiswa : Ariful Fikri

NIM : 155080500111039

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING

Pembimbing 1 : Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS.

Pembimbing 2 : Rani Yuwanita, S.Pi, MP.

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Penguji 1 : M. Fakhri, S.Pi, MP., M.Sc.

Penguji 2 : Qurrota A'yunin, S.Pi, MP., M.Sc.

Tanggal Ujian : 14 Juni 2019

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyadari bahwa penulisan ini tidak terlepas dari dukungan moril dan materi dari semua pihak. Melalui kesempatan ini, dengan kerendahan hati perkenankan saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

- Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS. selaku dosen pembimbing I yang telah banyak memberikan saran, memberikan ilmu yang bermanfaat pada penulis hingga dapat melaksanakan penelitian, bimbingan, arahan dan nasihat bagi saya.
- Rani Yuwanita, S. Pi, MP. selaku dosen pembimbing 2 yang telah banyak memberikan saran, memberikan ilmu yang bermanfaat pada penulis hingga dapat melaksanakan penelitian, bimbingan, arahan dan nasihat bagi saya
- Bapak Elpa Edison dan ibu Tespiyospita selaku kedua orang tua yang selalu memberikan doa, motivasi dan dukungan kepada saya.
- Faizal, Viola, Fauzan, Anggi dan Alma selaku teman satu tim skripsi saya yang senantiasa bekerjasama dalam menyelesaikan penelitian.
- Teman-teman Aqualatte yang telah meberikan dukungan dalam pengerjaan laporan skripsi.

Malang, juni 2019

Penulis

RINGKASAN

Ariful Fikri. Analisa Status Mikronuklei dan Makronuklei Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscogittatus x Epinephelus Lanceolatus*) yang Diinfeksi Viral Nervous Necrosis (VNN) dengan Pemberian Ekstrak *Dunaliella salina* (dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS. dan Rani Yuwanita, S. Pi., MP.**)

Ikan kerapu cantang (*Epinephelus fuscogittatus x Epinephelus Lanceolatus*) merupakan salah satu jenis ikan laut yang mempunyai nilai gizi tinggi dan protein hewani yang baik untuk dikonsumsi. Budidaya kerapu tidak lepas dari faktor penyakit yang dapat menggagalkan hasil budidaya. Salah satu penyakit yang adalah *Viral Nervous Necrosis* (VNN) yang dapat menyebabkan kematian masal pada ikan kerapu, terutama pada stadia larva dan juvenil. Salah satu upaya pencegahan infeksi VNN pada ikan yaitu dengan pemberian *Dunaliella salina*, karena memiliki kandungan antioksidan dan antivirus yang cukup tinggi. Pada 2 gram berat kering *D. salina* terdapat 100 mg β -karoten serta komponen aktif fitoplankton yang berperan dalam pertahanan tubuh antara lain fenol, terpenoid, sterol, flavonoid dan polisakarida.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui status mikronuklei dan makronuklei ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN dengan pemberian ekstrak *Dunaliella salina*. Metode Penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap. Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini meliputi eritrosit, hemoglobin, hematokrit, mikronuklei, dan makronuklei, serta faktor penunjang seperti SR dan kualitas air. Tahapan penelitian ini dimulai dari penelitian pendahuluan, dan penelitian utama. Penelitian utama meliputi persiapan alat bahan, pembuatan ekstrak *D. salina*, ujiantang dan pengamatan hematologi. Pengamatan parameter penunjang kualitas air diamati setiap dua kali sehari yaitu pagi dan sore.

Gejala klinis yang ditunjukkan pada ikan kerapu cantang setelah diinfeksi VNN yaitu berenang miring dan lebih sering berdiam di dasar dengan tubuh menghitam serta nafsu makan menurun, sedangkan lesi anatomi menunjukkan sirip pectoral yang memerah, limpa membengkak dan hati memucat. Hasil penelitian ini didapatkan jumlah makronuklei sebelum ujiantang berkisar 7,54 – 11,66 MAN/100 sel dan mikronuklei sebelum diinfeksi VNN berkisar 6,72 – 11,39 MN/100 sel. Sedangkan jumlah makronuklei setelah diinfeksi VNN berkisar 11,16 – 19,74 MAN/100 sel dan mikronuklei setelah diinfeksi VNN berkisar 13,15 – 21,20 MN/100 sel. Hasil pengukuran kualitas air selama pemeliharaan tergolong normal untuk menunjang kehidupan ikan kerapu cantang dengan kisaran suhu 27-30°C, pH 7,11-7,82, DO 5,1-8,2 ppm dan salinitas 31-34 ppt, nilai SR yang didapat dari seluruh perlakuan setelah diinfeksi VNN yaitu 42,9 %.

Jumlah mikronuklei dan makronuklei sebelum diinfeksi VNN masih berkisar dalam kisaran nilai normal. Setelah diinfeksi VNN terjadi peningkatan pada jumlah mikronuklei dan makronuklei pada sel darah merah ikan kerapu cantang. Perlakuan terbaik diperoleh pada perlakuan D dengan pemberian ekstrak *D. salina* sebanyak 400 mg/kg pakan dengan jumlah makronuklei dan mikronuklei paling sedikit. Nilai kualitas air yang didapat juga mendukung untuk kehidupan ikan kerapu cantang.

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan yang Maha Esa, atas limpahan berkat dan kasih karunia-Mu penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul “Analisa Status Mikronuklei dan Makronuklei Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*) yang Diinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dengan Perlakuan Ekstrak *Dunaliella salina*” sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya dibawah bimbingan

1. Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS.
2. Rani Yuwanita, S.Pi., MP.

Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan dan kesempurnaan laporan, sehingga tulisan ini dapat bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi semua pihak yang membutuhkan.

Malang, 2 juni 2019

Ariful Fikri

DAFTAR ISI

RINGKASAN.....	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Kegunaan.....	3
1.5.1 Kegunaan Teoritis	3
1.5.2 Kegunaan Praktis	3
1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Ikan Kerapu Cantang (<i>Epinephelus fuscoguttatus lanceolatus</i>).....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Habitat	6
2.1.3 Kebiasaan Makan Ikan Kerapu Cantang.....	7
2.1.4 Sistem Pertahanan Tubuh Ikan Kerapu Cantang	8
2.2 <i>Dunaliella salina</i>	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	9
2.2.2 Habitat	10
2.2.3 Siklus Hidup	11
2.2.4 Kandungan <i>Dunaliella salina</i>	11
2.3 Viral Nervous Necrosis (VNN)	13
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	13
2.3.2 Habitat dan Distribusi	14
2.3.3 Mekanisme Infeksi VNN.....	15
2.4 Parameter Uji	16
2.4.1 Hematokrit	16
2.4.2 Hemoglobin	16
2.4.3 Eritrosit.....	17
2.4.9 Makronulei (MAN).....	19
2.4.10 Mikronuklei (MN).....	19
3. METODE PENELITIAN	21
3.1 Materi Penelitian	21
3.1.1 Alat-alat Penelitian.....	21
3.1.2 Bahan-bahan Penelitian.....	22
3.2 Metode Penelitian.....	23

3.2.1	Rancangan Penelitian	23
3.3	Teknik Pengumpulan Data	24
3.3.1	Data Primer	25
3.3.2	Data Sekunder	25
3.4	Prosedur Penelitian	25
3.4.1	Penelitian Pendahuluan	25
3.4.2	Penelitian Utama	27
3.4.3	Pembuatan Ekstrak <i>Dunaliella salina</i>	28
3.4.4	Repeleting	28
3.4.5	Isolasi Virus	29
3.4.6	<i>Lethal Dose</i> (LD ₅₀)	29
3.4.7	Persiapan Ikan Penelitian	30
3.5	Pelaksanaan Penelitian	30
3.5.1	Pemberian Pakan	30
3.5.2	Uji Tantang	31
3.5.3	Pengamatan Gejala Patologi Klinis	31
3.5.4	Pengamatan Lesi Anatomi	31
3.5.5	Deteksi VNN dengan PCR	31
3.6	Metode Pengukuran Hematologi	33
3.6.1	Pengambilan Darah Ikan Kerapu Cantang	33
3.6.3	Perhitungan Kadar Hemoglobin	33
3.6.4	Perhitungan Kadar Hematokrit	34
3.6.5	Perhitungan Total Eritrosit	34
3.6.6	Pembuatan Preparat Ulas	35
3.6.7	Makronuklei	35
3.6.8	Perhitungan Mikronuklei	36
3.7	Parameter Uji	36
3.7.1	Parameter Utama	36
3.7.2	Parameter Penunjang	36
3.8	Analisis Data	37
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1	Hasil Penelitian	38
4.1.1	Gejala Patologi Klinis	38
4.1.2	Lesi Anatomi	41
4.1.3	<i>Survival Rate</i> (SR)	42
4.1.4	Uji PCR	44
4.1.5	Hematologi Ikan Kerapu Cantang	45
4.2.1	Kualitas Air	61
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	64
5.1	Kesimpulan	64
5.2	Saran	64
	DAFTAR PUSTAKA	65
	LAMPIRAN	76

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Kerapu Cantang	6
2. <i>Dunaliella salina</i>	10
3. Viral Nervous Necrosis (VNN)	14
4. Eritrosit Ikan.....	18
5. Morfologi Makronuklei.....	19
6. Morfologi Mikronulei	20
7. Denah Penelitian.....	24
8. Prosedur Penelitian Pendahuluan	26
9. Prosedur Kerja Penelitian Utama	27
10. Gejala Patologi Klinis Ikan Kerapu Cantang Pasca Infeksi VNN.....	41
11. Lesi Anatomi Ikan Kerapu Cantang 96 Jam Pasca Infeksi	42
12. Hasil Elektroforesis Ikan Kerapu Cantang Positif VNN	44
13. Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang Dengan VNN	47
14. Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang Dengan VNN.....	48
15. Grafik Hubungan Pemberian <i>D. salina</i> terhadap Jumlah Eritrosit.....	48
16. Grafik Hubungan Pemberian <i>D. salina</i> terhadap Jumlah Eritrosit.....	49
17. Grafik Hubungan Pemberian <i>D. salina</i> terhadap Kadar Hemoglobin.....	51
18. Grafik Hubungan Dosis Pemberian <i>D. salina</i> terhadap Kadar Hemoglobin ...	51
19. Grafik Hubungan Dosis Pemberian <i>D. salina</i> Terhadap Kadar Hematokrit....	53
20. Grafik Hubungan Dosis Pemberian <i>D. salina</i> terhadap Kadar Hematokrit	53
21. Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang.....	56
22. Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang.....	57
23. Grafik Hubungan Dosis Pemberian <i>D. salina</i> terhadap Jumlah Mikronuklei ..	57

24. Grafik Hubungan Dosis Pemberian *D. salina* Terhadap Jumlah Mikronuklei.58

25. Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang.59

26. Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang.....60

27. Grafik Hubungan Pemberian *D. salina* Terhadap Jumlah Makronuklei60

28. Grafik Hubungan Pemberian *D. salina* Terhadap Jumlah Makronuklei61



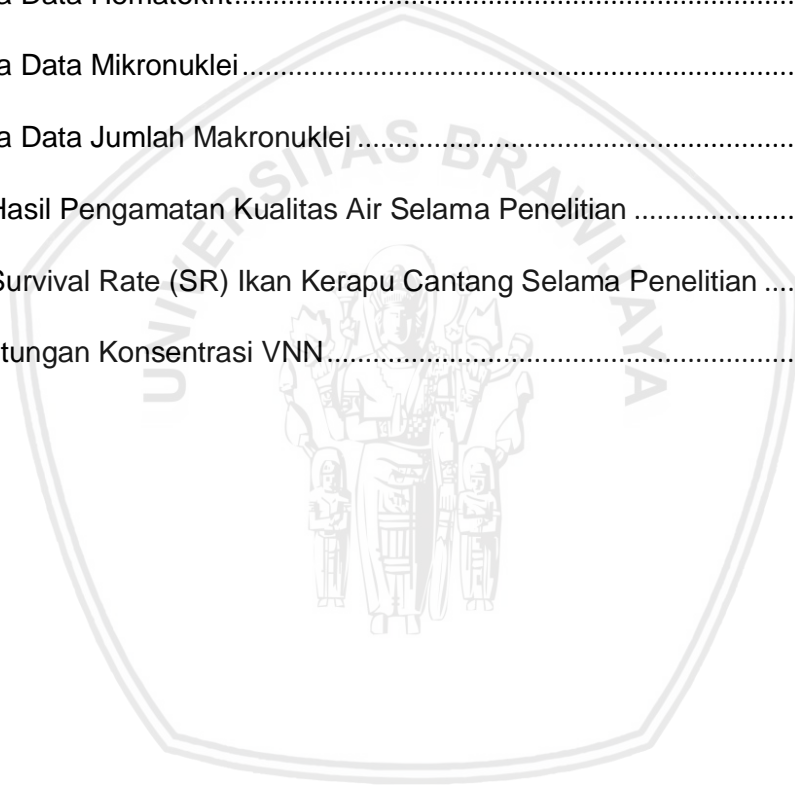
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan <i>Dunaliella salina</i>	13
2. Gejala Patologi Klinis.....	38
3. Data <i>Survival Rate</i> (SR)	43
4. Rerata Parameter Darah sebelum Uji Tantang	45
5. Rerata Parameter Darah Setelah Uji Tantang.....	45
6. Kisaran Hasil Kualitas Air Selama Pemeliharaan	62



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat – alat Penelitian	76
2. Bahan – bahan Penelitian	82
3. Analisa Data Eritrosit	87
4. Analisa Data Hemoglobin.....	96
5. Analisa Data Hematokrit.....	104
6. Analisa Data Mikronuklei.....	112
7. Analisa Data Jumlah Makronuklei	121
8. Data Hasil Pengamatan Kualitas Air Selama Penelitian	130
9. Data Survival Rate (SR) Ikan Kerapu Cantang Selama Penelitian	136
10. Perhitungan Konsentrasi VNN.....	141



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan kerapu (*Epinephelus Fuscoguttatus Lanceolatus*) merupakan salah satu jenis ikan laut yang mempunyai nilai gizi tinggi dan protein hewani yang baik untuk dikonsumsi, selain itu ikan kerapu memiliki peluang pasar yang cerah baik dipasaran domestik maupun dipasaran internasional (Prayogo dan Isfanji, 2014). Salah satu jenis ikan kerapu yang harganya cukup tinggi di pasar internasional adalah kerapu cantang (*Epinephelus Fuscoguttatus Lanceolatus*). Setiap tahun produksi ikan kerapu terus mengalami peningkatan, tahun 2010 produksi mencapai 7.000 ton dan meningkat menjadi 9.000 ton pada tahun 2011 (Amelia dan Prayitno, 2012). Pengembangan usaha budidaya kerapu ini juga perlu memperhatikan beberapa aspek pendukung seperti benih, pakan, lingkungan perairan, manajemen kesehatan serta sistem dan teknologi budidaya. Nursyifani (2017), produksi ikan kerapu sepanjang Januari-Oktober 2017 mencapai 46.504 ton, naik lebih dari 300% dari tahun 2016 yang hanya 11.504 ton.

Budidaya kerapu tidak lepas dari faktor penyakit yang dapat menyerang dan menggagalkan hasil budidaya. Salah satu penyakit yang telah dilaporkan oleh peneliti adalah *Viral Nervous Necrosis* (VNN) yang dapat menyebabkan kematian masal pada ikan kerapu, terutama pada stadia larva dan juvenile (Lestari dan Sudaryatma, 2014). VNN dapat mematikan 97-98% dari total populasi ikan kerapu pada stadia larva dan juvenil yang disebut juga *Viral Encephalopathy and Retinopathy* atau VER (Munday, et al., 1992).

Serangan VNN lebih ganas pada ikan yang masih muda terutama pada masa awal perkembangannya. Larva dan benih ikan kerapu sangat sensitif dimana kekebalan tubuh pada fase ini relatif masih lemah, sehingga keadaan ini mengakibatkan serangan VNN menjadi lebih akut. *Viral Nervous Necrosis* (VNN),

merupakan penyakit yang dapat menyerang banyak spesies ikan laut yang dibudidayakan di seluruh dunia. Ikan yang terinfeksi umumnya menampilkan gangguan neurologis, yang sering dikaitkan dengan vakuolisasi yang kuat dari sistem saraf pusat dan retina (Thiery, *et al.*, 2006).

Salah satu upaya pencegahan infeksi VNN pada ikan yaitu dengan pemberian *Dunaliella salina*, karena memiliki kandungan β -karoten yang cukup tinggi. Menurut Astrid, (2013), *D. salina* memiliki kandungan β -karoten yang tinggi dan kandungan gizi yang tinggi. *D. salina* memiliki kandungan nutrisi yaitu kandungan protein 25,67g, karbohidrat 40,21g, lemak 18,02g dan serat 2,10g pada g/100g berat kering. Yuwanita, *et al.* (2018), pada 2 gram berat kering *D. salina* terdapat 100 mg β -karoten serta komponen aktif fitoplankton yang berperan dalam pertahanan tubuh antara lain fenol, terpenoid, sterol, flavonoid dan polisakarida. Komponen aktif *D. salina* berfungsi dalam aktivitas antioksidan. Menurut Abd El-Baky, *et al.* (2007), *D. salina* mengakumulasi jumlah karotenoid yang tinggi (12,6% berat kering), termasuk β -karoten (60,4% dari karotenoid total), *astaxantin* (17,7%), *zeaxantin* (13,4%), *lutein* (4,6%) dan *kriptoxantin* (3,9%). *D. salina* menghasilkan β -karoten sebesar 14% dari berat kering yang kaya akan protein dan asam lemak esensial sebesar 1-83% dalam berperan sebagai antioksidan. Menurut Vonshak, *et al.* (1986), *D. salina* menghasilkan β -karoten yang berperan sebagai antioksidan yang mampu mengurangi kerusakan sel akibat penetrasi virus masuk ke dalam sel inang.

Menurut Maswan, (2009), pemeriksaan darah dapat dijadikan sebagai diagnosa keadaan patologis ikan. Pada susunan darah ikan sangat berguna dalam pelengkap diagnostik, jadi untuk menilai status kesehatan ikan dapat dilakukan dengan parameter hematologi. Parameter hematologi yang diamati meliputi kadar hemoglobin, hematokrit, jumlah eritrosit, jumlah mikronuklei, dan jumlah makronuklei.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana status mikronuklei dan makronuklei ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN dengan pemberian ekstrak *Dunaliella salina*?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui status mikronuklei dan makronuklei ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN dengan pemberian ekstrak *Dunaliella salina*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

H0: Pemberian ekstrak *Dunaliella salina* tidak berpengaruh nyata terhadap status mikronuklei dan makronuklei ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN

H1: Pemberian ekstrak *Dunaliella salina* berpengaruh nyata terhadap status mikronuklei dan makronuklei ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN

1.5 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini terbagi menjadi dua, yakni kegunaan praktis dan teoritis.

1.5.1 Kegunaan Teoritis

Secara teoritis, hasil penelitian ini diharapkan menjadi referensi atau sumber informasi mengenai status mikronuklei dan makronuklei ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN dengan pemberian ekstrak *D. salina*.

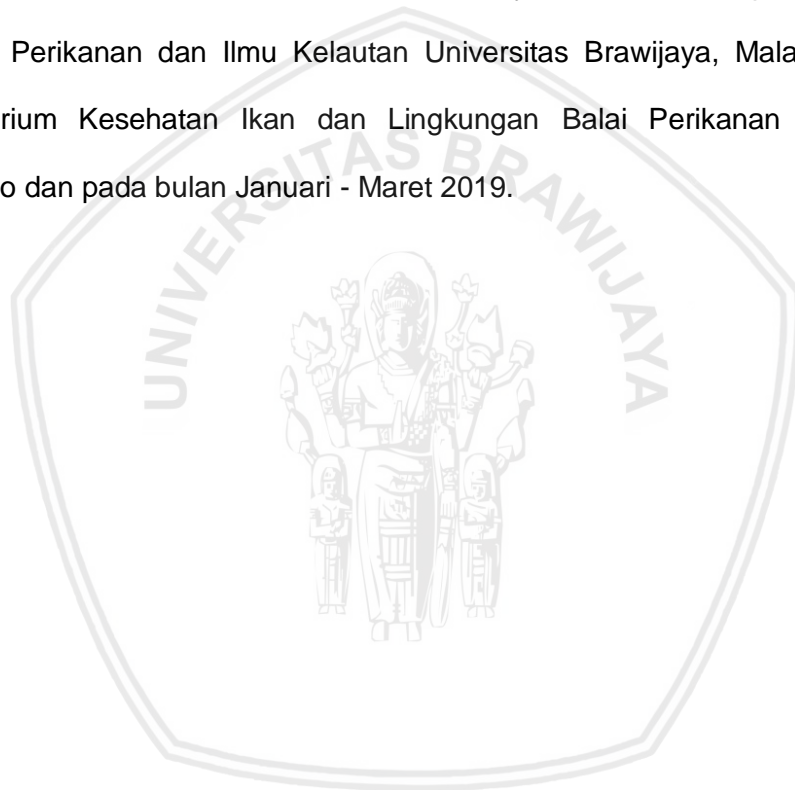
1.5.2 Kegunaan Praktis

Kegunaan praktis dari penelitian ini adalah untuk menambah pengetahuan, pengalaman dan keterampilan bagi masyarakat khususnya

pembudidaya ikan kerapu cantang dalam mengatasi permasalahan kesehatan ikan yang disebabkan infeksi virus VNN dengan pemberian ekstrak *D. salina* sebagai antivirus, sehingga dapat menjadi salah satu solusi dalam mengatasi permasalahan kesehatan ikan tersebut.

1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Eksplorasi Sumberdaya Perikanan dan Kelautan, Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang, dan di Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan Balai Perikanan Air Payau Situbondo dan pada bulan Januari - Maret 2019.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus lanceolatus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Berdasarkan Soemarjati, *et al.* (2015), klasifikasi ikan Kerapu Cantang secara taksonomi sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Klas	: Pisces
Ordo	: Perciformes
Famili	: Serranidae
Genus	: Epinephelus
Spesies	: <i>Epinephelus Fuscoguttatus Lanceolattus</i>

Mariskha dan Abdulgani, (2012), ikan kerapu cantang mempunyai bentuk tubuh yang relatif membulat dengan ukuran lebar kepala sedikit atau hampir sama dengan lebar badannya. Warna tubuhnya coklat kehitaman dengan 5 garis melintang. Ciri-ciri morfologi ikan kerapu antara lain bentuk tubuh pipih, lebar tubuh lebih kecil dari pada panjang dan tinggi tubuh, rahang atas dan bawah dilengkapi dengan mulut yang lebar, ditandai dengan bibir bawah sedikit menonjol melebihi bibir atas, bentuk sirip ekor bundar, memilik sirip punggung tunggal serta memanjang. Jumlah sirip yang berjari-jari keras kurang lebih sama dengan sirip yang berjari-jari lunak, pada badan ditutupi sirip – sirip kecil dan memiliki tipe sisik stenoid. Kepala dan badan berwarna coklat kemerahan. Terdapat enam strip tegak lebar coklat tua dengan bitnik-bintik hitam putih pada sekitar tubuhnya. Bintik pada tubuhnya agak gelap dan rapat serta berwarna kecoklatan pada setiap sirip ikan kerapu cantang. Morfologi ikan kerapu cantang disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan Kerapu Cantang (Sutarmat dan Yudha, 2013)

2.1.2 Habitat

Penyebaran ikan kerapu cantang di alam masih sangat jarang dan bahkan hampir tidak ditemukan. Hal ini karena kerapu cantang merupakan hasil pembuahan yang tidak disengaja antara induk betina kerapu macan dan induk jantan kerapu kertang di BPBAP Situbondo. Ikan kerapu cantang memiliki benih dengan keunggulan yang lebih daripada kedua induknya, maka banyak pembenih yang mulai mengembangkan usaha budidaya kerapu cantang (Prayogo dan Isfanji, 2014).

Mariskha dan Abdulgani, (2012), ikan kerapu memiliki habitat di dasar perairan laut tropis dan subtropis. Kerapu bersifat soliter, berbeda saat akan memijah ikan kerapu akan hidup bergerombol. Telur dan pada stadia larva ikan kerapu bersifat pelagis sedangkan pada ikan kerapu dari muda hingga dewasa bersifat demersal. Larva kerapu pada umumnya menghindari permukaan air pada siang hari karena bersifat fototrofik negatif. Sebaliknya pada malam hari ikan ini lebih banyak ditemukan di permukaan air. Ikan kerapu bersifat nokturnal, sifat ikan kerapu sebagai organisme yang pada siang hari lebih banyak bersembunyi di liang-liang karang sedangkan pada malam hari aktif bergerak di kolom air untuk mencari makan. Kerapu cantang biasanya ditemukan pada liang dan dasar-dasar karang. Ikan kerapu cantang dapat bertahan hidup pada salinitas yang lebih tinggi dibandingkan ikan kerapu macan maupun kerapu

kertang. Kerapu cantang dapat hidup dengan toleransi salinitas berkisar 12-35 ppt (Soemarjati, *et al.*, 2015). Ikan dewasa yang umurnya 3-4 tahun akan beruaya ke muara sungai yang mempunyai salinitas 20-35 ppt untuk proses pematangan kelamin dan pemijahan. Pergerakan ke area pemijahan biasanya terjadi pada akhir musim panas dan pemijahan terjadi pada awal musim penghujan. Pemijahan pada musim penghujan terjadi karena suhu dan salinitas yang merupakan faktor penting dalam pemijahan (Razi, 2013).

2.1.3 Kebiasaan Makan Ikan Kerapu Cantang

Menurut Rahmaningsih dan Ari, (2013), ikan kerapu digolongkan jenis karnivora dengan kebiasaan makan menyerupai induknya memakan daging dan cara makannya melahap makanan yang diberikan sebelum makanan tersebut sampai ke dasar perairan. Jenis Pakan yang disukai yaitu Crustaceae (udang-udangan) seperti rebon, dogol dan krosok, selain itu jenis ikan-ikan kecil seperti tembang, teri dan belanak. Perlakuan pemberian pakan ikan kerapu cantang yaitu sebesar 10 -15 % berat badan perhari. Hal ini juga dibuktikan oleh Ghufron (2010), yang menyatakan bahwa pada pemberian pakan sebanyak 15% didapatkan pertumbuhan ikan kerapu yang maksimal untuk pertumbuhan ikan.

Menurut Soemarjati, *et al.* (2015), ikan kerapu cantang membutuhkan sumber asam lemak yang berbeda di dalam pakannya dan kebutuhan tersebut dipengaruhi jenis dan ukuran ikan. Ketidaktepatan sumber asam lemak pakan dapat menyebabkan pertumbuhan yang tidak maksimal. Sumber lipid yang digunakan adalah minyak cumi, minyak jagung, dan minyak kelapa. Minyak jagung mengandung asam lemak linolenat ($\omega 6$) yang tinggi yaitu sekitar 56,3%, sedangkan minyak kelapa mengandung 88% asam lemak jenuh. Pakan yang diberikan pada ikan kerapu cantang harus memenuhi kebutuhan yang diperlukan untuk ikan kerapu cantang tumbuh. Marzuqi dan Anjusaary (2013), kebutuhan pakan untuk ikan kerapu yaitu protein 45-55%, lemak 8-14% .

2.1.4 Sistem Pertahanan Tubuh Ikan Kerapu Cantang

Menurut Gusman, (2011), ikan kerapu memiliki sistem pertahanan tubuh dalam pertahanan terhadap infeksi yang masuk kedalam tubuhnya seperti virus, bakteri, parasit, dan jamur. Terdapat dua sistem imun pada ikan kerapu yang saling berkaitan, yaitu sistem imun alamiah (*innate*) dan sistem imun adaptif. Sistem imun *innate* mendeteksi infeksi menggunakan reseptor yang mengkode jumlah terbatas dari patogen. Sistem imun adaptif menggunakan reseptor spesifikasi yang tidak terbatas. Sistem imun non spesifik terdiri dari seluler (Mosisit/makrofag) dan humoral (*lectins, enzim lytic, transferin, ceruloplasmin, c-reactive protein* dan *interferon*). Sistem imun adaptif juga terdapat dua mekanisme yaitu respon imun humoral oleh antibodi yang diproduksi oleh sel-sel limfosit B. Imun adaptif oleh sel T (limfosit T) yang berperan dalam melakukan destruksi sel-sel yang terinfeksi.

Upaya yang dilakukan oleh tubuh ikan dalam mempertahankan diri terhadap serangan benda asing adalah dengan menghancurkan benda asing secara non-spesifik dengan proses fagositosis. Sistem imun non-spesifik merupakan salah satu pertahanan tubuh yang mampu memberikan respon langsung terhadap antigen, sedangkan sistem imun spesifik membutuhkan waktu untuk mengenal antigennya sebelum melakukan respon (Baratawidjaya, 2006). Penghancuran antigen terjadi dalam beberapa tingkat yaitu kemotaksis, menangkap, memakan, fagositosis, memusnahkan dan mencerna (Baratawidjaya, 1991). Aktivitas respon imunitas dapat distimulasi oleh imunostimulator. Respon imun dibentuk oleh jaringan limfoid. Produk jaringan ini yaitu sel-sel darah dan respon imunitas baik seluler maupun humoral.

Menurut Bastiawan, *et al.* (1995) sistem mekanisme tubuh ikan berhubungan dengan sel darah merah dan hemoglobin. Eritrosit adalah sel darah yang paling banyak dalam tubuh ikan yang berfungsi dalam penyebaran oksigen

dan nutrisi dalam tubuh ikan. Eritrosit juga mengandung asam karbonat yang berfungsi dalam mengkatalisis reaksi antara karbondioksida dengan air agar darah dapat bereaksi dengan karbondioksida dan mentranspor karbondioksida dari jaringan ke insang.

2.2 *Dunaliella salina*

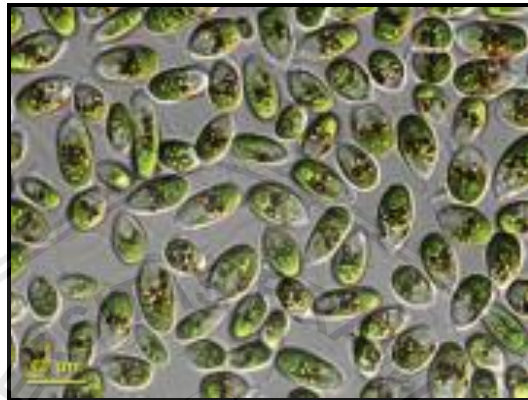
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Berdasarkan Saktivel, *et al.* (2011), klasifikasi *D. salina* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Phylum	: Chlorophyta
Class	: Chlorophyceae
Ordo	: Volvocales
Family	: Dunaliellaceae
Genus	: <i>Dunaliella</i>
Spesies	: <i>Dunaliella salina</i>

Menurut Tran, *et al.* (2013), sel *D. salina* umumnya berbentuk ovoid, dengan lebar 4-15 mm dan panjang 6-25 mm (Gambar 3). Perkembangan *D. salina* ini sangat tergantung pada tahap pertumbuhan dan kondisi lingkungan,. *D. salina* memiliki bentuk silinder maupun elips. *D. salina* memiliki dua flagela yang sama panjangnya dengan dinding polisakarida yang kaku. Sel *D. salina* mengandung kloroplas yang berbentuk cangkir dengan pirenoid di bagian tengah yang dikelilingi oleh sel pati sebagai penyimpan energi. Menurut Lamers (2011), *D. salina* tidak memiliki dinding sel yang kaku sehingga volume atau ukuran sel dapat dengan mudah mengalami perubahan akibat tekanan osmotik dari lingkungan. Struktur sel terdiri dari kloroplas, *pyrenoid*, vakuola inti dan nukleus (Ben Amotz, 2004). Kloroplas berbentuk cangkir dengan satu *pyrenoid* pusat

serta memiliki organel lain yaitu *eyespot* anterior, nucleolus, badan golgi dan vakuola. *D. salina* memiliki panjang 2-28 μ m dan lebar 1-15 μ m (Ben Amotz, *et al.*, 2009). Panjang, lebar dan volume sel dapat berubah seiring dengan meningkatnya konsentrasi salinitas di perairan (Borowitzka dan Siva, 2007). Morfologi *D. salina* disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. *Dunaliella salina* (Hadiyanto dan Azim, 2012)

2.2.2 Habitat

Menurut Charioui, *et al.* (2016), *D. salina* merupakan mikroorganisme yang menyerupai ganggang yang dapat bertahan pada berbagai tingkatan kadar garam baik di salinitas tinggi (hipersalin) atau di lingkungan dengan kadar garam rendah sehingga sangat mudah ditemukan pada perairan laut Indonesia. Mikroorganisme ini dikenal memiliki adaptasi yang tinggi terhadap berbagai perubahan medium. Spesies *D. salina* sendiri tersebar luas di seluruh dunia dengan habitat dalam rentang wilayah yang sangat luas. Sebaran *D. salina* tergantung pada kadar nitrat yang sangat mempengaruhi tingkat pertumbuhan. Tingginya kadar nitrat menyebabkan mikroorganisme ini memiliki laju pertumbuhan yang tinggi. Peningkatan laju pertumbuhan pada *D. salina* biasanya meningkat dari 0,006 sel/mL menjadi 0,216 sel/mL.

Kemampuan sel untuk bertahan hidup dan berkembang di lingkungan salin di bawah pengaruh stres osmotik sehingga *D. salina* diakui sebagai satu-

satunya organisme eukariotik dan organisme fotosintetik, yang tumbuh di berbagai jenis konsentrasi garam, mulai dari 0,05 M hingga saturasi (5,0 M) (Mishra dan Jha, 2009).

2.2.3 Siklus Hidup

Menurut Pradana, *et al.* (2017), *D. salina* merupakan salah satu jenis mikroalga yang biasa dimanfaatkan sebagai pakan alami, karena mudah dicerna. Pertumbuhan *D. salina* dapat diketahui melalui pengamatan kepadatan sel yang dilakukan setiap 6 jam sekali selama 186 jam waktu kultur. Selama kultur terdapat beberapa fase yaitu fase adaptasi, fase eksponensial dan fase kematian. Fase adaptasi pada kultur *D. salina* terjadi karena adanya respon pemanfaatan nutrisi dan faktor lingkungan pada media serta perlakuan yang diberikan. Fase adaptasi terjadi pada hari ke 0 dengan kepadatan yang sama sebelum 24 jam setelah tahap kultur. Fase eksponensial merupakan fase yang diawali pada pembelahan sel dengan laju pertumbuhan yang terus menerus, terjadi pada hari kedua sampai kesebelas, laju pertumbuhan pada fase ini mencapai maksimal, fase selanjutnya adalah fase kematian, fase tersebut ditandai dengan adanya penurunan laju pertumbuhan sel. Pertumbuhan *D. Salina* dalam medium walne memiliki siklus hidup selama 7 hari.

Menurut Kusumaningrum dan Zanuari (2013), *D. salina* memiliki sifat halofilik. Sel pada alga ini bersifat oval, pergerakannya sangat aktif dengan dua flagel di ujung. Fase logaritmik ditandai dengan sel berwarna hijau cerah. Fase stasioner ditandai dengan berubahnya warna menjadi hijau kekuningan, hal ini diduga berkaitan dengan pembentukan karotenoid.

2.2.4 Kandungan *Dunaliella salina*

Menurut Felix, *et al.* (2017), mikroalga dikenal sebagai sumber metabolisme dengan aktivitas antimikroba. Salah satu contohnya yaitu *D. salina* yang diketahui dapat menghasilkan β -karoten dalam jumlah besar. *D. salina*

menghasilkan pigmen (klorofil, karotenoid, β -karoten), asam amino, asam lemak dan gliserol. Secara umum pigmen yang ditemukan adalah klorofil, dan karotenoid. β -karoten berperan sebagai imunostimulan yang mampu memperbaiki sistem kekebalan tubuh, mencegah infeksi yang disebabkan oleh patogen oportunistik dan patogen sekunder pada udang. β -karoten juga berfungsi untuk menekan super oksida dan antioksidan dengan menstabilkan senyawa selular.

