

**STATUS DIFERENSIAL LEUKOSIT IKAN KERAPU CANTANG
(*Epinephelus fuscoguttatus* X *Epinephelus lanceolatus*) YANG DIINFEKSI
Viral Nervous Necrosis (VNN) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK *Dunaliella*
*salina***

SKRIPSI

Oleh:

**FAUZAN AZ-ZIRNIKH IBNU HASRUL
155080500111041**



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

**STATUS DIFERENSIAL LEUKOSIT IKAN KERAPU CANTANG
(*Epinephelus fuscoguttatus* X *Epinephelus lanceolatus*) YANG DIINFEKSI
Viral Nervous Necrosis (VNN) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK *Dunaliella*
*salina***

SKRIPSI

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

Oleh:

**FAUZAN AZ-ZIRNIKH IBNU HASRUL
155080500111041**



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

SKRIPSI
STATUS DIFERENSIAL LEUKOSIT IKAN KERAPU CANTANG
(*Epinephelus fuscoguttatus* X *Epinephelus lanceolatus*) YANG DIINFEKSI
Viral Nervous Necrosis* (VNN) DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK *Dunaliella
salina

Oleh:

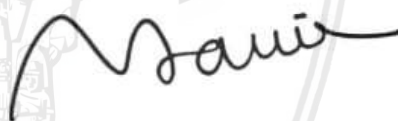
FAUZAN AZ-ZIRNIKH IBNU HASRUL
155080500111041

Menyetujui,
Dosen Pembimbing 1



Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS.
NIP. 19611106 198602 2 001
Tanggal: 22 OCT 2019

Menyetujui
Dosen Pembimbing 2



Rani Yuwanita, S.Pi., MP.
NIK. 201506 860612 2 001
Tanggal: 22 OCT 2019

Mengetahui,
Ketua Jurusan
Manajemen Sumberdaya Perairan



Dr. Ir. M. Firdaus, MP.
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal: 22 OCT 2019

IDENTITAS PENGUJI

Judul : **Status Diferensial Leukosit Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* X *Epinephelus lanceolatus*) yang Diinfeksi VNN (*Viral Nervous Necrosis*) dengan Pemberian Ekstrak *Dunaliella salina***

Nama Mahasiswa : Fauzan Az-zirnikh Ibnu Hasrul

NIM : 155080500111041

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 : Prof. Dr. Ir. H. Maftuch,

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

Tanggal Ujian : 24 September 2019

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan banyak rasa syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas Rahmat dan karunianya sehingga dapat menyelesaikan laporan skripsi. Penulis menyadari bahwa penulisan ini tidak lepas dari dukungan moril dan materi dari semua pihak. Melalui kesempatan ini, dengan kerendahan hati saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

- Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan saran pada penulis hingga dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikannya.
- Ibu Rani Yuwanita, S. Pi, MP. selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan arahan dan nasihat pada penulis hingga dapat melaksanakan penelitian ini.
- Prof. Dr. Ir. H. Maftuch, MS dan Ibu Qurroya 'Ayunin, S.Pi., MP., M.Sc., selaku dosen penguji yang sudah memberikan ilmu dan nasihat kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi.
- Abi Nurul Ulum Thoyyib dan Umi Nanah Hasanah selaku kedua orang tua yang senantiasa memberikan doa, motivasi dan dukungan kepada saya.
- Alma, Anggi, Ariful, Faizal dan Viola selaku teman satu tim skripsi yang senantiasa bekerjasama dalam menyelesaikan penelitian.
- Teman-teman Aqualatte yang telah meberikan dukungan dalam pengerjaan laporan skripsi.
- Teman-teman KAMANDA Malang yang selalu memberikan dukungan dan dorongan dalam penyelesaian laporan skripsi.

Malang, September 2019

penulis

RINGKASAN

Fauzan Az-zirnikh I.H. Status Diferensial Leukosit Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* 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 merupakan komoditas perikanan Indonesia yang diunggulkan dan memiliki nilai ekonomi cukup tinggi serta merupakan komoditas ekspor. Pengembangan tentang ikan kerapu dilakukan dengan melakukan beberapa perkawinan silang antar jenis kerapu. Salah satu ikan yang berhasil di dapatkan yaitu jenis ikan kerapu cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*). Hambatan utama dalam produksi budidaya adalah kematian yang diakibatkan oleh infeksi mikroorganisme patogen dan degradasi kualitas lingkungan. Infeksi patogen pada ikan kerapu dapat disebabkan Virus seperti Iridovirus dan *Viral Nervous Necrosis*. VNN merupakan salah satu jenis virus *Nodaviridae* yang menyerang ikan kerapu, terutama pada stadia Larva. VNN dapat menyebabkan kematian masal hingga mencapai prevalensi 100%. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui status diferensial leukosit ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN dengan pemberian ekstrak *D. salina* pada pakan.

Metode Penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap. Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini meliputi leukosit, limfosit, monosit, neutrofil dan eosinofil, serta faktor penunjang seperti *Survival Rate* dan kualitas air. Tahapan penelitian dimulai dengan penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian utama meliputi persiapan alat bahan, pembuatan ekstrak *D. salina*, ujiantang dan pengamatan diferensial leukosit. Pengamatan parameter penunjang kualitas air dilakukan setiap pagi dan sore.

Ikan kerapu cantang yang telah diinfeksi VNN menunjukkan gejala klinis yaitu berenang miring dan lebih sering berdiam diri didasar dengan tubuh ikan yang menghitam serta nafsu makan menurun. Ikan kerapu cantang juga mengalami bengkak pada bagian limfa, hati yang memucat serta sirip pectoral yang memerah. Hasil penelitian ini didapatkan perlakuan terbaik sebelum dan setelah ujiantang dilihat dari nilai limfosit, monosit neutrofil dan eosinofil didapat pada perlakuan D (400 mg/kg pakan) dengan nilai rerata limfosit sebesar 4,37% dan 4,42%. Nilai rerata monosit sebesar 3,34% dan 3,53%, nilai rerata neutrofil sebesar 3,91% dan 4,01%, serta nilai rerata eosinofil sebesar 3,34% dan 3,47%. Kualitas air yang diukur selama penelitian masih tergolong normal untuk menunjang kehidupan ikan kerapu cantang dengan kisaran suhu 27-32°C, pH 7,11-7,82 salinitas 31-24ppt dan DO 5,1-8,2 ppm. Nilai SR yang didapat dari seluruh perlakuan setelah diinfeksi oleh VNN sebesar 42,9.

Jumlah leukosit dan diferensial leukosit ikan kerapu cantang sebelum diinfeksi VNN berada dalam kisaran normal. Setelah diinfeksi VNN jumlah leukosit dan diferensial leukosit ikan kerapu cantang mengalami peningkatan. Perlakuan terbaik diperoleh pada perlakuan D dengan pemberian ekstrak *D. salina* sebanyak 400mg/kg pakan yang memiliki jumlah leukosit dan diferensial leukosit tertinggi. Nilai kualitas air yang diperoleh selama penelitian mendukung untuk kehidupan ikan kerapu cantang.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyajikan laporan Skripsi yang berjudul “Status Diferensial Leukosit Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* X *Epinephelus lanceolatus*) Yang Diinfeksi Viral Nervous Necrosis (VNN) Dengan Pemberian 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.

Pemanfaatan *D. salina* sebagai pencegahan VNN pada ikan Kerapu Cantang yang diberikan pada pakan diharapkan dapat dijadikan informasi bagi pembudidaya dan masyarakat umum, khususnya budidaya ikan Kerapu Cantang. Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam laporan Skripsi yang telah ditulis. Kritik dan saran sangat dibutuhkan demi kebaikan laporan berikutnya. Penulis berharap laporan ini bisa bermanfaat bagi pembaca.

Malang, September 2019

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

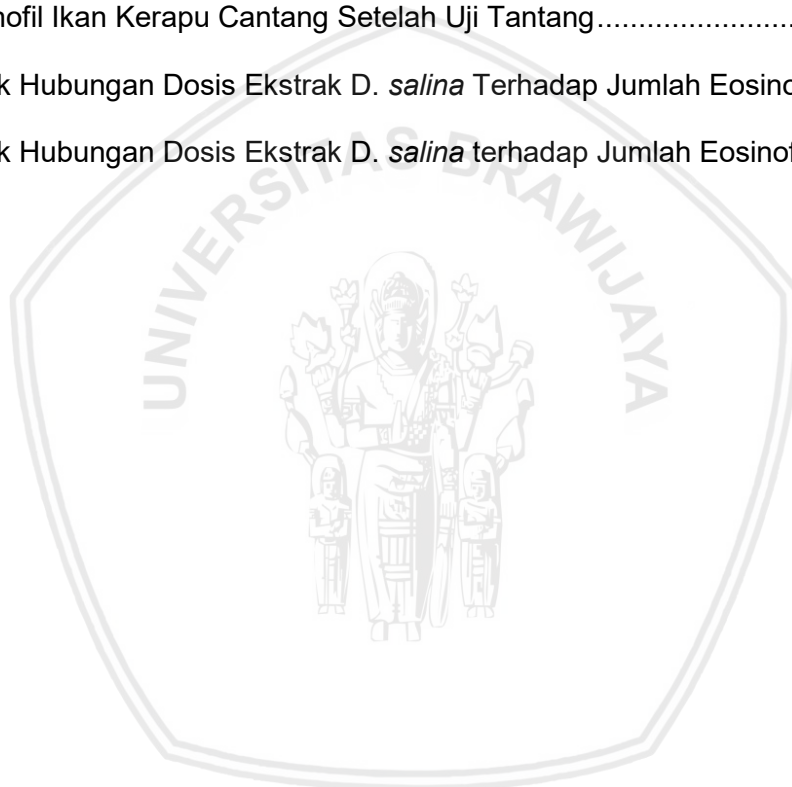
UCAPAN TERIMAKASIH	iii
RINGKASAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Hipotesis.....	3
1.5 Kegunaan	3
1.5.1 Kegunaan Teoritis.....	3
1.5.2 Kegunaan Praktis.....	4
1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Ikan Kerapu Cantang (<i>E. fuscoguttatus</i> x <i>E. 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	11
2.2.3 Siklus Hidup	11
2.2.4 Kandungan <i>D. salina</i>	12
2.3 Viral Nervous Necrosis (VNN).....	14
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	14
2.3.2 Habitat dan Distribusi.....	15
2.3.3 Mekanisme Infeksi VNN	16
2.4 Leukosit	17
2.5 Diferensial Leukosit	18
2.5.1 Limfosit	18
2.5.2 Monosit	20
2.5.3 Neutrofil	20