Menurut Mahardani, *et al.* (2017), *D. salina* merupakan salah satu jenis fitoplankton yang dimanfaatkan sebagai pakan alami. Kandungan nutrisi *D. salina* yang ditunjukkan dalam bahan kering adalah protein (57%), karbohidrat (32%) dan lemak (6%). *D. salina* merupakan mikroalga yang menghasilkan karotenoid, salah satu jenis karotenoid yang dihasilkan adalah β -karoten yang mampu diakumulasi dalam jumlah sangat tinggi pada beberapa kondisi stress seperti keterbatasan nitrogen, terkena intensitas cahaya tinggi dan salinitas yang tinggi. Salinitas mempengaruhi peningkatan kandungan karotenoid *D. salina* dari 2 pg/sel menjadi 5,5 pg/sel.

Terdapat 600 kelompok karotenoid dalam dan ditemukan sekitar 400 karotenoid pada *D. salina*. *D. salina* mengandung karotenoid dalam jumlah tinggi yaitu 12,6% dari berat kering yang terdiri dari β -karoten (60,4%), α karoten (17,7%), pigmen santofil seperti zeaxanthin (13,4%), lutein (4,6%) dan cryptoxanthin (3,9%) (Abd El-Baky, *et al.*, 2007). *D. salina* merupakan sumber β -karoten terbaik dibanding jenis organisme lain. *D. salina* mengandung 14% β -karoten dari berat keringnya (Spolaore, *et al.*, 2006). Campo, *et al.* (2007), menambahkan dalam 2 gram berat kering *D. salina* terdapat 100 mg β karoten. Salah satu jenis karotenoid yang dihasilkan adalah β -karoten yang mampu diakumulasi dalam jumlah sangat tinggi (Mahardani, *et al.*, 2017).

β -karoten dapat berfungsi juga sebagai senyawa antivirus, antibakteri dan dapat mencegah kelainan antibodi. β -karoten juga berperan sebagai multivitamin pada pakan ternak (Supriyono, 2014). Kandungan *D. salina* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan *Dunaliella salina* (Darsi, et al. 2012)

Parameter	Kandungan
1. Bobot kering (grL ⁻¹)	3,29
2. Kadar air (%)	15,58
3. Kadar Abu (%)	58,29
4. Kadar Protein (% bk)	17,08
5. Kadar Lemak (% bk)	0,003
6. Kadar Karbohidrat total (% bk)	15,07
7. Total Karoten (ppm)	0,19
8. Asam Amino (% w/w bk)	
- As. Aspartat	0,73
- As. Glutamat	0,73
- Serin	0,37
- Histidin	0,07
- Glisin	0,39
- Threonin	0,29
- Arginin	0,33
- Alanin	0,46
- Tirosin	0,21
- Metionin	0,26
- Valin	0,37
- Fenilalalin	0,32
- I-Leusin	0,29
- Leusin	0,45
- Lisin	0,25

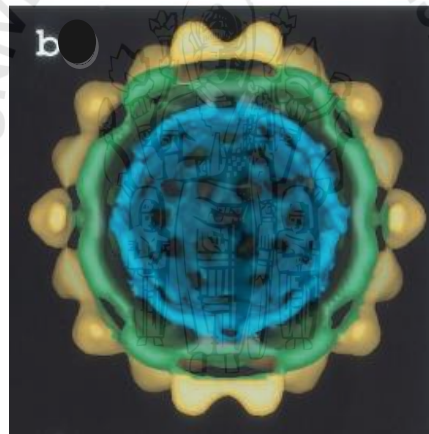
2.3 *Viral Nervous Necrosis* (VNN)

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Shetty, et al. (2012), klasifikasi VNN adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Virus
Family	: Nodaviridae
Grup	: Alphanodaviruses
Genus	: Betanodavirus
Species	: <i>Viral Nervous Necrosis</i>

VNN telah menjadi masalah utama dalam produksi perikanan laut dunia. Virus betanoda adalah virus kecil, bulat, tidak punya kapsid dengan genom yang tersusun dari dua ikatan tunggal. Virus ini terdiri dari dua segmen RNA, Segmen RNA1 mengkodekan dua protein replikasi virus non-struktural, sedangkan RNA2 mengkodekan protein kapsid struktural (Thiery, *et al.*, 2006). Betanodavirus memiliki RNA rantai tunggal (ssRNA), berbentuk icosahedral berdiameter 25-30 nanometer (nm). Virus ini termasuk jenis *noviridae* yang sangat ganas dalam menginfeksi ikan laut, serta menyebabkan kematian masal terutama pada stadia larva (Prajitno, 2008). Yanuhar (2011), menambahkan VNN termasuk keluarga *Nodaviridae* yang menginfeksi ikan termasuk genus *Betanodavirus* yang menyerang ikan air laut. Morfologi virus VNN disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Viral Nervous Necrosis (VNN) (Tang, *et al.* 2002)

2.3.2 Habitat dan Distribusi

Di Indonesia VNN ditemukan menyerang sebagian besar populasi ikan laut terutama kakap dan kerapu. Virus ini dapat menyebabkan mortalitas 100 % pada ikan laut. Penyakit yang disebabkan virus ini terutama menyerang ikan yang berada pada stadia larva atau juvenil. Virus ini menyerang bagian tubuh otak dan mata, dengan gejala klinis ikan dengan tingkah laku berenang tidak normal serta diam didasar perairan. (Sudaryatma dan Lestari, 2014)

Viral Nervous Necrosis (VNN) pertama kali ditemukan dipenetasan *Parrotfish oplegnathus fasciatus* Jepang pada tahun 1991 dan sejak saat itu penyakit ini sering menyerang pada tahap larva dan juvenil pada beberapa spesies ikan laut seperti kerapu di Jepang (Nguyen, *et al.*, 1994). Penyakit ini menyebabkan 100% mortalitas pada 3 jenis ikan kerapu cantang di China, serta menyebabkan mortalitas 80-100% pada larva kerapu cantang dan 100 % mortalitas pada benih kerapu cantang di Singapura (Novriadi, *et al.*, 2015). Penyakit VNN di Indonesia pertama kali ditemukan di daerah Banyuwangi pada budidaya ikan kakap putih. Gejala klinis yang terlihat pada Ikan kakap putih tersebut terlihat lesu, berenang berputar dengan perut di permukaan dan sering muncul ke permukaan dengan berenang secara vertikal (Sudaryatma, *et al.*, 2012).

2.3.3 Mekanisme Infeksi VNN

VNN dapat menginfeksi melalui 3 cara yaitu melalui sel-sel epitel saluran pencernaan, melalui axon yang ada pada permukaan sel serta melalui peredaran darah. VNN yang ada di air bisa masuk melalui permukaan tubuh seperti lendir, sirip dan otot, termasuk via oral sehingga akan dapat menginfeksi sel-sel epitel saluran pencernaan. Virus yang masuk melalui permukaan tubuh dapat langsung bereplikasi di epitel permukaan saluran pencernaan dan masuk ke dalam sistem saraf pusat melalui sistem saraf perifer (Kornses, 2008).

Mekanisme replikasi virus tahap pertama yaitu penempelan dimana reseptor pengikat protein virus dengan reseptor pada permukaan sel inang. Proses selanjutnya penetrasi dimana virus masuk ke dalam sel inang, kemudian virus melakukan uncoating atau melepas bagian luar yang melapisi tubuhnya, lalu translasi genom virus RNA menjadi protein-protein. Replikasi virus terjadi pada organ intraseluler sel inang yaitu pada sitoplasma, retikulum endoplasma, badan golgi, endosom, lisosom, kloroplas maupun mitokondria,. Tahap

selanjutnya pelepasan virus dari membrane plasma sel inang membentuk envelop virus (Lucianus, 2003).

2.4 Parameter Uji

2.4.1 Hematokrit

Hematokrit merupakan persentase volume sel darah merah dalam darah. Kadar hematokrit bervariasi tergantung faktor umur, nutrisi, jenis kelamin, ukuran tubuh dan masa pemijahan. Hematokrit dapat disebut persentase zat padat dalam darah terhadap cairan darah. Nilai hematokrit 20% berarti dalam darah mengandung 20% sel darah merah. Hematokrit merupakan perbandingan antara volume sel darah merah dengan plasma darah (Utami, *et al.*, 2013).

Hematokrit menggambarkan besarnya jumlah sel eritrosit dalam darah ikan, dan juga dapat menggambarkan kondisi sel eritrosit. Nilai hematokrit rendah dapat dijadikan sebagai indikator rendahnya kandungan protein dalam pakan, defisiensi vitamin atau ikan menderita infeksi, sedangkan nilai hematokrit tinggi menunjukkan bahwa ikan dalam keadaan stress (Syawal dan Ikhwan, 2011). Menurut Bond, (1979), nilai hematokrit pada ikan normal berkisar antara 20-30% dan pada beberapa spesies ikan laut berkisar 42 %.

2.4.2 Hemoglobin

Purwanti, *et al.* (2014), Hb berfungsi mengikat oksigen untuk digunakan dalam proses katabolisme untuk menghasilkan energi. Kadar hemoglobin selaras dengan jumlah eritrosit, semakin tinggi kadar hemoglobin semakin tinggi pula jumlah eritrosit. Kadar hemoglobin terkait dengan jumlah eritrosit, akan tetapi belum tentu berkorelasi dengan jumlah eritrosit dikarenakan hemoglobin adalah kandungan pigmen sel darah merah. Kadar hemoglobin tidak akan berubah total, meskipun jumlah eritrositnya naik (Royan, *et al.*, 2014), kadar hemoglobin dibawah kisaran normal menandakan kurangnya kandungan protein pakan,

defisiensi vitamin dan kualitas air buruk atau ikan mendapat infeksi, sehingga dapat dilihat jika kualitas air buruk dapat mengindikasikan rendahnya nilai hemoglobin terutama pada nilai salinitas. Buruknya kualitas air dikarenakan ikan langsung mengalami perubahan lingkungan (salinitas) tanpa proses adaptasi terlebih dahulu.

Maswan, (2009), penentuan kadar hematokrit dan hemoglobin dalam cairan darah berguna untuk melihat kesehatan ikan serta hubungan antara darah dan hormon pada ikan. Kadar hemoglobin adalah banyaknya hemoglobin (g) per 100cc volume darah. Kadar hemoglobin yang normal pada ikan adalah 6 - 11 g% (gram/100cc darah) (Salasia, *et al.*, 2001). Rendahnya kadar Hb dalam darah berdampak pada nilai oksigen dalam darah. Hal ini membuat ikan menjadi lemah dan tidak memiliki nafsu makan serta ikan akan pasif didasar perairan. Rendahnya kadar hemoglobin pada ikan dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti pencemaran, kekurangan nutrisi dan adanya infeksi (Ersa, 2008).

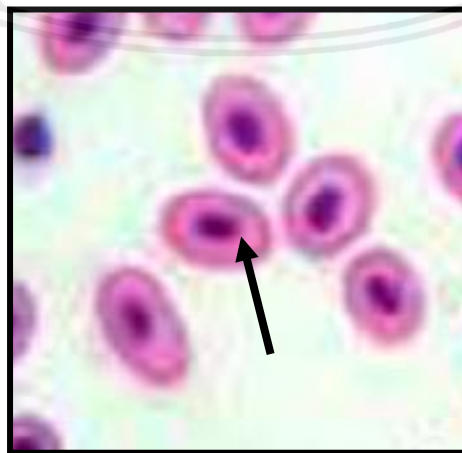
2.4.3 Eritrosit

Eritrosit mempunyai inti sel berbentuk bulat dan oval tergantung pada jenis ikannya. Inti sel eritrosit terletak pada sentral dengan bagian sitoplasma terlihat jernih kebiruan dengan pewarnaan giemsa. Sel darah merah (eritrosit) adalah salah satu komponen darah yang jumlahnya paling banyak dalam susunan komponen darah. Sel darah merah normal berbentuk bikonkaf, dan mengandung hemoglobin yaitu representasi warna merah dalam darah (Setiawan, *et al.*, 2015). Sel darah merah terdiri dari air (65%), HB (33%), dan sisanya terdiri dari lemak, mineral, vitamin, sel stroma, dan bahan organik lainnya (Kusumawati, 2004).

Komponen utama eritrosit yaitu hemoglobin. Hemoglobin bertugas mengangkut oksigen dan sebagian kecil fraksi karbondioksida ke seluruh tubuh. Pada saat darah mengalir ke seluruh tubuh, hemoglobin akan melepaskan

oksigen ke sel dan akan mengikat karbondioksida (Sabilu, 2010). Fungsi utama eritrosit yaitu mengangkut hemoglobin yang membawa oksigen dari insang atau paru-paru ke jaringan. Eritrosit mengandung asam karbonat yang berfungsi mengkatalisis reaksi antara karbondioksida dan air, dengan demikian darah dapat bereaksi dengan karbondioksida dan mentranspor karbondioksida dari jaringan ke insang (Fujaya, 2004).

Kelainan pada eritrosit biasanya adalah pada keadaan dimana eritrosit dan atau masa hemoglobin yang beredar tidak dapat memenuhi fungsinya untuk menyediakan oksigen bagi jaringan tubuh. Normal tidaknya sel darah merah dapat dilihat dari morfologi sel dalam proses analisis darah untuk pendeteksian penyakit (Setiawan, *et al.*, 2015). Pada ikan yang normal, jumlah sel darah merah berkisar antara 1.050.000 - 3.000.000 sel/mm³ darah. Apabila jumlah eritrosit berkurang maka keadaan tersebut ada indikasi masuknya benda asing ke dalam tubuh (Maftuch, *et al.*, 2012). Kadar eritrosit yang rendah menunjukkan terjadi anemia, sedangkan kadar tinggi menunjukkan bahwa ikan dalam keadaan stress (Wedemeyer dan Yasutake, 1977). Status eritrosit dapat memberikan informasi mengenai kondisi fisiologis ikan dan berperan dalam menunjukkan status kesehatan ikan. Morfologi eritrosit disajikan pada Gambar 4 sebagai berikut:

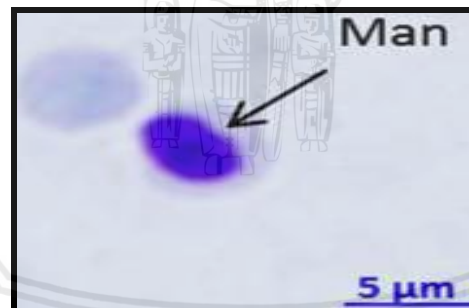


Gambar 4. Eritrosit Ikan (Sayed, *et al.*, 2014)

2.4.9 Makronulei (MAN)

Makronulei merupakan inti abnormal dengan ukuran lebih besar dari inti normal (Sayed, *et al.*, 2014). Frekuensi makronuklei pada ikan normal berkisar 12,2 MAN/100, frekuensi makronuklei akan meningkat pada keadaan ikan sedang terinfeksi (Sanjaya, 2013). Mustaqim (2013) menambahkan, frekuensi pada ikan dengan kondisi normal sekitar 12,24 MAN/100 sel dan akan meningkat pada saat sel pada ikan terinfeksi VNN.

Menurut Sayed, *et al.* (2014), makronuklei merupakan salah satu fenomena abnormalitas sel eritrosit langka pada organisme akuatik. Sayed, *et al.* (2017) menambahkan bahwa nukleus yang abnormal diakibatkan adanya kerusakan benang spindle maupun kerusakan DNA sehingga membentuk fragmen nukleus. Fragmen nukleus membentuk inti yang lebih besar daripada nukleus, hal ini dapat terjadi karena polusi, maupun radikal bebas. Adapun morfologi makronulei disajikan pada Gambar 5 sebagai berikut:



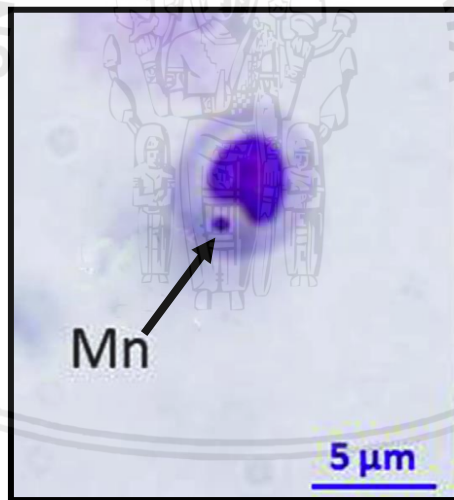
Gambar 5. Morfologi Makronuklei (Sayed, *et al.*, 2017)

2.4.10 Mikronuklei (MN)

Pada setiap individu ikan terdapat sel yang memiliki inti disebut nukleus. Dalam nukleus terdapat materi genetik seperti DNA yang berfungsi mengontrol aktifitas sel dan fungsi utama pada proses reproduksi. Mikronuklei merupakan inti tambahan kecil berbentuk bulat atau lonjong yang terletak diluar inti utama yang merupakan salah satu bentuk kelainan inti sel akibat kesalahan pada proses

pembelahan (Sayed, *et al.*, 2017). Mikronukleui merupakan badan ekstra-nuklear berdiameter $1/3 - 1/20$ dari nukleus utama berbentuk bulat atau lonjong, tekstur warna seperti nukleus utama. Mikronukleui terletak di dalam sitoplasma dan diluar nukleus (terpisah dari nukleus utama). Mikronulei mengandung fragmen kromosom dan atau keseluruhan kromosom yang tidak bergabung dengan nukleus setelah proses pembelahan sel (Tyastuti, *et al.*, 2016).

Jumlah mikronukleui pada ikan bervariasi, tergantung jenis ikan dan kondisi lingkungan. Jumlah mikronukleui pada ikan normal mencapai 11,39 MN/100 sel, sedangkan pada ikan yang terinfeksi VNN mikronukleui meningkat menjadi 23,15 MN/100 sel (Mustaqim, 2013). Semakin tinggi jumlah mikronukleui pada ikan menandakan bahwa ikan mengalami gangguan fungsi fisiologis (Sayed, *et al.*, 2017). Morfologi mikronukleui disajikan Pada Gambar 6.



Gambar 6. Morfologi Mikronulei (Sayed, *et al.*, 2017)

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Gambar sebagian alat yang digunakan disajikan pada Lampiran 1.

No.	Alat	Fungsi
1.	Kontainer plastik	Sebagai wadah untuk ikan hidup
2.	Selang aerator	Sebagai perantara penyuplai oksigen untuk ikan
3.	Batu aerasi	Untuk memecah gelembung oksigen
4.	Seser	Untuk membantu mengambil ikan
5.	Bak penampungan	Sebagai wadah penampungan air laut
6.	Thermometer	Untuk mengukur suhu selama pemeliharaan
7.	DO meter	Untuk mengukur kadar DO selama pemeliharaan
8.	Blower	Sebagai sumber energi untuk suplai oksigen.
9.	Autoklaf	Untuk mensterilisasi alat-alat yang digunakan.
10.	Botol sprayer	Sebagai wadah alkohol 70%.
11.	Botol Larutan	Sebagai wadah larutan yang dipakai
12.	Timbangan digital	Untuk menimbang pakan dan kebutuhan <i>D. salina</i> dengan ketelitian 10^{-2}
13.	Cetakan pellet	Untuk membantu dalam pembentukan hasil <i>repelleting</i>
14.	Haemometer	Untuk mengukur kadar hemoglobin
15.	Nampan	Sebagai wadah untuk mencampur pellet dan <i>D. salina</i> pada saat <i>repelleting</i>
16.	<i>HandTally Counter</i>	Untuk membantu menghitung saat pengamatan hematologi
17.	<i>Haemocytometer</i>	Untuk menghitung Jumlah sel - sel darah
18.	Pipet tetes	Untuk mengambil larutan skala kecil
19.	Mikropipet	Untuk mengambil isolate VNN
20.	Timbangan	Untuk menimbang berat pakan
21.	Mikroskop	Untuk membantu melihat dan menganalisis hasil hematologi
22.	<i>Freezer</i> suhu -80°C	Untuk menyimpan isolat VNN
23.	Lap basah	Untuk mengondisikan ikan agar tidak stress
24.	Tabung Mikrohematokrit	Untuk membantu menghitung nilai hematocrit
25.	Sentrifus	Untuk Menghomogenkan Isolat Virus
26.	Refraktometer	Untuk mengukur nilai salinitas
27.	Tempat Pewarnaan	Untuk tempat mewarnai preparat
28.	Coolbox	Untuk wadah penyimpanan es
29.	Toples kaca	Untuk wadah penyimpanan tepung
30.	Timbangan Analitik	Untuk menimbang ekstrak <i>D. salina</i>
31.	Haemometer	Untuk mengukur kadar Hemoglobin
32.	pH meter	Untuk mengukur nilai Ph air

3.1.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang dipakai dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Gambar sebagian bahan yang digunakan disajikan pada Lampiran 2.

No	Bahan	Fungsi
1	Ikan kerapu cantang ukuran 7-8 cm	Sebagai bahan yang diamati selama penelitian
2	Air laut	Sebagai media hidup ikan kerapu cantang
3	Kaporit	Sebagai bahan untuk mensterilisasi air, drum dan toples
4.	Na-thiosulfat	Sebagai bahan untuk menetralkan kaporit
5.	N-heksana	Sebagai larutan untuk ekstraksi <i>D. salina</i>
6.	Alkohol 70%	Sebagai bahan untuk pengkondisian aseptis.
7.	Tisu	Sebagai bahan untuk membersihkan alat-alat yang telah digunakan
8.	Minyak Emersi	Untuk memperjelas objek dan melindungi mikroskop
9.	Tepung <i>D. salina</i>	Sebagai bahan untuk ekstraksi
10.	Pellet Stella No. 2	Sebagai pakan ikan dan bahan untuk <i>repelleting</i>
11.	Isolat VNN	Sebagai bahan untuk ujiantang.
12.	Tube	Sebagai wadah isolat VNN dan darah ikan
13.	Saringan <i>miliopore</i> no. 45 um	Sebagai bahan untuk menyaring virus agar tidak tercampur dengan bakteri
14.	PBS	Untuk mempertahankan konsistensi pH pada isolat virus
15.	Metanol	Sebagai larutan untuk menfiksasi darah
16.	<i>Cover glass</i>	Untuk menutup objek glass
18.	Kertas label	Sebagai penanda alat dan bahan
19.	Akuades	Sebagai larutan untuk membilas preparat saat membuat ulasan
20.	Darah ikan kerapu	Sebagai sampel yang diamati status hematologinya
22.	Pewarna Giemsa	Sebagai larutan pewarna sel darah
23.	Larutan Hayem	Sebagai larutan untuk mematikan sel-sel darah putih
24.	EDTA	Sebagai antikoagulan
25	Objek Glass	Sebagai tempat pembuatan preparat ulas darah
26	Ekstrak <i>D. salina</i>	Sebagai bahan perlakuan
27	Sprit	Untuk mengambil darah dan menginjeksi VNN

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eskperimental. Metode eksperimental adalah metode yang bertujuan untuk menguji pengaruh suatu variabel terhadap variabel lain. Metode ini menerapkan sistem penelitian laboratorium, terutama dalam pengontrolan setiap variable-variabel yang mempengaruhi jalannya eksperimen (Hamdi, dan Bahrudin, 2014).

3.2.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL adalah desain dimana perlakuan dikenakan seluruhnya secara acak kepada unit-unit eksperimen, atau sebaliknya. Sistem pengacakannya tidak memiliki batasan misalnya dengan adanya pemblokkan dan pemindahan perlakuan terhadap unit-unit eksperimen, dan diperoleh desain yang diacak secara lengkap atau sempurna. Bentuk sistem ini sederhana, dengan desain yang digunakan banyak digunakan pada sistem penelitian dibeberapa penelitian pada umumnya (Siska dan Salam, 2012). Rancangan acak lengkap (RAL) pada umumnya digunakan untuk alat, bahan, media dan kondisi lingkungan yang homogen. Metode ini hanya bisa digunakan di ruang terkontrol seperti laboratorium (Yudha *et al.*, 2013).

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan *D. salina* dan penginfeksi VNN dengan perlakuan berupa dosis *D. salina* pada pakan. Pada penelitian ini digunakan 1 kontrol pembanding yaitu kontrol negatif. Kontrol negatif yaitu sebagai perlakuan sampel tanpa pemberian *D. salina* dan dengan penginfeksi VNN. Pada penelitian ini digunakan empat perlakuan dengan pengulangan sebanyak tiga kali, sedangkan kontrol hanya sebagai pembanding. Terdapat 1 kontrol yang digunakan yaitu kontrol negatif. Dari perlakuan tersebut diperoleh total sampel sebanyak 15 sampel.

Adapun perlakuan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

K : Perlakuan penginfeksi VNN tanpa pemberian *Dunaliella salina* 0 mg/kg pakan.

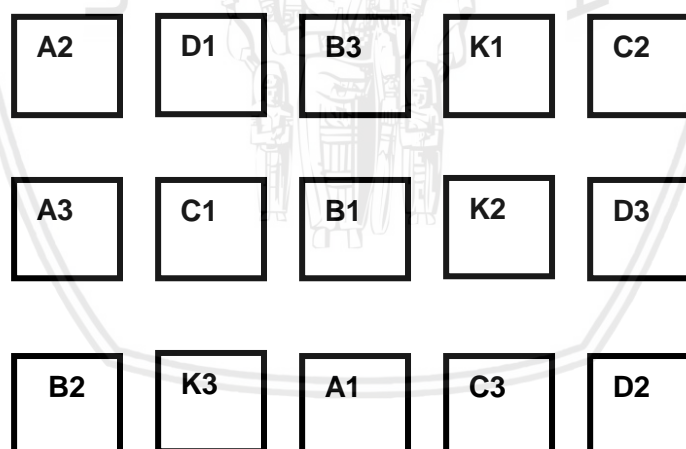
A : Perlakuan penginfeksi VNN dengan pemberian *Dunaliella salina* 250 mg/kg pakan.

B : Perlakuan penginfeksi VNN dengan pemberian *Dunaliella salina* 300 mg/kg pakan.

C : Perlakuan penginfeksi VNN dengan pemberian *Dunaliella salina* 350 mg/kg pakan.

D : Perlakuan penginfeksi VNN dengan pemberian *Dunaliella salina* 400 mg/kg pakan.

Denah penelitian disajikan pada Gambar 7, berikut ini:



Gambar 7. Denah Penelitian

3.3 Teknik Pengumpulan Data

Data adalah bahan keterangan dalam suatu objek penelitian yang diperoleh. Teknik pengumpulan data bertujuan untuk mendapatkan data sebagai bahan untuk menganalisa hasil penelitian. Penelitian ini menggunakan dua jenis dan sumber data yang digunakan yaitu data primer dan data sekunder.

3.3.1 Data Primer

Data primer adalah data yang diperoleh secara langsung melalui pencatatan hasil observasi, wawancara dan partisipasi aktif. Menurut Hasan (2002), data primer merupakan data yang diperoleh secara langsung di lapangan oleh orang yang melakukan penelitian. Data ini diperoleh secara langsung dengan melakukan pengamatan dan pencatatan dari hasil observasi, wawancara, dan partisipasi aktif.

3.3.2 Data Sekunder

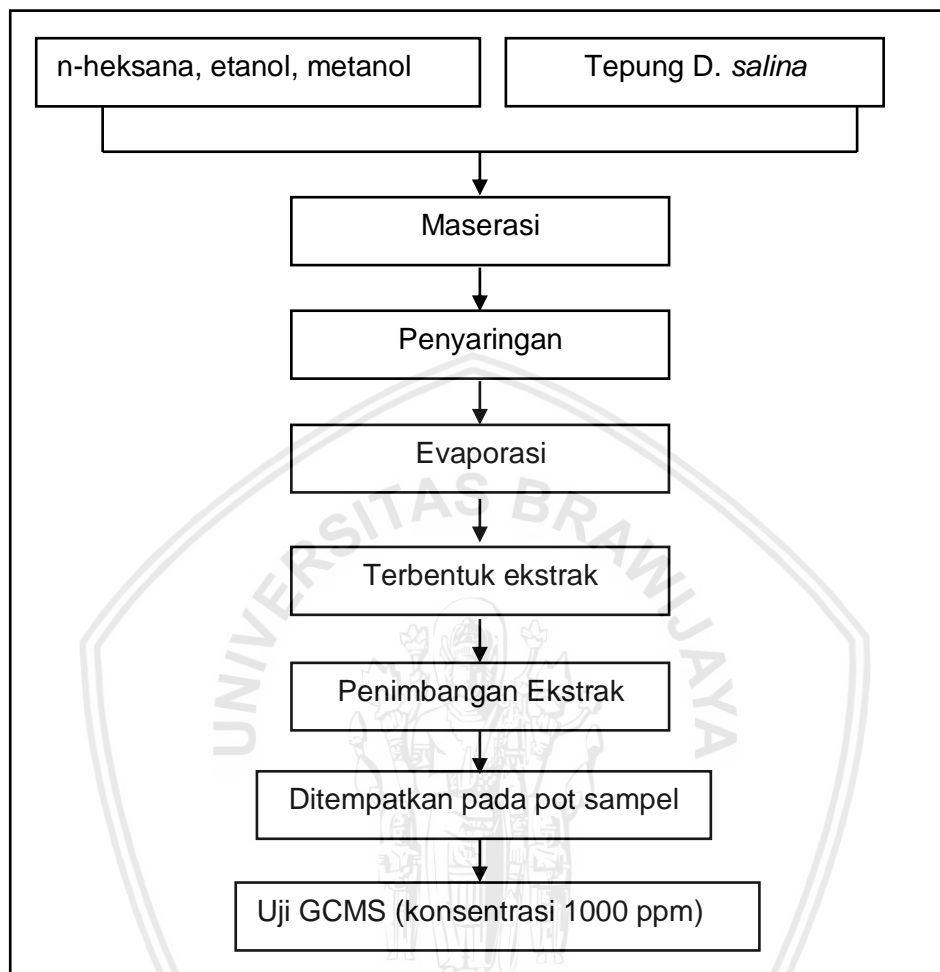
Menurut Deitiana (2009), data sekunder merupakan data penelitian yang diperoleh secara tidak langsung atau melalui media perantara. Metode pengumpulan data sekunder menurut Kuncoro (2013), yaitu mengumpulkan data-data yang berasal dari buku-buku literatur, dokumen, brosur dan sumber kepustakaan kemudian mencari sumber lain yang berhubungan dengan obyek penelitian.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan yaitu tahap awal dalam pembuatan ekstrak *D. salina* menggunakan tiga pelarut n-heksan, etanol, dan metanol. Maserasi dilakukan dengan merendam 30 gram tepung *D. salina* dan 150 ml untuk masing-masing pelarut selama 24 jam dengan perbandingan bahan dan pelarut 1 : 5, setelah direndam filtrat disaring dan pelarut n-heksan menghasilkan filtrat sebanyak 80 ml, etanol sebanyak 120 ml dan metanol sebanyak 130 ml. Hasil filtrat kemudian dilakukan evaporasi menggunakan rotaror evaporator dengan suhu 50°C akan terbentuk ekstrak sebesar 0,13 gram untuk n-heksan, 0,39 gram etanol dan 0,92 gram metanol. Hasil ekstrak selanjutnya diuji kandungannya menggunakan metode GCMS (*Gas Chromatography and Mass Spectroscopy*).

Prosedur penelitian pendahuluan yang mengacu pada Agustini dan Kusmiati (2012) disajikan pada Gambar 8.



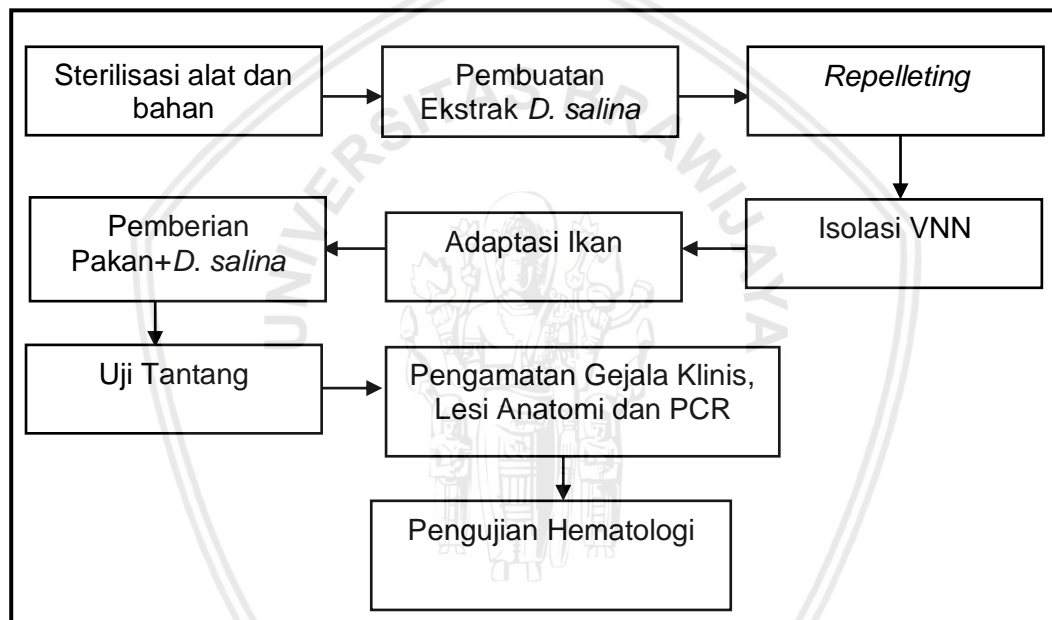
Gambar 8. Prosedur Penelitian Pendahuluan

Berdasarkan hasil uji GCMS diperoleh pelarut yang terbaik yaitu n-heksan karena senyawa n-heksan mengandung *naphthaline*, fenol dan tetradekana (Yuwanita *et al.*, 2019 belum di publikasikan). *Naphthaline* telah teridentifikasi sebagai senyawa antimikroba yang dapat digunakan untuk melawan patogen. Senyawa ini juga dapat digunakan untuk toksisitas akut, anti inflamasi dan anti analgesik (Rokade dan Sayed, 2009), sedangkan senyawa fenol dapat digunakan dalam pencegahan penyakit yang melibatkan radikal bebas dengan mengurangi stres dan menghambat oksidasi makromolekul (Pereira, *et al.*, 2007). Senyawa tetradekana sebanyak 34,61 % ditemukan sebagai antibakteri

dalam *Spirulina platensis* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji (Ozdemir, *et al.*, 2004). Penggunaan pelarut n-heksan ini berdasar dari hasil uji dengan GCMS.

3.4.2 Penelitian Utama

Penelitian utama yaitu tahap lanjutan dari hasil penelitian pendahuluan yang nantinya akan dicampur dengan pelet sebagai pakan ikan kerapu cantang guna mencegah infeksi VNN, lalu dilakukan uji hematologi yang mengacu pada Dosim, *et al.*, (2013) prosedur penelitian utama disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Prosedur Kerja Penelitian Utama

a. Persiapan Alat dan Bahan

Wadah yang digunakan untuk pemeliharaan ikan kerapu cantang adalah wadah akuarium sebanyak 5 buah berkapasitas 16 liter. Akuarium sebelum digunakan terlebih dahulu di cuci menggunakan sabun kemudian direndam dengan kaporit 100 ppm selama 24 jam dan dinetralisir dengan menggunakan *Na-Thiosulfat* 50 ppm. Akuarium dibilas dengan air bersih kemudian dikeringkan selama 2 hari lalu siap untuk digunakan sebagai tempat pemeliharaan. Air yang digunakan untuk pemeliharaan ikan sebanyak 15 liter untuk kepadatan 10 ekor

dengan ukuran 7-9 cm. *Aerator set* dipasang pada akuarium untuk suplai oksigen.

b. Sterilisasi Alat dan Bahan

Wadah pemeliharaan ikan kerapu cantang adalah kontainer plastik ukuran 50 liter sebanyak 5 buah yang sebelumnya dicuci dengan sabun kemudian direndam dengan kaporit 100 ppm selama 24 jam dan dinetralkan menggunakan Na-Thiosulfat 50 ppm. Tahap selanjutnya kontainer dibilas dengan air bersih kemudian dikeringkan selama 2 hari lalu siap diisi dengan air laut. Air laut yang digunakan untuk pemeliharaan ikan sebanyak 35 liter untuk kepadatan 10 ekor dengan ukuran 7-9 cm. *Aerator set* dipasang pada kontainer pemeliharaan untuk penyuplai oksigen.