2.5.4 Eusinofil	21
3. METODE PENELITIAN	23
3.1 Materi Penelitian	23
3.1.1 Alat-alat Penelitian	23
3.1.2 Bahan-bahan Penelitian	24
3.2 Metode Penelitian	24
3.2.1 Rancangan Penelitian	25
3.3 Teknik Pengumpulan Data	26
3.3.1 Data Primer	26
3.3.2 Data Sekunder	27
3.4 Prosedur Penelitian	27
3.4.1 Penelitian Pendahuluan	27
3.4.2 Penelitian Utama	29
3.4.3 Maserasi dan Evaporasi	30
3.4.4 <i>Repelleting</i>	31
3.4.5 Isolasi Virus	31
3.4.6 Lethal Dose 50 (LD ₅₀)	32
3.4.7 Persiapan Ikan Penelitian	32
3.5 Pelaksanaan Penelitian	33
3.5.1 Pemberian Pakan	33
3.5.2 Uji Tantang	33
3.5.3 Pengamatan Gejala Patologi Klinis	33
3.5.4 Pengamatan Lesi Anatomi	33
3.5.5 Deteksi VNN dengan PCR	34
3.6 Metode Pengukuran Leukosit dan Diferensial Leukosit	35
3.6.1 Pengambilan Darah Ikan Kerapu Cantang	35
3.6.2 Pembuatan Preparat Ulas	35
3.6.3 Perhitungan Total Leukosit	36
3.6.4 Perhitungan Limfosit dan Monosit	36
3.6.5 Perhitungan Polimorfonuklear Leukosit	37
3.7 Parameter Uji	37
3.7.1 Parameter Utama	37
3.7.2 Parameter Penunjang	37
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	39
4.1 Gejala Klinis Patologis	39
4.2 Lesi Anatomi	43
4.3 <i>Survival Rate</i> (SR)	44
4.4 Uji PCR	45
4.5 Leukosit dan Diferensial Leukosit	47
4.6 Kualitas Air	66
5. KESIMPULAN DAN SARAN	68
5.1 Kesimpulan	68
5.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA	69

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Ikan Kerapu Cantang	6
2. <i>Dunaliella salina</i>	10
3. Struktur VNN (Viral Nervous Necrosis)	14
4. Morfologi Leukosit.....	18
5. Morfologi Limfosit.....	19
6. Morfologi Monosit	20
7. Morfologi Neutrofil.....	21
8. Morfologi Eusinofil	22
9. Denah Penelitian	26
10. Prosedur Kerja Penelitian Pendahuluan.....	28
11. Prosedur kerja penelitian utama.....	29
12. Gejala Klinis Patologis Ikan Kerapu Cantang.....	43
13. Lesi Anatomi Ikan Kerapu Cantang 96 Jam pasca Infeksi.....	44
14. Hasil Elektroforesis Ikan Kerapu Cantang Positif VNN.....	46
15. Leukosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang	49
16. Leukosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang	50
17. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak <i>D. salina</i> terhadap Jumlah Leukosit	50
18. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak <i>D. salina</i> terhadap Jumlah Leukosit	51
19. Limfosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang	53
20 . Limfosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang	53
21. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak <i>D. salina</i> terhadap Jumlah Limfosit	54
22. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak <i>D. salina</i> terhadap Jumlah Limfosit	54
23. Monosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang.....	57
24. Monosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang.....	57

25. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak D. <i>salina</i> terhadap Jumlah Monosit.....	58
26. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak D. <i>salina</i> terhadap Jumlah Monosit.....	58
27. Neutrofil Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji tantang	60
28. Neutrofil Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang	61
29. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak D. <i>salina</i> terhadap Jumlah Neutrofil	61
30. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak D. <i>salina</i> terhadap Jumlah Neutrofil	62
31. Eosinofil Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang.....	64
32. Eosinofil Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang.....	64
33. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak D. <i>salina</i> Terhadap Jumlah Eosinofil.....	65
34. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak D. <i>salina</i> terhadap Jumlah Eosinofil.....	65

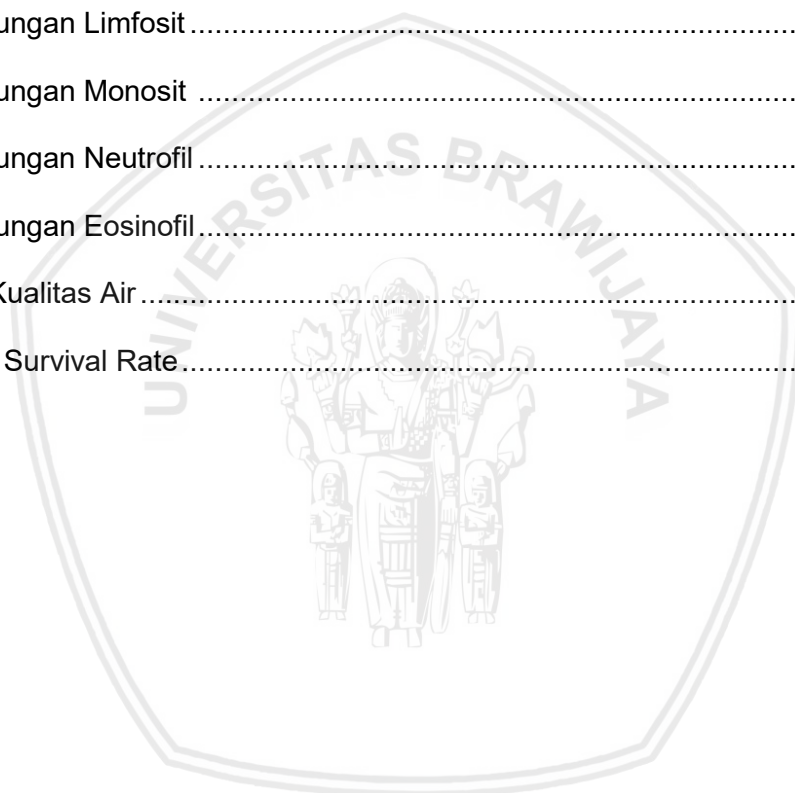


DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Kandungan <i>D. salina</i>	13
2. Alat dan Fungsinya	23
3. Bahan dan Fungsinya	24
4. Gejala Klinis Patologis Pasca Infeksi VNN.....	39
5. <i>Survival Rate</i> Ikan Kerapu Cantang	45
6. Rerata Leukosit, Limfosit, Monosit, Neutrofil dan Eosinofil Ikan Kerapu Cantang Sebelum Diuji Tantang	47
7. Rerata Leukosit, Limfosit, Monosit, Neutrofil dan Eosinofil Ikan Kerapu Cantang Setelah Diuji Tantang	47
8. Kisaran Kualitas Air Selama Pemeliharaan.....	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Alat Penelitian.....	74
2. Bahan Penelitian.....	80
3. Perhitungan Konsentrasi VNN	85
4. Perhitungan Leukosit	86
5. Perhitungan Limfosit	94
6. Perhitungan Monosit	101
7. Perhitungan Neutrofil	109
8. Perhitungan Eosinofil.....	117
9. Data Kualitas Air	125
10. Data Survival Rate.....	130



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara produsen ikan kerapu terbesar di dunia. Berdasarkan data Departemen Kelautan dan Perikanan, produksi ikan kerapu Indonesia pada tahun 2004 sebanyak 6.552 ton. Ikan kerapu merupakan komoditas perikanan Indonesia yang diunggulkan dan memiliki nilai ekonomi cukup tinggi serta merupakan komoditas ekspor. Budidaya ikan kerapu saat ini sudah berkembang, sehingga perlu ketersediaan benih secara berulang. Salah satu cara untuk mendapatkan panen kerapu yang banyak dalam jangka waktu singkat adalah memakai teknik budidaya intensif dengan padat tebar tinggi (Tumadang *et al.*, 2016). Pengembangan tentang ikan kerapu dilakukan dengan melakukan beberapa perkawinan silang antar jenis kerapu. Salah satu ikan yang berhasil di dapatkan yaitu jenis ikan kerapu cantang. Menurut Chrisdiana, *et al.* (2015), ikan kerapu cantang yang memiliki nama latin *Epinephelus* sp. merupakan ikan hasil persilangan antara ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dengan ikan kerapu kertang (*Epinephelus lanceolatus*).

Menurut Novriadi *et al.* (2014), salah satu hambatan utama dalam produksi budidaya adalah kematian yang diakibatkan oleh infeksi mikroorganisme patogen dan degradasi kualitas lingkungan. Kondisi ini berhubungan dengan semakin intensifnya sistem budidaya yang dikembangkan. Infeksi mikroorganisme patogen salah satunya adalah infeksi oleh parasit. Umumnya parasit seperti *Benedenia*, *Neobenedenia*, *Diplectanum*, dan *Cryptocaryon irritans* telah menjadi wabah pada ikan Kerapu. Infeksi mikroorganisme patogen lainnya disebabkan Virus. Jumlah produksi ikan kerapu terhambat karena terinfeksi oleh iridovirus dan *Viral Nervous Necrosis* (VNN).

Kondisi ini membuktikan bahwa masalah penyakit dalam perkembangan budidaya ikan laut memerlukan perhatian yang sangat serius.

VNN merupakan salah satu jenis virus *Nodaviridae* yang menyerang ikan kerapu, terutama pada stadia Larva. VNN dapat menyebabkan kematian masal hingga mencapai prevalensi 100%. Infeksi VNN dapat menyebabkan kematian atau kerusakan saraf sentral sehingga ikan sulit untuk merespon berbagai rangsangan dan tubuh mengalami ketidak seimbangan dalam hal pergerakan. Keputusan menteri Nomor 26 tahun 2013 telah menetapkan virus ini sebagai Hama Penyakit Ikan Karantina (HPIK) Golongan I. Metode diagnosis patogen virus dapat dilakukan dengan cara melihat gejala klinis, histopatologi, mikroskop elektron, isolasi agen virus dalam kultur sel yang kemudian diikuti dengan identifikasi secara molekuler atau dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) (Fitriatin dan Manan, 2015).

Salah satu upaya alternatif untuk mengurangi dampak dari VNN dapat menggunakan pakan alami seperti *D. salina*, karena memiliki kandungan β -karoten yang cukup tinggi. *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%) (Abd El-Baky *et al.*, 2007). Menurut Yuwanita *et al.* (2018), pada 2g berat kering *D. salina* terdapat 100mg β -karoten. Komponen aktif fitoplankton yang berperan dalam pertahanan tubuh antara lain fenol, terpenoid, sterol, flavonoid dan polisakarida. Komponen aktif mikroalga berfungsi dalam aktivitas antimikroba. Astrid *et al.* (2013), mengatakan bahwa *Dunaliella salina* mempunyai kandungan β -karoten dan kandungan gizi yang tinggi dengan kandungan protein sebesar 25,67g, karbohidrat 40,21g, dan memiliki kandungan serat sebesar 2,1g. Penggunaan *D. salina* yang mempunyai kandungan β -karoten tinggi dilakukan

karena karotenoid memiliki manfaat sebagai antioksidan, anti bakteri dan dapat meningkatkan imunitas serta pengganti sel-sel yang rusak.