3.4.3 Pembuatan Ekstrak *Dunaliella salina*

Proses ekstraksi *D. salina* menggunakan metode maserasi dengan pelarut dari hasil terbaik uji GCMS yaitu n-heksana dengan perbandingan 1:5 (g/ml). Tahapan maserasi dengan n-heksana yaitu pelarut n-heksana sebanyak 10 mL dan disimpan selama 24 jam dalam ruang gelap. Setelah 24 jam ekstrak disaring untuk memisahkan endapan yang ada (Oktora, *et al.*, 2016). Filtrat yang dihasilkan ditampung dan dikumpulkan kemudian di evaporasi menggunakan vakum rotavapor dengan suhu 50°C selama 30 menit hingga filtratnya mengental (Agustini dan Kusmiati, 2012). Ekstrak *D. salina* ditimbang sesuai dengan dosis yang telah ditentukan.

3.4.4 Repelleting

Pakan buatan yang digunakan untuk *repeletting* adalah pelet dengan merek Stella No.2 dan ekstrak *D. salina*, keduanya ditimbang terlebih dahulu untuk menentukan dosis yang akan digunakan. Dosis tepung *D. salina* yang digunakan yaitu 250 mg, 300 mg, 350 mg dan 400 mg dalam 1 kg pelet. Pelet yang digunakan sebanyak 4 kg untuk 150 ekor ikan kerapu cantang. Pelet

kemudian dihancurkan sampai halus dan disaring dengan saringan teh untuk mendapatkan tekstur yang lebih halus. Tepung *D. salina* ditambahkan ke dalam pelet yang sudah lembut dan ditambah tepung kanji sebagai bahan perekat sebesar 10 gram secara sedikit demi sedikit sambil diaduk-aduk. Bahan yang telah tercampur rata, pellet kemudian dicetak ulang dengan menggunakan cetakan manual agar tidak merusak kandungan bioaktif *D. salina*. Pelet yang telah di cetak, dikeringkan hingga benar-benar kering dan harus segera diberikan ke ikan atau disimpan di ruang kedap udara agar tidak mengurangi kandungan yang terdapat di *D. salina* (Yuwanita *et al.*, 2018).

3.4.5 Isolasi Virus

Prosedur isolasi VNN mengacu pada BPBAP Situbondo yaitu sebagai berikut: pembuatan inokulum virus menggunakan organ target VNN yang didapat dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara yaitu organ mata dan otak, organ diambil dan digerus menggunakan pelet pasta, lalu ditambahkan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,2 dengan perbandingan 1:3 yang selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang telah didapat, disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 selama 30 menit. Supernatan kemudian disaring menggunakan membran filter ukuran 0,45 μm . Hasil isolasi VNN kemudian digunakan pengujian LD₅₀ (*lethal dose*) sebelum digunakan sebagai inokulum ujiantang.

3.4.6 Lethal Dose (LD₅₀)

Tujuan pengujian LD₅₀ adalah untuk mengetahui dosis VNN yang dapat mematikan 50% populasi ikan kerapu cantang dengan prosedur pengujian yang mengacu pada BPBAP Situbondo. Konsentrasi VNN yang digunakan yaitu 10⁵ berdasarkan hasil RT PCR dan 10⁴ sebanyak 0,2 ml dengan pengulangan sebanyak dua kali pada masing-masing perlakuan, lalu diamati hingga terdapat 50% ikan yang mati. Konsentrasi VNN yang dapat mematikan 50% dari populasi

ikan kerapu cantang digunakan acuan untuk tahap uji tantang. Rumus pengenceran konsentrasi VNN yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 10.

3.4.7 Persiapan Ikan Penelitian

Ikan uji yang digunakan adalah ikan kerapu cantang yang diperoleh dari BPBAP Situbondo, Jawa Timur. Ikan kerapu cantang yang digunakan adalah ikan yang sehat dan tidak cacat sebanyak 150 ekor dengan ukuran 7-9 cm. Pemeliharaan menggunakan 15 akuarium dengan kepadatan 10 ekor/akuarium dan diberi aerasi. 12 akuarium digunakan sebagai wadah ikan yang diinfeksi VNN dan pemberian *D. salina* sesuai perlakuan, sedangkan tiga akuarium digunakan sebagai kontrol negatif yaitu ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN tanpa pemberian *D. salina*. Ikan kemudian diadaptasi selama 7 hari agar ikan tidak *stress* saat dilakukan uji penelitian. Selama adaptasi ikan kerapu cantang diberi pakan pellet merk Stella no 2 secara sebanyak 2 kali sehari yaitu pagi hari pukul 08.00 WIB dan sore hari pukul 16.00 WIB. Penyiponan pada bak perlakuan dilakukan setiap pagi apabila air telah kotor karena feses dan sisa pakan yang mengedap di dasar bak jika dibiarkan akan menyebabkan meningkatnya kadar ammonia serta dapat menyebabkan ikan kerapu cantang stres. Apabila ikan sudah mampu adaptasi dan respon terhadap pakan dengan baik maka ikan kerapu cantang siap untuk diberikan perlakuan.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Pemberian Pakan

Pelet hasil pencampuran dengan dosis *D. salina* yang sudah ditetapkan yaitu 250 mg, 300 mg, 350 mg dan 400 mg dalam 1 kg pelet diberikan pada ikan kerapu cantang dengan frekuensi pemberian pakan yang mengacu pada Yanuhar (2011), yaitu pemberian pakan dilakukan sebanyak 2 kali sehari yaitu pada pagi hari dan sore hari pada pukul 08.00 WIB dan 15.00 WIB. Pemberian

pakan dilakukan selama 10 hari sebelum dilakukan ujiantang atau penginfeksian VNN.

3.5.2 Uji Tantang

Metode ujiantang yang digunakan pada penelitian mengacu pada hasil uji LD₅₀ yang dilakukan pada tahap sebelumnya yaitu menggunakan virus VNN sebanyak 0,2 ml/ekor dengan konsentrasi 10⁴ dengan teknik penyuntikan secara intramuscular yaitu penyuntikan pada punggung ikan dengan tujuan agar ikan tidak mati saat penyuntikan, selanjutnya ikan dipelihara dalam kontainer dan ditambah aerasi.

3.5.3 Pengamatan Gejala Patologi Klinis

Pengamatan gejala klinis yang dilakukan yaitu selama 4 hari dengan interval waktu 12 jam yakni 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam, 60 jam, 72 jam, 84 jam dan 96 jam pasca infeksi lalu dilanjutkan pengamatan harian selama 2 hari atau hingga nilai infeksi mencapai LD₅₀ (*Lethal Dose*) (Yuwanita, *et al.*, 2018). Berikutnya dapat dilakukan pengambilan sampel darah untuk dilakukan uji hematologi.

3.5.4 Pengamatan Lesi Anatomi

Pengamatan lesi anatomi pada ikan kerapu cantang dilakukan setelah ujiantang VNN ke ikan kerapu cantang dalam waktu interval 96 jam pasca infeksi. Perubahan anatomi yang diamati meliputi sirip dan organ bagian dalam tubuh ikan kerapu cantang. Pengamatan juga dapat dilakukan dengan mengamati keadaan organ dalam tubuh ikan seperti hati dan limfa. Pengamatan organ bagian dalam dilakukan dengan membedah tubuh ikan (Lestari dan Sudaryatma, 2014).

3.5.5 Deteksi VNN dengan PCR

Uji PCR dilakukan dengan tujuan mengonfirmasi adanya infeksi virus VNN pada ikan kerapu cantang. Uji PCR dilakukan pengamatan gejala klinis dan

lesi anatomi. Tahapan konfirmasi VNN dengan PCR berpedoman pada metode BPBAP Situbondo yaitu sebagai berikut:

1. Diekstraksi RNA menggunakan RNA *Extraction Solution*
2. Amplifikasi RNA dalam reaksi RT-PCR dengan sepasang primer yaitu F2 (5'-CGT-GTC-AGT-CAT-GTC-TCG-CT-3') dan R3 (5'-CGA-GTC-AAC-ACG-GGT-GAA-GA-3') dengan reagen dari *GoTaq PCR Core System (Promega)* (OIE, 2019).. Pengaturan suhu pada *thermalcycler* adalah transkripsi balik 48°C selama 45 menit, denaturasi awal 94°C selama 2 menit, amplifikasi pertama 95°C selama 40 detik, amplifikasi kedua 55°C selama 40 detik, amplifikasi ketiga 72°C selama 40 detik, ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit dan *hold* dengan suhu 4°C yang dilakukan sebanyak 40 siklus .
3. Proses dilanjutkan dengan nested PCR menggunakan *GoTaq Green Master Mix* (OIE, 2019). Sepasang primer yang digunakan yaitu NF2 (5'-GTT-CCC-TGT-ACA-ACG-ATT-CC-3') dan NR3 (5'-GGA-TTT-GAC-GGG-GCT-GCT-CA-3'). Pengaturan suhu pada *thermalcycler* adalah denaturasi awal 94°C selama 2 menit, amplifikasi pertama 94°C selama 40 detik, amplifikasi kedua 50°C selama 40 detik, amplifikasi ketiga 72°C selama 40 detik, ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 10 menit dan *hold* dengan suhu 4°C yang dilakukan sebanyak 40 siklus
4. Produk PCR dielektroforesis pada 1,5% *agarose gel* dalam waktu 30 menit menggunakan larutan TAE 1X sebanyak 500 mL dengan voltase 100-150 V
5. Dilakukan pewarnaan menggunakan larutan *Ethidium Bromide* (EtBr) 0,05% selama 10 menit

Langkah terakhir yaitu dilakukan pembacaan hasil menggunakan *UV Gel Documentation*. Hasil positif VNN apabila terlihat garis perpendaran pita DNA

(band) dengan 294 bp (nested), apabila hasil negatif tidak terlihat garis perpendaran pita DNA

3.6 Metode Pengukuran Hematologi

3.6.1 Pengambilan Darah Ikan Kerapu Cantang

Sprit ukuran 1 ml yang telah diberi *Ethylen Diamine Tetra Acetic Acid* (EDTA) sebagai anti koagulan, kemudian ditusukkan pada bagian sekitar linea lateralis tubuh di belakang sirip dorsal ikan. Setelah darah diambil dilakukan pengurutan pada bagian yang diambil darahnya agar darah berhenti mengalir, kemudian ikan dimasukkan dalam air mengalir sampai pulih sadar dan kemudian dikembalikan pada kontainer pemeliharaan, sementara darah dimasukkan dalam tabung eppendorf untuk kemudian dilakukan pengujian (Hastuti dan Karoror, 2007).

3.6.3 Perhitungan Kadar Hemoglobin

Penghitungan kadar hemoglobin dilakukan dengan menggunakan metode Sahli. Menurut Dosim, *et al.* (2013), kadar hemoglobin dapat diukur dengan metode sebagai berikut:

- Sampel darah dihisap menggunakan pipet Sahli hingga skala 20 mm³ atau skala 0,2 ml.
- Ujung pipet dibersihkan dengan kertas tisu.
- Masukkan darah yang telah diambil dari pipet ke dalam tabung Hb-meter yang telah diisi larutan HCl 0,1 N hingga skala 10 (berwarna merah).
- Sampel darah dalam tabung Hb-meter diaduk dengan batang pengaduk pada selama 3 hingga 5 menit.
- Tambahkan akuades ke dalam tabung sampai terjadi perubahan warna pada sampel darah menjadi berwarna larutan standar yang ada dalam Hb-meter.

- Pembacaan skala dilihat dari permukaan cairan yang dicocokkan dengan skala tabung sahli yang dilihat pada skala jalur gr % (kuning) yang berarti banyaknya hemoglobin dalam gram per 100 ml darah.
- Kadar hemoglobin dinyatakan dalam %

3.6.4 Perhitungan Kadar Hematokrit

Menurut Dosim, *et al.* (2013), kadar hematokrit dapat diukur dengan cara sebagai berikut:

- Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung mikrohematokrit hingga $\frac{3}{4}$ bagian tabung.
- Ujung tabung (bertanda merah) disumbat dengan *critoseal*.
- Disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 12.000 rpm.
- Persentase nilai hematokrit diukur dengan mengukur panjang darah yang mengendap (a) dan panjang total volume darah (b) di dalam tabung mikrohematokrit.
- Kadar hematokrit dinyatakan sebagai % volume padatan sel darah yang dihitung dengan rumus sebagai berikut

$$\text{Hematokrit} = \frac{a}{b} \times 100\%$$

3.6.5 Perhitungan Total Eritrosit

Syawal dan Ikhwan, (2011), pada perhitungan eritrosit langkah pertama sampel darah diambil pada vena caudal menggunakan syringe ukuran 1ml masukkan ke dalam evendorf. Ambil sampel darah sebanyak 2 μ l dan ditambahkan 198 μ l larutan Rees & Ecker lalu homogenkan, ambil satu tetes dan diletakan di atas haemositometer kemudian dihitung dan diamati dibawah mikroskop. Hitung jumlah sel dan didapat sebagai jumlah eritrosit. Perhitungan jumlah eritrosit menurut Sari, *et al.* (2012), sebagai berikut:

- sampel darah diambil dengan pipit toma sampai skala 0,5.

- Ditambahkan larutan hayem sebagai pengencer pada sampel darah sampai skala 101 berfungsi mematikan sel sel darah putih.
- Darah dalam pipet thoma dihomogenkan dengan cara menggoyangkan pipet secara perlahan. Dibuang tetesan pertama.
- Darah diteteskan pada haemositometer.
- Dihitung serta diamati dibawah mikroskop dengan bantuan *handtally counter* pada 5 kotak kecil haemositometer 5 x 5000.
- Jumlah eritrosit dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Jumlah eritrosit (sel/mm}^3\text{)} = N \times \frac{1}{5 \text{ area} \times 1/250 \text{ volume}} \times 200 \text{ (pengenceran)}$$

Keterangan:

N: Jumlah eritrosit total terhitung

3.6.6 Pembuatan Preparat Ulas

Menurut Dosim, *et al.* (2013), pembuatan preparat ulas darah langkah pertama rendam gelas objek dalam methanol lalu teteskan sampel darah 10 μL pada gelas objek. Diambil gelas objek kedua letakkan diatas gelas objek pertama sudut 45°. Digeser gelas objek pertama ke belakang sehingga menyentuh sampel darah, lalu gelas objek kedua digeser dengan arah berlawanan sampai membentuk lapisan darah tipis dan keringkan. Fikasasi ulas darah yang sudah kering dengan methanol selama 8 menit dan keringkan. Warnai dengan pewarna giemsa selama 15 menit. Bilas dan cuci dengan air mengalir atau aquadest. Pembuatan preparat ulas dapat digunakan untuk pengamatan jumlah makronuklei dan makronuklei

3.6.7 Makronuklei

Menurut Kousar dan Javed (2015), perhitungan jumlah makronuklei pada darah sel darah merah ikan dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

- Pembuatan preparat ulas
- Dihitung jumlah makronuklei dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah makronuklei} = \frac{\sum \text{Makronuklei}}{\text{Total sel yang dihitung}}$$

3.6.8 Perhitungan Mikronuklei

Metode perhitungan jumlah mikronuklei sel darah merah ikan menurut Kousar dan Javed (2015), sebagai berikut:

- Pembuatan preparat ulas darah
- Dihitung jumlah mikronuklei dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah mikronuklei} = \frac{\sum \text{Mikronuklei}}{\text{Total sel yang dihitung}}$$

3.7 Parameter Uji

3.7.1 Parameter Utama

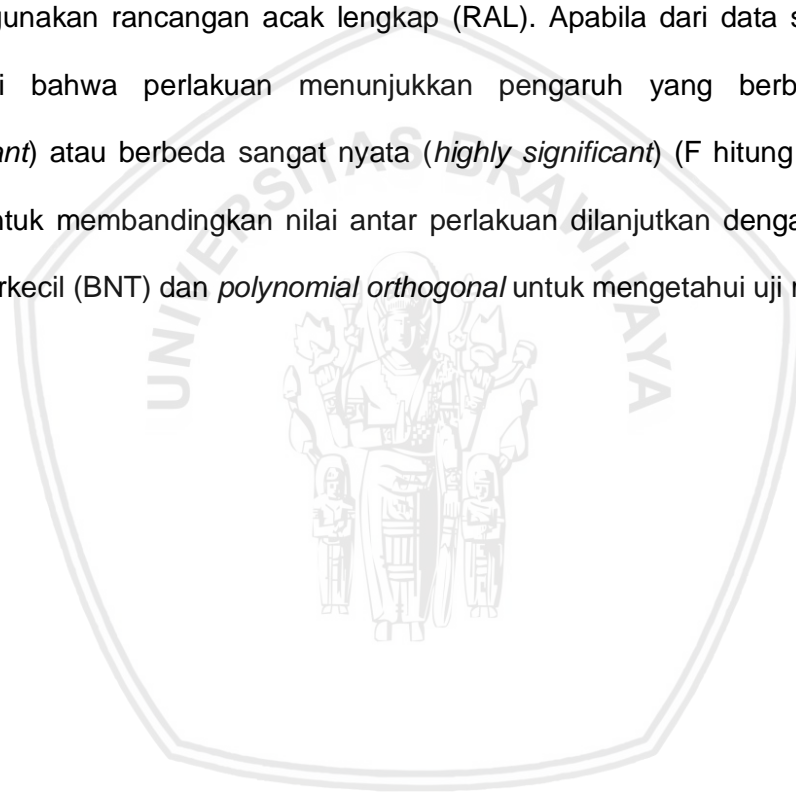
Parameter utama pada penelitian ini adalah uji hematologi ikan kerapu cantang, uji PCR, pengamatan gejala patologi klinis, lesi anatomi dan *survival rate* (SR). Pengamatan ini dilakukan untuk melihat perbedaan ikan kerapu cantang tanpa perlakuan ekstrak *Dunaliella salina*, ikan kerapu cantang yang ditambahkan *Dunaliella salina*, ikan kerapu cantang yang terinfeksi VNN dan ikan kerapu cantang yang diberi penambahan ekstrak *Dunaliella salina* serta diinfeksi VNN, yaitu dengan melihat status hematologi ikan.

3.7.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang diamati dalam penelitian ini adalah kualitas air yang diamati yaitu suhu, pH, salinitas, dan oksigen terlarut. Pengukuran parameter penunjang dilakukan 2 kali sehari yaitu pada pagi hari pukul 08.00 WIB dan pada sore hari 16.00 WIB.

3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dilakukan uji normalitas untuk mengetahui perbandingan mikronuklei dan makronuklei ikan kerapu cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lenceolatus*) pasca diinfeksi virus VNN terhadap pemberian ekstrak *Dunaliella salina*. Uji normalitas digunakan untuk mengetahui kenormalan dari sebuah data, kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan rancangan acak lengkap (RAL). Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*) ($F_{hitung} > F_{tabel}$), maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata terkecil (BNT) dan *polynomial orthogonal* untuk mengetahui uji responnya



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Gejala Patologi Klinis

Gejala klinis merupakan salah satu indikasi bahwa ikan tersebut terjangkit suatu penyakit. Begitu pula dengan ciri-ciri ikan yang terserang VNN dilihat berdasarkan gejala klinisnya. Berdasar penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil pengamatan gejala patologi klinis dan lesi anatomi pada ikan kerapu cantang pasca infeksi VNN yang disajikan pada Tabel 2, sedangkan ciri-ciri dan kondisi gejala klinis ikan kerapu cantang pasca diinfeksi VNN disajikan pada Gambar 10.

Tabel 2. Gejala Patologi Klinis

Waktu Pengamatan	Perlakuan (mg/kg)	Gejala Klinis		
		Nafsu Makan	Tingkah Laku	Warna Tubuh
12 jam	250	Normal	Berenang aktif	Normal
	300	Normal	Gerakan aktif	Normal
	350	Normal	Gerakan aktif	Normal
	400	Normal	Gerakan aktif	Normal
	0	Normal	Berenang aktif	Normal
24 jam	250	Normal	Berenang aktif	Normal
	300	Normal	Berenang aktif	Normal
	350	Normal	Berenang aktif	Normal
	400	Normal	Berenang aktif	Normal
	0	Normal	Berenang aktif	Normal
36 jam	250	Normal	Berenang aktif	Normal
	300	Normal	Berenang aktif	Normal
	350	Normal	Berenang aktif	Normal
	400	Normal	Berenang aktif	Normal
	0	Normal	Berenang aktif	Normal
48 jam	250	Menurun	Berenang pasif	Normal
	300	Menurun	Berenang pasif	Normal
	350	Normal	Berenang aktif	Normal
	400	Normal	Berenang aktif	Normal
	0	Menurun	Berenang pasif	50% menghitam
60 jam	250	Menurun	Berenang pasif, berdiam di dasar	50% menghitam
	300	Menurun	Berenang pasif, beberapa miring	Normal
	350	Normal	Berenang pasif	Normal

Waktu Pengamatan	Perlakuan (mg/kg)	Gejala Klinis		
		Nafsu Makan	Tingkah Laku	Warna Tubuh
72 jam	400	Normal	Berenang aktif, beberapa berdiam di dasar	Normal
	0	Menurun	Berenang pasif	50% menghitam
	250	Menurun	Berenang pasif, berdiam di dasar dengan tubuh miring	50% menghitam
	300	Menurun	Berenang pasif, beberapa miring	50% menghitam
	350	Menurun	Berenang pasif, berdiam di dasar	50% menghitam
	400	Normal	Berenang aktif, beberapa berdiam di dasar	50% menghitam
84 jam	0	Menurun	Berenang pasif dengan tubuh miring	50% menghitam
	250	Menurun	Mayoritas berenang pasif dengan tubuh miring	50% menghitam
	300	Menurun	Mayoritas berenang pasif dengan tubuh miring	50% menghitam
	350	Menurun	Mayoritas berenang pasif dan berdiam di dasar	50% menghitam
	400	Menurun	Mayoritas berenang pasif, beberapa berdiam di dasar	50% menghitam
	0	Menurun	Mayoritas berdiam di dasar dengan tubuh miring	50% menghitam

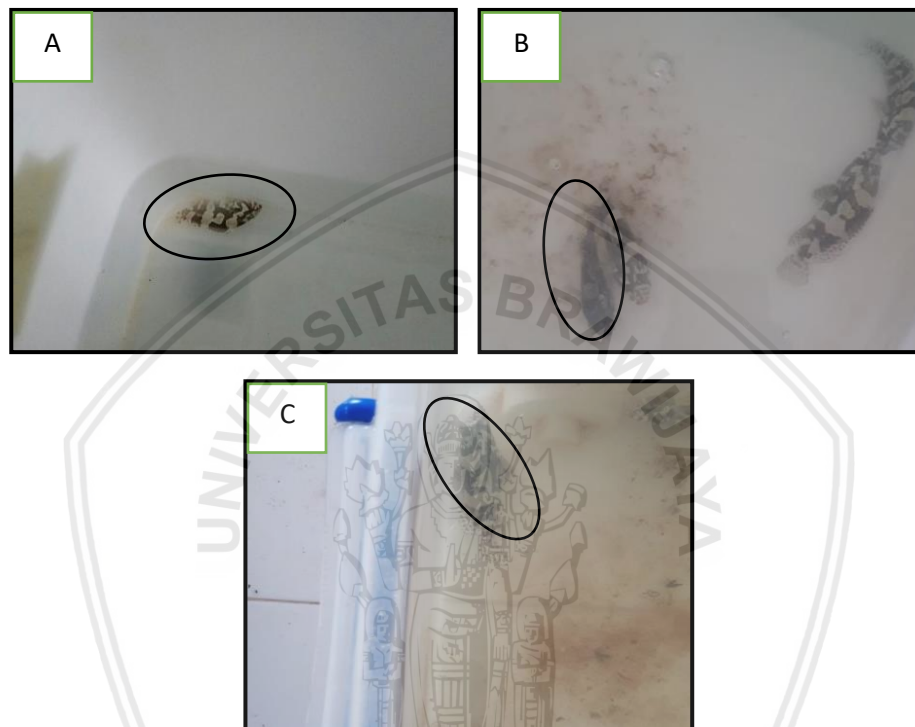
Berdasarkan data Tabel 2 dapat dilihat bahwa pada setiap perlakuan dalam interval waktu pengamatan 12 jam menunjukkan gejala yang berbeda-beda. Gejala klinis dalam 12 jam pasca infeksi pada semua perlakuan menunjukkan ciri nafsu makan, gerakan dan warna tubuh yang masih normal. Pengamatan gejala klinis pada 24-36 jam pasca infeksi, ikan kerapu cantang

menunjukkan nafsu kembali normal dan ikan bergerak normal dan bergerombol pada dasar perairan serta warna tubuh ikan normal pada semua perlakuan, hal ini diduga karena ikan kerapu cantang telah melewati kondisi stress pasca infeksi VNN ke tubuhnya, walaupun belum terdapat tanda-tanda gejala akibat infeksi VNN. Antoro, *et al.* (2004), menyatakan ikan kerapu termasuk jenis ikan karang yang biasa hidup bergerombol di dasar laut, ikan kerapu dalam keadaan sehat dan normal dapat ditandai dengan ciri ikan bergerombol pada dasar perairan serta warna tubuh ikan yang terlihat normal.

Pada pengamatan interval 48-60 jam pasca infeksi ikan kerapu cantang mulai menunjukkan gejala yang berbeda pada perlakuan A, B dan K terjadi penurunan nafsu makan, pergerakan ikan yang pasif dan beberapa ikan kerapu cantang berdiam di dasar serta perubahan warna tubuh yang berubah kehitaman (Gambar 10a), sedangkan pada perlakuan C dan D nafsu makan, gerakan berenang dan warna tubuh masih dalam keadaan normal. Menurut Yuwanita, *et al.* (2018), terjadinya penurunan nafsu makan disebabkan ikan dalam keadaan stres sehingga respon saraf yang bekerja untuk meningkatkan sistem imun mengalami gangguan fisiologis. Jhonny *et al.* (2007) menambahkan, bahwa pada hari kedua pasca infeksi VNN ikan akan mengalami penurunan nafsu makan.

Pengamatan interval 72-84 jam pasca infeksi menunjukkan tingkah laku yang hampir sama pada semua perlakuan, kecuali perlakuan D. Pada perlakuan A, B, C dan K ikan kerapu cantang mengalami penurunan nafsu makan, pergerakan pasif dan mayoritas berdiam di dasar dengan kondisi tubuh miring (Gambar 10b) dan 50% dari total ikan kerapu cantang berwarna gelap kehitaman, sedangkan perlakuan D pada 72 jam pasca infeksi ikan kerapu cantang menunjukkan nafsu makan yang normal, namun ada beberapa ikan kerapu cantang ada yang berdiam diri di dasar dan tubuh mulai menggelap. Santoyo, *et al.* (2012), menyatakan pemberian *D. salina* dapat mengurangi

infektivitas virus dan menghambat replikasi virus karena memiliki kandungan karotenoid. Tingginya dosis pemberian *D. salina* semakin tinggi pula kandungan karotenoid yang terdapat, sehingga dapat menghambat infeksi virus lebih banyak. Pada interval 84 jam pasca infeksi pada perlakuan D mulai terlihat penurunan nafsu makan.

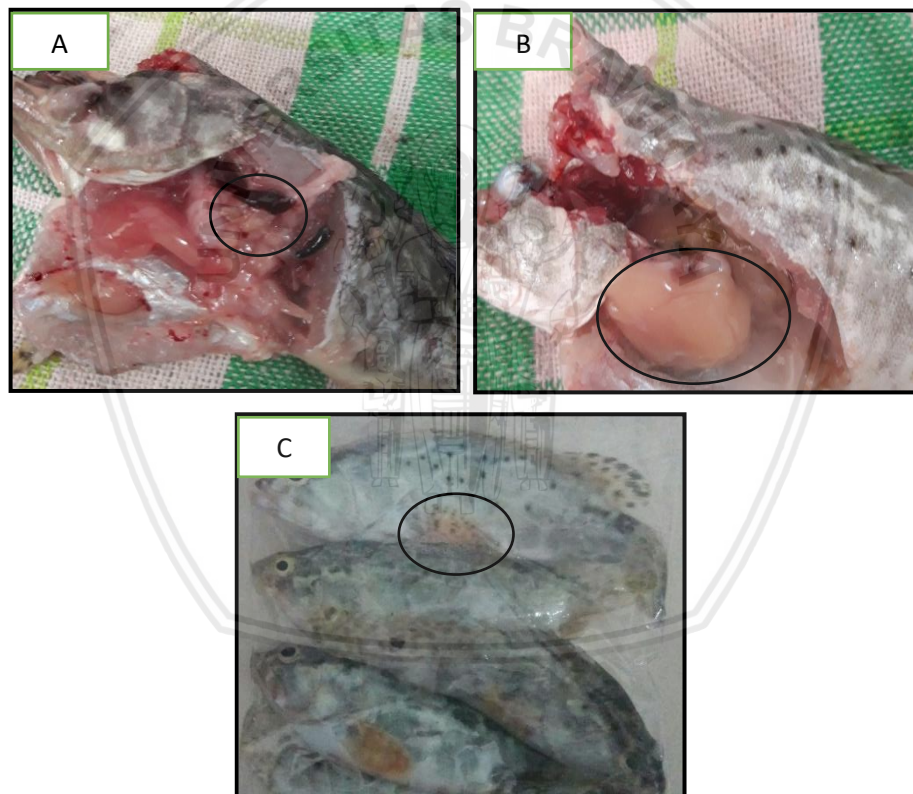


Gambar 10. Gejala Patologi Klinis Ikan Kerapu Cantang Pasca Infeksi VNN
Keterangan: (A) Ikan Berenang Miring, (B) Warna Tubuh Ikan Menggelap dan (C) Ikan Berdiam di Dasar Bak (Dokumentasi Pribadi, 2019)

4.1.2 Lesi Anatomi

Pengamatan lesi anatomi pada interval 96 jam pasca infeksi dengan cara membedah tubuh ikan kerapu cantang, didapatkan ciri pada ikan kerapu cantang dengan ciri sirip pektoral memerah diduga karena ikan mengalami ketidakseimbangan dan bergerak tidak beraturan akibat infeksi VNN sehingga ikan menabrakkan tubuhnya ke dinding sehingga timbul bercak merah pada sirip, terjadi pembengkakan pada limpa dan warna hati memucat. Perubahan pada organ dalam tubuh ikan kerapu tersebut, sesuai dengan pernyataan Gilda dan

Leobert (2011), bahwa pada ikan yang terinfeksi VNN menyebabkan rusaknya hati dan limpa akibat adanya viremia pada tubuh ikan. Sudaryatma dan Lestari (2014) menambahkan, terjadinya pembengkakan pada limpa diduga karena organ limpa menerima aliran darah langsung dari jantung dan pembuluh darah balik dari otak. Pada darah terdapat bahan genetik replikasi dari virus VNN dimana virus pada dasarnya menyebar melalui aliran darah. Keadaan tersebut mengakibatkan terjadinya pembengkakan pada organ dalam tubuh ikan kerapu cantang terutama limpa dan hati yang dilewati aliran darah. Kondisi lesi anatomi ikan kerapu cantang 96 jam pasca infeksi VNN disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Lesi Anatomi Ikan Kerapu Cantang 96 Jam Pasca Infeksi. Keterangan: (A) Limpa Membengkak, (B) Hati Memucat dan (C) Sirip Pektoral Memerah.

4.1.3 *Survival Rate* (SR)

Survival Rate (SR) merupakan tingkat kelulushidupan ikan mulai awal pemeliharaan sampai akhir pemeliharaan. Data SR akan menunjukkan seberapa

besar pengaruh *D. salina* terhadap penghambatan virus VNN. Data SR yang didapatkan pada 15 bak perlakuan selama penelitian disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Data *Survival Rate* (SR)

Dosis (mg/kg pakan)	Jumlah Awal (Ekor)	Jumlah Akhir pada 108 jam (Ekor)	SR (%) setelah ujiantang
0	30	10	33,3
250	30	13	43,3
300	30	16	53,3
350	30	17	56,6
400	30	20	66,6

Dari Tabel 3 dapat diketahui bahwa semakin tinggi pemberian dosis ekstrak *Dunaliella salina* maka semakin tinggi pula nilai SR yang didapat. Nilai SR yang terbaik didapatkan pada dosis ekstrak *D. salina* 400 mg/kg dengan nilai SR yaitu 66,6%. Peningkatan nilai SR diduga karena pengaruh *D. salina* yang dapat menghambat dan mengurangi kerusakan sel akibat pertumbuhan dari virus VNN. Beberapa kandungan *D. salina* yang mampu untuk menghambat dan mengurangi kerusakan dari pertumbuhan virus VNN yaitu senyawa fenol, yang mana setelah dilakukan uji GCMS diketahui bahwa ekstrak *D. salina* mengandung senyawa fenol. Menurut sayed *et al.* (2007) senyawa fenol dapat berperan sebagai antioksidan didalam tubuh dimana jika terdapat infeksi patogen yang masuk dan tidak diimbangi jumlah antioksidan untuk menangkal radikal bebas akibat virus menyebabkan terjadinya kerusakan sel akibat terlalu banyak radikal bebas yang terdapat dalam tubuh, serta dapat menyebabkan kematian pada tubuh ikan yang diinfeksi virus tanpa diimbangi dengan penambahan antioksidan dari luar tubuh. Menurut Maswan, (2009), salah satu radikal bebas yang disebabkan oleh infeksi virus yaitu ROS yang mana ROS ini berhubungan dengan darah ikan terutama eritrosit ikan, ROS yang terlalu banyak dapat menyebabkan terganggunya proses pembentukan sel darah merah dalam tubuh serta dapat merusak organ penghasil eritrosit.

4.1.4 Uji PCR

Data yang digunakan untuk konfirmasi ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN tidak hanya dilakukan melalui gejala klinis patologi dan lesi anatomi, tetapi juga dapat diperkuat dengan hasil uji PCR. Hasil elektroforesis PCR pada ikan kerapu cantang pasca diinfeksi VNN disajikan pada Gambar 12 seperti berikut.



Gambar 12. Hasil Elektroforesis Ikan Kerapu Cantang Positif VNN. Keterangan: 1. Marker, 2. Kontrol negatif, 3. Kontrol positif (terdapat VNN), 4. Sampel positif VNN.

Berdasarkan gambar di atas, marker yang digunakan dalam uji PCR di BPBAP Situbondo dimulai dari fragmen 100 *base pair* (bp). Pada fragmen 294 bp menunjukkan pita yang berpendar sejajar dengan ukuran marker atau kontrol negatif, sedangkan pada kontrol positif tidak terdapat pita berpendar. Hasil PCR yang didapat positif terinfeksi VNN dan sesuai dengan hasil gejala klinis patologi dan lesi anatomi yang ditimbulkan setelah ikan kerapu cantang diinjeksi dengan VNN. Hal ini sesuai dengan pendapat Novriadi *et al.* (2015), metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi virus secara akurat yakni menggunakan uji PCR. PCR merupakan metode yang dapat digunakan dalam penentuan kandungan materi genetik baik DNA maupun RNA. Pengamatan hasil negatif dari PCR dapat dilihat dari ada atau tidaknya fragmen DNA pada kontrol negatif.