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, leukosit total, dan (diferensial) leukosit.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini diambil berdasarkan latar belakang diatas yaitu bagaimana status diferensial leukosit ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN dengan pemberian ekstrak *D. salina* pada pakan?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui status diferensial leukosit ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN dengan pemberian ekstrak *D. salina* pada pakan.

1.4 Hipotesis

H0: Pemberian ekstrak *D. salina* tidak berpengaruh terhadap status diferensial ikan kerapu cantang yang diinfeksi virus VNN

H1: Pemberian *D. salina* berpengaruh terhadap status diferensial leukosit ikan kerapu cantang yang diinfeksi virus VNN

1.5 Kegunaan

1.5.1 Kegunaan Teoritis

Kegunaan secara teoritis dari penelitian ini yaitu dapat dijadikan sebagai referensi atau sumber informasi mengenai diferensial leukosit ikan kerapu

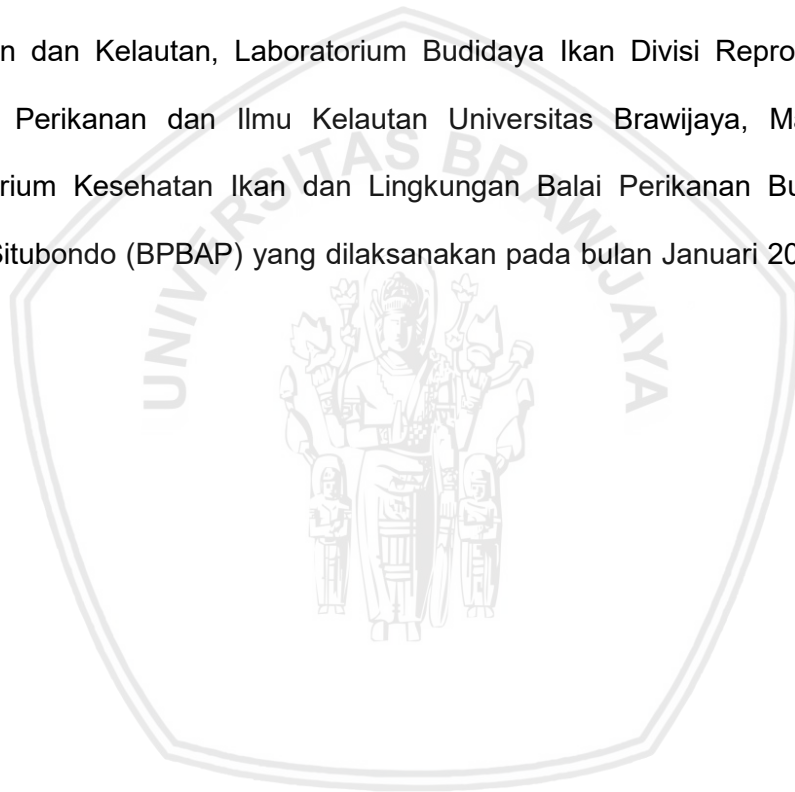
cantang yang diinfeksi virus VNN dengan pemberian ekstrak *D. salina*.

1.5.2 Kegunaan Praktis

Kegunaan secara praktis dari penelitian ini yaitu dapat diaplikasikan oleh para pembudidaya ikan kerapu cantang sebagai salah satu cara dalam mengatasi masalah kesehatan ikan yang disebabkan oleh virus VNN.

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 Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan Balai Perikanan Budidaya Air Payau, Situbondo (BPBAP) yang dilaksanakan pada bulan Januari 2019 – Maret 2019.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Kerapu Cantang (*E. fuscoguttatus* x *E. lanceolatus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Subyakto dan Cahyaningsih, (2003), klasifikasi kerapu cantang (*E. Fuscoguttatus* x *E. lanceolatus*) adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Osteichthyes
Sub Kelas	: Actinopterygi
Ordo	: Percomorphi
Sub Ordo	: Percoidea
Famili	: Serranidae
Genus	: <i>Epinephelus</i>
Spesies	: <i>Epinephelus fuscoguttatus</i> x <i>Epinephelus lanceolatus</i>

Secara morfologis, ikan kerapu cantang memiliki kemiripan dengan kedua induknya, namun pertumbuhannya lebih baik dibandingkan dengan ikan kerapu macan dan kerapu kertang. Tubuh ikan kerapu cantang memiliki warna dasar coklat dengan dilapisi corak berwarna kuning. Bagian sirip kerapu cantang memiliki corak seperti kerapu kertang, dengan warna dasar kuning dan bintik hitam (Gambar 1). Sirip dorsal ikan kerapu cantang terdiri atas 11 jari-jari keras dan 15 jari-jari lunak dan memiliki ekor berbentuk membulat. Ikan ini memiliki bentuk mulut superior dimana bagian bagian bawah lebih panjang dari padabagian atas serta dilengkapi dengan gigi yang runcing (Soemarjati *et al.*, 2015).



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

2.1.2 Habitat

Ikan kerapu memiliki habitat di dasar perairan laut tropis dan subtropis. Pada umumnya kerapu bersifat soliter, tetapi saat akan memijah ikan bergerombol. Telur dan larva bersifat pelagis sedangkan ikan kerapu dari muda hingga dewasa bersifat demersal. Larva kerapu pada umumnya menghindari permukaan air pada siang hari. Sebaliknya pada malam hari lebih banyak ditemukan di permukaan air. Penyebaran vertikal tersebut sesuai dengan 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 (Mariskha dan Abdulgani, 2012). Suhu pemeliharaan yang optimal antara 20-30°C, umumnya penyebaran ikan kerapu dapat dikatakan identik dengan penyebaran terumbu karang, atau beberapa puluh meter dekat dengan karang. Daerah terumbu karang merupakan daerah utamanya penyebaran ikan kerapu. Beberapa spesies penyebarannya mendekati daerah pantai sampai dengan muara sungai (Murtidjo, 2001).

Kerapu muda biasanya hidup pada diperairan karang pantai dengan kedalaman 0,5–3 meter. Ketika dewasa kerapu biasanya berpindah keperairan yang lebih dalam yaitu 7–40 meter. Perpindahan ini berlangsung pada siang dan sore hari. Habitat favorit larva kerapu adalah perairan pantai dekat dengan muara sungai. (Subyakto dan Cahyaningsih 2003). Menurut Razi (2013), ikan kerapu cantang hidup diperairan payau selama kurang lebih 2-3 tahun hingga mencapai

ukuran 3-5 kg, selanjutnya 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.

2.1.3 Kebiasaan Makan Ikan Kerapu Cantang

Menurut Soemarjati, *et al.* (2015), ikan kerapu memiliki kebiasaan makan pada pagi hari sebelum matahari terbit serta menjelang matahari terbenam. Jika dalam keadaan lapar, kerapu menghadap keatas dan matanya bergerak-gerak untuk siap memangsa. Kerapu jarang mengonsumsi pakan yang sudah berada pada dasar perairan walaupun mereka dalam keadaan lapar. Kebiasaan makan kerapu dapat dilihat dari isi perutnya, saat masih stadia benih isi perut didominasi oleh krustasea sebanyak 83% serta ikan-ikanan sebanyak 17%. Semakin dewasa, isi perutnya didominasi oleh ikan-ikan seperti beronan dan cumi-cumi. Karena makannya tersebut, kerapu tergolong karnivora dengan kandungan protein yang tinggi.

Jenis pakan yang paling disukai ikan kerapu berasal dari golongan crustaceae (udang-udangan) seperti rebon, dogol dan krosok, selain itu jenis ikan-ikan kecil seperti tembang, teri dan belanak. Pemberian pakan ikan kerapu cantang yaitu sebesar 10 -15 % berat badan perhari. Pertumbuhan ikan kerapu akan maksimal jika pemberian pakan diberikan sebanyak 15 %. Pemberian pakan 15 % dinilai sudah mencukupi kebutuhan ikan kerapu untuk tumbuh dengan maksimal (Rahmaningsih dan Ari, 2013). Giri *et al.* (2006), mengatakan bahwa kebutuhan protein beberapa spesies ikan kerapu berkisar antara 47,8%–60%. Ikan kerapu membutuhkan pakan dengan kandungan protein sebesar 54% dan kandungan lemak sebesar 9%– 12%. Total kebutuhan protein untuk benih

ikan kerapu sebesar 56% protein dan 9% lemak dalam pakan. Menurut Oktavia, *et al.* (2015), ikan kerapu cantang membutuhkan sumber asam lemak yang berbeda di dalam pakannya dan kebutuhan tersebut dipengaruhi jenis dan ukuran ikan. Sumber lipid yang digunakan adalah minyak cumi, minyak jagung, dan minyak kelapa. Minyak jagung mengandung asam lemak linolenat sekitar 56,3%, minyak kelapa mengandung 88% asam lemak jenuh.

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. Leukosit merupakan jenis sel yang aktif dalam sistem pertahanan tubuh, leukosit dihasilkan di organ timus dan ginjal kemudian diangkut dalam darah menuju seluruh tubuh (Irianto, 2005). Leukosit dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu agranulosit dan granulosit berdasarkan ada tidaknya granula pada sitoplasma. Agranulosit terdiri dari limfosit dan monosit, sedangkan granulosit terdiri dari neutrofil, eosinofil, dan basofil (Chinabut, *et al.*, 1991).

Leukosit ikan terdiri dari monosit, limfosit, dan neutrofil. Menurut Bastiawan, *et al.* (2001) monosit berfungsi sebagai fagosit terhadap benda-benda asing yang berperan sebagai agen penyakit. Limfosit berfungsi sebagai penghasil antibodi untuk kekebalan tubuh dari gangguan penyakit. Neutrofil berperan dalam respon kekebalan terhadap serangan organisme patogen dan mempunyai sifat fagositik. Neutrofil darah akan meningkat bila terjadi infeksi dan berperan sebagai pertahanan pertama dalam tubuh (Bastiawan, *et al.*, 2001).

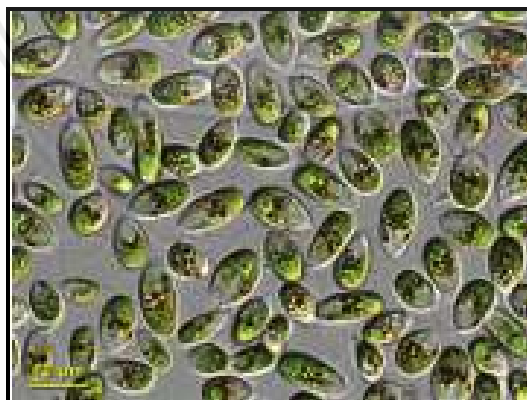
2.2 *Dunaliella salina*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Krishnakumar, *et al.* (2013), klasifikasi dari *D. salina* adalah sebagai berikut:

- Phylum : Chlorophyta
- Class : Chlorophyceae
- Order : Volvocales
- Family : Dunaliellaceae
- Genus : *Dunaliella*
- Spesies : *Dunaliella salina*

Menurut Tran, *et al.* (2013), sel *D. salina* umumnya berbentuk ovoid, dengan lebar 4-15 mm dan panjang 6-25 mm. Perkembangan ini sangat tergantung pada tahap pertumbuhan dan kondisi lingkungan, yang dapat memiliki bentuk silinder maupun elips. *D. salina* memiliki dua flagela yang sama panjangnya dengan dinding polisakarida yang kaku. Sel-sel ditutupi oleh lapisan *mucila ginous amorf* ketebalan variabel yang disebut glikokalik sebagai gantinya. 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 m dan lebar 1-15 m (Ben Amotz, *et al.*, 2009). Panjang, lebar dan volume sel dapat berubah seiring dengan meningkatnya konsentrasi salinitas di perairan (Borowitzka and Siva, 2007). Morfologi *D. salina* disajikan pada Gambar 2.