4.1.5 Hematologi Ikan Kerapu Cantang

Pemeriksaan hematologi pada ikan telah banyak dilakukan untuk mengetahui gejala dan penyebab infeksi penyakit serta untuk mendiagnosa suatu penyakit. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan hematologi ikan kerapu cantang yang meliputi jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, kadar hematokrit, jumlah makronuklei dan mikronuklei sel darah merah. Diperoleh hasil penelitian pada setiap parameter darah sebelum dan setelah uji tantang disajikan pada Tabel 4 dan Tabel 5 sebagai berikut:

Tabel 4. Rerata Eritrosit, Hemoglobin, Hematokrit, Makronuklei dan Mikronuklei Sel Darah Ikan Kerapu Cantang Sebelum Diuji Tantang dengan VNN (setelah diberi perlakuan mikroalga *D. salina* selama 10 hari)

Dosis (mg/kg pakan)	Eritrosit (sel/mm ³)	Hemoglobin (%)	Hematokrit (%)	Makronuklei (MAN/100 sel)	Mikronuklei (MN/100 sel)
0	6,27 ± 0,06 ^a	6,03 ± 0,06 ^a	20,67 ± 0,58 ^a	11,65 ± 0,11 ^a	11,33 ± 0,08 ^a
250	6,35 ± 0,02 ^b	6,60 ± 0,20 ^b	26,00 ± 1,00 ^b	9,91 ± 0,58 ^b	8,92 ± 0,08 ^b
300	6,38 ± 0,02 ^b	6,63 ± 0,25 ^b	26,33 ± 0,58 ^b	8,71 ± 0,49 ^c	8,20 ± 0,50 ^c
350	6,44 ± 0,02 ^c	7,47 ± 0,25 ^c	29,00 ± 1,00 ^c	8,46 ± 0,18 ^c	7,61 ± 0,09 ^d
400	6,46 ± 0,01 ^c	7,57 ± 0,15 ^c	29,33 ± 1,00 ^c	7,81 ± 0,23 ^d	7,16 ± 0,68 ^e

Tabel 5. Rerata Eritrosit, Hemoglobin, Hematokrit, Makronuklei dan Mikronuklei Sel Darah Ikan Kerapu Cantang Setelah Diuji Tantang dengan VNN

Dosis (mg/kg pakan)	Eritrosit (sel/mm ³)	Hemoglobin (%)	Hematokrit (%)	Makronuklei (MAN/100 sel)	Mikronuklei (MN/100 sel)
0	6,06 ± 0,02 ^a	4,50 ± 0,10 ^a	10,67 ± 0,58 ^a	19,34 ± 0,52 ^a	20,99 ± 0,30 ^a
250	6,22 ± 0,02 ^b	5,00 ± 0,52 ^b	15,67 ± 1,15 ^b	14,76 ± 1,21 ^b	17,23 ± 1,37 ^b
300	6,23 ± 0,03 ^b	5,17 ± 0,46 ^b	16,67 ± 1,15 ^b	14,11 ± 0,37 ^b	15,90 ± 0,66 ^c
350	6,28 ± 0,02 ^c	5,73 ± 0,15 ^c	19,00 ± 1,00 ^c	12,33 ± 0,55 ^c	14,48 ± 0,49 ^d
400	6,30 ± 0,03 ^c	5,87 ± 0,21 ^c	20,00 ± 1,00 ^c	11,48 ± 0,31 ^d	13,79 ± 0,56 ^d

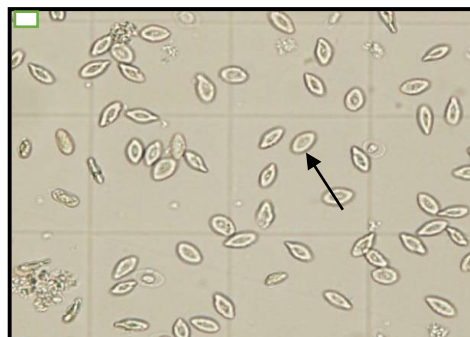
a. Jumlah Eritrosit

Dari penelitian yang dilakukan diketahui bahwa semakin tinggi dosis ekstrak *D. salina* yang digunakan semakin meningkat pula jumlah eritrosit yang didapat. Diketahui bahwa nilai rerata tertinggi didapatkan pada perlakuan D sebesar 6,52 sel/mm³. Sedangkan nilai rerata terendah didapatkan pada perlakuan kontrol tanpa pemberian *D. salina* sebesar 6,04 sel/mm³. Menurut Alit

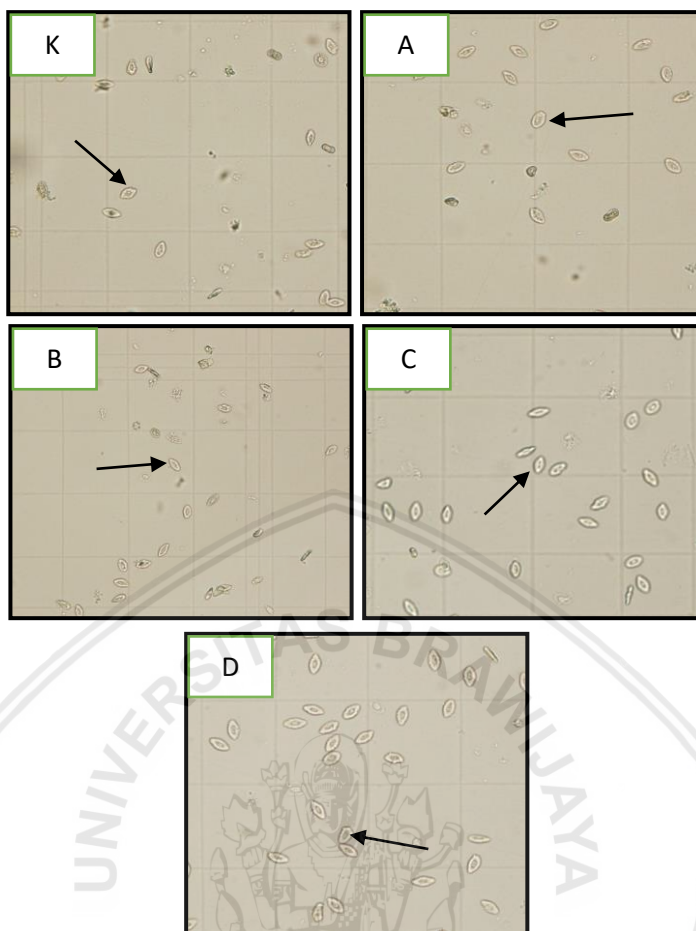
et al. (2007), peningkatan jumlah eritrosit disebabkan oleh kandungan karotenoid pada *D. salina* yang dapat membantu proses pembentukan sel darah merah pada jaringan limfomyeloid serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Vonshak, (1986), menambahkan bahwa senyawa karotenoid yang terkandung pada mikroalga laut dapat menstimulasi proses hematopoiesis atau proses pembentukan darah. Menurut Kusbandari dan susanti *et al.* (2017), selain berfungsi sebagai antioksidan, senyawa karotenoid juga dapat memicu sekresi erythropoietin (EPO). EPO merupakan hormon glikoprotein yang diproduksi oleh sel dinding kapiler peritubular pada ginjal. EPO berfungsi dalam mengatur produksi sel eritrosit yaitu mengontrol proliferasi eritrosit serta mengatur diferensiasi sel eritroid berkembang menjadi eritrosit matur. Berdasarkan hasil uji GCMS didapat kandungan fenol pada ekstrak *D. salina* yang berperan sebagai antioksidan bagi tubuh. Nilai eritrosit pada pemberian ekstrak *D. salina* 400 mg/kg setelah diinfeksi VNN berada dalam kisaran normal dengan rerata tertinggi sebanyak 6,30 sel/mm³ yang telah dikonversikan ke Log. atau sebanyak 2.020.000 sel/mm³. Menurut Maftuch, *et al.*, (2012), jumlah eritrosit pada ikan normal yaitu berkisar 1.050.000 - 3.000.000 sel/mm³. Normalnya nilai eritrosit mengindikasikan bahwa kandungan fenol pada *D. salina* dapat menangkal radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh akibat infeksi VNN. Menurut Adam, *et al.* (2013), ketika diserang oleh radikal bebas senyawa fenol mampu mendonorkan atom hidrogen, sehingga senyawa fenol bisa stabil kembali. Senyawa fenol yang terkandung dalam *D. salina* dapat mengurangi kerusakan sel eritrosit karena radikal bebas, maka dari itu semakin dosis ditingkatkan kerusakan jaringan semakin menurun. Hal ini sesuai dengan pendapat Devi, *et al.* (2018), yang menyatakan bahwa pemberian *D. salina* melalui pakan udang dapat meningkatkan respon imun secara signifikan jika dibandingkan dengan pakan udang yang tidak diberi *D. salina*.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan juga diketahui bahwa terjadi penurunan jumlah eritrosit setelah ikan diuji tantang dengan VNN 108 jam (5 hari). Rerata eritrosit terendah didapat pada perlakuan kontrol tanpa pemberian *D. salina* setelah diinfeksi VNN yaitu sebesar 6,04 sel/mm³. Penurunan jumlah eritrosit diduga karena ikan mengalami anemia pasca infeksi VNN. Menurut Royan, *et al.* (2014), jumlah eritrosit yang rendah mengindikasikan bahwa ikan dalam keadaan anemia. Menurut Alamanda (2007), jumlah eritrosit yang rendah mengakibatkan kekurangan oksigen, suplai nutrisi ke sel, jaringan dan organ akan berkurang sehingga menghambat proses metabolisme tubuh. Rendahnya nilai eritrosit pada perlakuan kontrol tanpa pemberian *D. salina* setelah diinfeksi VNN diduga karena tidak adanya antioksidan sebagai pertahanan tubuh dari kerusakan sel akibat ROS. Menurut Sayed, *et al.* (2014), eritrosit merupakan sel yang dapat memproduksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) karena eritrosit berfungsi sebagai pengangkut oksigen untuk proses metabolisme tubuh. ROS akan terus diproduksi pada sel ketika terjadi rangsangan seperti radiasi, infeksi patogen maupun paparan zat-zat tertentu yang masuk ke dalam tubuh ikan.

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh gambaran eritrosit ikan kerapu cantang sebelum dan setelah uji tantang dengan VNN yang disajikan pada Gambar 13 dan Gambar 14 sebagai berikut:

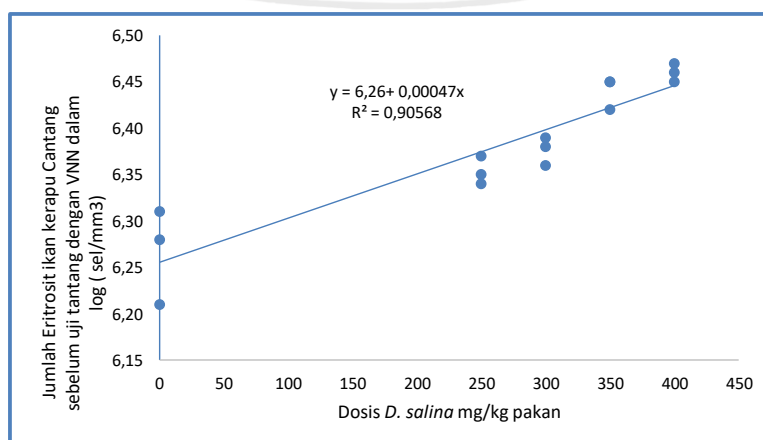


Gambar 13. Eritrosit (tanda panah) Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang Dengan VNN dibawah mikroskop Olympus. (a). perlakuan A, (b). perlakuan B, (c). perlakuan C, (d). perlakuan D, (k). perlakuan K perbesaran 400x (Dokumentasi Pribadi)



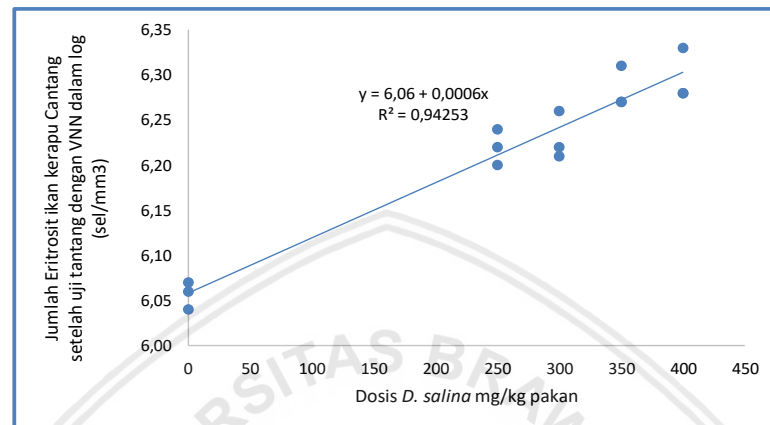
Gambar 14. Eritrosit (tanda panah) Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang Dengan VNN dibawah mikroskop Olympus. (a). perlakuan A, (b). perlakuan B, (c). perlakuan C, (d). perlakuan D, (k). perlakuan K perbesaran 400x (Dokumentasi Pribadi)

Grafik hubungan perlakuan pemberian *D. salina* terhadap jumlah eritrosit sebelum dan setelah uji tantang disajikan pada Gambar 15 dan Gambar 16:



Gambar 15. Grafik Hubungan Dosis Pemberian *D. salina* terhadap Jumlah Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Berdasarkan Gambar 15, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah eritrosit ikan kerapu cantang sebelum uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 6,26 + 0,00047x$ dengan $R^2 = 0,90658$



Gambar 16. Grafik Hubungan Dosis Pemberian *D. salina* terhadap Jumlah Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Berdasarkan Gambar 16, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah eritrosit ikan kerapu cantang setelah uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 6,06 + 0,0006x$ dengan $R^2 = 0,94253$.

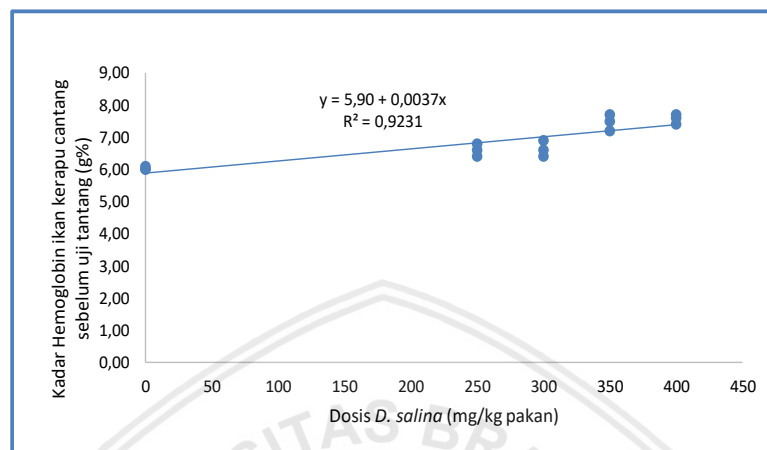
b. Kadar Hemoglobin (%)

Dari penelitian yang dilakukan diketahui bahwa semakin tinggi dosis ekstrak *D. salina* yang digunakan semakin meningkat pula kadar hemoglobin yang didapat. Diketahui bahwa nilai rerata tertinggi didapatkan pada perlakuan D sebesar 7,57%. Sedangkan nilai rerata terendah didapatkan pada perlakuan kontrol tanpa pemberian *D. salina* sebesar 4,50%. Menurut Lagler *et al.* (1977), kadar hemoglobin berbanding lurus dengan jumlah eritrosit karena hemoglobin merupakan pigmen merah yang berfungsi membawa oksigen dalam sel darah merah. Tingginya kadar hemoglobin pada perlakuan D diduga karena adanya senyawa β -karoten yang terkandung pada *D. salina* yang berperan dalam

meningkatkan hematologi ikan. Alishahi, *et al.* (2014), menjelaskan bahwa pemberian *D. salina* dapat meningkatkan hematologi ikan seperti menyebabkan kenaikan pada jumlah eritrosit, jumlah leukosit, dan kadar hemoglobin ikan karena senyawa karotenoid dapat menstimulasi jaringan penghasil darah dalam proses pembentukan darah. Berdasarkan uji GCMS terdapat senyawa fenol pada ekstrak *D. salina* yang sebagai antioksidan yang berperan menangkal radikal bebas akibat infeksi VNN. Menurut Pereira, *et al.* (2007), senyawa fenol dapat mencegah penyakit yang melibatkan radikal bebas dengan mengurangi stres dan menghambat oksidasi makromolekul.

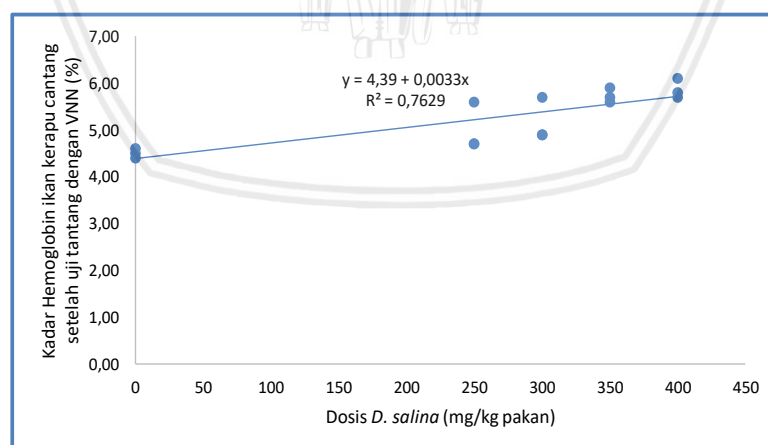
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan juga diketahui bahwa terjadi penurunan kadar hemoglobin setelah ikan diuji tantang dengan VNN 108 jam (5 hari). Rerata hemoglobin terendah didapat pada perlakuan kontrol setelah diinfeksi VNN yaitu sebesar 4,50%. Rendahnya kadar hemoglobin diduga karena adanya infeksi VNN pada tubuh ikan. Menurut Satyantini, (2013), pada saat terjadi infeksi patogen pada tubuh ikan, menyebabkan terjadinya penurunan kadar hemoglobin pada darah sebagai akibat dari terbentuknya ROS pada sel. Hal ini berhubungan dengan pendapat Untari, *et al.* (2014), terbentuknya ROS dapat menyebabkan rusaknya membran eritrosit karena radikal hidroksil yang terdapat pada ROS yang terus menerus terbentuk jika terjadi infeksi patogen yang masuk kedalam tubuh ikan yang bisa mengakibatkan kematian sel dan mempengaruhi nilai eritrosit dan kadar hemoglobin ikan. Membran eritrosit merupakan salah satu membran sel yang sangat rentan terhadap serangan radikal hidroksil. Jika radikal hidroksil menyerang membran eritrosit, maka fluiditas membran sel akan terganggu sehingga dapat menyebabkan lisis bahkan kematian sel sehingga akan terjadi perubahan pada jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin.

Grafik hubungan perlakuan pemberian *D. salina* terhadap kadar hemoglobin sebelum dan setelah uji tantang disajikan pada Gambar 17 dan Gambar 18:



Gambar 17. Grafik Hubungan Dosis Pemberian *D. salina* terhadap Kadar Hemoglobin Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Berdasarkan Gambar 17, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap kadar hemoglobin ikan kerapu cantang sebelum uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 5,486 + 0,005x$ dengan $R^2 = 0,9387$.



Gambar 18. Grafik Hubungan Dosis Pemberian *D. salina* terhadap Kadar Hemoglobin Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji tantang

Berdasarkan Gambar 18, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap kadar hemoglobin ikan kerapu

cantang setelah uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 4,39 + 0,0033x$ dengan $R^2 = 0,7629$

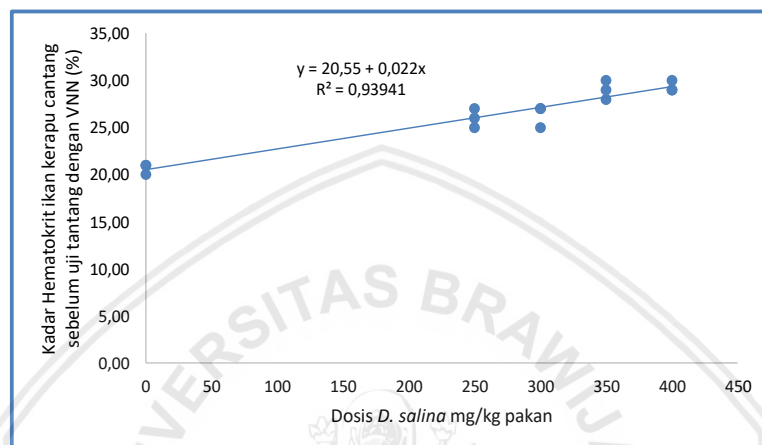
c. Kadar Hematokrit (%)

Dari penelitian yang dilakukan diketahui bahwa semakin tinggi dosis ekstrak *D. salina* yang digunakan semakin meningkat pula kadar hematokrit yang didapat. Diketahui bahwa nilai rerata tertinggi didapatkan pada perlakuan D sebesar 29,33%. Sedangkan nilai rerata terendah didapatkan pada perlakuan kontrol sebesar 10,67%. Menurut Utami *et al.* (2013), hematokrit menunjukkan besarnya volume sel darah merah di dalam darah atau perbandingan antara sel darah merah dengan plasma darah yang dinyatakan dalam satuan persen. Anderson dan Siwiciki (1994), menyatakan bahwa pemberian imunostimulan pada pakan dapat meningkatkan kadar hematokrit pada ikan. Peningkatan kadar hematokrit juga disebabkan meningkatnya jumlah eritrosit. Sesuai dengan pernyataan Alishahi, *et al.* (2014), bahwa semakin tinggi dosis *D. salina* pada pakan maka semakin meningkat pula kadar hematokrit yang dihasilkan dalam tubuh. Jawed *et al.* (2004), menambahkan bahwa nilai hematokrit normal sebanding dengan jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan juga diketahui bahwa terjadi penurunan kadar hematokrit setelah ikan diuji tantang dengan VNN 108 jam (5 hari). Rerata hematokrit terendah didapat pada perlakuan kontrol tanpa pemberian *D. salina* setelah diinfeksi VNN yaitu sebesar 4,50%. Pernyataan ini diperkuat dengan pernyataan Dellman dan Brown (1989), pasca infeksi, ikan mengalami penurunan nafsu makan serta terjadi penurunan pada nilai hematokrit darah. Pada saat terjadi infeksi patogen yang masuk ke dalam tubuh, menyebabkan berkurangnya jumlah dan ukuran sel darah merah pada tubuh, serta terjadi penurunan pada kadar hematokrit. Dianti *et al.* (2013), bahwa rendahnya kadar hematokrit juga dapat menunjukkan terjadinya kontaminasi,

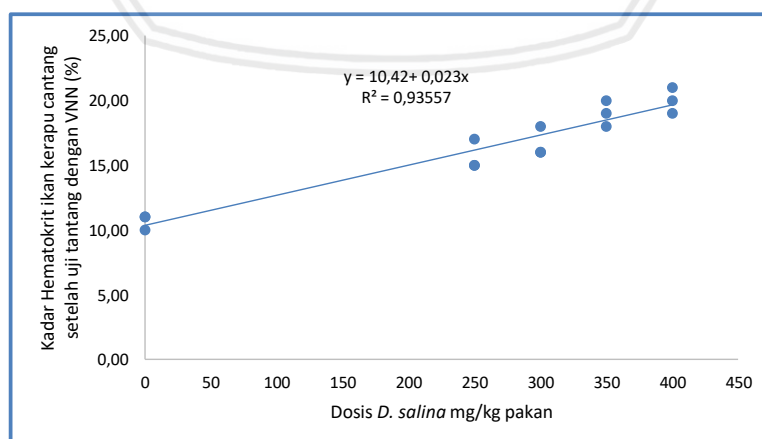
nafsu makan menurun, protein pakan rendah, kekurangan vitamin atau adanya infeksi patogen.

Grafik hubungan perlakuan pemberian *D. salina* pada pakan terhadap kadar hematokrit sebelum dan setelah uji tantang disajikan pada Gambar 19 dan Gambar 20:



Gambar 19. Grafik Hubungan Dosis Pemberian *D. salina* Terhadap Kadar Hematokrit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Berdasarkan Gambar 19, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap kadar hematokrit ikan kerapu cantang setelah uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 20,55 + 0,022x$ dengan $R^2 = 0,93941$.



Gambar 20. Grafik Hubungan Dosis Pemberian *D. salina* terhadap Kadar Hematokrit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji tantang

Berdasarkan Gambar 20, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap kadar hematokrit ikan kerapu cantang setelah uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 10,42 + 0,023x$ dengan $R^2 = 0,9355$.

d. Jumlah Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang (MN/100 sel)

Dari penelitian yang dilakukan diketahui bahwa semakin tinggi dosis ekstrak *D. salina* yang digunakan semakin menurun jumlah mikronuklei yang didapat. Diketahui bahwa nilai rerata tertinggi didapatkan pada perlakuan K sebesar 20,99 MN/100 sel. Sedangkan nilai rerata terendah didapatkan pada perlakuan D sebesar 7,16 MN/100 sel. Menurut Lusiyanti dan Alatas (2011), mikronuklei merupakan materi nukleus (DNA) berbentuk seperti lingkaran kecil dalam sitoplasma di luar nukleus, memiliki struktur dan warna yang serupa dengan nukleus. Penurunan jumlah mikronuklei pada perlakuan A, B, C, dan D diduga karena adanya senyawa fenol yang terkandung pada ekstrak *D. salina* berdasarkan hasil uji GCMS. Menurut Lin, *et al.* (2007), senyawa fenol yang terdapat pada *D. salina* berfungsi sebagai antioksidan dalam tubuh yang efektif untuk mencegah kerusakan oksidatif. Fithriani, *et al.* (2015) menyatakan bahwa senyawa golongan fenol yaitu seperti tanin dan flavonoid. Sumihe, *et al.* (2014) menyatakan bahwa senyawa flavonoid dan tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antivirus, anti bakteri dan anti inflamasi. Menurut Diniatik, *et al.* (2011), mekanisme flavonoid sebagai antivirus yaitu menghambat enzim *reverse transcriptase* virus sehingga RNA virus tidak bisa disintesis menjadi cDNA dan virus tidak bisa bereplikasi sehingga mengurangi tingkat kerusakan DNA akibat replikasi virus pada saat proses pembelahan sel eritrosit. Ginanjar (2007) menambahkan bahwa senyawa tanin juga dapat menghambat aktivitas enzim *reverse transcriptase*, yang berarti juga menghambat pertumbuhan virus yang memiliki gen RNA seperti VNN. Mufti, *et*

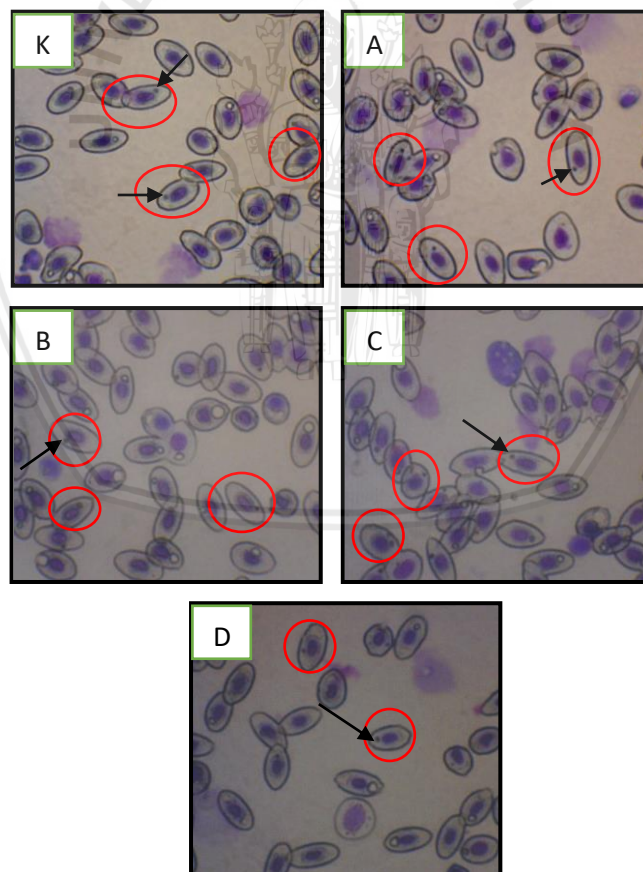
al. (2017) menambahkan bahwa mekanisme senyawa flavonoid yaitu menyebabkan koagulasi atau penggumpalan protein sel. Protein yang menggumpal mengalami denaturasi sehingga tidak berfungsi lagi. Flavonoid dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada sel virus secara total. Menurut Damayanti dan Panjaitan (2014), senyawa tanin dapat menghambat replikasi RNA dan DNA virus. Roslizawaty, *et al.* (2013), mekanisme kerja senyawa tanin dalam menghambat sel virus yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel virus, menghambat fungsi selaput sel (transpor zat dari sel satu ke sel yang lain) dan menghambat sintesis asam nukleat sehingga pertumbuhan virus dapat terhambat. Sayed, *et al.* (2007) menambahkan bahwa senyawa tanin merupakan senyawa organik yang aktif menghambat pertumbuhan mikroba dengan mekanisme merusak dinding sel mikroba dan membentuk ikatan dengan protein fungsional sel mikroba.

Mikronuklei terbentuk dari fragmen asentrik yang gagal bergabung dengan sel anak selama proses pembelahan sel. Mikronuklei juga terbentuk dari sebuah kromosom yang tertinggal, atau tidak terbawa dalam proses mitosis, atau terjadi akibat konfigurasi kromosom yang kompleks, pada waktu proses anafase. Secara teoritis mikronukleus merupakan kromatin sitoplasmik yang tampak sebagai inti kecil terbentuk dari patahan kromosom yang diasingkan dari inti (nukleus) pada tahap anafase pembelahan sel. Setelah mencapai tahap telofase, elemen sentris menjadi inti sel anak, sedang fragmen kromosom yang tertinggal tetap berada pada sitoplasma membentuk inti kecil yang disebut mikronukleus/ mikronuklei (Okonkwo *et al.*, 2011)

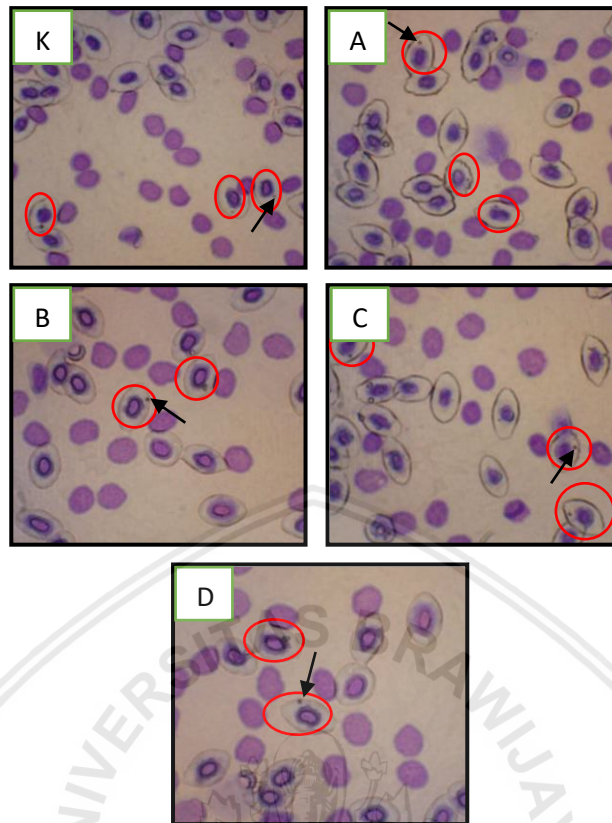
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan juga diketahui bahwa terjadi peningkatan jumlah mikronuklei setelah ikan diuji tantang dengan VNN 108 jam (5 hari). Rerata mikronuklei tertinggi didapat pada perlakuan kontrol setelah diinfeksi VNN yaitu sebesar 20,99 MN/100 sel. Peningkatan jumlah mikronuklei

diduga karena VNN dapat membentuk radikal bebas yang dapat merusak kromosom atau DNA dan menghasilkan ROS pada tubuh. Farghaly dan Hassan, (2012), menyatakan bahwa, *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat menyebabkan pemecahan rantai DNA dan terbentuknya mikronuklei serta, menyebabkan gangguan mekanisme perbaikan DNA. Gropper, *et al.* (2005), menambahkan bahwa, ROS dapat mengganggu sintesis sel DNA dan menginduksi kerusakan DNA untai tunggal yang dapat mengakibatkan terbentuknya mikronukleus dan kematian sel.

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh gambaran Mikronuklei ikan kerapu cantang yang berbeda pada setiap perlakuan sebelum dan setelah ujiantang dengan VNN disajikan pada Gambar 21 dan Gambar 22.

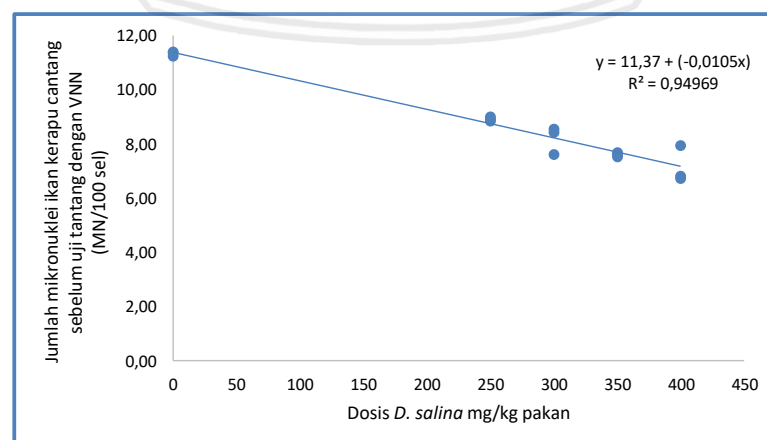


Gambar 21. Mikronuklei (tanda panah) Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang dibawah Mikroskop Olympus Perbesaran 1000 x (Dokumen Pribadi). (K) Perlakuan K-; (B) perlakuan B; (C) perlakuan C; (d) Perlakuan D.



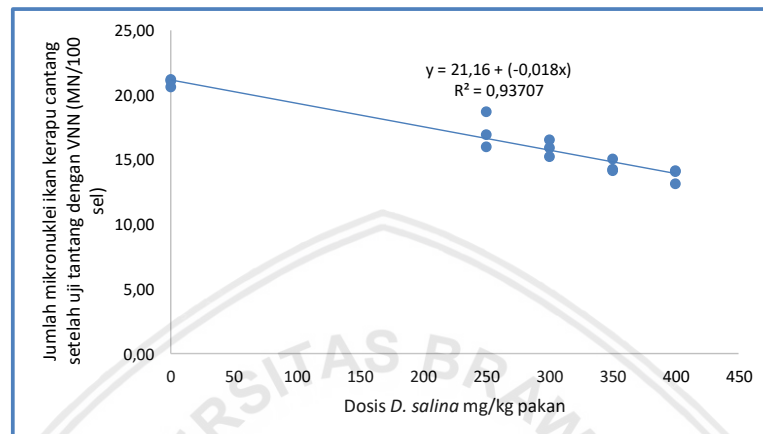
Gambar 22. Mikronuklei (tanda panah) Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang dibawah Mikroskop Olympus Perbesaran 1000 x (Dokumen Pribadi). (K) Perlakuan K-; (B) perlakuan B; (C) perlakuan C; (d) Perlakuan D.

Grafik hubungan perlakuan pemberian *D. salina* terhadap jumlah mikronuklei sebelum dan setelah uji tantang disajikan pada Gambar 23 dan Gambar 24:



Gambar 23. Grafik Hubungan Dosis Pemberian *D. salina* terhadap Jumlah Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Berdasarkan Gambar 23, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap kadar mikronuklei ikan kerapu cantang sebelum uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 11,37 + (-0,0105x)$ dengan $R^2 = 0,94969$.



Gambar 24 Grafik Hubungan Dosis Pemberian *D. salina* Terhadap Jumlah Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

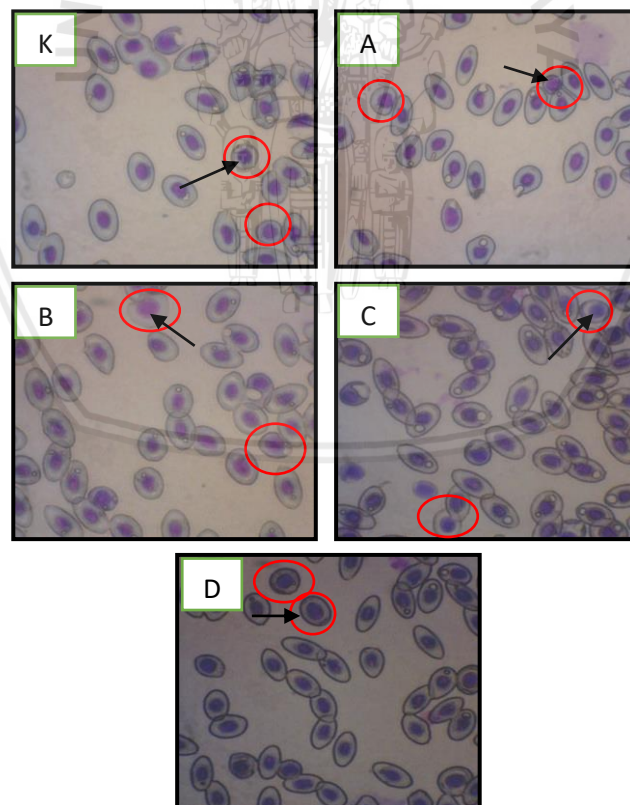
Berdasarkan Gambar 24, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap kadar mikronuklei ikan kerapu cantang setelah uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 21,16 + (-0,018x)$ dengan $R^2 = 0,93707$.

e. Jumlah Makronuklei Ikan Kerapu Cantang

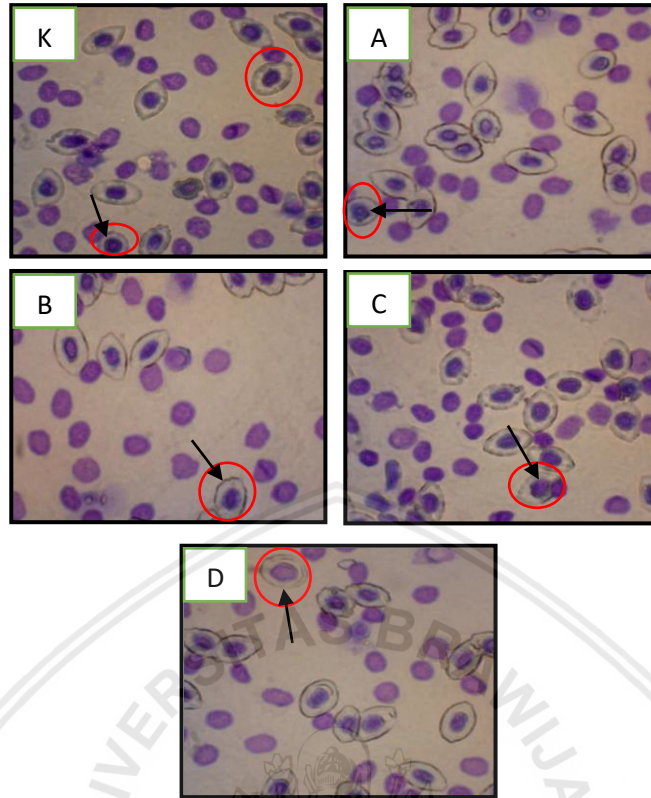
Dari penelitian diketahui bahwa nilai tertinggi didapatkan pada perlakuan D sebesar $6,52 \text{ sel/mm}^3$, sedangkan nilai terendah didapatkan pada perlakuan kontrol sebesar $6,04 \text{ sel/mm}^3$. Dari penelitian yang dilakukan diketahui bahwa semakin tinggi dosis ekstrak *D. salina* yang digunakan semakin menurun jumlah mikronuklei yang didapat. Hal ini diduga karena kandungan karotenoid pada *D. salina* yang dapat berperan sebagai antioksidan. Menurut Werdhasari (2014), antioksidan berfungsi melindungi sel dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh penumpukan radikal bebas dalam tubuh yang dapat menyebabkan stress oksidatif.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan juga diketahui bahwa terjadi peningkatan jumlah mikronuklei setelah ikan diuji tantang dengan VNN 108 jam (5 hari). Rerata mikronuklei tertinggi didapat pada perlakuan kontrol setelah diinfeksi VNN yaitu sebesar 20,99 MN/100 sel. Peningkatan jumlah makronuklei diduga karena VNN dapat membentuk oksigen reaktif yang dapat menyebabkan adanya radikal bebas. Menurut Sayed *et al.* (2014), radikal bebas yang terdapat dalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan DNA dan disfungsi benang spindel, serta menyebabkan terbentuknya makronuklei yang merupakan salah satu bentuk abnormalitas sel akibat radikal bebas.

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh gambaran Makronuklei ikan kerapu cantang yang berbeda pada setiap perlakuan sebelum dan setelah uji tantang dengan VNN yang disajikan pada Gambar 25 dan Gambar 26:

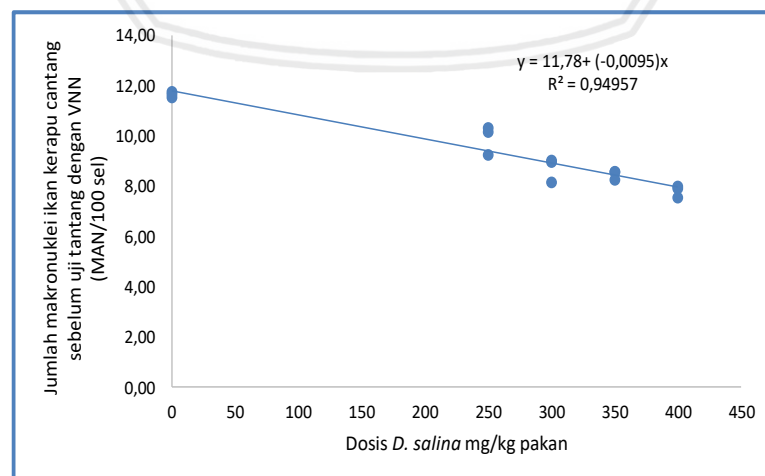


Gambar 25. Makronuklei (tanda panah) Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang dibawah Mikroskop Olympus Perbesaran 1000 x (Dokumen Pribadi). (K) Perlakuan K-; (B) perlakuan B; (C) perlakuan C; (d) Perlakuan D.



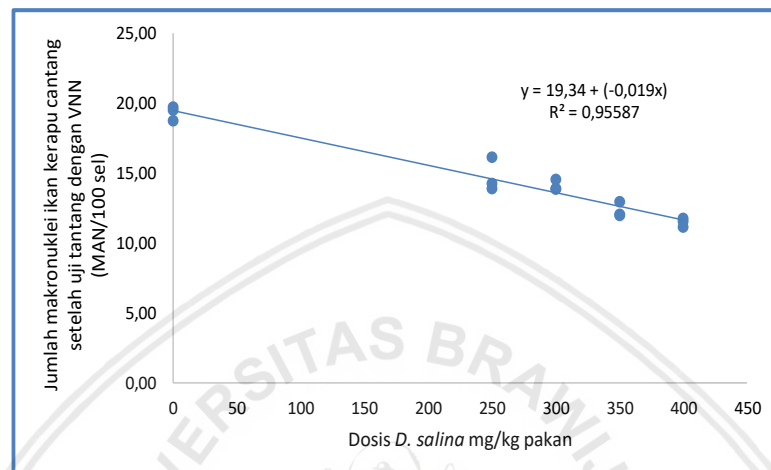
Gambar 26. Makronuklei (tanda panah) Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang dengan VNN dibawah Mikroskop Olympus Perbesaran 1000 x (Dokumen Pribadi). (K) Perlakuan K-; (B) perlakuan B; (C) perlakuan C; (d) Perlakuan D

Grafik hubungan perlakuan pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah makronuklei sebelum dan setelah uji tantang disajikan pada Gambar 26 dan Gambar 27:



Gambar 27. Grafik Hubungan Dosis Pemberian *D. salina* Terhadap Jumlah Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang.

Berdasarkan Gambar 27, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah makronuklei ikan kerapu cantang sebelum uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 11,78 + (-0,0095x)$ dengan $R^2 = 0,94957$.



Gambar 28. Grafik Hubungan Dosis Pemberian *D. salina* Terhadap Jumlah Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Berdasarkan Gambar 28, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah makronuklei ikan kerapu cantang setelah uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 19,34 + (-0,019x)$ dengan $R^2 = 0,95587$.

4.2.1 Kualitas Air

Pada masa pemeliharaan ikan kerapu cantang dilakukan pengukuran kualitas air sebelum uji tantang dengan VNN. Kualitas air yang diamati pada penelitian ini meliputi suhu, derajat keasaman (pH), oksigen terlarut (DO) dan salinitas. Pengukuran kualitas air ini dilakukan pada pagi dan sore hari selama pengamatan berlangsung. Data mengenai pengamatan kualitas air selama pemeliharaan secara lengkap disajikan pada Lampiran 8. Hasil rata – rata pengamatan kualitas air selama penelitian disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Kisaran Hasil Kualitas Air Selama Pemeliharaan

Parameter	Kisaran Hasil	Literatur (Utami, <i>et al.</i> , 2015)
Suhu (°C)	27-30	24-32
Ph	7,0-7,94	7-8,5
DO (ppm)	5,1-8,2	5,0-8,0
Salinitas (ppt)	31-34	28-35

Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air selama pemeliharaan pada tanggal 18 Februari-7 Maret 2019 didapatkan kisaran nilai suhu antara 27-30,° C yang masih berada dalam kisaran normal bagi kehidupan ikan kerapu cantang. Nilai suhu selama pemeliharaan tidak menunjukkan perubahan yang signifikan pada setiap harinya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Novriadi, *et al.* (2015), bahwa suhu optimal untuk budidaya ikan laut yaitu 28-31°C. Suhu yang sesuai dengan ketahanan tubuh ikan kerapu cantang akan mempertahankan pertumbuhan dari ikan tersebut. Menurut Fadhil *et al.* (2011), suhu dapat mempengaruhi tingkah laku, metabolisme, pertumbuhan, reproduksi dan nafsu makan pada ikan.

Nilai derajat keasaman (pH) selama masa pemeliharaan menunjukkan bahwa kisaran yang didapat antara 7,0 – 7,94. Menurut Affan (2012), pH yang sesuai untuk ikan kerapu cantang berkisar antara 7-8,5. Kordi (2010) menambahkan, nilai kisaran pH normal perairan laut tanpa bahan pencemar yaitu 7-9. Jadi dapat disimpulkan pH air selama masa pemeliharaan masih tergolong kisaran yang optimal bagi pemeliharaan ikan kerapu cantang.

Kisaran nilai DO yang didapat selama pemeliharaan yaitu antara 5,1 – 8,2. DO merupakan faktor terpenting dalam menentukan kelangsungan hidup ikan. Kisaran tersebut termasuk nilai yang dapat ditolerir oleh ikan kerapu cantang. Hal ini sesuai dengan pernyataan Maryam (2010), bahwa ikan dapat bertahan hidup pada perairan dengan kadar DO minimal 3 ppm. Adipu, *et al.* (2013) ,menambahkan kisaran optimal DO untuk pemeliharaan ikan kerapu

cantang yaitu 5,0-8,5. Boyd (1990) mengatakan, kisaran nilai DO yang cukup berperan dalam mempercepat proses pertumbuhan, karena proses metabolisme sangat tergantung pada oksigen yang dikonsumsi oleh ikan tersebut

Kadar salinitas selama pemeliharaan yaitu berkisar 31-34 ppt dan termasuk dalam kondisi yang optimal. Hasil tersebut sesuai pernyataan Kordi (2010), bahwa ikan kerapu cantang dapat hidup pada kisaran salinitas 30-35 ppt. Boef dan Payan (2001) menyatakan, salinitas merupakan parameter kualitas air yang dominan dapat mempengaruhi pertumbuhan pada ikan karena berpengaruh secara langsung dalam proses osmoregulasi dari setiap organisme akuatik.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak *D. salina* pada pakan dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap jumlah mikronuklei dan makronuklei sel darah merah ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN. Perlakuan terbaik sebelum dan sesudah uji tantang didapat pada perlakuan D (400 mg/kg pakan) dengan nilai rerata mikronuklei sebesar 7,16 MN/ 100 sel dan 13,79 MN/100 sel, dan nilai rerata makronuklei sebesar 7,81 MAN/100 sel dan 11,48 MAN/100 sel.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disarankan agar pembudidaya menggunakan ekstrak *D. salina* dengan dosis 400 mg/kg untuk pencegahan virus VNN serta dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metode pemanfaatan *D. salina* sebagai antivirus sehingga didapatkan metode yang optimal dalam pemanfaatan *D. salina*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, C., Djarkasi, G. S. S, Ludong, M. M and T. Langi. 2013. Determining total phenol and antioxidant activity extracts of leaf leilem (*Clerodendrum minahassae*). *Cocos*. **2** (3): 1-6.
- Adipu, Y., Lumenta, C., Kaligis, E., dan H. J. Sinjal. 2013. Kesesuaian lahan budidaya laut di perairan Kabupaten Bolaang Mongondow Selatan, Sulawesi Utara. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*. **9** (1): 19-26.
- Affan, J.M. 2012. Identifikasi lokasi untuk pengembangan budidaya keramba jaring apung (KJA) berdasarkan faktor lingkungan dan kualitas air di perairan Pantai Timur Bangka Tengah. *Depik*. **1** (1): 78-85.
- Agustini, N.W.R. dan Kusmayati., 2007, Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*). *J Biod*. **8**(1) : 48 – 53.
- Alamanda, I. E., N. S. Handajani dan A. Budiharjo. 2007. Penggunaan metode hematologi dan pengamatan endoparasit darah untuk penetapan kesehatan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) di Kolam Budidaya Desa Mangkubumen Boyolali. *Biodiversitas*. **8**(1): 34-38.
- Alishahi, M., Zarei, M., Karamifar, M., and M. Mesbah. 2014. Hemato-immunological responses of Heros severous fed diets supplemented with different levels of *Dunaliella salina*. *Fish Physiol Biochem*. **40** (1): 57-65.
- Alit, A. N. K., S. Yuniarti dan A. N. Enggusti. 2007. Konsumsi jus wortel selama kemoterapi meningkatkan kadar hemoglobin pasien kanker serviks stadium II-B. *Jurnal Kesehatan*. **1** (1): 4 hlm.
- Amelia, N dan S. B. Prayitno. 2012. Pengaruh ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) untuk menginaktifkan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada ikan kerapu bebek (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **1** (1): 264-278.
- Anderson, D. P. and A. K. Siwicki. 1994. Simplified Assays for Measuring non-specific Defense Mechanism In Fish. Fish Health Section. Seattle Washington. 344 hlm.
- Antoro, S., H. A. Sarwono dan Sudjiharno. 2004. Biologi Pembenihan Ikan Kerapu. Balai Budidaya Laut Lampung. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Departemen Kelautan dan Perikanan. Lampung. Hlm 5-11.
- Aruoma and B. Halliwell. 1987. Superoxide-dependent and ascorbate-dependent formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. *Biochem J*. **241** (1): 273 hlm.
- Astrid, T., B. S. Rahardja dan E. D. Masithah. 2013. Pengaruh konsentrasi pupuk *Lemna minor* terhadap populasi *Dunaliella salina*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Ilmu Kelautan*. **5** (1): 61-66.

- Baratawidjaja, K. G. 1991. *Imunologi Dasar Edisi 2*. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta. 321 hlm.
- Baratawidjaja, K. G. 2006. *Imunologi Dasar Edisi 7*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 588 hlm.
- Bastiawan, D., Taukhid., M. Alifudin dan T. S. Dermawati. 1995. Perubahan hematologi dan jaringan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi cendawan *Aphanomyces sp.* *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. **7**(3): 105-115.
- Ben-Amotz, A. 2004. Industrial production of microalgal cell-mass and secondary products-major industrial species, handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology edited by amos Richmond copyright. 357-493
- Ben-Amotz, A., P.JEW and S.Rao. 2009. The Algae *Dunaliella*. Biodiversity. Phsisiology. Genomics and Biotechnology, enfield, NH. Science Publisher. New York. 212 hlm.
- Boeuf, G. and P. Payan. 2001. How should salinity influence fish growth. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*. **130** (1): 411-423.
- Borowitzka, M. A and C. J. Siva. 2007. The taxonomy of the genus *Dunaliella* (chlorophyta, dunaliellales) with emphasis on the marine and halophilic species. *Journal Applied Phycology*. **19**(1) : 567-590.
- Bond, C. E. 1979. *Biology of Fishes*. Saunders Colege Publishing. Philadelphia. 514 hlm.
- Boyd, C.E., 1990. *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Birmingham Publishing Co. Birmingham, Alabama. 76 hlm.
- Campo, J. A. D., M. G. Gonzales and M. G. Guerrero. 2007. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol*. **74** (1): 1163-1174.
- Charioui, I., M. Chikhaoui, A. Banaoui, M. Abbassi, F. E. Filali and A. Kaaya. 2016. Growth and carotenoid production in *Dunaliella* spp. isolated from hypersaline habitats in the region of essaouira (Morocco): effect of NaNO₃ concentration. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **4**: 649-659.
- Damayanti, T. A dan M. T. Panjaitan. 2014. Aktivitas antivirus beberapa ekstrak tanaman terhadap *bean common mosaic virus strain black eye cowpea* (bcmv-bic) pada kacang panjang. *J. HPT Tropika*. **14** (1): 32-40.
- Darsi, R., A. Supriadi, dan D. Sasanti. 2012. Karakteristik Kimiawi dan Potensi Pemanfaatan *Dunaliella salina* dan *Nannochloropsis* sp. *Fishtech*. **1**(1): 14-25.
- Deitiana, Tita, 2009. Faktor–faktor Yang Mempengaruhi Kebijakan Pembayaran Dividen Kas. *Jurnal Bisnis dan Akuntansi*, Vol 11 No. 1, hal 57 –64.

- Dellman, H.D., and E.M. Brown. 1989. Textbook of Veterinary Histology 3rd Edition. Lea & Febiger, Philadelphia. 72 hlm.
- Devi, A. S., Santhanam. P, Jeyanthi. S and N. Krishnaveni. 2018. Isolation, Culture, And Application Of Marine Microalga *Dunaliella salina* (Volvocales, Chlorophyceae) as an Aqua Feed Additive. *Basic and Applied Phytoplankton Biology*. p 123-161.
- Dianti, L., S.B. Prayitno dan R.W. Ariyati. 2013. Ketahanan nonspesifik ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang direndam ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2**(4): 63-71.
- Diniatik., A. M. Kusuma dan O. Purwaningrum. 2011. Uji aktivitas antivirus ekstrak etanol daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruitz & Pav) terhadap virus *Newcastle Disease* (ND) dan profil kromatografi lapis tipisnya. **8** (1): 51-70.
- Dosim, E. H. H, F. Yani, dan Agustina. 2013. Efek penginjeksian Produk Intraseluler (ICP) dan ekstraseluler (ECP) bakteri *Pseudomonas* sp. Terhadap gambaran darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmu Perikanan Tropis*. **19** (1): 12 hlm.
- Ersa., I. M. 2008. Gambaran histopatologi insang, usus dan otot pada ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*) di Daerah Cimpea, Bogor. Skripsi. IPB. Bogor. 66 hlm.
- Fadhil, R. J., F. Endan, S. Taip dan M. Salih. 2011. Kualitas air dalam sistem resirkulasi untuk budidaya ikan lele/keli (*Claria Batrachus*). *J. Aceh*. **1** (1): 1-10.
- Farghaly, A.A., Hassan, Z.M. 2012. Methanolic extract of *Lupinus Termis* ameliorates DNA damage in alloxan-induced diabetic mice. *Eur Rev Med Pharmacol. Sci*. **16**(3): 126-132
- Felix, D. M., J. A, L. Elías, A. I. C. Córdova, L. R. M. Córdova, A. L. González, E. C. Jacinto, N. H. Aldaz, F. C. Mendoza, and M. G. B. Zazueta. 2017. Survival of *Litopenaeus vannemei* shrimp fed on diets supplemented with *Dunaliella* sp. is improved after challenges by *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Invertebrata Pathology*. **2011**(17):1-26.
- Fithriani, D., S. Amini, S. Melanie dan R. Susilowati. 2015. Uji fitokimia, kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan mikroalga *Spirulina* sp., *Chlorella* sp., dan *Nannochloropsis* sp. *JPB Kelautan dan Perikanan*. **10** (2): 101-109.
- Fujaya, YF. 2004. Fisiologi Ikan Dasar Pengembangan Teknologi Perikanan. Rineka Cipta. Jakarta. 252 hlm.
- Ghufron. 2010. Panduan Lengkap Memelihara Ikan Air Tawar di Kolam Terpal. Yogyakarta: Lily Publisher. 320 hlm.

- Gilda, D. Lio-Po and Leobert, D. P. 2006. Viral Disease Chapter 1: Aquaculture. 161 hlm.
- Ginanjari, G. 2007. Demam Berdarah. Jakarta: B-First. 120 hlm.
- Gropper, S. S., J.L. Smith and J. L. Groof. 2005. Advanced Nutrition and Human Metabolism Edisi 4. Belmont. USA. 84-98.
- Gusman. E. 2011. Sistem Pertahanan Tubuh Ikan : Respon Pertahanan Adaptif, *Major Histocompatibility Complex* (MHC), Reseptor Sel T, Sitokin. *Jurnal Universitas Borneo Tarakan*. Hlm 54-61.
- Hadiyanto, dan M. Azim. 2012. Mikroalga Sumber Pangan dan Energi Masa Depan. UPT Undip Press. Semarang. 127 hlm.
- Hamdi, A. S., & Bahrudin, E. (2014). Metode Penelitian Kuantitatif Aplikasi Dalam Pendidikan. Yogyakarta: Deepublish. 180 hlm.
- Hasan, I. 2002. Pokok – Pokok Materi Metodologi Penelitian dan Aplikasinya. Jakarta : Ghalia Indonesia. 17 hlm.
- Hastuti, S.D. dan Karoror, R.J. 2007. Pengaruh Pemberian Lps (Lipopolisakarida) terhadap Aktifitas Fagositosis dan Jumlah Eritrosit Darah Ikan Nila (*Oreochromis sp*). *Jurnal Protein*. **15** (1): 5-10.
- Helena, S., M. Zainuri, and J. Suprijanto. 2016. Microalgae *Dunaliella salina* (Teodoresco, 1905) Growth Using the LED Light (Light Limiting Dioda) and Different Media. *Aquatic Prodecia*. **7**(2016): 226-230.
- Jawed, L. A., M. A. Al-Mukhtar and H. K. Ahmed. 2004. The relationship between haematocrit and some biological parameters of the Indian Shad, *Tenualosa ilisha*. *Animal Biodiversity and Conservation*. **27** (2): 47-52.
- Jhonny, F., K. Mahardika, I.N.A. Giri & D. Roza. 2007. Penambahan vitamin c dalam pakan untuk meningkatkan imunitas benih ikan kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* terhadap infeksi *Viral Nervous Necrosis*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **6** (1): 43 – 53
- Kordi, K. M. G. H. 2010. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Rineka Cipta dan Bina Adiaksara. Jakarta. 190 hlm.
- Kousar, S and M. Javed. 2015. Studies on induction of nuclear abnormalities in peripheral blood erythrocytes of fish exposed to copper. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **15** (1): 8 hlm.
- Kuncoro, M. 2013. “Mudah Memahami dan menganalisis Indikator ekonomi”. Yogyakarta: UPP STIM YKPN. 14 hlm.
- Kusbandari, A. dan H. Susanti. 2017. Kandungan beta karoten dan aktifitas penangkapan radikal bebas terhadap DPPH (1,1-difenil 2-pikrilhidrazil) ekstrak buah blewah (*Cucumis melo* var. *Cantalupensis* L) secara spektrofotometri UV-Visibel. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. **14** (1): 37-42.

- Kusumaningrum, H. P., dan M. Zainuri. 2013. Aplikasi Pakan Alami Kaya Karotenoid untuk Post Larvae *Penaeus monodon* Fab. *Ilmu Kelautan*. **18**(3): 143-149.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabat dengan Hewan Coba. Gadjah Mada Press. Yogyakarta. 120 hlm.
- Lagler, K. F., J. E. Bardach, R. R. Miller and D. R. M. Passino. 1977. *Ichthyology*. John Wiley and Sons, Inc. New York-London. 506 hlm.
- Lamers, P. P. 2011. *Metabolomics of Carotenoid Accumulation in Dunaliella salina*. Thesis. Wageningen University. Wageningen. Netherlands. 176 hlm
- Lestari, A. T dan P. E. Sudaryatma. 2014. Studi imunositokimia darah dan suspensi organ kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang diinfeksi virus isolate lapang penyebab *Viral Nervous Necrosis*. *Studi Imunositokimia Darah dan Suspensi Organ Kerapu Macan*. **32**(1): 85-92.
- Lin HH, Chen JH, Huang CC, Wang CJ. 2007. Apoptotic effect of 3,4-dihydroxybenzoic acid on human gastric carcinoma cells involving JNK/p38 MAPK signaling activation. *International Journal of Cancer*. **120** (11): 2306–2316.
- Lukistyowati, I., Windarti dan M. Riauwati. 2007. Analisis hemotologi sebagai penentu status kesehatan ikan air tawar di Pekanbaru. Laporan Hasil Penelitian. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru. hlm 34-50.
- Lusiyanti, Y. dan Z. Alatas. 2011. Uji Mikronuklei dengan Pengeblokan Sitokenesis pada Limfosit dan Aplikasi sebagai Biodosimetri Radiasi. Seminar Nasional Keselamatan Kesehatan dan Lingkungan. VII. 57-71.
- Mahardika, K., I. Mastuti dan Zafran. 2017. Pencegahan infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) penyebab black body disease pada kerapu hibrid dengan vaksin sederhana. Seminar Nasional Kelautan XII. Fakultas Teknik dan Ilmu Kelautan Universitas Hang Tuah Surabaya. 8 hlm.
- Maftuch., H. Nursyam dan Sukarni. 2012. Kajian penggunaan *Ciprofloxacin* terhadap hematologi ikan botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *J. Exp. Life Sci*. **2** (2). 65-69.
- M.Ghufuran. 2010. Penyerapan Nutrisi Endogen, Tabiat Makan dan Perkembangan Morphology Larva Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*). *J. Pen. Perikanan Indonesia*. **2**(2): 13-21.
- Mahardani, D., B. Putri dan S. Hudaidah. 2017. Pengaruh salinitas berbeda terhadap pertumbuhan dan kandungan karotenoid *Dunaliella* sp. dalam media ekstrak daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **7** (1): 50-58.

- Mangampa, M. dan H. S. Suwoyo. 2010. Budidaya Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Teknologi Intensif Menggunakan Benih Tokolan. *J. Ris. Akuakultur*. **5** (3): 351-361.
- Mariskha, P. R dan N. Abdulgani. 2012. Aspek Reproduksi Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus sexfasciatus*) di Perairan Glondonggede Tuban. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. **1**(1): 51-57.
- Marzuqi, M dan D. N. Anjusary. 2013. Kecernaan nutrien pakan dengan kadar protein dan lemak berbeda pada juvenil ikan kerapu pasir (*Epinephelus corallicolus*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. **5** (2): 311-323.
- Maryam. 2010. Budidaya Super Intensif Ikan Nila Merah dengan Teknologi Bioflok. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 87 hlm.
- Maswan, N. A. 2009. Pengujian efektivitas dosis vaksin DNA dan korelasinya terhadap parameter hematologi secara kuantitatif. SKRIPSI Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB Bogor. 58 hlm.
- Mishra, A. and B. Jha. 2009. Isolation and Characterization of Extracellular Substances From Micro-algae *Dunaliella salina* Under Salt Stress. *Bioresoerce Technology*. **100**(2009): 3382-3386.
- Mufti, N., E. Bahar dan D. Arisanti. 2017. Uji daya hambat ekstrak daun sawo terhadap Bakteri *Escheria coli* secara *In Vitro*. **6** (2): 289-294.
- Mustaqim, M. R. 2013. Kuantitas makronuklei dan mikronuklei sel darah ikan kerapu cantang (*Epinephelus* sp.) yang diinfeksi *Viral Nervous Necrosis* pada bak pemeliharaan dengan treatmen Spirulina sp. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. 78 hlm.
- Munday, B.L., J.S Langdon, A. Hyatt dan J. D. Humphrey. 1992. Mass mortality associated with a viral-induced vacuolating encephalopathy and retinopathy of larval and juvenil barramundi, *Lates carcarifer* Bloch. *Aquaculture*. **103** (3-4): 197-211.
- Nguyen, H. D., T. Mekuchi, K. Imura, T. Nakai, T. Nizshizawa, and K. Muroga. 1994. Occurrence of Viral Nervous Necrosis (VNN) in Hatchery-Reared Juvenile Japanese Flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries Sains*. **60**(5): 551-554.
- Noguchi, C. and E. Nikki. 2000. Phenolic antioxidant: A rationale for design and evaluation of novel antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*. **28** (1): 1563-1546.
- Nursyifani, B. C. A. 2017. Produksi Ikan Kerapu. Bisnis. Yogyakarta. 3 hlm
- Novriadi, R., S. Agustatik dan O. N. T. Dwi. 2015. Identifikasi keberadaan *Nervous Necrosis Virus* dan *VNN* pada budidaya ikan laut di wilayah kerja Balai Perikanan Budidaya Laut Batam. *Omni-Akuatika*. **14**(20): 54-62.

- OIE. 2019. Manual diagnostic tests for aquatic animals chapter 1.1.1 viral encephalopathy and retinopathy. 20 p.
- Okonkwo, J. C., M. O. Obiakor and P. C. Nwabude. 2011. Micronuklei profil: an index of chromosomal aberrations in fresh water fishes. *Online J. Anim Feed Res.* **1** (1): 40-45.
- Okora, A. R., W. F. Ma'ruf dan T. W. Agustini. 2016. Pengaruh penggunaan senyawa fiksator terhadap stabilitas ekstrak kasar pigmen β -karoten mikroalga *Dunaliella salina* pada kondisi suhu berbeda. *JPHPI.* **19** (3): 206-213.
- Ozdemir, G., N. U. Karabay, M. C. Dalay dan B. Pazarbasi. 2004. Antibacterial activity of volatile component and various extracts of *Spirulina platensis*. *Phytother. Res.* **18**: 754-757.
- Pereira, J. A., I. Oliviera, A. Sousa, P. Valentao, P. B. Andrade, I. C. F. R. Ferreira, F. Ferreres, A. Bento, R. Seabra dan L. Estevinho. 2007. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicology.* **45**: 2287-2295
- Pradana, D. P., B. Putri, dan S. Hudaidah. 2017. Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Karotenoid *Dunaliella* sp. pada Media Ekstrak Daun Lamtoro *Leucaena leucocephala*. *Scripta Biologica.* **4**(4): 263-267.
- Prajitno, A. 2008. Penyakit Udang-Ikan Virus. UM Press. Malang. 124 hlm.
- Prayogo, I. dan W. Isfanji. 2014. Teknik Pemeliharaan Larva Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus lanceolatus*). *Jurnal Ilmu Perikanan.* **5**(1): 13-19.
- Purwanti, S. C., Suminto, dan A. Sudaryono. 2014. Gambaran Profil Darah Ikan lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Diberi Pakan dengan Kombinasi Pakan Buatan dan Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*). *Journal of Aquakultur Management and Technology.* **3**(2): 53-60.
- Putri, R. R., U. Yanuar dan A. M. Suryanto. 2013. Perubahan struktur jaringan mata dan otak pada larva ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dengan pemeriksaan *Scanning Electron Microscope* (SEM). *MSPi Student Journal.* **1**(1): 1-10.
- Rahmaningsih, S. dan A. I. Ari. 2013. Pakan dan Pertumbuhan Ikan Kerapu Cantang (*Epinephellus fuscoguttatus-lanceolatus*). *Ekologia.* **13**(2): 25-30.
- Razi, F. 2013. Penanganan Hama dan Penyakit pada Ikan Kerapu. Kementrian Perikanan dan Kelautan Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan Press. Jakarta. 23 hlm.
- Rokade, Y. B dan R. Z. Sayyed. 2009. Naphthalene derivatives: a new range of antimicrobials with high therapeutic value. *Rayasan J. Chem.* **2** (4): 972-980.

- Roslizawaty., N. Y. Ramadani, Fakhurrrazi dan Herrialfian. 2013. Aktivitas antibakterial ekstrak etanol dan rebusan Sarang Semut (*Myrmecodia* sp.) terhadap Bakteri *Escheria coli*. *Jurnal Medika Veterinaria*. **7** (2): 91-94.
- Royan, F., S. Rejeki dan A.H.C. Haditomo. 2014. Pengaruh salinitas yang berbeda terhadap profil darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3**(2):109-117.
- Roza, D., F. Johnny dan Tridjoko. 2006. Peningkatan Respon Imun Non-Spesifik Benih Kerapu Bebek, *Cromileptes altivelis* dengan Immunostimulan dan Bakterin terhadap Infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN). *Jurnal Perikanan*, vol. **8** (1): 25-35.
- Thiery, R., J. Cozien, F. Lamour, M. Baud, and A. Schneemann. 2006. Induction of a Protective Immune Response against Viral Nervous Necrosis in the European Sea Bass *Dicentrarchus labrax* by Using Betanodavirus Virus-Like Particle. *Journal Of Virology*. **8**(20): 10201-10207.
- S. Astrid, T., B. S. Rahardja, E. D. Masithah. 2013. Pengaruh Konsentrasi Pupuk *Lemna minor* Terhadap Populasi *Dunaliella salina*. *Jurnal Ilmu Perikanan dan Kelautan*. **5**(1): 61-66.
- Sabilu, K. 2010. Dampak toksisitas nikel terhadap kondisi hematologi ikan bandeng (*Chanos chanos*), studi lanjut respon fisiologis. *Paradigma*. **14** (2): 205-216.
- Saktivel, R., S. Elumalai and M. M. Arif. 2011. Microalgal lipid research, Past, Present : A Critical Review for Biodiesel Production in the future. *Journal of Experimental*. **2**(10): 29-49.
- Salasia, S.I.O., Sulanjari, D., Ratnawati, A., 2001. Studi Hematologi Ikan Air Tawar. *Biologi*. **2**(12). 24 hlm.
- Sanjaya, A. 2013. Status makronuklei dan mikronuklei sel darah ikan kerapu cantang (*Epinephelus* sp.) yang diinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada bak pemeliharaan dengan treatment *Chlorella* sp. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. 96 hlm.
- Santoyo, S., L. Jaime, M. Plaza, M. Herrero, I. R. Meizoso, E. Ibañes and G. Reglero. 2012. Antiviral obtained from microalgae commonly used as carotenoid sources. *J Appl Phycol*. **24**(1): 731-741.
- Sari, N. W., I. Lukistyowati, dan N. Aryani. 2012. Pengaruh Pemberian Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Terhadap Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) Setelah Di Infeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **17**(2): 43-59.
- Satyantini, W. H. 2013. Teknologi produksi fikosianin *spirulina platensis* dan pemanfaatannya sebagai imunostimulan pada ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). TESIS. Institut Pertanian Bogor. BOGOR. 126 hlm.