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

2.2.2 Habitat

Lingkungan kultur *D. salina* berada pada suhu 25 – 30° C, salinitas 30 - 32 ppt dan pH 7 – 9 serta *photoperiod* 18 jam dalam keadaan terang dan 6 jam dalam keadaan gelap. *D. salina* dapat tumbuh baik pada pH antara 8-9 serta salinitas yang optimal untuk kultur *D. salina* berkisar antara 30–38 ppt (Kusdarwati *et al.*, 2011). Menurut Bonnefond, *et al.* (2016), pertumbuhan alga hijau seperti *Dunaliella salina* optimum pada perairan dengan salinitas tinggi. *D. salina* telah menyesuaikan metabolisme selnya pada lingkungan dengan kondisi suhu dan variasi cahaya yang tinggi. Karotenoid atau pigmen yang berada pada tubuhnya digunakan sebagai *photoprotector* dan fotosintesis.

D. salina toleran terhadap berbagai suhu dari di bawah 0°C hingga di atas 40°C dengan awal optimal antara 21-40°C. Suhu pertumbuhan optimum tergantung pada ketegangan dan intensitas cahaya. Suhu tinggi dimana mendekati 40°C atau lebih, karotenogenesis dirangsang. pH optimum adalah antara 7 dan 9. *D. salina* mampu mengakumulasi konsentrasi β -karoten yang tinggi yang dapat mencapai hingga 10-14% dari berat kering terutama ketika tumbuh di bawah tekanan lingkungan seperti iradiasi yang intens, salinitas tinggi, kelaparan nutrisi (nitrogen, fosfat, dan sulfat) dan suhu ekstrim (Hamed *et al.*, 2017).

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 *Dunaliella* sp. 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 logaritmik ditandai dengan sel berwarna hijau cerah. Fase

stasioner ditandai dengan berubahnya warna menjadi hijau kekuningan, hal ini diduga berkaitan dengan pembentukan karotenoid. Pertumbuhan *D. Salina* dalam medium walne memiliki siklus hidup selama 7 hari (Kusumaningrum dan Zanuari, 2015).

Menurut Harti (2015), kurva pertumbuhan mikroorganisme terbagi menjadi 4 fase, yaitu:

- Fase lag = *lag phase* = fase permulaan, kecepatan pertumbuhan nol atau > 0 (tidak maksimum), disebut juga fase adaptasi. Fase ini terjadi pada H_0 , kepadatan sama selama kurang dari 24 jam setelah penambahan inokulum.
- Fase log = *log phase* = fase eksponensial, kecepatan pertumbuhan mencapai maksimum. Jumlah sel bertambah secara eksponensial. Fase ini terjadi pada hari ketiga hingga mencapai puncak kepadatan.
- Fase statis = *stationary phase* = kecepatan pertumbuhan menurun, fase ini merupakan fase terjadinya penurunan kepadatan. Fase statis terjadi pada hari keempat.
- Fase penurunan = *death phase*, populasi *dunaliella salina* mengalami penurunan disebabkan karena jumlah kematian lebih tinggi dibandingkan dengan pertumbuhan.

2.2.4 Kandungan *D. salina*

Menurut Zainuddin (2017), *D. salina* merupakan kelompok alga hijau yang mempunyai kandungan protein, lemak, dan karbohidrat sebagai sumber pangan yang baik. *D. salina* menghasilkan pigmen (klorofil, karotenoid, β -karoten), asam amino, asam lemak dan gliserol. Pradana, *et al.* (2017), menambahkan bahwa kandungan nutrisi dalam *D. salina* yang ditunjukkan pada bahan kering adalah protein (57%), karbohidrat (32%) dan lemak (6%). *D. salina* merupakan

mikroalga hijau yang dapat mengakumulasi β -karoten alami dalam jumlah yang sangat tinggi pada beberapa kondisi stres lingkungan seperti, keterbatasan nitrogen dan terkena intensitas cahaya tinggi. *D. salina* mengandung protein yang cukup tinggi dibandingkan mikroalga yang lainnya. Kandungan lipid atau lemak yang terkandung sedikit, berbanding terbalik dengan protein dimana jumlahnya sedikit dibandingkan mikroalga lainnya.

Kandungan nutrisi dalam *D. salina* sebesar 60,4% β - dalam dari total karotenoid, 17,7% *Astaxantin* dan 4,6% Lutein (Abd El-Baky *et al.*, 2007). Emeish (2012) mengatakan, dalam 2kg berat kering *D. salina* terdapat kandungan β -karoten sebesar 122,5mg. Karotenoid dalam bentuk β -karoten berperan secara fisiologis sebagai vitamin A dan penangkal radikal bebas. *Dunaliella salina* dapat menghasilkan 14% β -karoten dari berat keringnya. Supriyono (2014), mengatakan, β -karoten berperan untuk hewan sebagai antioksidan, immunomodulator dan antikarsinogenik. β -karoten dapat berfungsi juga sebagai senyawa antivirus, antibakteri dan dapat mencegah kelainan antibodi. Supamattaya *et al.* (2005), menambahkan bahwa dengan menambahkan 125mg β -karoten/kg pakan dapat menghasilkan SR sebesar 100% pada ikan yang terinfeksi virus VNN. Kandungan *D. salina* disajikan pada Tabel 1. sebagai berikut:

Tabel 1. Kandungan *D. salina*

No	Vankatesan <i>et al.</i> (2013)	Jumlah	Abd El-Baky <i>et al.</i> (2007)	Jumlah
1.	Karotenoid	55 $\mu\text{g}/10^6$ sel	β -karoten	60,4% dari total karotenoid
2.	Klorofil a	8,64/ 10^6 sel	<i>Astaxantin</i>	17,7%
3.	Klorofil b	6,51/ 10^6 sel	<i>Zeaxantin</i>	13,4%
4.	Protein	68,6/ 10^6 sel	Lutein	4,6%
5.	Karbohidrat	72/ 10^6 sel	<i>Cryptoxantin</i>	3,9%

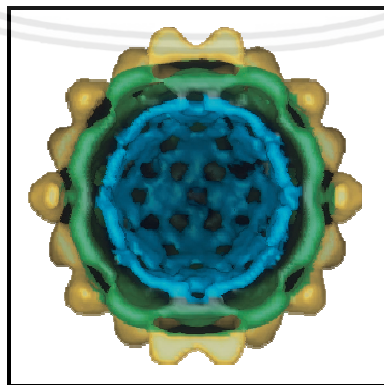
2.3 Viral Nervous Necrosis (VNN)

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Chi *et al.* (2001), mengatakan bahwa klasifikasi dari (VNN) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Virus
Divisio	: RNA Virus
Class	: Single Standard (+) RNA Virus
Family	: Nodaviridae
Genus	: Betanodvirus
Species	: <i>Viral Nervous Necrosis</i>

VNN merupakan jenis virus nodaviridae yang menyerang ikan kerapu, terutama pada stadia larva dan benih. Virus ini menyebabkan kematian yang tinggi pada populasi, ikan terserang ditandai dengan terjadinya *vacuolation* pada retina dan jaringan otak ikan. Virus ini berbentuk bulat, tidak berkembang dan memiliki diameter berkisar antara 25-30 nm, diamati di sitoplasma yang terkena sel retina dan otak (Nguyen *et al.*, 1994). Tang *et al.* (2002), menambahkan bahwa virus dari famili nodaviridae memiliki bentuk icosahedral asimetrik dengan bagian luar berbentuk segitiga. Morfologi virus VNN disajikan pada Gambar 3.



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

2.3.2 Habitat dan Distribusi

Menurut Sudaryatma, *et al.* (2012), infeksi virus penyebab VNN cepat menyebar dan menginfeksi inang melalui saraf perifer yang ada di otot. VNN masuk ke dalam sistem saraf pusat dan mata, mengakibatkan ikan kehilangan orientasi berenang dan disfungsi visual. Larva dan juvenil ikan kerapu yang terserang VNN berkisar pada suhu 24,5°C – 26°C yang merupakan suhu optimal dalam proses infeksi VNN. Infeksi virus VNN pada umur 7-45 hari dapat menyebabkan kematian karena sistem saraf ikan yang masih sederhana.

Betanodavirus dapat menginfeksi spesies tropis, sub-tropis, atau dingin. Rentang suhu optimal untuk virus betanoda bervariasi tergantung pada strain virus dan spesies ikan. Suhu optimal untuk *Striped Jack Nervous Necrosis Virus* (SJNNV) adalah 20–25°C; untuk *Barfin Flounder Nervous Necrosis Virus* (BFNNV) 15–20°C; untuk *Tiger Puffer Nervous Necrosis Virus* (TPNNV) 20°C; untuk *Redspotted Grouper Nervous Necrosis Virus* (RGNNV), kisaran suhu yang menguntungkan adalah sekitar 25–30°C dengan pertumbuhan kultur sel optimal pada 25°C. Batas suhu maksimum untuk RGNNV tampaknya 32°C berdasarkan studi laboratorium (Hata *et al.*, 2007).

Penyakit yang disebabkan VNN pertama kali ditemukan tahun 1990 di pembenihan dan pembesaran *Olegantus fasciatus* di Jepang dan ikan kerapu cantang di Australia, selain itu juga menginfeksi ikan kerapu dan ikan guppy. Infeksi virus VNN dapat terjadi di berbagai sistem budidaya di laut dan di tawar (Toffan *et al.*, 2017). VNN dikenal menyebar di berbagai negara hampir seluruh benua, karena sifatnya yang ganas dan cepat menyebar. Penyebaran VNN meliputi Jepang, Korea, China, Asia Tenggara, Australia, Yunani, Prancis, Norwegia dan Amerika (Chi *et al.*, 2005). Sudaryatma *et al.* (2012) mengatakan bahwa VNN pertama kali ditemukan di Indonesia di daerah Banyuwangi, pada budidaya kakap putih, ikan kakap terlihat sering muncul ke permukaan.