- Sayed, A. E. H., S. Oda and A. Mitani. 2014. Nuclear cytoplasmic changes erythrocytes of p53-deficient medaka fish (*Oryzias latipes*) after exposure to gamma-radiation. *Mutagen*. **1** (1): 7 hlm.
- Sayed, A. E. H., K. Igarashi, T. W. Asaka and H. Mitani. 2017. Doubles strand break repair and Y-H2AX Information and erythrocytes of medaka (*Oryzias latipes*) after Y-irradiation. *Environmental pollution*. **224** (1): 35-43.
- Setiawan, A., W. Wiharto, dan E. Suryani. 2015. Segmentasi Citra Sel darah Merah Berdasarkan Morfologi Sel. *Jurnal Itsmart*. **3**(1): 1-8.
- Shetty, M., B. Maiti., K. S Santosh., M. N. Venugopal dan I. Karunasagar. 2012. Betanodavirus of marine and freshwater fish: distribution, genomic organization, diagnosis and control measures. *Indian Journal Virol*. **23**(2): 114-123.
- Siska, M. dan R. Salam. 2012. Desain eksperimen pengaruh zeolite terhadap penurunan limbah kadmium (Cd). *Jurnal Ilmiah Teknik Industri*. **11**(2): 173-184.
- Soemarjati, W., A. B. Muslim, R. Susiana, dan C. Saparinto. 2015. *Bisnis dan Budidaya Kerapu*. Penebar Swadaya. Jakarta. 148 hlm.
- Spolaore, P., C. J. Cassan, E. Duran and A. Isambert. 2006. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. **101** (2): 87-96.
- Sudaryatma, P. E., A. T. Lestari, N. L. Sunarsih, K. S. Widiarti, S. N. Hidayah dan D. Srinoto. 2012. Imunositokimia streptavidin biotin: deteksi dini Viral Nervous Necrosis Virus pada lendir ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscogottatus*). *Jurnal Sains Veteriner*. **30** (1): 15 hlm.
- Sudaryatma, P. E dan A. T. Lestari. 2014. Imunohistokimia patogenitas *Viral Nervous Necrosis* isolat lapang bali yang diinfeksi pada kerapu macan budidaya. *Acta Veterinaria Indonesiana*. **2**(2): 54-61.
- Suhermanto, A., S. Andayani, Maftuch. 2011. Pemberian Total Fenol teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Untuk meningkatkan Leukosit dan Diferensial Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Dinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophilla*. *Jurnal Kelautan*. **4**(2): 49-56.
- Sumihe, G., M. R. J. Runtuwene dan J. A. Rorong. 2014. Analisis fitokimia dan penentuan nilai LC₅₀ ekstrak methanol daun liwas. *Jurnal Ilmiah Sains*. **14** (2): 125-128.
- Sulistyowati, Y., 2006. Pengaruh Pemberian Likopen terhadap Status Antioksidan (Vitamin C, Vitamin E dan Gluthathion Peroksidase) Tikus (*Rattus norvegicus* galur Sprague Dawley) Hiperkolesterolemik. Tesis. Program Studi Magister Ilmu Biomedik. Universitas Diponegoro. Semarang. 87 hlm.

- Supriyono, T., R. Murwani dan Nurrahman. 2014. Kandungan beta karoten, polifenol total dan aktifitas “merantas” radikal bebas susu kefir susu kacang hijau (*Vigna radiata*) oleh pengaruh jumlah starter (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Candida kefir*) dan konsentrasi glukosa. *Jurnal Gizi Indonesia*. **2** (2): 65-71.
- Sutarmat, T. dan H. T. Yudha. 2013. Analisis Keragaan Pertumbuhan Benih Kerapu Hibrida Hasil Hibridisasi Kerapu Macan (*Ephinephelus Fuscoguttatus*) dengan Kerapu Kertang (*Epinephelus Lanceolatus*) dan kerapu Batik (*Epinephelus Microdon*). *J. Ris. Akuakultur*. **8**(3): 363-372.
- Syawal, H dan Y. Ikhwan Siregar. 2011. Respon Fisiologis Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*) Pada Suhu Pemeliharaan yang Berbeda *Berkala Perikanan Terubuk*. **39**(1):163-167.
- Tang, L., C. S. Ling, N. K. Krishna, M. Yeager. A. Schneemann, dan J. E. Johnson. 2002. Virus-Like Particles of a Fish Nodavirus Display a Capsid Subunit Domain Organization. *Journal of Virology*. **76**(12): 6370-6375.
- Tran, D., C. Louime, T. Vö, M. Giordano, S. Portilla, N. Doan, D. Tran, T. Mai, and L. Bui. 2013. Identification of *Dunaliella Viridis* Using its Markers. **3**(4). 118-126.
- Tumadang, L. S. N., J. Sampakelo, dan S. Lantu. 2016. Pengaruh Pemberian Beberapa Jenis Pakan pada Pertumbuhan ikan Kerapu cantang *Epinephelus* sp. di Karamba Jaring Apung di Teluk Talengen Kepulauan Sangihe. *Budidaya Perairan*. **4**(3): 1-9.
- Tyastuti., E. M., O. Pramana dan A. Sunarto. 2016. Ekogenotoksisitas limbah cair batik dan efek antimutagenik *lemna minor* terhadap eritrosit ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Bioeksperimen*. **2** (2): 1-11.
- Untari, E. K., S. Wahdaningsih dan A. Damayanti. 2014. Efek Fraksi n-heksana Kulit *Hylocereus polyrhizus* Terhadap Aktivitas Katalase Tikus Stres Oksidatif. *Pharm Sci Res*. **1** (3): 141-153.
- Utami, Prapti, dan E. P. Desty. 2013. *The Miracle of Herbs*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 131 hlm.
- Vonshak, A. 1986. *Laboratory Techniques for The Cultivation of Microalgae*. In: Richmond, A. 1986.. CRC Press, Inc. Florida. 117-145.
- Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. **3** (2): 59-68.
- Wedemeyer, G. A. and W. T. Yasutake. 1977. Clinical methods for a assesment of the effect environmental stress on fish health. *Technical Papers of the US Fish and Wildlife Service. US Depart of the Onterior*. **89** (1): 1-17.
- Yanuhar, U. 2011. The fuction of receptor protein humpback grouper *Cromileptes altivelis* in expression and proliferation of CD4 and CD8 cell in defence

immunity. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. **1**(2): 119-124.

Yoshikosi, K. and Inoue, K. 1990. *Viral Nervous Necrosis* in hatchery larvae and juvenils of japaneseparrotfish, *Oplegnathus fasciatus*. *Journal Fish Disease*. **13** (1): 67-77.

Yudha, A. A., F. Agustriani dan Isnaini. 2013. Pemberian Mikroalga Terhadap Pertambahan Populasi Rotifera (*Brachionus plicatillis*) Pada Skala Laboratorium di BBPBL Lampung. *Maspri Jurnal*. **5** (2): 140-144.

Yuwanita, R., N. R. Buwono, dan H. F. E. Putra. 2018. Pengaruh *Dunaliella Salina* Terhadap Polimorfonuklear Leukosit Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*) Yang Diinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **10**(2): 152-158.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat – alat Penelitian

	
<p>Autoklaf</p>	<p>Mikroskop</p>
	
<p>Timbangan Analitik</p>	<p>Freezer</p>
	
<p>Sentrifugasi</p>	<p>Rotator Evaporator</p>



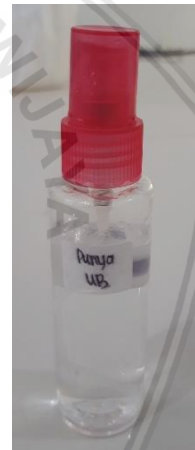
pH Meter



Centrifuge Hematokrit



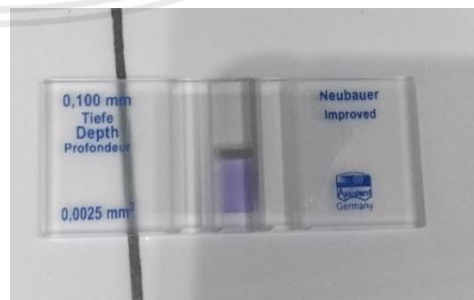
Tabung Mikrohematokrit



Botol Sprayer



Tempat Pewarnaan



Hemocytometer



Handtally Counter



Mikro Pipet



Haemometer











Cetakan Pelet



Blower



Toples Kaca

	
<p>Timbangan Digital</p>	<p>Refraktometer</p>
	
<p>DO Meter</p>	<p>Bak Penampungan</p>
	
<p>Termometer</p>	<p>Kontainer Plastik</p>
	
<p>Coolbox</p>	<p>Blender</p>

	
Timbangan	Selang Aerasi
	
Seser	Botol Larutan
	
Toples Tepung D. Salina	Batu Aerasi
	
Blower	Lap Basah



Nampan



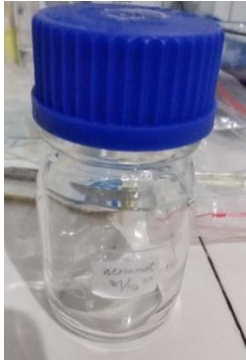




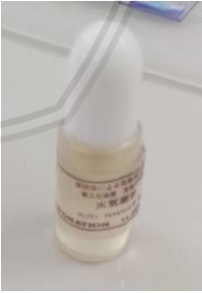
Mortar & Alu




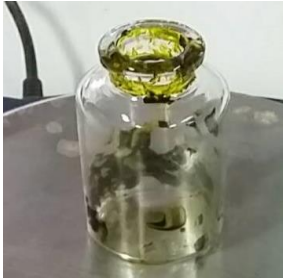




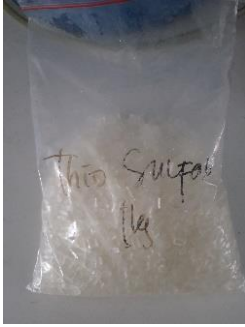

Pipet Tetes




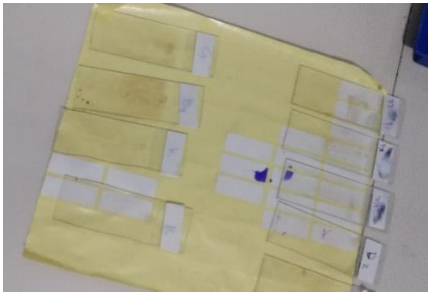


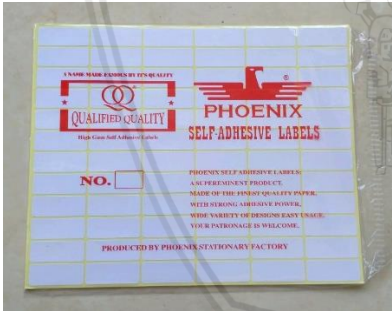



Lampiran 2. Bahan – bahan Penelitian

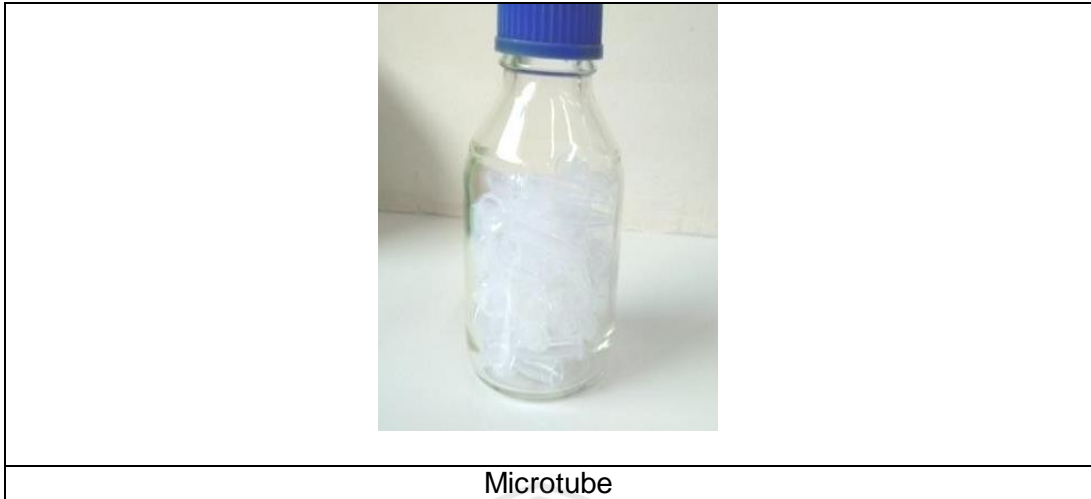
	
<p>Methanol</p>	<p>Akuades</p>
	
<p>Giemsa</p>	<p>EDTA</p>
	
<p>Alkohol</p>	<p>Minyak Emersi</p>

	
Formalin	Hayem
	
Sprit	Tepung <i>D. salina</i>
	
N-heksana	Pelet Stela no 2

	
<p>Ikan Kerapu</p>	<p>Ekstrak <i>D. salina</i></p>
	
<p>PBS</p>	<p>Ethanol</p>
	
<p>Kaporit</p>	<p>Metanol</p>
	
<p>Na-Thiosulfat</p>	<p>Saringan Miliopore</p>



	
<p>Air Laut</p>	<p>Objek Glass</p>
	
<p>Cover Glass</p>	<p>Darah Ikan Kerapu</p>
	
<p>Kertas Label</p>	<p>pH Paper</p>
	
<p>Isolat VNN</p>	<p>Tissue</p>



Lampiran 3. Analisa Data Eritrosit

➤ Eritrosit

• Data Rerata Eritrosit ($\times 10^4$ sel/mm³) Ikan Kerapu Cantang

Perlakuan	Sebelum uji tantang	Setelah uji tantang	rerata
K1	1640000	1110000	1375000
K2	2020000	1160000	1590000
K3	1915000	1190000	1552500
A1	2255000	1670000	1962500
A2	2345000	1600000	1972500
A3	2195000	1760000	1977500
B1	2475000	1670000	2072500
B2	2425000	1620000	2022500
B3	2270500	1841500	2056000
C1	2795000	1870000	2332500
C2	2650000	1861500	2255750
C3	2800000	2030000	2415000
D1	2950000	1890000	2420000
D2	2870000	1910000	2390000
D3	2825000	2141500	2483250

• Data Rerata Eritrosit ($\times 10^4$ sel/mm³) Ikan Kerapu Cantang yang dikonversikan ke -Log

Perlakuan	Sebelum uji tantang	Setelah uji tantang	Rerata
K1	6,21	6,04	6,13
K2	6,31	6,06	6,19
K3	6,28	6,07	6,18
A1	6,35	6,22	6,29
A2	6,37	6,20	6,29
A3	6,34	6,24	6,29
B1	6,39	6,22	6,31
B2	6,38	6,21	6,30
B3	6,36	6,26	6,31
C1	6,45	6,27	6,36
C2	6,42	6,27	6,35
C3	6,45	6,31	6,38
D1	6,47	6,28	6,38
D2	6,46	6,28	6,37
D3	6,45	6,33	6,39

Lampiran 3. Lanjutan

- Analisa Data Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

a. Data Rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	6,21	6,31	6,28	18,80	6,27
A	6,35	6,37	6,34	19,06	6,35
B	6,39	6,38	6,36	19,13	6,38
C	6,45	6,42	6,45	19,32	6,44
D	6,47	6,46	6,45	19,38	6,46
Total	31,87	31,94	31,88	95,69	
Rerata	6,37	6,39	6,38		

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{95,69^2}{15} = 610,438$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + \\ & (D3^2) - \text{FK} \\ &= ((6,21^2) + (6,31^2) + (6,28^2) + \dots \\ & + (6,45^2) - 610,438 = 0,08 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{18,80^2 + 19,06^2 + 19,13^2 + 19,32^2 + 19,38^2}{3} - \\ & 610,438 = 0,07 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} &= \text{JKT} - \text{JKP} = 0,08 - 0,07 = \\ & 0,01 \end{aligned}$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = (n \times r) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 14$$

$$\text{Derajat Bebas (db) perlakuan} = n - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas (db) Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 14 - \\ & 4 = 10 \end{aligned}$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,07}{4} = 0,01767$$

Lampiran 3. Lanjutan

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,0070}{10} = 0,00070$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{0,01767}{0,00070} = 25,248$$

c. Analisa Keragaman Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%
Perlakuan	4	0,07	0,01767	25,248**	3,48
Acak	10	0,007	0,00070		
Total	14	0,08			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

d. Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Perlakuan	K	A	B	C	D	Notasi
	6,27	6,35	6,38	6,44	6,46	5%
K	6,27	-				a
A	6,35	0,087**	-			b
B	6,38	0,110**	0,023 ^{ns}	-		b
C	6,44	0,173**	0,087**	0,063**	-	c
D	6,46	0,193**	0,107**	0,083**	0,020 ^{ns}	c

Keterangan: ^{ns}(tidak berbeda nyata), *(berbeda nyata), ** (berbeda sangat nyata)

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,00070}{3}} = 0,012$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 2,22814 \times 0,012 = 0,028 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 3,16927 \times 0,012 = 0,040 \end{aligned}$$

e. Perhitungan Uji Polynomial Orthogonal Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	18,80	-2	2	-1	1
A	19,06	-1	-1	2	-4
B	19,13	0	-2	0	6
C	19,32	1	-1	-2	-4
D	19,38	2	2	1	1
Q		1,42	-0,28	0,06	-0,56
K π		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		0,067	0,00	0,00012	0,001493
total jk regresi		0,071			

Lampiran 3. Lanjutan

f. Analisa Keragaman Regresi Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%
Perlakuan	4	0,0707	0,017673		
Linier	1	0,0672	0,067213	96,0190**	3,48
Kuadratik	1	0,0019	0,001867	2,666667	
Kubik	1	0,0001	1,20E-04	0,171429	
Kuartik	1	0,0015	0,001493	2,133333	
Acak	10	0,0070	0,0007		
Total	14	0,0777			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0672}{0,0672 + 0,0070} = 0,90568$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0019}{0,0019 + 0,0070} = 0,21053$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0001}{0,0001 + 0,0070} = 0,01685$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{JK \text{ Kuartik}}{JK \text{ Kuartik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0015}{0,0015 + 0,0070} = 0,17582$$

Nilai regresi linier > regresi Kuadratik, Kubik dan Kuartik

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	6,21	0	0
K2	0	6,31	0	0
K3	0	6,28	0	0
A1	250	6,35	1587,5	62500
A2	250	6,37	1592,5	62500
A3	250	6,34	1585	62500
B1	300	6,39	1917	90000
B2	300	6,38	1914	90000
B3	300	6,36	1908	90000
C1	350	6,45	2257,5	122500
C2	350	6,42	2247	122500
C3	350	6,45	2257,5	122500
D1	400	6,47	2588	160000
D2	400	6,46	2584	160000
D3	400	6,45	2580	160000
Jumlah	3900	95,69	25018	1305000
Rerata	260	6,379333		

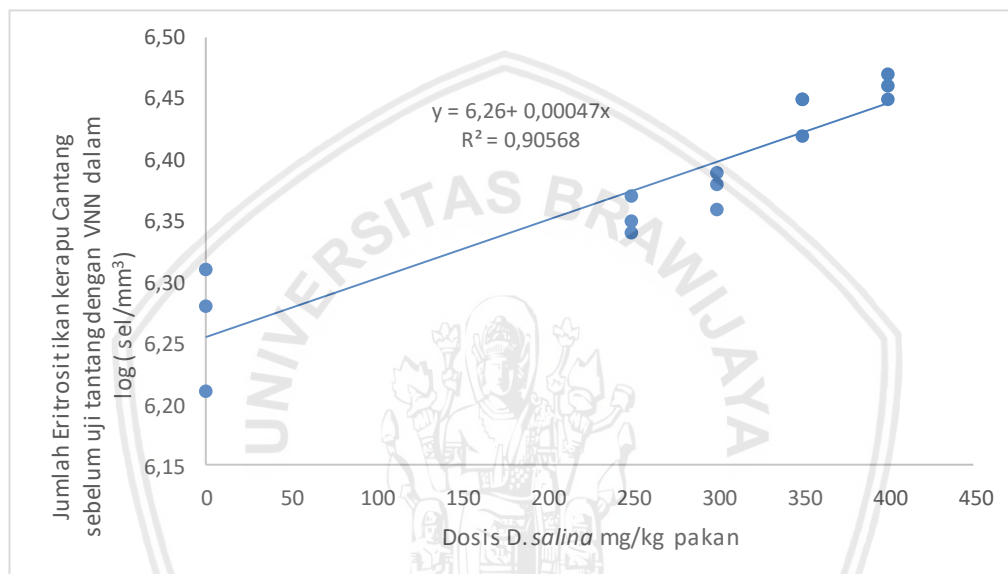
Lampiran 3. Lanjutan

h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{25018 - \frac{3900 \times 95,66}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = 0,00047$$

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 (\bar{x}) = 6,38 - 0,00047 (260) = 6,26$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 6,26 + 0,00047x$



Gambar Kurva Polynomial Orthogonal Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang dengan Dosis Pemberian Ekstrak *D. salina*

- **Analisa Data Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang**

a. Data Rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	6,04	6,06	6,07	18,17	6,06
A	6,22	6,20	6,24	18,66	6,22
B	6,22	6,21	6,26	18,69	6,23
C	6,27	6,27	6,31	18,85	6,28
D	6,28	6,28	6,33	18,89	6,30
Total	31,03	31,02	31,21	93,26	
Rerata	6,21	6,20	6,24		

Lampiran 3. Lanjutan

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{93,26^2}{15} = 579,829$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + (D3^2) - \text{FK}) \\ &= ((6,04^2) + (6,06^2) + (6,07^2) + \dots (6,33^2) - \\ &579,829 = 0,12 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{18,17^2 + 18,66^2 + 18,69^2 + 18,85^2 + 18,89^2}{3} - 579,829 \\ &= 0,10989 \end{aligned}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} = \text{JKT} - \text{JKP} = 0,12 - 0,10989 = 0,01$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = (n \times r) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 14$$

$$\text{Derajat Bebas (db) perlakuan} = n - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Acak} = \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 14 - 4 = 10$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,10989}{4} = 0,02747$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,01}{10} = 0,00054$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{0,02747}{0,00054} = 50,877$$

c. Analisa Keragaman Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%
Perlakuan	4	0,11	0,02747	50,877**	3,48
Acak	10	0,01	0,00054		
Total	14	0,12			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

Lampiran 3. Lanjutan

d. Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Perlakuan	K	A	B	C	D	Notasi
	6,06	6,22	6,23	6,28	6,30	5%
K	6,06	-				a
A	6,22	0,163**	-			b
B	6,23	0,173**	0,010 ^{ns}	-		b
C	6,28	0,227**	0,063**	0,053**	-	c
D	6,30	0,240**	0,077**	0,067**	0,013 ^{ns}	c

Keterangan: ^{ns}(tidak berbeda nyata), *(berbeda nyata), ** (berbeda sangat nyata)

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,00054}{3}} = 0,011$$

$$BNT \ 5\% = t \text{ tabel } 5\% \text{ (db acak)} \times SED$$

$$= 2,22814 \times 0,011 = 0,024$$

$$BNT \ 1\% = t \text{ tabel } 1\% \text{ (db acak)} \times SED$$

$$= 3,16927 \times 0,011 = 0,035$$

e. Perhitungan Uji Polynomial Orthogonal Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	18,17	-2	2	-1	1
A	18,66	-1	-1	2	-4
B	18,69	0	-2	0	6
C	18,85	1	-1	-2	-4
D	18,89	2	2	1	1
Q		1,63	-0,77	0,34	-0,84
Kπ		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		0,09	0,01	0,003853	0,00336
total jk regresi		0,11			

f. Analisa Keragaman Regresi Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%
Perlakuan	4	0,1099	0,027473		
Linier	1	0,0886	0,088563	164,00**	3,48
Kuadratik	1	0,0141	0,014117	26,14198	
Kubik	1	0,0039	0,003853	7,135802	
Kuartik	1	0,0034	0,00336	6,222222	
Acak	10	0,0054	0,00054		
Total	14	0,1153			

Keterangan: **berbeda sangat nyata

Lampiran 3. Lanjutan

g. Perhitungan R Square (R^2)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0886}{0,0886 + 0,0054} = 0,9425$$

$$R^2 \text{ Kuadrat} = \frac{JK \text{ Kuadrat}}{JK \text{ Kuadrat} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0141}{0,0141 + 0,0054} = 0,7233$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0039}{0,0039 + 0,0054} = 0,04164$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{JK \text{ Kuartik}}{JK \text{ Kuartik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0034}{0,0034 + 0,0054} = 0,3836$$

Nilai regresi linier > regresi Kuadrat, Kubik dan Kuartik

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	6,04	0	0
K2	0	6,06	0	0
K3	0	6,07	0	0
A1	250	6,22	1555	62500
A2	250	6,20	1550	62500
A3	250	6,24	1560	62500
B1	300	6,22	1866	90000
B2	300	6,21	1863	90000
B3	300	6,26	1878	90000
C1	350	6,27	2194,5	122500
C2	350	6,27	2194,5	122500
C3	350	6,31	2208,5	122500
D1	400	6,28	2512	160000
D2	400	6,28	2512	160000
D3	400	6,33	2532	160000
Jumlah	3900	93,26	24425,5	1305000
Rerata	260	6,22		

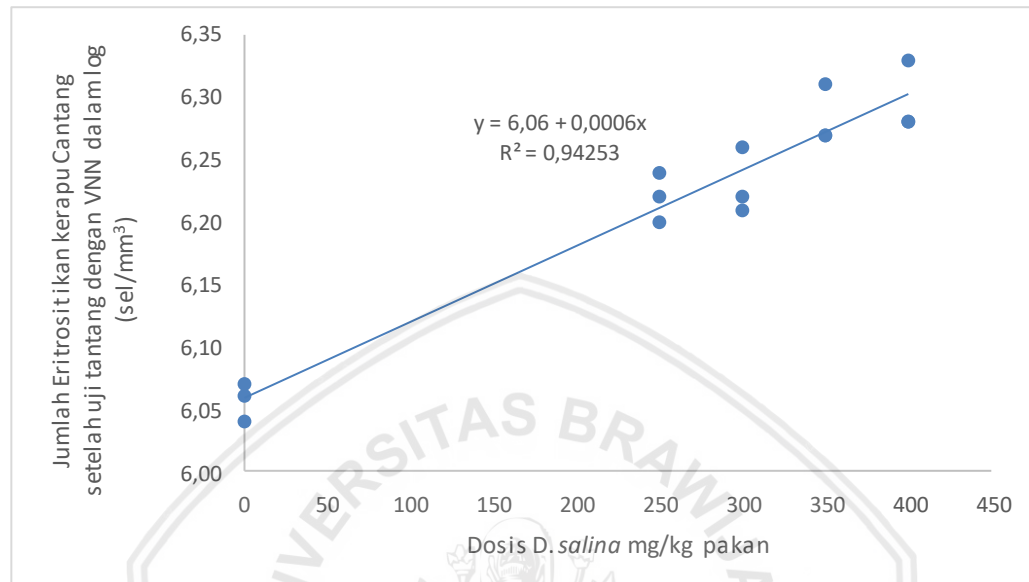
h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{24425,5 - \frac{3900 \times 93,26}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = 0,0006$$

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 (\bar{x}) = 6,22 - 0,0006 (260) = 6,06$$

Lampiran 3. Lanjutan

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 6,06 + 0,0006x$



Gambar Kurva Polynomial Orthogonal Eritrosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang dengan Dosis Pemberian Ekstrak *D. salina*

Lampiran 4. Analisa Data Hemoglobin

➤ Data Kadar Hemoglobin

• Data Rerata Kadar Hemoglobin (g%)

Perlakuan	Sebelum uji tantang	Setelah uji tantang	Rerata
K1	6,00	4,40	5,20
K2	6,00	4,50	5,25
K3	6,10	4,60	5,35
A1	6,40	5,60	6,00
A2	6,80	4,70	5,75
A3	6,60	4,70	5,65
B1	6,40	5,70	6,05
B2	6,60	4,90	5,75
B3	6,90	4,90	5,90
C1	7,50	5,70	6,60
C2	7,20	5,60	6,40
C3	7,70	5,90	6,80
D1	7,60	5,70	6,65
D2	7,40	5,80	6,60
D3	7,70	6,10	6,90

• Analisa Data Hemoglobin Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

a. Data rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	6,00	6,00	6,10	18,10	6,03
A	6,40	6,80	6,60	19,80	6,60
B	6,40	6,60	6,90	19,90	6,63
C	7,50	7,20	7,70	22,40	7,47
D	7,60	7,40	7,70	22,70	7,57
Total	33,90	34,00	35,00	102,90	
Rerata	6,78	6,80	7,00		

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{102,90^2}{15} = 705,894$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + \\ & (D3^2) - \text{FK} \\ &= ((6,00^2) + (6,00^2) + (6,10^2) + \dots \end{aligned}$$

Lampiran 4. Lanjutan

$$+ (7,70^2) - 705,894 = 5,40$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} = \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - FK$$

$$= \frac{18,10^2 + 19,80^2 + 19,90^2 + 22,40^2 + 22,70^2}{3} -$$

$$7 - 5,894 = 5,0093$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} = \text{JKT} - \text{JKP} = 5,40 - 5,0093 = 0,39$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = (n \times r) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 14$$

$$\text{Derajat Bebas (db) perlakuan} = n - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Acak} = \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 14 - 4 = 10$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{5,0093}{4} = 1,252333$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,39}{10} = 0,039$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{1,25233}{0,039} = 32,388$$

c. Analisa Keragaman Hemoglobin Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%
Perlakuan	4	5,01	1,25233	32,388**	3,48
Acak	10	0,39	0,039		
Total	14	5,40			

Keterangan: ** (sangat berbeda nyata)

d. Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Hemoglobin Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Perlakuan	K	A	B	C	D	Notasi
	6,03	6,60	6,63	7,47	7,57	5%
K	6,03	-				a
A	6,60	0,567**	-			b
B	6,63	0,600**	0,033 ^{ns}	-		b
C	7,47	1,433**	0,867**	0,833**	-	c
D	7,57	1,533**	0,967**	0,933**	0,100 ^{ns}	-

Keterangan: ^{ns} (tidak berbeda nyata), * (berbeda nyata), ** (berbeda sangat nyata)

Lampiran 4. Lanjutan

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,039}{3}} = 0,093$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 2,22814 \times 0,039 = 0,207 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 3,16927 \times 0,039 = 0,294 \end{aligned}$$

e. Perhitungan Uji Polynomial Orthogonal Hemoglobin Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	18,10	-2	2	-1	1
A	19,80	-1	-1	2	-4
B	19,90	0	-2	0	6
C	22,40	1	-1	-2	-4
D	22,70	2	2	1	1
Q		11,80	-0,40	-0,60	-8,60
K _{TT}		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		4,64	0,00	0,012	0,35219
total jk regresi		5,01			

f. Analisa Keragaman Regresi Hemoglobin Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%
Perlakuan	4	5,009	1,252		
Linier	1	4,641	4,641	120,0	3,48
Kuadratik	1	0,004	0,004	0,099	
Kubik	1	0,012	0,012	0,310	
Kuartik	1	0,352	0,352	9,11	
Acak	10	0,387	0,039		
Total	14	5,396			

Keterangan: **berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{JK Acak}} = \frac{4,641}{4,641 + 0,387} = 0,9231$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak}} = \frac{0,004}{0,004 + 0,387} = 0,0098$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik} + \text{JK Acak}} = \frac{0,012}{0,012 + 0,387} = 0,0301$$

Lampiran 4. Lanjutan

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{\text{JK Kuartik}}{\text{JK Kuartik} + \text{JK Acak}} = \frac{0,352}{0,352 + 0,387} = 0,4767$$

Nilai regresi linier > regresi Kuadrat, Kubik dan Kuartik

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

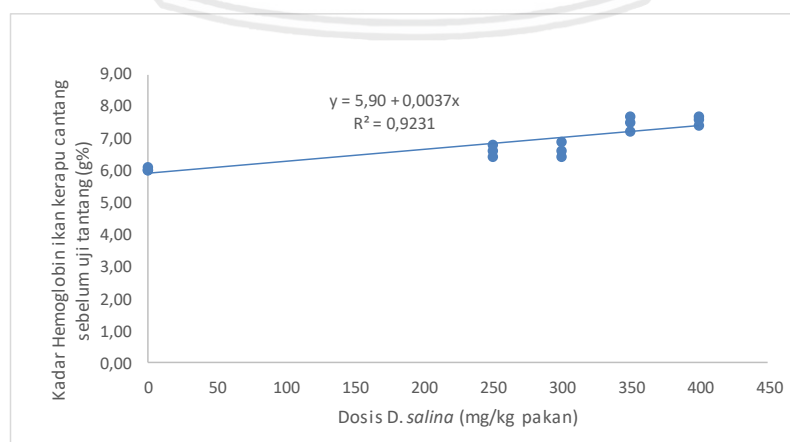
Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	6,00	0	0
K2	0	6,00	0	0
K3	0	6,10	0	0
A1	250	6,40	1600	62500
A2	250	6,80	1700	62500
A3	250	6,60	1650	62500
B1	300	6,40	1920	90000
B2	300	6,60	1980	90000
B3	300	6,90	2070	90000
C1	350	7,50	2625	122500
C2	350	7,20	2520	122500
C3	350	7,70	2695	122500
D1	400	7,60	3040	160000
D2	400	7,40	2960	160000
D3	400	7,70	3080	160000
Jumlah	3900	102,9	27840	1305000
Rerata	260	6,86		

h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{27840 - \frac{3900 \times 102,9}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = 0,0037$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 (\bar{x}) = 6,86 - 0,0037 (260) = 5,90$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 5,90 + 0,0037x$



Gambar Kurva Polynomial Orthogonal Hemoglobin Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang dengan Dosis Pemberian Ekstrak *D. salina*

Lampiran 4. Lanjutan

- Analisa Data Hemoglobin Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

a. Data rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	4,40	4,50	4,60	13,50	4,50
A	5,60	4,70	4,70	15,00	5,00
B	5,70	4,90	4,90	15,50	5,17
C	5,70	5,60	5,90	17,20	5,73
D	5,70	5,80	6,10	17,60	5,87
Total	27,10	25,50	26,20	78,80	
Rerata	5,42	5,10	5,24		

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{78,80^2}{15} = 413,963$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + \\ & (D3^2) - \text{FK} \\ &= ((4,40^2) + (4,50^2) + (4,60^2) + \dots \\ & + (6,10^2) - 413,963 = 4,86 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{13,50^2 + 15,00^2 + 17,20^2 + 17,60^2 + 22,70^2}{3} - \\ & 413,963 = 3,73733 \end{aligned}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} = \text{JKT} - \text{JKP} = 4,86 - 3,74 = 1,12$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = (n \times r) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 14$$

$$\text{Derajat Bebas (db) perlakuan} = n - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas (db) Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 14 - \\ & 4 = 10 \end{aligned}$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{3,74}{4} = 0,93433$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{1,12}{10} = 0,112$$

Lampiran 4. Lanjutan

$$F \text{ Hitung} = \frac{KTP}{KTA} = \frac{0,93433}{0,112} = 8,342$$

c. Analisa Keragaman Hemoglobin Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%
Perlakuan	4	3,74	0,93433	8,342**	3,48
Acak	10	1,12	0,113		
Total	14	4,86			

Keterangan: ** (berbeda sangat nyata)

d. Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Hemoglobin Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Perlakuan	K	A	B	C	D	Notasi
	4,50	5,00	5,17	5,73	5,87	5%
K	4,50	-				a
A	5,00	0,500*	-			b
B	5,17	0,667**	0,167 ^{ns}	-		b
C	5,73	1,233**	0,733**	0,567*	-	c
D	5,87	1,367**	0,867**	0,700**	0,133 ^{ns}	c

Keterangan: ^{ns}(tidak berbeda nyata), *(berbeda nyata), ** (berbeda sangat nyata)

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,112}{3}} = 0,158$$

$$BNT \ 5\% = t \text{ tabel } 5\% \text{ (db acak)} \times SED$$

$$= 2,22814 \times 0,158 = 0,352$$

$$BNT \ 1\% = t \text{ tabel } 1\% \text{ (db acak)} \times SED$$

$$= 3,16927 \times 0,158 = 0,500$$

e. Perhitungan Uji Polynomial Orthogonal Hemoglobin Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	13,50	-2	2	-1	1
A	15,00	-1	-1	2	-4
B	15,50	0	-2	0	6
C	17,20	1	-1	-2	-4
D	17,60	2	2	1	1
Q		10,40	-1,00	-0,30	-4,70
K π		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		3,61	0,02	0,003	0,10519
total jk regresi		3,74			

Lampiran 4. Lanjutan

f. Analisa Keragaman Regresi Hemoglobin Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%
Perlakuan	4	3,737	0,934		
Linier	1	3,605	3,605	32,190**	3,48
Kuadratik	1	0,024	0,024	0,212585	
Kubik	1	0,003	0,003	0,026786	
Kuartik	1	0,105	0,105	0,93920	
Acak	10	1,120	0,112		
Total	14	4,857			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{3,605}{3,605 + 1,120} = 0,76298$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,024}{0,024 + 1,120} = 0,02082$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,003}{0,003 + 1,120} = 0,00267$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{JK \text{ Kuartik}}{JK \text{ Kuartik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,105}{0,105 + 1,120} = 0,08586$$

Nilai regresi linier > regresi Kuadratik, Kubik dan Kuartik

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	4,40	0	0
K2	0	4,50	0	0
K3	0	4,60	0	0
A1	250	5,60	1400	62500
A2	250	4,70	1175	62500
A3	250	4,70	1175	62500
B1	300	5,70	1710	90000
B2	300	4,90	1470	90000
B3	300	4,90	1470	90000
C1	350	5,70	1995	122500
C2	350	5,60	1960	122500
C3	350	5,90	2065	122500
D1	400	5,70	2280	160000
D2	400	5,80	2320	160000
D3	400	6,10	2440	160000
Jumlah	3900	78,8	21460	1305000
Erata	260	5,253333		

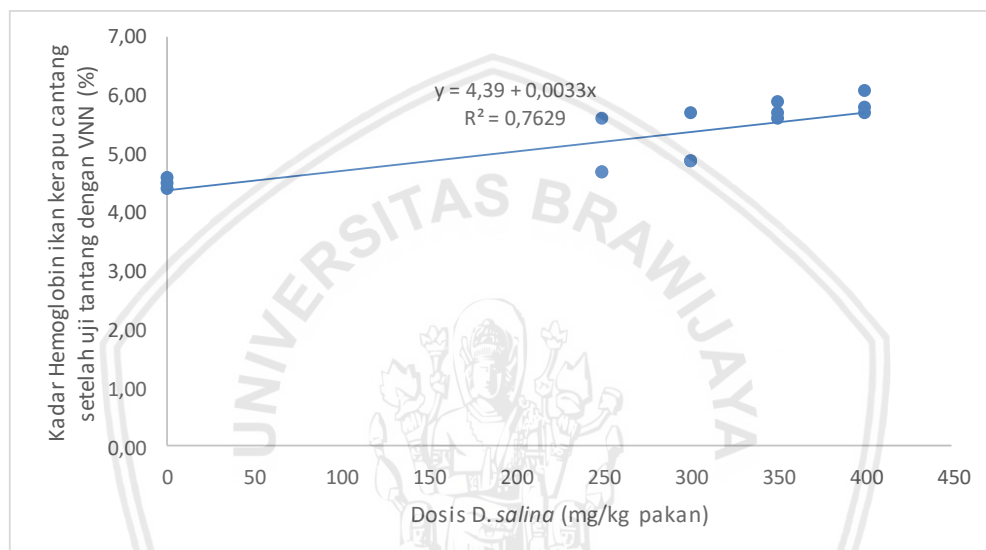
Lampiran 4. Lanjutan

h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{21460 - \frac{3900 \times 78,8}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = 0,0033$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 (\bar{x}) = 5,25 - 0,0033 (260) = 4,39$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 4,39 + 0,0033x$



Gambar Kurva Polynomial Orthogonal Hemoglobin Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang dengan Dosis Pemberian Ekstrak *D. salina*

Lampiran 5. Analisa Data Hematokrit

➤ Data Kadar Hematokrit

• Data Rerata Kadar Hematokrit (%)

Perlakuan	Sebelum uji tantang	Setelah uji tantang	Rerata
K1	21,00	11,00	16,00
K2	20,00	10,00	15,00
K3	21,00	11,00	16,00
A1	26,00	15,00	20,50
A2	25,00	15,00	20,00
A3	27,00	17,00	22,00
B1	27,00	18,00	22,50
B2	25,00	16,00	20,50
B3	27,00	16,00	21,50
C1	29,00	19,00	24,00
C2	28,00	18,00	23,00
C3	30,00	20,00	25,00
D1	29,00	19,00	24,00
D2	29,00	21,00	25,00
D3	30,00	20,00	25,00

• Analisa Data Hematokrit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

a. Data Rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	21,00	20,00	21,00	62,00	20,67
A	26,00	25,00	27,00	78,00	26,00
B	27,00	25,00	27,00	79,00	26,33
C	29,00	28,00	30,00	87,00	29,00
D	29,00	29,00	30,00	88,00	29,33
Total	132,00	127,00	135,00	394,00	
Rerata	26,40	25,40	27,00		

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{394,00^2}{15} = 10349,1$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + \\ &\quad (D3^2) - \text{FK} \\ &= ((21,00^2) + (20,00^2) + (21,00^2) + \\ &\quad \dots + (30,00^2) - 10349,1 = 152,93 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Lanjutan

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - FK \\ &= \frac{62,00^2 + 78,00^2 + 79,00^2 + 87,00^2 + 88,00^2}{3} - \\ &10349,1 = 144,933 \\ \text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} &= \text{JKT} - \text{JKP} = 152,93 - 144,933 \\ &= 8,00 \\ \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (n \times r) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 14 \\ \text{Derajat Bebas (db) perlakuan} &= n - 1 = 5 - 1 = 4 \\ \text{Derajat Bebas (db) Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 14 - \\ &4 = 10 \\ \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{144,933}{4} = 36,2333 \\ \text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{8,00}{10} = 0,8000 \\ \text{F Hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{36,2333}{0,80000} = 45,292 \end{aligned}$$

c. Analisa Keragaman Hematokrit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%
Perlakuan	4	144,93	36,2333	45,292**	3,48
Acak	10	8,00	0,80000		
Total	14	152,93			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

d. Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Hematokrit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Perlakuan	K	A	B	C	D	Notasi
	20,67	26,00	26,33	29,33	29,33	5%
K	20,67	-				a
A	26,00	5,333**	-			b
B	26,33	5,667**	0,333 ^{ns}	-		b
C	29,00	8,333**	3,000**	2,667**	-	c
D	29,33	8,667**	3,333**	3,000**	0,333 ^{ns}	-

Keterangan: ^{ns} (tidak berbeda nyata), * (berbeda nyata), ** (sangat berbeda nyata)

Lampiran 5. Lanjutan

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,800}{3}} = 0,422$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 2,22814 \times 0,422 = 0,939 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 3,16927 \times 0,422 = 1,336 \end{aligned}$$

e. Perhitungan Uji Polynomial Orthogonal Hematokrit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	62,00	-2	2	-1	1
A	78,00	-1	-1	2	-4
B	79,00	0	-2	0	6
C	87,00	1	-1	-2	-4
D	88,00	2	2	1	1
Q		61,00	-23,00	8,00	-36,00
K π		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		124,03	12,60	2,133333	6,171429
total jk regresi		144,93			

f. Analisa Keragaman Regresi Hematokrit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%
Perlakuan	4	144,93	36,233		
Linier	1	124,03	124,03	155,04**	3,48
Kuadratik	1	12,595	12,595	15,744	
Kubik	1	2,1333	2,1333	2,6667	
Kuartik	1	6,1714	6,1714	7,7143	
Acak	10	8,0000	0,8000		
Total	14	152,93			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK linier} + \text{Jk Acak}} = \frac{124,03}{124,03 + 8,000} = 0,93941$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{Jk Acak}} = \frac{12,595}{12,595 + 8,000} = 0,61156$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik} + \text{Jk Acak}} = \frac{2,1333}{2,1333 + 8,000} = 0,21053$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{\text{JK Kuartik}}{\text{JK Kuartik} + \text{Jk Acak}} = \frac{6,1714}{6,1714 + 8,000} = 0,43548$$

Lampiran 5. Lanjutan

Nilai regresi linier > regresi Kuadratik, Kubik dan Kuartik

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

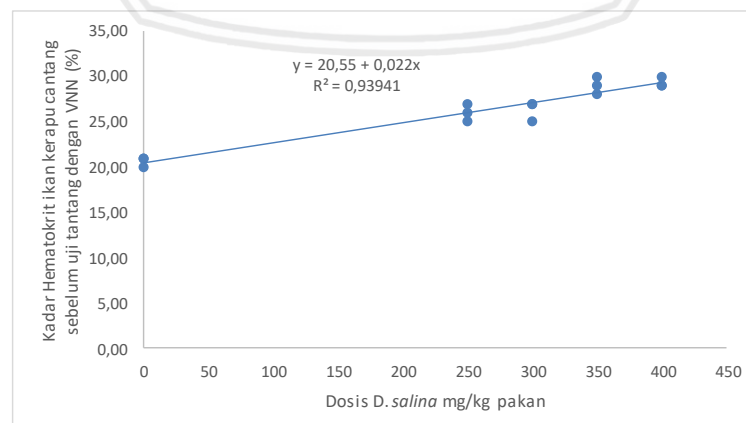
Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	21,00	0	0
K2	0	20,00	0	0
K3	0	21,00	0	0
A1	250	26,00	6500	62500
A2	250	25,00	6250	62500
A3	250	27,00	6750	62500
B1	300	27,00	8100	90000
B2	300	25,00	7500	90000
B3	300	27,00	8100	90000
C1	350	29,00	10150	122500
C2	350	28,00	9800	122500
C3	350	30,00	10500	122500
D1	400	29,00	11600	160000
D2	400	29,00	11600	160000
D3	400	30,00	12000	160000
Jumlah	3900	394	108850	1305000
Rerata	260	26,26667		

h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{108850 - \frac{3900 \times 394}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = 0,022$$

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 (\bar{x}) = 26,27 - 0,022 (260) = 20,55$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 20,55 + 0,022x$



Gambar Kurva Polynomial Orthogonal Hematokrit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang dengan Dosis Pemberian Ekstrak *D. salina*

Lampiran 5. Lanjutan

- Analisa Data Hematokrit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

a. Data Rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	11,00	10,00	11,00	32,00	10,67
A	15,00	15,00	17,00	47,00	15,67
B	18,00	16,00	16,00	50,00	16,67
C	19,00	18,00	20,00	57,00	19,00
D	19,00	21,00	20,00	60,00	20,00
Total	82,00	80,00	84,00	246,00	
Rerata	16,40	16,00	16,80		

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{246,00^2}{15} = 4034,4 \\ \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + \\ &\quad (D3^2) - \text{FK} \\ &= ((11,00^2) + (10,00^2) + (11,00^2) + \\ &\quad \dots + (20,00^2) - 4034,4 = 169,60 \\ \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{32,00^2 + 47,00^2 + 50,00^2 + 57,00^2 + 60,00^2}{3} - \\ &\quad 4034,4 = 159,6 \\ \text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} &= \text{JKT} - \text{JKP} = 169,60 - 159,6 = \\ &\quad 10,00 \\ \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (n \times r) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 14 \\ \text{Derajat Bebas (db) perlakuan} &= n - 1 = 5 - 1 = 4 \\ \text{Derajat Bebas (db) Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 14 - \\ &\quad 4 = 10 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Lanjutan

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{159,6}{4} = 39,90$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{10,00}{10} = 1,00$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{39,90}{1,00} = 39,90$$

c. Analisa Keragaman Hematokrit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%
Perlakuan	4	159,60	39,9	39,900**	3,48
Acak	10	10,00	1		
Total	14	169,60			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

d. Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Hematokrit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Perlakuan	K	A	B	C	D	Notasi
	10,67	15,67	16,67	19,00	20,00	5%
K	10,67	-				a
A	15,67	5,000**	-			b
B	16,67	6,000**	1,000 ^{ns}	-		b
C	19,00	8,333**	3,333**	2,333**	-	c
D	20,00	9,333**	4,333**	3,333**	1,000 ^{ns}	c

Keterangan: ^{ns}(tidak berbeda nyata), *(berbeda nyata), **(berbeda sangat nyata)

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 1,00}{3}} = 0,471$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 2,22814 \times 0,471 = 1,050 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 3,16927 \times 0,471 = 1,494 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Lanjutan

e. Perhitungan Uji Polynomial Orthogonal Hematokrit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	32,00	-2	2	-1	1
A	47,00	-1	-1	2	-4
B	50,00	0	-2	0	6
C	57,00	1	-1	-2	-4
D	60,00	2	2	1	1
Q		66,00	-20,00	8,00	-24,00
K π		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		145,20	9,52	2,133333	2,742857
total jk regresi		159,60			

f. Analisa Keragaman Regresi Hematokrit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%
Perlakuan	4	159,60	39,900		
Linier	1	145,20	145,20	145,20**	3,48
Kuadratik	1	9,5238	9,5238	9,52381	
Kubik	1	2,1333	2,1333	2,133333	
Kuartik	1	2,7429	2,7429	2,742857	
Acak	10	10,000	1,0000		
Total	14	169,60			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK linier} + \text{Jk Acak}} = \frac{145,20}{145,20 + 10,00} = 0,93557$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{Jk Acak}} = \frac{9,6238}{9,6238 + 10,00} = 0,48780$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik} + \text{Jk Acak}} = \frac{2,1333}{2,1333 + 10,00} = 0,17582$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{\text{JK Kuartik}}{\text{JK Kuartik} + \text{Jk Acak}} = \frac{2,7429}{2,7429 + 10,00} = 0,21525$$

Nilai regresi linier > regresi Kuadratik, Kubik dan Kuartik

Lampiran 5. Lanjutan

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

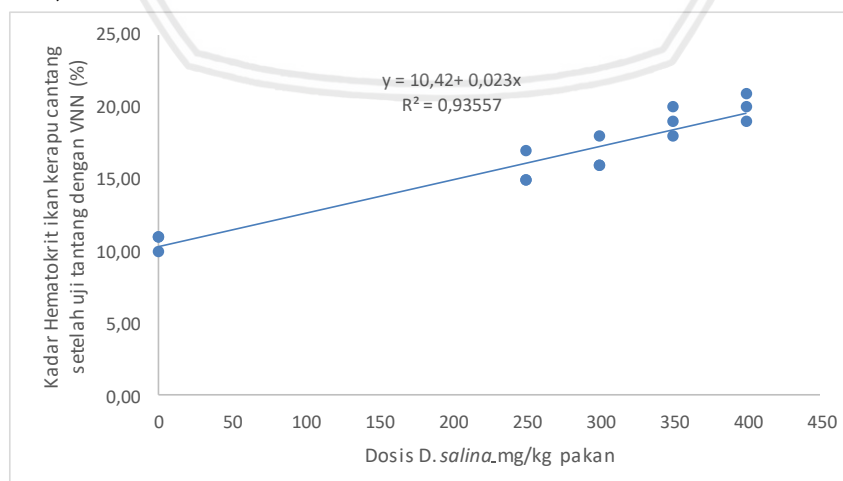
Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	11,00	0	0
K2	0	10,00	0	0
K3	0	11,00	0	0
A1	250	15,00	3750	62500
A2	250	15,00	3750	62500
A3	250	17,00	4250	62500
B1	300	18,00	5400	90000
B2	300	16,00	4800	90000
B3	300	16,00	4800	90000
C1	350	19,00	6650	122500
C2	350	18,00	6300	122500
C3	350	20,00	7000	122500
D1	400	19,00	7600	160000
D2	400	21,00	8400	160000
D3	400	20,00	8000	160000
Jumlah	3900	246	70700	1305000
Rerata	260	16,4		

h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{70700 - \frac{3900 \times 246}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = 0,023$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 (\bar{x}) = 16,4 - 0,023 (260) = 10,42$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 10,42 + 0,023x$



Gambar Kurva Polynomial Orthogonal Hematokrit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang dengan Dosis Pemberian Ekstrak *D. salina*

Lampiran 6. Analisa Data Mikronuklei

➤ Data Mikronuklei

• Data Rerata Jumlah Mikronuklei (MN/100 sel)

Perlakuan	Sebelum uji tantang	Setelah uji tantang	Rerata
K1	11,39	21,20	16,30
K2	11,24	20,65	15,95
K3	11,36	21,12	16,24
A1	8,92	16,02	12,47
A2	8,85	18,72	13,79
A3	9,00	16,94	12,97
B1	8,55	16,55	12,55
B2	7,62	15,23	11,43
B3	8,42	15,92	12,17
C1	7,62	14,25	10,94
C2	7,52	14,15	10,84
C3	7,69	15,05	11,37
D1	7,95	13,15	10,55
D2	6,72	14,15	10,44
D3	6,82	14,07	10,45

• Analisa Data Rerata Jumlah Mikronuklei (MN/100 sel) Sebelum Uji Tantang

a. Data Rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	11,39	11,24	11,38	33,99	11,33
A	8,92	8,85	9,00	26,77	8,92
B	8,55	7,62	8,42	24,59	8,20
C	7,62	7,52	7,69	22,83	7,61
D	7,95	6,72	6,82	21,49	7,16
Total	44,43	41,95	43,29	129,67	
Rerata	8,89	8,39	8,66		

b. Perhitungan Sidik Ragam

Faktor Koreksi (FK)

$$= \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{129,67^2}{15} = 1120,95$$

Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + (D3^2) - FK$$

$$= ((11,39^2) + (11,24^2) + (11,38^2) + \dots + (6,82^2) - 1120,95 = 33,74$$

Lampiran 6. Lanjutan

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - FK \\ &= \frac{33,99^2 + 26,77^2 + 24,59^2 + 22,83^2 + 21,49^2}{3} - \\ &1120,95 = 32,2628 \\ \text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} &= \text{JKT} - \text{JKP} = 33,74 - 32,2628 \\ &= 1,48 \\ \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (n \times r) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 14 \\ \text{Derajat Bebas (db) perlakuan} &= n - 1 = 5 - 1 = 4 \\ \text{Derajat Bebas (db) Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 14 - \\ &4 = 10 \\ \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{32,2628}{4} = 8,06569 \\ \text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{1,48}{10} = 0,148 \\ \text{F Hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{8,06569}{0,148} = 54,535 \end{aligned}$$

c. Analisa Keragaman Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%
Perlakuan	4	32,2628	8,06569	54,535**	3,48
Acak	10	1,48	0,148		
Total	14	33,47			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

d. Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Perlakuan	K	A	B	C	D	Notasi
	11,33	8,92	8,20	7,61	7,16	5%
K	11,33	-				a
A	8,92	2,407**	-			b
B	8,20	3,133**	0,727**	-		c
C	7,61	3,720**	1,313**	0,587**	-	d
D	7,16	4,167**	1,760**	1,033**	0,447 ^{ns}	e

Keterangan: ^{ns} (tidak berbeda nyata), * (berbeda nyata), ** (berbeda sangat nyata)

Lampiran 6. Lanjutan

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,148}{3}} = 0,181$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 2,22814 \times 0,181 = 0,404 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 3,16927 \times 0,181 = 0,575 \end{aligned}$$

e. Perhitungan Uji Polynomial Orthogonal Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	33,99	-2	2	-1	1
A	26,77	-1	-1	2	-4
B	24,59	0	-2	0	6
C	22,83	1	-1	-2	-4
D	21,49	2	2	1	1
Q		-28,94	12,18	-4,62	4,62
K π		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		27,92	3,53	0,71148	0,10164
total jk regresi		32,26			

f. Analisa Keragaman regresi Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%
Perlakuan	4	32,26	8,07		
Linier	1	27,92	27,92	188,8**	3,48
Kuadratik	1	3,532	3,532	23,88	
Kubik	1	0,7114	0,7114	4,811	
Kuartik	1	0,102	0,102	0,687	
Acak	10	1,479	0,148		
Total	14	33,74			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK linier} + \text{Jk Acak}} = \frac{27,92}{27,92 + 1,479} = 0,94969$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{Jk Acak}} = \frac{3,532}{3,532 + 1,479} = 0,70486$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik} + \text{Jk Acak}} = \frac{0,7114}{0,7114 + 1,479} = 0,32481$$

Lampiran 6. Lanjutan

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{\text{JK Kuartik}}{\text{JK Kuartik} + \text{Jk Acak}} = \frac{0,102}{0,102 + 1,479} = 0,06430$$

Nilai regresi linier > regresi Kuadrat, Kubik dan Kuartik

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	11,39	0	0
K2	0	11,24	0	0
K3	0	11,36	0	0
A1	250	8,92	2230	62500
A2	250	8,85	2212,5	62500
A3	250	9,00	2250	62500
B1	300	8,55	2565	90000
B2	300	7,62	2286	90000
B3	300	8,42	2526	90000
C1	350	7,62	2667	122500
C2	350	7,52	2632	122500
C3	350	7,69	2691,5	122500
D1	400	7,95	3180	160000
D2	400	6,72	2688	160000
D3	400	6,82	2728	160000
Jumlah	3900	129,67	30656	1305000
Rerata	260	8,644667		

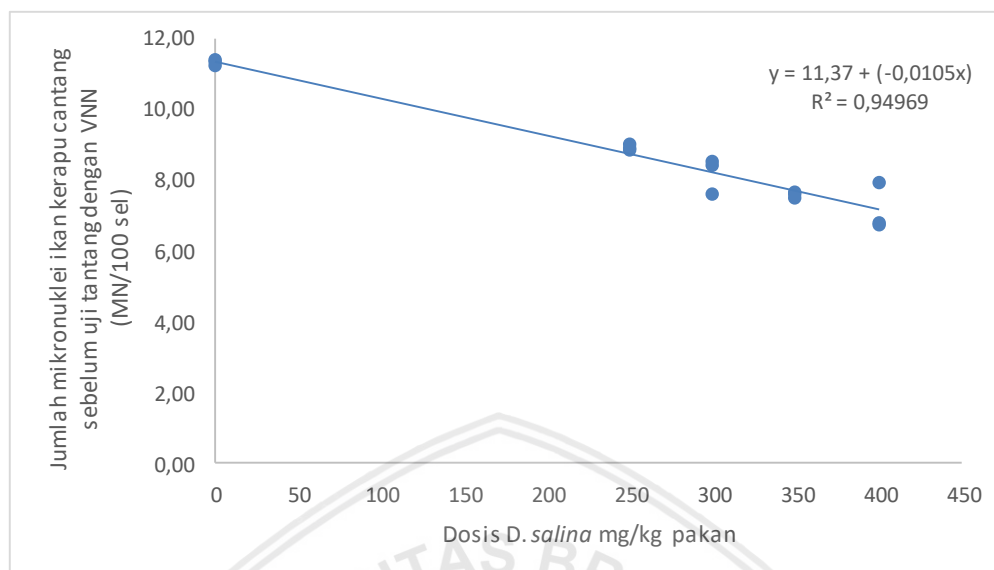
h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{30656 - \frac{3900 \times 129,67}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = -0,0105$$

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 (\bar{x}) = 8,64 - (-0,0105)(260) = 11,37$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 11,37 + (-0,0105x)$

Lampiran 6. Lanjutan



Gambar Kurva Polynomial Orthogonal Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang dengan Dosis Pemberian Ekstrak *D. salina*

- **Analisa Data Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang**

a. Data Rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	21,20	20,65	21,12	62,97	20,99
A	16,02	18,72	16,94	51,68	17,23
B	16,55	15,23	15,92	47,70	15,90
C	14,25	14,15	15,05	43,45	14,48
D	13,15	14,15	14,07	41,37	13,79
Total	81,17	82,90	83,10	247,17	
Rerata	16,23	16,58	16,62		

b. Perhitungan Sidik Ragam

Faktor Koreksi (FK)

$$= \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{247,17^2}{15} = 4072,87$$

Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + (D3^2) - FK$$

$$= ((21,20^2) + (20,65^2) + (21,12^2) + \dots + (14,07^2) - 4072,87 = 103,29$$

Lampiran 6. Lanjutan

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - FK \\ &= \frac{62,97^2 + 51,68^2 + 47,70^2 + 43,45^2 + 41,37^2}{3} - \\ &4072,82 = 97,3703 \\ \text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} &= \text{JKT} - \text{JKP} = 103,29 - 97,3703 \\ &= 5,92 \\ \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (n \times r) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 14 \\ \text{Derajat Bebas (db) perlakuan} &= n - 1 = 5 - 1 = 4 \\ \text{Derajat Bebas (db) Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 14 - \\ &4 = 10 \\ \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{97,3703}{4} = 24,3426 \\ \text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{5,92}{10} = 0,592 \\ \text{F Hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{24,3426}{0,592} = 41,113 \end{aligned}$$

c. Analisa Keragaman Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%
Perlakuan	4	97,37	24,3426	41,113**	3,48
Acak	10	5,92	0,59209		
Total	14	103,29			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

d. Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Perlakuan	K	A	B	C	D	Notasi
	20,99	17,23	15,90	14,48	13,79	5%
K	20,99	-				a
A	17,23	3,763**	-			b
B	15,90	5,090**	1,327**	-		c
C	14,48	6,507**	2,743**	1,417**	-	d
D	13,79	7,200**	3,437**	2,110**	0,693 ^{ns}	-

Keterangan: ^{ns} (tidak berbeda nyata), * (berbeda nyata), ** (berbeda sangat nyata)

Lampiran 6. Lanjutan

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,592}{3}} = 0,363$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 2,22814 \times 0,363 = 0,808 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 3,16927 \times 0,363 = 1,150 \end{aligned}$$

e. Perhitungan Uji Polynomial Orthogonal Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	62,97	-2	2	-1	1
A	51,68	-1	-1	2	-4
B	47,70	0	-2	0	6
C	43,45	1	-1	-2	-4
D	41,37	2	2	1	1
Q		-51,43	18,15	-5,14	10,02
K _{TT}		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		88,17	7,84	0,880653	0,478097
total jk regresi		97,37			

f. Analisa Keragaman Regresi Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%
Perlakuan	4	97,37	24,34		
Linier	1	88,17	88,17	148,9**	3,48
Kuadratik	1	7,843	7,843	13,25	
Kubik	1	0,881	0,881	1,487	
Kuartik	1	0,478	0,478	0,807	
Acak	10	5,921	0,592		
Total	14	103,3			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{Jk Acak}} = \frac{88,17}{88,17 + 5,921} = 0,93707$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{Jk Acak}} = \frac{7,843}{7,843 + 5,921} = 0,56983$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik} + \text{Jk Acak}} = \frac{0,881}{0,881 + 5,921} = 0,12948$$

Lampiran 6. Lanjutan

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{\text{JK Kuartik}}{\text{JK Kuartik} + \text{JK Acak}} = \frac{0,478}{0,478 + 5,921} = 0,07471$$

Nilai regresi linier > regresi kuadrat, kubik dan kuartik

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	21,20	0	0
K2	0	20,65	0	0
K3	0	21,12	0	0
A1	250	16,02	4005	62500
A2	250	18,72	4680	62500
A1	250	16,94	4235	62500
B1	300	16,55	4965	90000
B2	300	15,23	4569	90000
B3	300	15,92	4776	90000
C1	350	14,25	4987,5	122500
C2	350	14,15	4952,5	122500
C3	350	15,05	5267,5	122500
D1	400	13,15	5260	160000
D2	400	14,15	5660	160000
D3	400	14,07	5628	160000
Jumlah	3900	247,17	58985,5	1305000
Rerata	260	16,48		

h. Mencari Persamaan

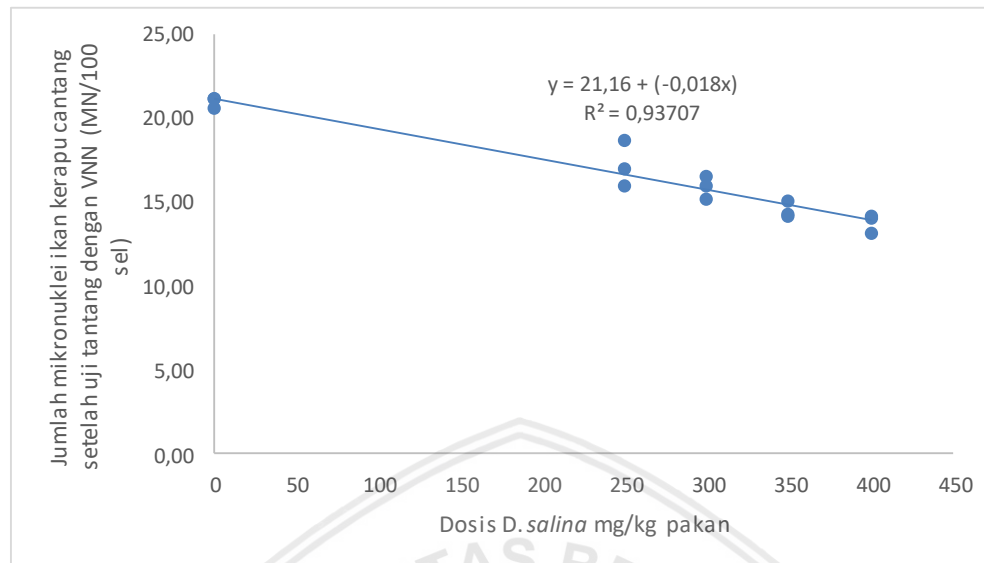
$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{58985,5 - \frac{3900 \times 247,17}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = -0,018$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1(\bar{x}) = 16,48 - (-0,018)(260) = 21,16$$

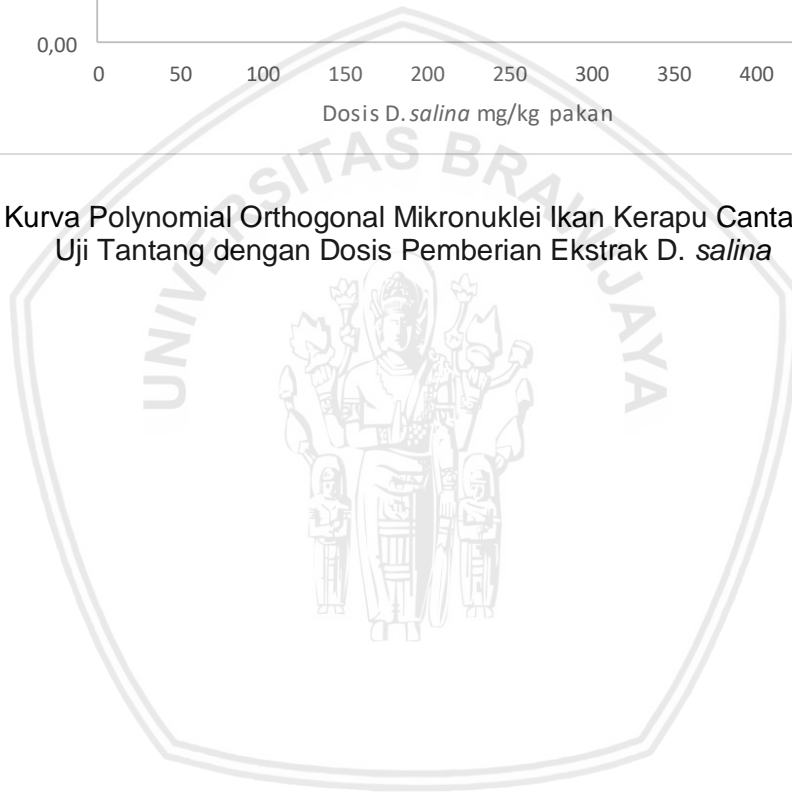
Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 x$ sehingga didapatkan persamaan y

$$= 21,16 + (-0,018x)$$

Lampiran 6. Lanjutan



Gambar Kurva Polynomial Orthogonal Mikronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang dengan Dosis Pemberian Ekstrak *D. salina*



Lampiran 7. Analisa Data Jumlah Makronuklei

➤ Data Jumlah Makronuklei

• Data Rerata Jumlah Makronuklei (MAN/100 sel)

Perlakuan	Sebelum uji tantang	Setelah uji tantang	Rerata
K1	11,66	19,74	15,70
K2	11,54	19,53	15,54
K3	11,76	18,75	15,26
A1	9,25	14,25	11,75
A2	10,15	16,15	13,15
A3	10,32	13,89	12,11
B1	8,15	14,54	11,35
B2	8,96	13,87	11,42
B3	9,02	13,92	11,47
C1	8,57	12,05	10,31
C2	8,25	11,98	10,12
C3	8,55	12,96	10,76
D1	7,54	11,54	9,54
D2	7,98	11,15	9,57
D3	7,90	11,76	9,83

• Analisa Data Jumlah Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

a. Data Rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	11,66	11,54	11,76	34,96	11,65
A	9,25	10,15	10,32	29,72	9,91
B	8,15	8,96	9,02	26,13	8,71
C	8,57	8,25	8,55	25,37	8,46
D	7,54	7,98	7,90	23,42	7,81
Total	45,17	46,88	47,55	139,60	
Rerata	9,03	9,38	9,51		

b. Perhitungan Sidik Ragam

Faktor Koreksi (FK)

$$= \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{139,60^2}{15} = 1299,21$$

Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + (D3^2) - FK$$

$$= ((11,66^2) + (11,54^2) + (11,76^2) +$$

Lampiran 7. Lanjutan

$$\dots + (7,90^2) - 1299,21 = 28,92$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} = \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - FK$$

$$= \frac{62,97^2 + 51,68^2 + 47,70^2 + 43,45^2 + 41,37^2}{3} - 1299,21 = 27,5861$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} = \text{JKT} - \text{JKP} = 28,92 - 27,5861$$

$$= 1,33$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = (n \times r) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 14$$

$$\text{Derajat Bebas (db) perlakuan} = n - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Acak} = \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 14 - 4 = 10$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{27,5861}{4} = 6,89652$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{1,33}{10} = 0,133$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{6,89662}{0,133} = 51,781$$

c. Analisa Keragaman Jumlah Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%
Perlakuan	4	27,59	6,89652	51,781**	3,48
Acak	10	1,33	0,13319		
Total	14	28,92			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

d. Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Jumlah Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Perlakuan	K	A	B	C	D	Notasi
	11,65	9,91	8,71	7,46	7,81	5%
K	11,65	-				a
A	9,91	1,747**	-			b
B	8,71	2,943**	1,197**	-		c
C	8,46	3,197**	1,450**	0,253 ^{ns}	-	c
D	7,81	3,847**	2,100**	0,903**	0,650**	d

Keterangan: ^{ns}(tidak berbeda nyata), *(berbeda nyata), **(berbeda sangat nyata)

Lampiran 7. Lanjutan

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,133}{3}} = 0,172$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 2,22814 \times 0,172 = 0,383 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 3,16927 \times 0,172 = 0,545 \end{aligned}$$

e. Perhitungan Uji Polynomial Orthogonal Jumlah Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	34,96	-2	2	-1	1
A	29,72	-1	-1	2	-4
B	26,13	0	-2	0	6
C	25,37	1	-1	-2	-4
D	23,42	2	2	1	1
Q		-27,43	9,41	-2,84	-5,20
K _{TT}		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		25,08	2,11	0,268853	0,128762
total jk regresi		27,59			

f. Analisa Keragaman Regresi Jumlah Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%
Perlakuan	4	27,59	6,897		
Linier	1	25,08	25,08	188,3**	3,48
Kuadratik	1	2,108	2,108	15,83	
Kubik	1	0,269	0,269	2,019	
Kuartik	1	0,129	0,129	0,967	
Acak	10	1,332	0,133		
Total	14	28,92			

Keterangan: **berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{Jk Acak}} = \frac{25,08}{25,08 + 1,332} = 0,94957$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{Jk Acak}} = \frac{2,108}{2,108 + 1,332} = 0,61285$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik} + \text{Jk Acak}} = \frac{0,269}{0,269 + 1,332} = 0,16796$$

Lampiran 7. Lanjutan

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{\text{JK Kuartik}}{\text{JK Kuartik} + \text{JK Acak}} = \frac{0,129}{0,129 + 1,332} = 0,08816$$