2.3.3 Mekanisme Infeksi VNN

Menurut Novriadi *et al.* (2014), virus ini dapat ditularkan dari ikan yang terinfeksi ke ikan yang sehat dalam waktu 4 hari kontak di media pemeliharaan. Nodavirus yang merupakan agen penyebab VNN dapat dideteksi pada ikan tanpa gejala klinis. Ikan tersebut dapat menjadi wadah virus dan dapat berperan menjadi sumber virus bagi larva mereka. Sudaryatma *et al.* (2012), mengatakan Virus penyebab VNN dapat menginfeksi ikan melalui tiga cara yaitu, melalui sel-sel epitel saluran pencernaan, melalui axon yang ada di permukaan sel dan melalui peredaran darah. VNN menginfeksi ikan dengan cara mereplikasi diri di dalam sitoplasma atau nukleus, masuknya virus yang ada di air melalui kontak dengan permukaan tubuh (lendir, sirip dan otot), termasuk melalui oral sehingga dapat menginfeksi sel-sel epitelia sistem saluran pencernaan. Kejadian ini yang disebut "*water borne disease*". Virus yang masuk melalui permukaan tubuh dapat langsung bereplikasi di epitel permukaan saluran pencernaan dan masuk ke dalam sistem saraf pusat melalui saraf perifer nervus vagus.

Mekanisme infeksi VNN yaitu melalui ikatan antara VNN *adhesion* dan molekul reseptor dalam organ kerapu. *Viral adhesion* dapat terbentuk dari komponen dasar viral yaitu *coat* protein dan asam nukleat. *Coat* protein VNN merupakan faktor utama dalam mekanisme virus menginfeksi inang (ikan kerapu) dimana protein memiliki peran dalam menempelnya virus pada reseptor inang (Yanuhar, 2011). Virus VNN pada awal infeksi hanya memasukkan protein atau materi genetik pada sitoplasma, kemudian akan bertahap sampai ke *nucleus*. Infeksi virus VNN dapat terjadi secara vertical maupun horizontal, secara vertical virus akan terbawa oleh induk atau ikan lain yang bersifat pembawa pada beberapa organ yang sudah terinfeksi seperti hati, ginjal, perut dan usus. Infeksi secara horizontal terjadi melalui badan air pada media hidup ikan. Virus yang sudah berhasil masuk ke inang akan mereplikasi diri pada tempat yang

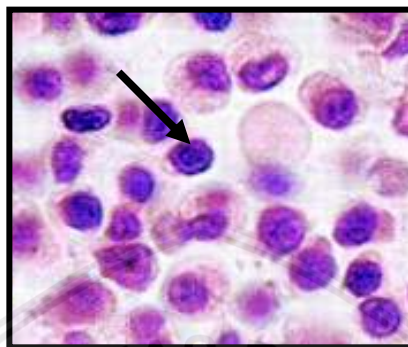
dianggapnya sesuai. Hasil replikasi virus akan menyebar melalui sumsum tulang belakang menuju otak, kemudian ke retina (Cozta dan Kim, 2016).

2.4 Leukosit

Leukosit memiliki bentuk khas, nukleus, sitoplasma dan organel, semuanya bersifat mampu bergerak pada keadaan tertentu. Eritrosit bersifat pasif dan melaksanakan fungsinya dalam pembuluh darah, sedangkan leukosit mampu keluar dari pembuluh darah menuju jaringan dalam menjalankan fungsinya. Jumlah total leukosit lebih rendah dari eritrosit, dan bervariasi tergantung jenis ikannya. Fluktuasi jumlah leukosit pada tiap individu dipengaruhi beberapa faktor seperti stress, aktivitas fisiologis, gizi, umur, dan lain-lain. Jumlah leukosit yang menyimpang dari keadaan normal mempunyai arti klinik penting untuk evaluasi proses penyakit. Setelah dibentuk sel-sel ini diangkut dalam darah menuju berbagai bagian tubuh untuk digunakan kebanyakan sel darah putih ditranspor secara khusus ke daerah yang terinfeksi dan mengalami peradangan serius. Jumlah sel darah putih pada ikan berkisar antara 20.000-150.000 sel/mm³ darah.

Leukosit adalah komponen sel darah yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik yang berfungsi melokalisasi dan mengeliminasi pathogen, serta respon ikan dalam upaya mengenal dan mengingat kembali jenis patogen yang masuk. Peran kekebalan selanjutnya diambil alih oleh kekebalan humoral yaitu antibodi. leukosit bergerak menuju jaringan-jaringan yang terinfeksi, terjadinya peningkatan jumlah sel leukosit merupakan refleksi keberhasilan sistem imunitas ikan dalam mengembangkan respon imunitas seluler (non spesifik) sebagai pemicu untuk respon kekebalan (Utami, *et al.*, 2014). Naiknya jumlah leukosit ikan yang terinfeksi diduga karena sifat leukosit yang bersifat aktif atau *mobile*, yaitu leukosit akan bergerak menuju pada organ yang terinfeksi atau mengalami gangguan (Maftuch, *et al.*, 2012). Ikan yang sakit akan menghasilkan banyak

leukosit untuk memfagosit bakteri dan mensintesa antibodi (Moyle and Cech 2004). Leukosit pada ikan akan meningkat, merupakan salah satu indikasi adanya fase pertama infeksi dan stres (Chinabut, *et al.*, 1991). Morfologi leukosit disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Leukosit (Lieschke, *et al.*, 2016)

2.5 Diferensial Leukosit

Diferensial leukosit merupakan kesatuan dari sel darah putih yang terdiri dari dua jenis yaitu granulosit yang terdiri dari neutrofil, eosinofil, dan basofil, serta agranulosit yang terdiri dari limfosit dan monosit. Faktor- faktor yang mempengaruhi jumlah leukosit dan diferensialnya antara lain kondisi lingkungan, umur dan kandungan nutrisi pakan. Diantara faktor-faktor tersebut, faktor nutrisi (protein) memiliki peran yang sangat penting dalam proses pembentukan leukosit karena protein merupakan salah satu komponen darah (Purnomo, *et al.*, 2015).

2.5.1 Limfosit

Limfosit adalah salah satu jenis sel darah putih (leukosit). Limfosit berukuran kecil, biasanya memiliki diameter 7 sampai 8 mikrometer. Inti (nukleus) dari limfosit adalah terbuat dari kelompok besar benang tipis yang dikenal sebagai kromatin yang berwarna keunguan. Inti sel dikelilingi oleh sitoplasma berwarna biru muda yang tipis. Tidak seperti jenis leukosit lainnya, misalnya basofil dan eosinofil, sitoplasma limfosit biasanya tidak mengandung partikel yang berupa butiran-butiran kasar. Peningkatan persentase limfosit

merupakan refleksi keberhasilan sistem imunitas ikan dalam mengembangkan respon imunitas seluler (non spesifik) sebagai pemicu untuk respon kekebalan. Pada dasarnya sel limfosit terdiri dari dua populasi yaitu sel B dan sel T. Sel B mempunyai kemampuan untuk bertransformasi menjadi sel plasma yaitu sel yang memproduksi antibodi. Sedangkan sel T sangat berperan dalam kekebalan berperantara sel (sel T sitotoksik) dan mengontrol respon imun (sel T supresor) (Bastiawan, *et al.*, 1995)

Limfosit mempunyai fungsi yang paling beragam dibandingkan semua sel dalam sistem imun. Lebih dari satu juta struktur antigenik dapat dibedakan karena kemampuan pengenalan yang dimiliki limfosit (Balaban, *et al.*, 1987). Limfosit yang teraktivasi akan berdiferensiasi dari sel kognitif yang mengenal antigen menjadi sel efektor yang berfungsi menyingkirkan anti gen. Setelah terjadi pengikatan antigen dengan reseptor antigen sel limfosit, maka sel limfosit akan membelah dan berdiferensiasi menjadi sel efektor dan sel memori. Sel T-sitotoksik yang berdiferensiasi mempunyai granula sitoplasmik lebih banyak yang mengandung protein yang berfungsi melisiskan sasaran. Limfosit B berdiferensiasi menjadi sel plasma yang memproduksi antibodi (Kresno, 2001). Morfologi limfosit disajikan pada Gambar 5.

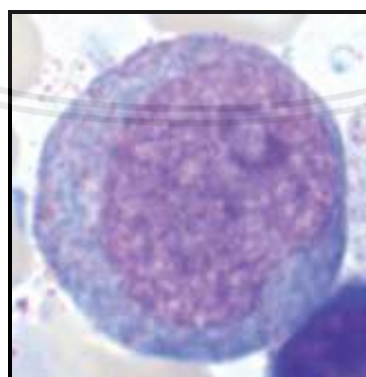


Gambar 5. Morfologi Limfosit (Herlina, 2008)

2.5.2 Monosit

Monosit berfungsi sebagai fagosit terhadap benda-benda asing yang berperan sebagai agen penyakit (Alamanda, *et al.*, 2007). Monosit merupakan leukosit terbesar yang biasa disebut juga dengan makrofag. Monosit ini sendiri berfungsi sebagai penanda patogen kepada sel T, sehingga patogen tersebut dapat dikenali dan dibunuh atau dapat membuat antibodi. Monositosis atau meningkatnya persentase monosit dapat terjadi akibat penyakit kronis terutama jika banyak kotoran sel yang harus disingkirkan. Monositopenia atau menurunnya persentase monosit bersifat fisiologis terjadi pada stadium awal stres (Preanger, *et al.*, 2016).

Kadar monosit pada ikan kerapu cantang normal berukuran 4,1-10,33 cm yaitu 9.328 sel/ml. Jumlah tersebut didapat melalui 1,93% dari jumlah normal leukosit yaitu 483.300 sel/ml (Novriadi, *et al.*, 2015). Jumlah monosit akan menurun terkait fungsinya sebagai makrofag dimana monosit tidak dibutuhkan untuk memfagosit jika tidak terdapat infeksi yang masuk ke dalam tubuh. Sebaliknya, jumlah monosit akan meningkat seiring dengan adanya infeksi di dalam tubuh. Morfologi monosit disajikan pada Gambar 6.



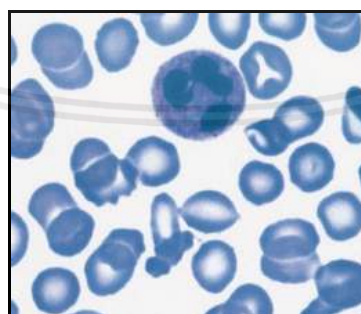
Gambar 6. Monosit (Sysmex, 2012)

2.5.3 Neutrofil

Leukosit ikan terdiri dari monosit, limfosit, dan neutrofil. Neutrofil pada sel darah putih disebut juga sebagai polimorfonuklear neutrofil (PMN neutrofil).

Neutrofil memiliki ciri-ciri memiliki granula tidak berwarna, mempunyai inti sel yang terangkai dan terkadang seperti terpisah pisah serta protoplasmanya banyak dan berbintik bintik. Jumlah neutrofil pada ikan kerapu cantang mencapai 60% hingga 70%. Total jumlah sel neutrofil pada sel darah putih ikan kerapu cantang sebanyak 28. 998 sel/ml (Saputri, *et al.*, 2010).

Neutrofil berperan dalam respon kekebalan terhadap serangan organisme patogen dan mempunyai sifat fagositik. Meningkatnya jumlah neutrofil darah disebabkan karena adanya infeksi pada tubuh ikan (Bastiawan, *et al.*, 2001). Terjadinya peningkatan pada jumlah neutrofil mengindikasikan adanya peningkatan kegiatan pengumpulan makrofag ketika terjadi infeksi, sehingga makrofag akan berkumpul pada titik infeksi dan lebih mudah untuk menghancurkan partikel asing (Delman dan Brown, 1992). Menurut Tizard (1982), neutrofil memiliki fungsi utama dalam penghancuran bahan asing melalui proses fagositosis yaitu kemotaksis dimana sel akan bermigrasi menuju partikel, peletakan partikel pada sel, penelanan partikel oleh sel, dan penghancuran partikel oleh enzim lisosim di dalam fagolisosom. Morfologi neutrofil disajikan pada Gambar 7.



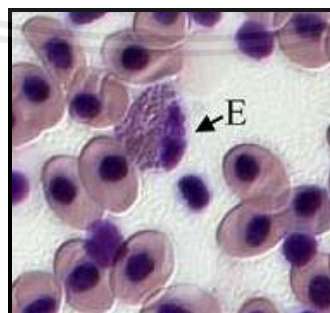
Gambar 7. Neutrofil (Froberg, *et al.*, 1998)

2.5.4 Eosinofil

Sel eosinofil adalah sel polimorfonuklear leukosit dengan ukuran 12-17 μm berbentuk bulat dengan inti sel berlobus ganda. Sitoplasma sel eosinofil

mengandung granula yang tampak berwarna oranye merah (Mahasri, *et al.*, 2011). Eosinofil berperan dalam respon imun dan fagositosis imun kompleks. Persentase eosinofil dalam darah yaitu mencapai 24% dari total leukosit (Saputri, *et al.*, 2012). Jumlah leukosit total pada ikan kerapu cantang sebanyak 483.300 sel/ml yang berarti nilai eosinofil pada ikan kerapu cantang sebanyak 11. 599 sel/ml (Novriadi, *et al.*, 2014).

Komponen leukosit yang berhubungan dengan infeksi parasit yaitu eosinofil. Meningkatnya jumlah eosinofil menandakan banyaknya parasit pada tubuh ikan Mahasri, *et al.*, (2011). Hal ini sesuai dengan pendapat Yusuf, *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa eosinofil adalah sel pertahanan tubuh yang dominan di dalam darah dan jumlah eosinofil akan meningkat ketika terjadi infeksi parasit pada tubuh. Persentase eosinofil yang berfluktuasi dan cenderung dibawah kontrol disebabkan karena waktu edar eosinofil yang singkat, seperti yang dinyatakan oleh Widyaningrum, *et al.*, (2017), bahwa pembentukan eosinofil diperkirakan berlangsung 2–6 hari, kemudian eosinofil akan terkativasi dan dapat meningkatkan pertahanan tubuh ikan. Usia eosinofil dalam sirkulasi yaitu 6–12 jam, dan kemudian akan bertahan hidup dalam jaringan selama dua minggu. Morfologi eosinofil disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Eusinofil (Palic, *et al* 2011)

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian dijelaskan pada Tabel 2 sebagai berikut: Gambar sebagian alat yang digunakan disajikan dalam Lampiran 1.

Tabel 2. Alat dan Fungsinya

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.	Refraktometer	Untuk mengukur nilai salinitas
9.	Blower	Sebagai sumber energi untuk suplai oksigen
10.	Autoklaf	Untuk mensterilisasi alat-alat yang digunakan
11.	Botol sprayer	Sebagai wadah alkohol 70%.
12.	Timbangan digital	Untuk menimbang pakan dan kebutuhan D. <i>salina</i> dengan ketelitian 10^{-2}
13.	Cetakan pellet	Untuk membantu dalam pembentukan hasil <i>repelleting</i>
14.	Nampan	Sebagai wadah untuk mencampur pellet dan D. <i>salina</i> pada saat <i>repelleting</i>
15.	Coolbox	Untuk wadah penyimpanan es
16.	<i>Hand Tally Counter</i>	Untuk membantu menghitung saat pengamatan hematologi
17.	<i>Haemocytometer</i>	Untuk menghitung Jumlah sel - sel darah
19.	Pipet tetes	Untuk mengambil larutan skala kecil
20.	Toples kaca	Untuk wadah penyimpanan tepung
21.	Timbangan analitik	Untuk menimbang ekstrak D. <i>salina</i>
22.	Mikroskop	Untuk membantu melihat dan menganalisis hasil hematologi
23.	<i>Freezer</i> suhu -80°C	Untuk menyimpan isolat VNN
24.	Lap basah	Untuk mengondisikan ikan agar tidak stress
25.	pH meter	Untuk mengukur nilai pH air
26.	<i>Microtube</i>	Untuk menyimpan darah ikan
27.	Mortar dan alu	Untuk mengaluskan organ limpa
28.	Sentrifus	Untuk mengomogenkan <i>isolate</i> virus
29.	<i>Object glass</i>	Untuk wadah pembuatan preparat ulas darah
30.	Tempat pewarnaan	Untuk tempat mewarnai preparat
31.	Mikro pipet	Untuk mengambil isolat VNN

3.1.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini dijelaskan pada Tabel

3. sebagai berikut: Gambar sebagian bahan yang digunakan disajikan dalam Lampiran 2.

Tabel 3. Bahan dan Fungsinya

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.	Alkohol 70%	Sebagai bahan untuk pengkondisian aseptis.
6.	Tisu	Sebagai bahan untuk membersihkan alat-alat yang telah digunakan
7.	Tepung D. <i>salina</i>	Sebagai bahan untuk perlakuan
8.	Pellet Stella No. 2	Sebagai pakan ikan dan bahan untuk <i>repelleting</i>
9.	Isolat VNN	Sebagai bahan untuk ujiantang.
10.	Tube	Sebagai wadah isolat VNN
11.	Saringan <i>miliopore</i> no. 45 um	Sebagai bahan untuk menyaring virus agar tidak tercampur dengan bakteri
12.	PBS	Untuk mempertahankan konsistensi pH pada isolat virus
13.	Metanol	Sebagai larutan untuk menfiksasi darah
15.	Darah ikan kerapu	Sebagai sampel yang diamati status diferensial leukositnya
16.	Kertas label	Untuk memberi tanda perlakuan.
17.	Tepung kanji	Sebagai bahan perekat antara pellet dan tepung D. <i>salina</i>
18.	Akuades	Sebagai larutan untuk membilas preparat saat membuat ulasan
19.	Cover glass	Sebagai penutup objek glass
20.	Larutan giemsa	Sebagai sebagai larutan pewarna sel darah
21.	Kertas label	Sebagai penanda alat dan bahan
22.	Larutan Turk	Sebagai larutan pengencer leukosit
23.	Ekstrak D. <i>salina</i>	Sebagai bahan perlakuan
24.	Sput	Sebagai alat untuk mengambil darah dan menginjeksi VNN
25.	Pewarna Giemsa	Sebagai larutan pewarna sel darah
26.	Minyak emersi	Untuk memperjelas objek dan melindungi lensa
27.	EDTA	Sebagai antikoagulan

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 di beberapa 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).

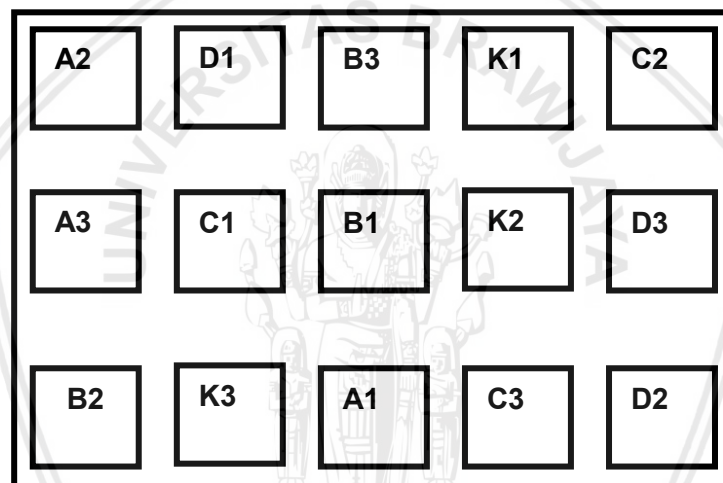
Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan kepadatan *D. salina* dan kelompok berupa lama pemberian pakan sebagai perlakuannya. Pada penelitian ini digunakan 1 kontrol pembanding yaitu control negatif. Kontrol negatif yaitu sebagai perlakuan sampel tanpa pemberian *D. salina* dan dengan penginfeksi 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 sampel dengan penginfeksi VNN dan tanpa pemberian *D. salina* 0 mg/500 g pakan.

- A : Perlakuan penginfeksi VNN dengan pemberian *D. salina* 250 mg/500 g pakan.
- B : Perlakuan penginfeksi VNN dengan pemberian *D. salina* 300 mg/500 g pakan.
- C : Perlakuan penginfeksi VNN dengan pemberian *D. salina* 350 mg/500 g pakan.
- D : Perlakuan penginfeksi VNN dengan pemberian *D. salina* 400 mg/500 g pakan.

Denah penelitian disajikan pada Gambar 9, berikut ini



Gambar 9. 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 berkaitan langsung dengan obyek penelitian. Menurut Dewi (2016), data yang didapatkan dari sumber pertama baik

dari individu atau perseorangan yang didapat berupa kata-kata, tindakan, serta data lainnya yaitu dokumentasi, informasi yang belum diolah dengan melakukan observasi. Teknik pengumpulan data primer dapat dilakukan dengan cara observasi, partisipasi aktif dan wawancara. Pengumpulan data primer pada penelitian ini yaitu dengan melakukan pengamatan histopatologi otak, mata dan usus ikan kerapu cantang yang terinfeksi VNN dan melihat seberapa parah infeksi serta *Survival Rate* (SR) kerapu cantang terinfeksi VNN yang telah diberi *D. salina*.