Nilai regresi linier > regresi kuadrat, kubik dan kuartik

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	11,66	0	0
K2	0	11,54	0	0
K3	0	11,76	0	0
A1	250	9,25	2312,5	62500
A2	250	10,15	2537,5	62500
A3	250	10,32	2580	62500
B1	300	8,15	2445	90000
B2	300	8,96	2688	90000
B3	300	9,02	2706	90000
C1	350	8,57	2999,5	122500
C2	350	8,25	2887,5	122500
C3	350	8,55	2992,5	122500
D1	400	7,54	3016	160000
D2	400	7,98	3192	160000
D3	400	7,90	3160	160000
Jumlah	3900	139,6	33516,5	1305000
Rerata	260	9,306667		

h. Mencari Persamaan

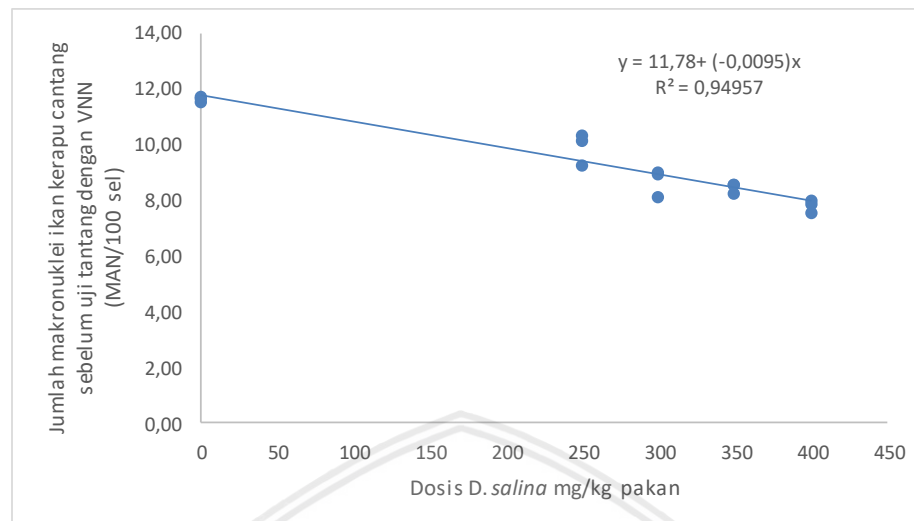
$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{33516,5 - \frac{3900 \times 139,6}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = -0,0095$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 (\bar{x}) = 9,31 - (-0,0095) (260) = 11,78$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 x$ sehingga didapatkan

$$\text{persamaan } y = 11,78 + (-0,0095x)$$

Lampiran 7. Lanjutan



Gambar Kurva Polynomial Orthogonal Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang dengan Dosis Pemberian Ekstrak *D. salina*

- **Analisa Data Jumlah Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang**

a. Data rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	19,74	19,53	18,75	58,02	19,34
A	14,25	16,15	13,89	44,29	14,76
B	14,54	13,87	13,92	42,33	14,11
C	12,05	11,98	12,96	36,99	12,33
D	11,54	11,15	11,76	34,45	11,48
Total	72,12	72,68	71,28	216,08	
Rerata	14,42	14,54	14,26		

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{216,08^2}{15} = 3112,7$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + \\ &\quad (D3^2) - \text{FK} \\ &= ((19,74^2) + (19,53^2) + (18,75^2) + \\ &\quad \dots + (11,76^2) - 3112,7 = 116,79 \end{aligned}$$

Lampiran 7. Lanjutan

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - FK \\ &= \frac{58,02^2 + 44,29^2 + 42,33^2 + 36,99^2 + 34,45^2}{3} - \\ &3112,7 = 112,234 \\ \text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} &= \text{JKT} - \text{JKP} = 116,79 - 112,234 \\ &= 4,56 \\ \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (n \times r) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 14 \\ \text{Derajat Bebas (db) perlakuan} &= n - 1 = 5 - 1 = 4 \\ \text{Derajat Bebas (db) Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 14 - \\ &4 = 10 \\ \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{112,234}{4} = 28,0586 \\ \text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{4,56}{10} = 0,456 \\ \text{F Hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{6,89662}{0,133} = 61,525 \end{aligned}$$

c. Analisa Keragaman Jumlah Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%
Perlakuan	4	112,23	28,0586	61,525**	3,48
Acak	10	4,56	0,45605		
Total	14	116,79			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

d. Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Jumlah Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Perlakuan	K	A	B	C	D	Notasi	
	19,34	14,76	14,11	12,33	11,48	5%	
K	19,34	-				a	
A	14,76	4,577**	-			b	
B	14,11	5,230**	0,653 ^{ns}	-		b	
C	12,33	7,010**	2,433**	1,780**	-	c	
D	11,48	7,857**	3,280**	2,627**	0,847 ^{ns}	-	d

Keterangan: ^{ns}(tidak berbeda nyata), *(berbeda nyata), **(berbeda sangat nyata)

Lampiran 7. Lanjutan

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,456}{3}} = 0,318$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 2,22814 \times 0,318 = 0,709 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} \\ &= 3,16927 \times 0,318 = 1,009 \end{aligned}$$

e. Perhitungan Uji Polynomial Orthogonal Jumlah Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	58,02	-2	2	-1	1
A	44,29	-1	-1	2	-4
B	42,33	0	-2	0	6
C	36,99	1	-1	-2	-4
D	34,45	2	2	1	1
Q		-54,44	19,00	-8,97	21,33
K _T		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		98,79	8,60	2,68203	2,166519
total jk regresi		112,23			

f. Analisa Keragaman Regresi Jumlah Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%
Perlakuan	4	112,2	28,06		
Linier	1	98,79	98,79	216,6**	3,48
Kuadratik	1	8,595	8,595	18,85	
Kubik	1	2,682	2,682	5,881	
Kuartik	1	2,167	2,167	4,751	
Acak	10	4,561	0,456		
Total	14	116,8			

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{Jk Acak}} = \frac{98,79}{98,79 + 4,561} = 0,95587$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{Jk Acak}} = \frac{8,595}{8,595 + 4,651} = 0,65334$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik} + \text{Jk Acak}} = \frac{2,682}{2,682 + 4,651} = 0,37032$$

Lampiran 7. Lanjutan

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{\text{JK Kuartik}}{\text{JK Kuartik} + \text{JK Acak}} = \frac{2,167}{2,167 + 4,651} = 0,32206$$

Nilai regresi linier > regresi kuadrat, kubik dan kuartik

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	19,74	0	0
K2	0	19,53	0	0
K3	0	18,75	0	0
A1	250	14,25	3562,5	62500
A2	250	16,15	4037,5	62500
A3	250	13,89	3472,5	62500
B1	300	14,54	4362	90000
B2	300	13,87	4161	90000
B3	300	13,92	4176	90000
C1	350	12,05	4217,5	122500
C2	350	11,98	4193	122500
C3	350	12,96	4536	122500
D1	400	11,54	4616	160000
D2	400	11,15	4460	160000
D3	400	11,76	4704	160000
Jumlah	3900	216,08	50498	1305000
Rerata	260	14,40533		

h. Mencari Persamaan

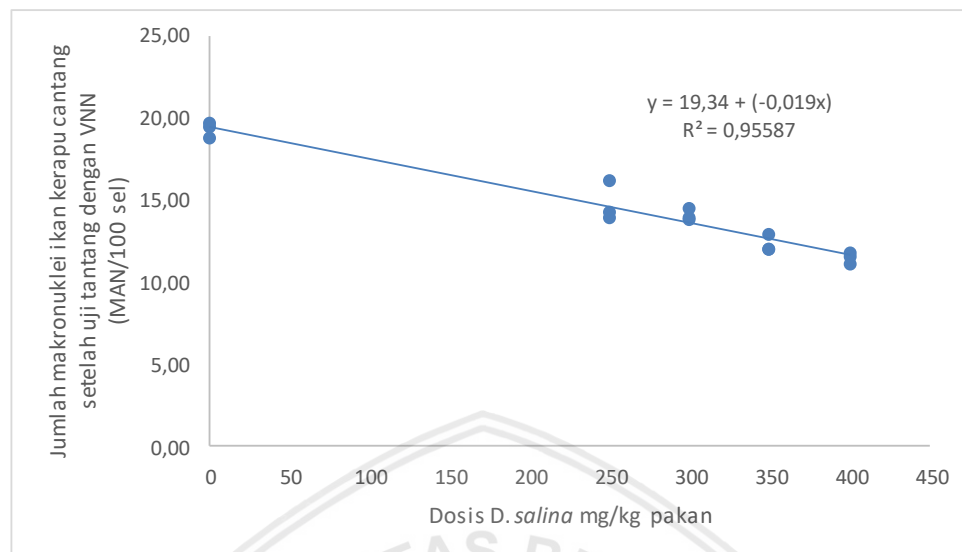
$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{50498 - \frac{3900 \times 216,08}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = -0,019$$

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 (\bar{x}) = 14,40 - (-0,019)(260) = 19,34$$

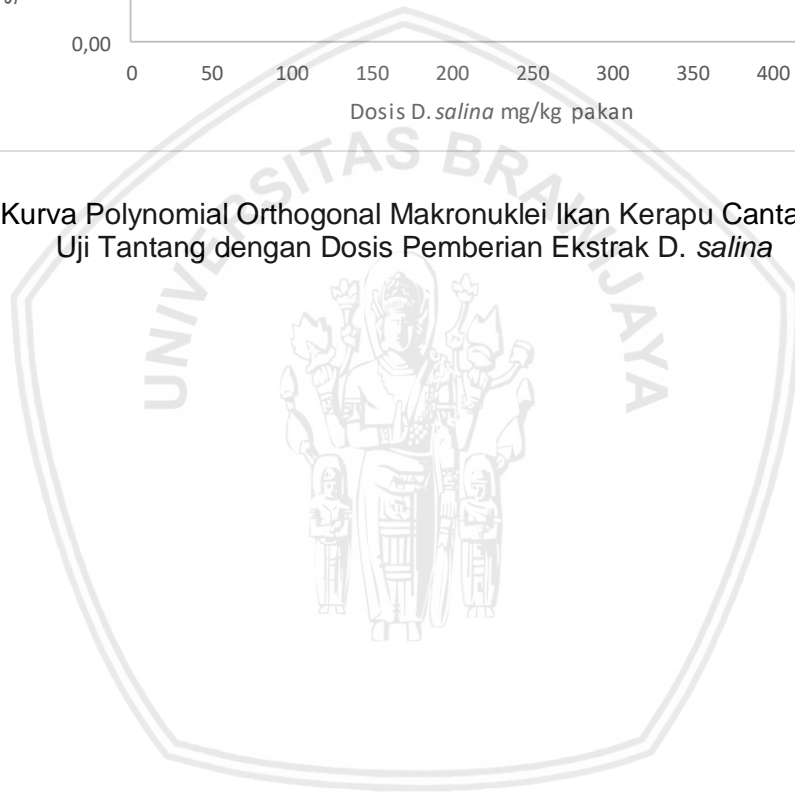
Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 x$ sehingga didapatkan

$$\text{persamaan } y = 19,34 + (-0,019x)$$

Lampiran 7. Lanjutan



Gambar Kurva Polynomial Orthogonal Makronuklei Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang dengan Dosis Pemberian Ekstrak *D. salina*



Lampiran 8. Data Hasil Pengamatan Kualitas Air Selama Penelitian

Tanggal	Perlakuan	Kualitas Air							
		Suhu (°C)		DO (ppm)		pH		Salinitas (ppt)	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
18-Feb-2019	K1	27,5	29	5,3	6,9	7,91	7,92	34	33
	K2	28	28,5	6,9	7,5	7,29	7,39	34	33
	K3	28	29	5,6	6,9	7,58	7,73	34	33
	A1	28	29	5,8	6,7	7,66	7,45	34	33
	A2	28	28,5	6,2	6,4	7,39	7,89	34	33
	A3	28	29	5,7	5,9	8,1	7,32	34	33
	B1	28	29	6,1	6,3	7,48	8,01	34	33
	B2	28,5	29	5,5	6,0	7,95	7,46	34	33
	B3	28	29	5,9	6,6	7,49	7,78	34	33
	C1	27,5	29	6,2	6,8	7,39	7,83	34	33
	C2	28	29	5,4	6,2	7,59	7,91	34	33
	C3	27	28,5	5,0	6,1	7,19	7,48	34	33
	D1	27	29	6,4	7,1	7,94	7,48	34	33
	D2	28	30	6,1	6,8	8,02	7,38	34	33
D3	28	29	5,7	7,3	7,48	7,44	34	33	
19-Feb-2019	K1	28	29	5,9	7,2	7,49	7,83	32	33
	K2	28	29	5,7	6,7	7,49	8,10	32	33
	K3	27	29	6,2	7,7	7,11	7,91	32	33
	A1	27,5	29	5,3	7,4	7,34	7,21	32	33
	A2	28	29	5,7	6,8	7,67	7,65	32	33
	A3	27	29	5,5	6,4	7,75	7,64	32	33
	B1	28	29,5	5,7	6,9	7,46	7,48	32	33
	B2	28	29	6,2	7,3	7,94	7,29	32	33
	B3	27	28	6,4	7,6	7,47	7,25	32	33
	C1	28	29	6,4	7,1	8,03	7,38	32	33
	C2	28	29	5,7	7,0	7,38	7,93	32	33
	C3	27	29	6,3	6,9	8,03	7,37	32	33
	D1	28	29	7,3	7,5	7,63	7,29	32	33
	D2	28	29	6,1	6,9	7,89	7,48	32	33
D3	27,5	28	6,3	7,3	7,29	7,89	32	33	
20-Feb-2019	K1	28	30	6,1	7,1	8,01	7,91	33	34
	K2	28	29	5,4	6,2	7,58	7,95	33	34
	K3	28	29	5,6	6,7	7,29	7,38	33	34
	A1	28	28,5	5,2	6,6	7,33	7,89	33	34
	A2	27,5	29	6,1	6,8	7,90	7,69	33	34
	A3	27,5	29	6,3	6,8	7,78	7,24	33	34
	B1	28	30	5,5	7,2	7,58	7,36	33	34
	B2	28	29,5	5,6	6,7	7,46	7,28	33	34
	B3	28	29,5	5,9	6,9	7,10	7,73	33	34
	C1	28	28,5	6,7	7,0	7,46	7,29	33	34
	C2	27	28	6,3	6,9	8,03	7,48	33	34
	C3	28	28	5,7	7,3	7,99	7,36	33	34
	D1	28	30	5,1	6,5	7,91	7,84	33	34
	D2	27,5	28	5,3	6,7	8,11	7,19	33	34
D3	28	29	5,8	7,4	7,94	7,81	33	34	

21-Feb-2019	K1	28	28	5,3	6,6	7,64	7,83	31	32
	K2	27,5	29	5,7	6,5	7,49	7,34	31	32
	K3	28	29	5,1	6,8	8,10	8,07	31	32
	A1	27	29	6,1	6,8	7,02	7,31	31	32
	A2	28	29	5,8	6,7	7,76	7,35	31	32
	A3	28	29	6,1	7,2	7,46	7,85	31	32
	B1	28,5	29	6,6	6,9	7,46	7,45	31	32
	B2	28	29	5,5	7,1	7,49	7,88	31	32
	B3	27,5	29	6,4	6,9	7,77	8,03	31	32
	C1	27	28	5,6	6,5	7,77	7,89	31	32
	C2	27,5	29	5,7	6,6	7,84	7,39	31	32
	C3	27,5	28	6,1	6,9	7,82	7,48	31	32
	D1	28	29	6,7	7,2	7,39	7,48	31	32
	D2	28	29	5,4	7,2	7,28	8,07	31	32
	D3	27	29	6,1	7,3	8,09	7,83	31	32
22-Feb-2019	K1	28	29	5,9	6,8	7,92	7,49	33	33
	K2	28	28	6,2	6,9	8,01	7,99	33	33
	K3	28	29	6,2	6,9	7,91	7,43	33	33
	A1	27,5	28	6,2	7,2	7,06	7,22	33	33
	A2	28,5	29	5,3	6,8	7,27	7,48	33	33
	A3	28,5	30	5,7	6,3	7,63	7,48	33	33
	B1	27,5	29	5,8	6,3	7,93	7,46	33	33
	B2	28	30	5,3	6,3	7,16	7,93	33	33
	B3	28	29	5,8	6,5	7,47	7,19	33	33
	C1	27	29	6,2	7,2	7,73	7,64	33	33
	C2	28	30	6,1	7,2	7,92	7,37	33	33
	C3	28	30	5,9	6,8	8,01	7,57	33	33
	D1	28	29	6,3	6,9	7,47	7,72	33	33
	D2	27	29	5,3	6,8	7,32	7,40	33	33
	D3	28	30	5,6	7,3	7,46	7,93	33	33
23-Feb-2019	K1	27	29	5,7	7,2	7,38	7,99	34	32
	K2	28	29	6,1	7,4	8,04	8,11	34	32
	K3	27,5	29	5,7	6,8	7,57	7,49	34	32
	A1	28,5	30	5,2	6,8	7,39	7,88	34	32
	A2	27,5	29	6,1	6,6	7,68	7,46	34	32
	A3	27,5	28	5,6	7,1	7,91	7,46	34	32
	B1	28	29	5,3	6,8	7,56	7,47	34	32
	B2	28	29	5,8	6,7	7,30	7,49	34	32
	B3	27	29	5,7	7,5	8,01	7,30	34	32
	C1	28	29	6,1	6,9	7,49	8,01	34	32
	C2	27	29	6,2	6,5	7,94	7,29	34	32
	C3	28	29	6,2	7,1	8,04	7,94	34	32
	D1	27,5	29	5,4	6,7	7,49	7,50	34	32
	D2	28	28	6,2	7,0	7,83	7,49	34	32
	D3	27	28,5	6,4	6,9	7,84	7,19	34	32
24-Feb-2019	K1	28	29	6,3	7,1	7,49	7,38	32	34
	K2	29	30	5,7	6,9	7,39	7,48	32	34
	K3	28	29	5,5	7,2	7,92	7,88	32	34
	A1	27,5	29	5,9	6,7	7,98	7,29	32	34
	A2	28	28	6,3	7,1	7,80	7,26	32	34
	A3	28	29	5,5	6,6	7,54	8,01	32	34

	B1	28	29	5,7	6,9	7,58	7,83	32	34
	B2	28	29	5,2	6,9	7,49	8,02	32	34
	B3	28,5	29	6,4	7,4	7,71	7,29	32	34
	C1	27,5	29	6,2	7,3	7,40	7,49	32	34
	C2	28	29	6,1	7,2	7,89	7,37	32	34
	C3	28	29	5,9	6,7	7,79	7,47	32	34
	D1	27	29	5,3	7,2	7,93	3,10	32	34
	D2	28	29	5,8	7,3	8,10	7,49	32	34
	D3	27,5	28	6,2	7,4	7,73	7,14	32	34
25-Feb-2019	K1	28	28	5,0	6,5	7,84	8,03	33	34
	K2	28	28	5,7	6,2	7,57	7,67	33	34
	K3	27,5	28	5,9	6,3	8,03	7,56	33	34
	A1	29	28	5,6	7,2	8,05	7,68	33	34
	A2	29	29	5,9	6,5	7,65	7,81	33	34
	A3	28	28,5	6,1	6,2	7,48	7,58	33	34
	B1	27	28,5	5,7	6,4	8,15	7,75	33	34
	B2	27	28	5,9	6,3	7,69	7,57	33	34
	B3	28	29	6,5	6,7	8,11	7,35	33	34
	C1	28	28	5,7	5,9	8,01	7,79	33	34
	C2	27,5	28,5	6,1	6,6	7,68	8,01	33	34
	C3	28	29	5,8	5,8	7,37	7,68	33	34
	D1	28	29	5,0	7,1	7,96	7,82	33	34
	D2	29	29	5,2	6,8	7,59	8,03	33	34
	D3	27,5	28	6,3	6,4	7,98	7,46	33	34
26-Feb-2019	K1	28	28	5,7	7,3	7,33	7,67	33	32
	K2	28	29	5,2	6,7	8,14	7,84	33	32
	K3	27,5	28	5,5	5,1	7,11	7,86	33	32
	A1	28	28	6,7	5,5	7,65	7,76	33	32
	A2	28	29	6,8	6,7	7,85	7,97	33	32
	A3	27,5	28	7,6	6,5	7,78	7,54	33	32
	B1	28	28	6,8	6,6	7,56	7,88	33	32
	B2	28	29	6,7	6,5	8,16	7,85	33	32
	B3	28	28,5	6,2	7,1	7,14	7,98	33	32
	C1	28	29	6,8	4,3	7,35	7,76	33	32
	C2	28	29	6,1	6,4	7,93	7,74	33	32
	C3	27	28	6,3	6,5	7,8	7,09	33	32
	D1	28	28,5	6,5	6,7	7,45	7,86	33	32
	D2	28	29	6	5,5	7,96	7,73	33	32
	D3	28	29	6,1	6,6	8,10	7,79	33	32
27-Feb-2019	K1	28	28	7,1	6,8	7,75	8,09	32	31
	K2	27,5	28	6,8	7,2	7,9	7,77	32	31
	K3	28	28,5	6,3	6,6	7,8	7,71	32	31
	A1	27,5	28	6,9	6,5	7,57	7,67	32	31
	A2	28	28	7,5	7	8,02	7,7	32	31
	A3	27,5	29	6,3	6,9	7,83	7,6	32	31
	B1	27	29	7,4	7,1	7,69	7,86	32	31
	B2	28	28	7,3	7,9	7,34	7,56	32	31
	B3	28	29	7,4	7,6	8,03	7,88	32	31
	C1	27,5	29	7,2	7,8	7,89	7,66	32	31
	C2	28	28,5	7,1	7,4	7,34	7,88	32	31
	C3	27,5	28	7,4	7,2	8,05	7,56	32	31

	D1	28	29	7,2	7,9	7,98	7,43	32	31
	D2	27,5	28	7,8	7,1	7,77	7,66	32	31
	D3	28,5	29	6,6	6,5	7,84	7,80	32	31
28-Feb-2019	K1	27	29,5	7,9	7,1	7,90	8,08	32	33
	K2	28	29	7,8	7,1	7,87	7,8	32	33
	K3	28	29	6,9	6,5	7,89	7,65	32	33
	A1	28	28	6,9	6,5	7,9	8,08	32	33
	A2	27,5	29,5	7,5	6,5	7,67	7,88	32	33
	A3	27	28,5	7	6,5	8,02	7,6	32	33
	B1	28	28	7,8	6,8	7,66	6,78	32	33
	B2	27	30	7,5	6,9	8,09	6,9	32	33
	B3	28	29	7,5	6,7	7,6	7,85	32	33
	C1	27,5	28	7	6,1	7,74	6,98	32	33
	C2	28	29,5	7,6	6,8	7,28	7,67	32	33
	C3	28	29	7,6	5,7	8,20	7,56	32	33
	D1	28	30	6,9	6,8	7,80	7,68	32	33
	D2	28	29	7,2	5,9	7,50	7,99	32	33
	D3	27,5	28	7,4	7,2	7,90	8,06	32	33
1-Mar-2019	K1	29	29	6,3	7,2	7,76	7,9	35	33
	K2	28	30,5	7,1	8,1	7,66	7,87	35	33
	K3	27	30	6,4	7,8	6,99	7,67	35	33
	A1	27	29	6,8	7,3	7,81	7,66	35	33
	A2	28	30	6,6	6,7	7,55	7,8	35	33
	A3	28	38,5	6,4	6,5	7,67	7,65	35	33
	B1	29	29	6,4	7,6	7,89	7,66	35	33
	B2	28	29,5	7,5	7,7	7,9	7,94	35	33
	B3	28,5	29	6,4	7,5	7,36	7,68	35	33
	C1	28	28	6,4	6,9	7,06	7,9	35	33
	C2	29	29,5	6,5	6,9	8,04	7,66	35	33
	C3	28	29,5	7,1	7	7,42	7,44	35	33
	D1	29	30	6,5	7,1	7,09	7,65	35	33
	D2	28	30	7	7,1	8,02	7,9	35	33
	D3	28,5	29	7,2	7,4	7,68	7,87	35	33
2-Mar-2019	K1	28	28	7,7	6,8	8,03	8,07	33	33
	K2	27,5	28,5	6,1	6,6	7,65	7,07	33	33
	K3	27	29	5,6	5,6	7,36	7,81	33	33
	A1	28	29	5,4	6,5	8,01	8,11	33	33
	A2	28,5	30	8,1	6	7,6	7,79	33	33
	A3	27,5	29	7,2	6,2	7,88	7,67	33	33
	B1	28	29,5	6,1	6,2	8,14	7,98	33	33
	B2	29	30	5,1	6	7,98	7,86	33	33
	B3	27	27,5	7,6	5,8	7,66	7,61	33	33
	C1	28	28	7,6	6,7	8,03	8,13	33	33
	C2	27,5	29	7,5	6,8	7,65	7,81	33	33
	C3	28	29	5,7	4,9	8,09	7,94	33	33
	D1	28,5	30	7,1	6,2	8,07	8,1	33	33
	D2	28	30,5	5,2	4,7	8,02	7,91	33	33
	D3	29	29	5,4	3,8	7,9	7,65	33	33
3-Mar-2019	K1	27,5	28	6,1	6,5	7,39	7,75	35	35
	K2	27	28	6,3	6,8	7,84	7,58	35	35
	K3	28	29	6	6,6	8,08	7,39	35	35

	A1	27,5	29	6,2	6,8	8,59	8,03	35	35
	A2	28	29	6,7	6,6	7,8	7,48	35	35
	A3	28	28,5	6,4	6,7	8,16	7,27	35	35
	B1	28,5	29	6,3	6,7	7,82	7,94	35	35
	B2	28	29	6,1	6,5	7,89	7,29	35	35
	B3	27,5	29	6,2	6,7	7,98	7,9	35	35
	C1	28	29,5	6	6,4	7,09	7,8	35	35
	C2	27	28,5	6,4	6,8	7,68	7,2	35	35
	C3	27	29	6,1	6	7,98	7,7	35	35
	D1	28,5	29	6,4	6,7	7,58	7,29	35	35
	D2	28	29,5	6,1	6,9	7,85	7,58	35	35
	D3	27	29	6,4	6,7	7,99	7,83	35	35
4-Mar-2019	K1	27	29,5	7,6	7,4	8,03	7,59	34	33
	K2	27,5	28	7,5	7,5	8,16	8,13	34	33
	K3	27,5	29	6,4	7,7	8,01	7,49	34	33
	A1	28	29	8,1	6,9	7,58	7,48	34	33
	A2	27,5	28,5	8,2	7,7	8,01	7,88	34	33
	A3	28	30	7,6	7,9	7,58	7,58	34	33
	B1	28	29	8,2	7,9	7,57	7,45	34	33
	B2	28	28,5	7,4	7,4	7,98	8,08	34	33
	B3	27,5	28	8,1	7,7	7,82	7,26	34	33
	C1	27,5	29	8,2	7,3	7,58	7,56	34	33
	C2	28	28	7,9	7,3	8,11	8,08	34	33
	C3	28	29,5	8,2	7,1	7,29	7,19	34	33
	D1	27,5	29	7,3	8,2	7,76	7,1	34	33
D2	28	28,5	8,2	7,5	8,14	8,14	34	33	
D3	27	29	7,3	8,1	7,02	7,38	34	33	
5-Mar-2019	K1	27,5	29	6,3	6,4	8,03	7,97	35	34
	K2	28	28,5	6,7	6,7	7,59	7,56	35	34
	K3	27	28	6,7	6,3	7,58	7,25	35	34
	A1	27,5	29	5,7	6,4	7,83	7,91	35	34
	A2	28	28,5	6,1	6,1	7,95	7,57	35	34
	A3	27,5	29	6,5	6,3	7,65	7,29	35	34
	B1	27,5	28,5	6,4	6,3	8,02	7,88	35	34
	B2	28	29	6,6	6,7	7,58	8,12	35	34
	B3	28	29	6,5	6,7	8,02	7,58	35	34
	C1	27,5	29	6,6	6,6	8,05	7,99	35	34
	C2	28	29	6,9	6,4	7,24	7,45	35	34
	C3	28	29	6,7	6,7	8,03	7,68	35	34
	D1	27,5	29,5	6,6	6,3	8,09	7,95	35	34
D2	27	28	6,6	6,6	8,19	7,47	35	34	
D3	28	29	6,8	6,6	7,68	7,14	35	34	
6-Mar-2019	K1	27	28,5	6,7	6,7	8,01	7,67	34	33
	K2	28	29	7	6,4	8,08	7,57	34	33
	K3	27,5	29	6,5	6,4	8,04	7,99	34	33
	A1	27,5	29	6,9	6,6	7,54	7,58	34	33
	A2	28	28,5	6,3	5,9	7,96	7,19	34	33
	A3	28	29	6,4	6,3	7,82	8,01	34	33
	B1	28	29	6,5	6,8	7,48	8,15	34	33
	B2	27	28	6,6	6,9	8,02	7,39	34	33
B3	27	29,5	6,4	6,8	7,92	7,81	34	33	

	C1	28	29	7	6,4	7,49	7,48	34	33
	C2	28	28,5	6,7	6,7	8,12	8,01	34	33
	C3	27	29	6,9	6,9	7,28	8,16	34	33
	D1	27,5	29	6,5	6,6	7,93	7,47	34	33
	D2	27,5	29	7	6,7	8,15	7,62	34	33
	D3	28	29	7,1	7	7,91	7,98	34	33
7-Mar-2019	K1	27,5		7,1		8,13		34	
	K2	28		6,3		8,01		34	
	K3	28		7		7,89		34	
	A1	28		6,5		7,69		34	
	A2	28		6,7		7,56		34	
	A3	28,5		7,1		7,9		34	
	B1	28		6,4		7,45		34	
	B2	27		6,5		7,68		34	
	B3	28		6,8		7,92		34	
	C1	27,5		6,3		7,51		34	
	C2	27		6,8		7,69		34	
	C3	28		6,2		7,77		34	
	D1	27		6,9		7,95		34	
	D2	27,5		7,4		8,04		34	
	D3	28		6,6		7,79		34	



Lampiran 9. Data Survival Rate (SR) Ikan Kerapu Cantang Selama Penelitian

Tanggal	Perlakuan	Jumlah Ikan Hidup (ekor)	Jumlah ikan Mati (ekor)	Survival rate (SR) %
Senin, 25 Feb 2019	K1	10	0	100 %
	K2	10	0	
	K3	10	0	
	A1	10	0	100%
	A2	10	0	
	A3	10	0	
	B1	10	0	100%
	B2	10	0	
	B3	10	0	
	C1	10	0	100%
	C2	10	0	
	C3	10	0	
	D1	10	0	100%
	D2	10	0	
	D3	10	0	
Selasa, 26 Feb 2019	K1	10	0	100%
	K2	10	0	
	K3	10	0	
	A1	10	0	100%
	A2	10	0	
	A3	10	0	
	B1	10	0	100%
	B2	10	0	
	B3	10	0	
	C1	10	0	100%
	C2	10	0	
	C3	10	0	
	D1	10	0	100%
	D2	10	0	
	D3	10	0	
Rabu, 27 Feb 2019	K1	10	0	100%
	K2	10	0	
	K3	10	0	
	A1	10	0	100%
	A2	10	0	
	A3	10	0	
	B1	10	0	100%
	B2	10	0	
	B3	10	0	
	C1	10	0	100%
	C2	10	0	
	C3	10	0	
	D1	10	0	100%
	D2	10	0	
	D3	10	0	

Tanggal	Perlakuan	Jumlah Ikan Hidup (ekor)	Jumlah ikan Mati (ekor)	Survival rate (SR) %
Kamis, 28 Feb 2019	K1	10	0	100%
	K2	10	0	
	K3	10	0	
	A1	10	0	100%
	A2	10	0	
	A3	10	0	
	B1	10	0	100%
	B2	10	0	
	B3	10	0	
	C1	10	0	100%
	C2	10	0	
	C3	10	0	
	D1	10	0	100%
	D2	10	0	
	D3	10	0	
Jumat, 1 Maret 2019	K1	10	0	100%
	K2	10	0	
	K3	10	0	
	A1	10	0	100%
	A2	10	0	
	A3	10	0	
	B1	10	0	100%
	B2	10	0	
	B3	10	0	
	C1	10	0	100%
	C2	10	0	
	C3	10	0	
	D1	10	0	100%
	D2	10	0	
	D3	10	0	
Sabtu, 2 Maret 2019	K1	10	0	100%
	K2	10	0	
	K3	10	0	
	A1	10	0	100%
	A2	10	0	
	A3	10	0	
	B1	10	0	100%
	B2	10	0	
	B3	10	0	
	C1	10	0	100%
	C2	10	0	
	C3	10	0	
	D1	10	0	100%
	D2	10	0	
	D3	10	0	
	K1	10	0	100%
	K2	10	0	
	K3	10	0	

Tanggal	Perlakuan	Jumlah Ikan Hidup (ekor)	Jumlah ikan Mati (ekor)	Survival rate (SR) %
Minggu, 3 Maret 2019	A1	10	0	100%
	A2	10	0	
	A3	10	0	
	100%	B1	10	0
		B2	10	0
		B3	10	0
		C1	10	0
		C2	10	0
		C3	10	0
	100%	D1	10	0
		D2	10	0
		D3	10	0
Senin, 4 Maret 2019	K1	10	0	100%
	K2	10	0	
	K3	10	0	
	100%	A1	10	0
		A2	10	0
		A3	10	0
	100%	B1	10	0
		B2	10	0
		B3	10	0
	100%	C1	10	0
		C2	10	0
		C3	10	0
	100%	D1	10	0
		D2	10	0
		D3	10	0
Selasa, 5 Maret 2019	K1	10	0	100%
	K2	10	0	
	K3	10	0	
	100%	A1	10	0
		A2	10	0
		A3	10	0
	100%	B1	10	0
		B2	10	0
		B3	10	0
	100%	C1	10	0
		C2	10	0
		C3	10	0
	100%	D1	10	0
		D2	10	0
		D3	10	0
Rabu, 6 Maret 2019	K1	10	0	100%
	K2	10	0	
	K3	10	0	
	100%	A1	10	0
		A2	10	0
		A3	10	0

Tanggal	Perlakuan	Jumlah Ikan Hidup (ekor)	Jumlah ikan Mati (ekor)	Survival rate (SR) %	
	B1	10	0	100%	
	B2	10	0		
	B3	10	0		
		C1	10	0	100%
		C2	10	0	
		C3	10	0	
		D1	10	0	
		D2	10	0	100%
D3		10	0		
		10	0		
Kamis, 7 Maret 2019	K1	10	0	100%	
	K2	10	0		
	K3	10	0		
		A1	10	0	100%
		A2	10	0	
		A3	10	0	
		B1	10	0	100%
		B2	10	0	
		B3	10	0	
		C1	10	0	100%
		C2	10	0	
		C3	10	0	
		D1	10	0	
D2		10	0		
D3		10	0		
Jumat, 8 Maret 2019	K1	10	0	100%	
	K2	10	0		
	K3	10	0		
		A1	10	0	100%
		A2	10	0	
		A3	10	0	
		B1	10	0	100%
		B2	10	0	
		B3	10	0	
		C1	10	0	100%
		C2	10	0	
		C3	10	0	
		D1	10	0	
D2		10	0		
D3		10	0		
Sabtu, 9 Maret 2019	K1	10	0	100%	
	K2	10	0		
	K3	10	0		
		A1	10	0	100%
		A2	10	0	
		A3	10	0	
		B1	10	0	100%
		B2	10	0	
	B3	10	0		

Tanggal	Perlakuan	Jumlah Ikan Hidup (ekor)	Jumlah ikan Mati (ekor)	Survival rate (SR) %
	C1	10	0	100%
	C2	10	0	
	C3	10	0	
	D1	10	0	100%
	D2	10	0	
	D3	10	0	
Minggu, 10 Maret 2019	K1	6	4	70%
	K2	8	2	
	K3	7	3	
	A1	8	2	73,3%
	A2	6	4	
	A3	8	2	
	B1	8	2	83,3%
	B2	9	1	
	B3	8	2	
	C1	9	1	86,6%
	C2	8	2	
	C3	9	1	
	D1	9	1	90%
	D2	9	1	
	D3	9	1	
Senin, 11 Maret 2019	K1	4	2	33,3%
	K2	3	5	
	K3	3	4	
	A1	4	4	43,3%
	A2	4	2	
	A3	5	3	
	B1	4	4	53,3%
	B2	6	3	
	B3	6	2	
	C1	6	3	56,6%
	C2	6	2	
	C3	5	3	
	D1	6	3	66,6%
	D2	7	2	
	D3	7	2	

Lampiran 10. Perhitungan Konsentrasi VNN

- Konsentrasi 10^5 (Hasil dari pengujian *Real Time PCR*)
- Konsentrasi 10^4

- $N_2 = \text{Virus yang diinjeksi} \times \text{Jumlah ikan}$
 $= 0,2 \text{ ml} \times 20 = 4 \text{ ml}$

- $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

$10^5 \times N_1 = 10^4 \times 4$

$N_1 = \frac{40.000}{100.000}$

$= 0,4 \text{ ml}$

Keterangan:

V1: Volume mula-mula

N1: Konsentrasi mula-mula

V2: Volume setelah pengenceran

N2: Konsentrasi setelah pengenceran

- Larutan PBS yang digunakan
 PBS = 4 ml – 0,4 ml
 = 3,6 ml