3.3.2 Data Sekunder

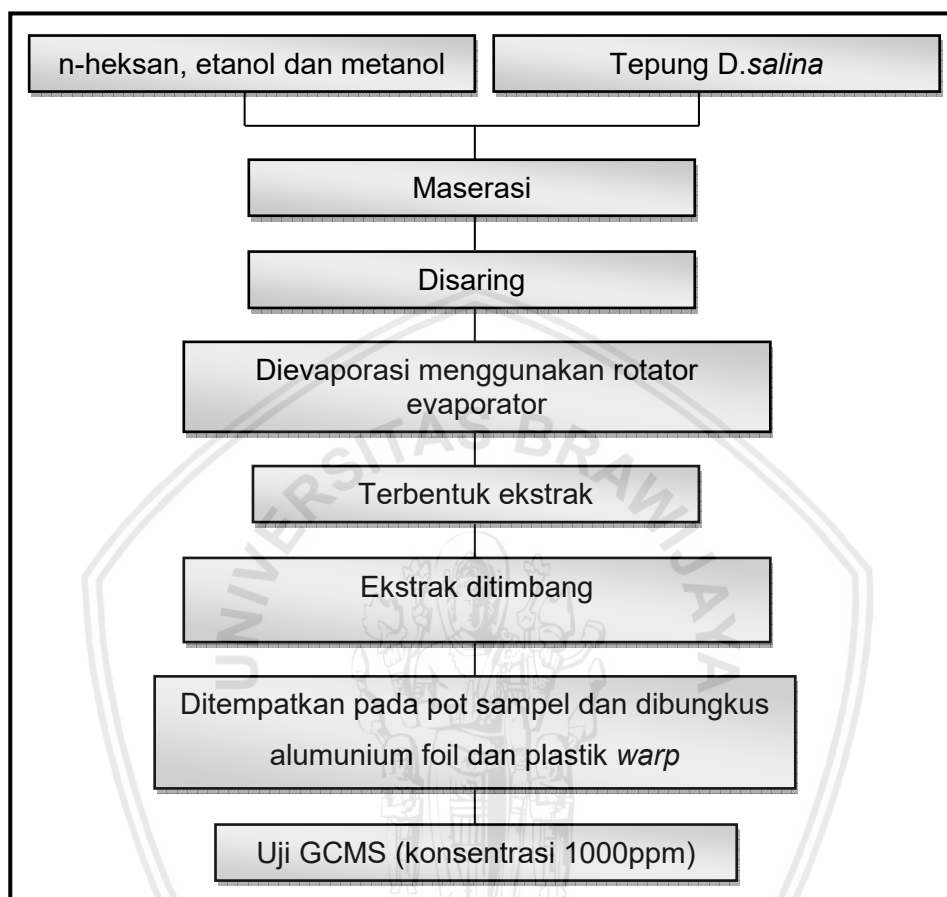
Data sekunder merupakan struktur data historis mengenai variabel-variabel yang telah dikumpulkan dan dihimpun sebelumnya oleh pihak lain. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Wahyono (2012), bahwa data sekunder adalah data yang diperoleh melalui sumber yang ada dan tidak perlu dikumpulkan sendiri oleh peneliti. Data sekunder digunakan untuk mendukung dan membantu menjelaskan kejadian pada penelitian ini termasuk kerusakan akibat infeksi VNN pada ikan kerapu cantang dan parameter yang diamati selama penelitian, baik itu parameter utama maupun parameter penunjang.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan merupakan tahap awal dalam pembuatan ekstrak *D. salina* menggunakan tiga pelarut yaitu, n-heksa, etanol, metanol. Maserasi dilakukan dengan merendam 30g tepung *D. salina* dan 150ml untuk masing-masing pelarut selama 24 jam. Masing-masing pelarut disaring dan menghasilkan filtrat sebanyak 80ml n-heksan, 120ml etanol dan 130ml metanol. Hasil penyaringan dievaporasi menggunakan rotator evapotator dengan suhu 50°C, kemudian terbentuk ekstrak sebanyak 0,13g n-heksan, 0,39g etanol dan

0,92g metanol. Hasil ekstraksi selanjutnya diuji menggunakan metode GCMS (*Gas Chromatology and Mass Spectroscopy*). Prosedur penelitian pendahuluan yang mengacu pada Agustini dan Kusmiati (2012), disajikan pada gambar 10.



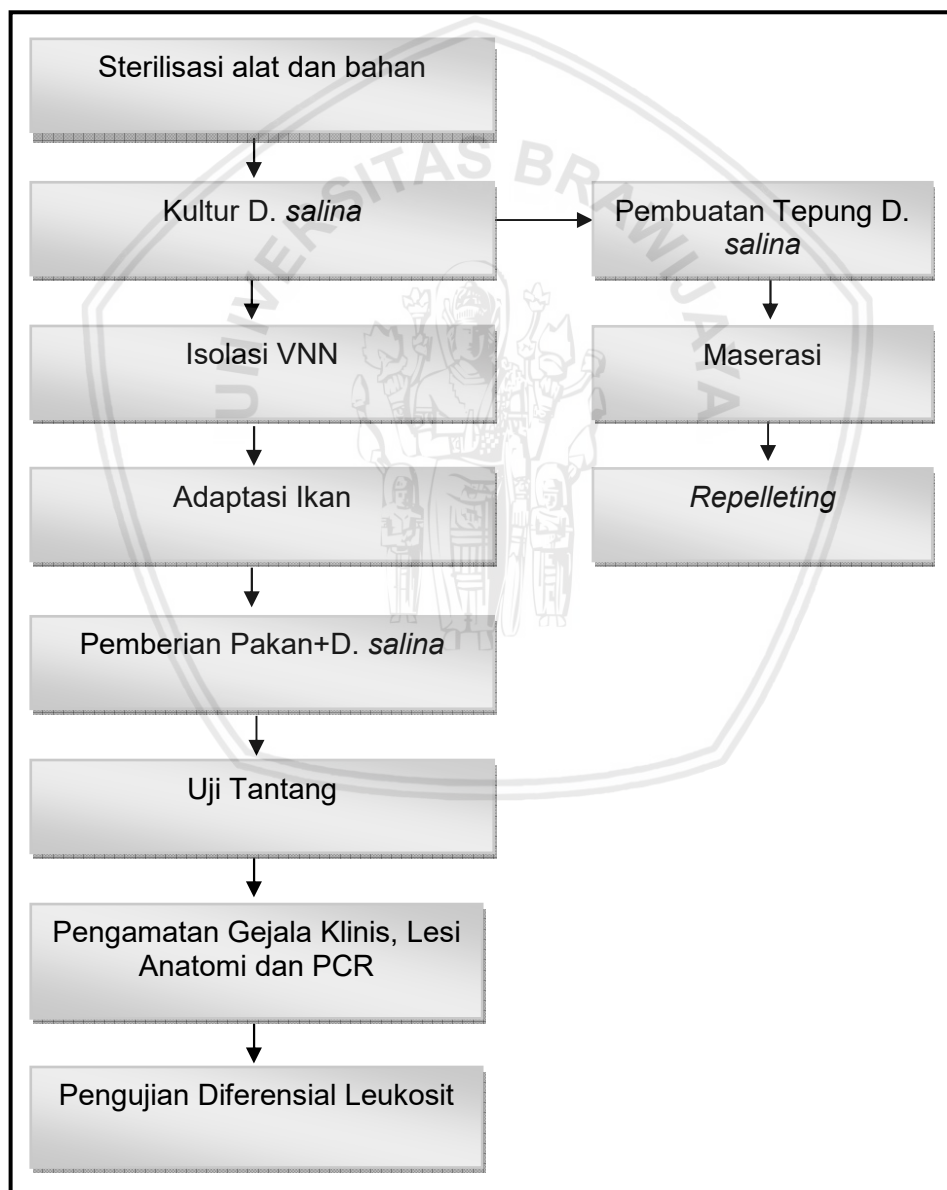
Gambar 10. Prosedur Kerja Penelitian Pendahuluan

Berdasarkan penelitian pendahuluan diperoleh pelarut yang terbaik yaitu n-heksan karena, mengandung senyawa *naphthaline*, *fenol* dan tetradekana. *Naphthaline* telah diidentifikasi sebagai senyawa antimikroba yang efektif untuk melawan patogen. Rokade dan Sayyed (2009), mengatakan bahwa senyawa ini juga berguna untuk toksisitas akut, anti inflamasi dan aktivitas anal gesik. Senyawa fenol bermanfaat dalam pencegahan penyakit yang melibatkan radikal bebas dengan mengurangi stress dan menghambat oksidasi makro molekul seperti yang dikatakan Pereira, *et al.* (2007). Senyawa tetradekana berdasarkan

Ozdemir *et al.*, (2004), berfungsi sebagai senyawa antibakteri dalam yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

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 akan dilakukan uji hematologi yang mengacu pada Dosim, *et al.*, (2013) prosedur penelitian utama disajikan pada gambar 11.



Gambar 11. Prosedur Kerja Penelitian Utama

a. Persiapan Alat dan Bahan

Wadah pemeliharaan ikan kerapu cantang adalah akuarium ukuran 16 liter sebanyak 15 buah yang sebelumnya dicuci dengan sabun kemudian direndam dengan kaporit 100 ppm selama 24 jam dan dinetralsir menggunakan Na-Thiosulfat 50 ppm. Tahap selanjutnya toples dibilas dengan air bersih kemudian dikeringkan selama 2 hari lalu siap diisi dengan air laut. Air laut yang digunakan untuk pemeliharaan ikan sebanyak 15 liter untuk kepadatan 10 ekor dengan ukuran 7-9 cm. *Aerator set* dipasang pada toples pemeliharaan untuk penyuplai oksigen.

b. Sterilisasi Alat dan Bahan

Langkah-langkah sterilisasi alat bahan menggunakan autoklaf adalah sebagai berikut:

- Alat alat dicuci dengan sabun dan air mengalir kemudian di keringkan dan dibungkus dengan Koran dan disterilisasi menggunakan oven dengan suhu 167-177°C selama 1 jam.
- Bahan yang akan digunakan seperti akuades dimasukkan kedalam botol *shot*, dan di bungkus dengan alumunium foil.
- Bahan yang sudah dibungkus alumunium foil disterilisasi menggunakan autoklaf.
- Autoklaf di *setting* ke mode p2 yaitu suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit.
- Tekan tombol *off* dan buka klep penutup setelah *alarm* berbunyi.
- Koran atau pembungkus kemudian dilepaskan.

3.4.3 Maserasi dan Evaporasi

Proses ekstraksi *D. salina* dengan metode maserasi menggunakan pelarut dari hasil terbaik uji GCMS yaitu n-heksan dengan perbandingan 1:5 (g/ml). Biomasa kering direndam selama 24 jam dan ditempatkan dalam kondisi

gelap. Filtrat yang dihasilkan ditampung dan dikumpulkan kemudian dievaporasi menggunakan vakum rotavapor dengan suhu 50°C hingga filtrat mengental (Agustini dan Kusmiati, 2012). Ekstrak *D. salina* ditimbang sesuai dengan dosis yang telah ditentukan.

3.4.4 Repelleting

Proses *repelleting* yang dilakukan mengacu pada Yuwanita *et al.* (2018). Pakan buatan yang digunakan untuk *repeletting* adalah pelet dengan merk Stella No. 2 dan ekstrak *D. salina*, keduanya ditimbang terlebih dahulu sesuai dosis yang akan digunakan yaitu 250 mg, 300 mg, 350 mg dan 400 mg ekstrak *D. salina* per kg pakan. Langkah selanjutnya adalah pelet dihancurkan sampai halus kemudian disaring dengan saringan teh untuk mendapatkan tekstur yang lebih halus. Ekstrak *D. salina* ditambahkan ke dalam pelet yang sudah halus, selanjutnya ditambahkan tepung kanji sebagai bahan perekat sebanyak 10 gram dan air secara sedikit demi sedikit sambil diaduk. Bahan yang telah tercampur rata selanjutnya dicetak ulang dengan menggunakan cetakan manual agar tidak merusak kandungan bioaktif *D. salina*. Pelet dikeringkan sampai benar-benar kering dan harus segera diberikan ke ikan atau disimpan di ruang kedap udara agar tidak mengurangi kandungan yang terdapat di *D. salina*.

3.4.5 Isolasi Virus

Prosedur isolasi VNN yang digunakan mengacu pada proses isolasi virus BPBAP Situbondo yaitu sebagai berikut: pembuatan inokulum virus menggunakan organ target VNN yang berasal dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jember yaitu organ mata dan otak ikan keraou cantang. organ diambil dan digerus dengan pelet pasta, selanjutnya ditambahkan PBS pH 7,2 dengan perbandingan 1:3. Organ yang telah halus selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, supernatan yang dihasilkan kemudian disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12000 rpm selama

30 menit. Supernatan selanjutnya disaring dengan membran filter 0,45 μm , hasil isolasi VNN kemudian digunakan untuk pengujian LD50 (Lethal Dose) sebelum digunakan sebagai inokulum uji.

3.4.6 Lethal Dose 50 (LD_{50})

Pengujian LD50 ini bertujuan untuk mengetahui dosis VNN yang dapat mematikan 50% populasi ikan kerapu cantang. prosedur yang digunakan mengacu pada BPBAP Situbondo. Konsentrasi VNN yang digunakan yaitu 105 berdasarkan hasil Real Time PCR dan 104 sebanyak 0,2 ml dengan pengulangan dua kali pada setiap perlakuan, diamati hingga terdapat 50% ikan yang mati. Konsentrasi VNN yang mematikan 50% dari populasi ikan digunakan acuan untuk tahap ujiantang. Rumus pengenceran konsentrasi VNN yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.4.7 Persiapan Ikan Penelitian

Ikan uji yang digunakan adalah ikan kerapu cantang yang diperoleh dari BPBAP Situbondo. Ikan kerapu cantang yang dipilih adalah ikan yang sehat sebanyak 150 ekor dengan ukuran 7-9 cm. Wadah 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 sisanya digunakan untuk kontrol negatif yaitu ikan kerapu yang diinfeksi VNN tanpa pemberian *D. salina*. Sebelum diberikan perlakuan, ikan diadaptasikan selama 7 hari dan diberi pelet merek Stella no. 2 secara ad libitum pada pagi pukul 08.00 WIB dan sore 15.00 WIB. Penyiponan dilakukan setiap pagi hari apabila air telah kotor karena adanya feses yang mengendap, setelah dilakukan adaptasi dan respon ikan terhadap pakan baik, maka ikan kerapu cantang siap untuk diberi perlakuan.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Pemberian Pakan

Pakan yang diberikan untuk ikan kerapu cantang yang akan diuji adalah pelet yang mengandung *D. salina* dengan dosis 250 mg, 300 mg, 350 mg dan 400 mg dalam 1 kg pelet diberikan pada ikan kerapu cantang dengan frekuensi pemberian pakan mengacu pada Yanuhar (2011), yaitu pada pagi hari pukul 08.00 WIB dan sore hari pukul 15.00 WIB. Pemberian pakan dilakukan selama 10 hari sebelum dilakukan uji tantang infeksi VNN.

3.5.2 Uji Tantang

Metode uji tantang yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada hasil uji LD₅₀ yang dilakukan pada tahap sebelumnya. Berdasarkan hasil uji LD₅₀ virus yang disuntikan sebanyak 0,2 ml/ekor dengan konsentrasi 10⁴ menggunakan teknik penyuntikan intra muskular yaitu penyuntikan pada bagian punggung ikan. Ikan-ikan yang telah disuntik selanjutnya dipelihara dalam kontainer dengan penambahan aerasi.

3.5.3 Pengamatan Gejala Patologi Klinis

Pengamatan gejala klinis dilakukan berdasarkan Yuwanita *et al.* (2018). Gejala klinis ikan diamati pasca ikan diinfeksi VNN selama 4 hari (96 jam) dengan selang waktu pengamatan 12 jam sekali atau sampai menunjukan *Lethal Dose* 50 (LD₅₀). Gejala klinis yang ditunjukan dikenali sebagai akibat adanya infeksi VNN. Berikutnya dapat dilakukan pengambilan sampel darah untuk dilakukan uji diferensial leukosit.

3.5.4 Pengamatan Lesi Anatomi

Pengamatan lesi anatomi dilakukan 96 jam paska infeksi VNN ke ikan kerapu. Pengamatan perubahan anatomi meliputi bagian insang, sirip, mulut dan organ dalam tubuh ikan kerapu cantang. Pengamatan juga dapat dilakukan dengan mengamati keadaan organ tubuh ikan seperti hati dan limfa.

Pengamatan organ bagian dalam dilakukan dengan membedah bagian perut ikan (Lestari dan Sudaryatma, 2014).

3.5.5 Deteksi VNN dengan PCR

Uji PCR dilakukan untuk mengonfirmasi ikan kerapu cantang sudah terinfeksi VNN. Proses konfirmasi VNN dengan PCR berpedoman pada metode BPBAP Situbondo yaitu sebagai berikut:

- Ekstraksi RNA menggunakan RNA *Extraction solution*.
- 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, 2009). Pengaturan suhu pada *thermocycler* 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
- Proses dilanjutkan dengan nested PCR menggunakan *GoTaq Green Master Mix*. 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') (OIE, 2009). Pengaturan suhu pada *thermocycler* 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
- Produk PCR dielektroforesis pada 1,5% *agarose gel* dalam waktu 30 menit menggunakan larutan TAE 1X sebanyak 500 mL dengan voltase 100-150 V

- 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 Leukosit dan Diferensial Leukosit

3.6.1 Pengambilan Darah Ikan Kerapu Cantang

Pengambilan darah menggunakan spuit ukuran 1 ml yang telah diberi Ethylen Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA) sebagai anti koagulan. Spuit ditusukkan pada garis tengah tubuh di belakang sirip dorsal ikan. Ikan dimasukkan dalam air mengalir sampai pulih etelah darah diambil, kemudian dikembalikan pada akuarium pemeliharaan. Darah yang didapat dimasukkan dalam tabung eppendorf untuk kemudian dilakukan pengujian (Hastuti dan Karoror, 2007).

3.6.2 Pembuatan Preparat Ulas

Menurut Dosim, *et al.* (2013), pembuatan preparat ulas darah langkah pertama rendam gelas objek dalam methanol lalu teteskan sampel darah 10 μ L 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 limfosit, monosit, neutrofil, dan eosinofil.

3.6.3 Perhitungan Total Leukosit

Menurut Amanda (2012), langkah-langkah pada perhitungan leukosit yaitu sebagai berikut:

- Darah dihisap dengan pipet toma sampai skala 0,5.
- Ditambahkan larutan pengencer turk pada sampel darah sampai skala 11.
- Dihomogenkan dengan cara menggoyangkan pipet secara perlahan.
- dibuang dua tetes pertama larutan darah dari dalam pipet, kemudian teteskan larutan pada haemositometer, lalu tutup dengan cover glas.
- Jumlah sel darah putih dengan bantuan mikroskop dengan perbesaran 400 X pada lensa objektif.
- Jumlah leukosit total dihitung dengan cara menghitung sel yang terdapat dalam 4 kotak kecil. Kemudian dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Total leukosit (sel/mm}^3\text{)} = \frac{\text{jumlah sel} \times 200}{4}$$

3.6.4 Perhitungan Limfosit dan Monosit

Menurut Amanda, (2012) pembuatan preparat ulas untuk menghitung limfosit dan monosit dilakukan dengan langkah sebagai berikut:

- Pembuatan preparat ulas darah
- Perhitungan persentase jenis leukosit dengan lensa objektif perbesaran 1000 kali.
- Ulasan darah dihitung dimulai dari bagian tepi dengan cara mengular hingga diperoleh 100 sel leukosit dan dinyatakan dalam %).

$$\text{Persentasi Limfosit} = \frac{\text{jumlah sel}}{100} \times 100\%$$

$$\text{Persentasi Monosit} = \frac{\text{jumlah sel}}{100} \times 100\%$$

3.6.5 Perhitungan Polimorfonuklear Leukosit

Langkah-langkah perhitungan polimorfonuklear leukosit yang mengacu pada Hartika, *et al.* (2011) sebagai berikut:

- Pembuatan preparat ulas darah
- Diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali.

Polimorfonuklear leukosit terdiri atas:

- a. Neutrofil : Berbentuk sel oval dengan sitoplasma bergranula.
 - b. Eosinofil : Berbentuk bulat dengan inti sel kadang eksentrik.
- Dihitung dengan metode *cross sectioned* (dimulai dari bagian tepi ulasan darah dengan cara mengular hingga diperoleh 100 sel leukosit dan dinyatakan dalam %).

$$\text{Persentase Neutrofil} = \frac{N}{100} \times 100\%$$

$$\text{Persentase Eosinofil} = \frac{E}{100} \times 100\%$$

3.7 Parameter Uji

3.7.1 Parameter Utama

Parameter utama pada penelitian ini adalah uji hematologi ikan kerapu cantang, uji PCR, pengamatan gejala klinis patologis dan lesi anatomi. Pengamatan ini dilakukan untuk melihat perbedaan ikan kerapu cantang tanpa perlakuan atau penambahan *D. salina*, ikan kerapu cantang yang ditambahkan *D. salina*, ikan kerapu cantang yang terinfeksi VNN dan ikan kerapu cantang yang diberi penambahan *D. 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 yaitu *Survival Rate* (SR), 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.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Gejala Klinis Patologis

Gejala klinis patologis merupakan salah satu indikasi bahwa seekor ikan terserang suatu penyakit. Ciri-ciri ikan yang terserang VNN dapat dilihat berdasarkan gejala klinis patologisnya. Hasil pengamatan gejala klinis patologis pada ikan kerapu cantang pasca infeksi VNN berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disajikan pada tabel 4. Perubahan kondisi gejala klinis ikan kerapu cantang pasca diinfeksi VNN disajikan pada gambar 12.

Tabel 4. Gejala Klinis Patologis Pasca Infeksi VNN

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

Waktu pengamatan	Perlakuan (mg/kg pakan)	Gejala Klinis		
		Nafsu Makan	Tingkah Laku	Warna Tubuh
72 jam	0	Menurun	Berenang pasif, berdiam di dasar dengan tubuh miring	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	Mayoritas berenang pasif dengan tubuh miring	50% menghitam
	250	Menurun	Mayoritas berenang pasif dengan tubuh miring	50% menghitam
	300	Menurun	Mayoritas berenang pasif dan berdiam di dasar	50% menghitam
	350	Menurun	Mayoritas berenang pasif, beberapa berdiam di dasar	50% menghitam
	400	Menurun	Mayoritas berdiam di dasar dengan tubuh miring	50% menghitam
96 jam	0	Ikan mati 18 ekor		
	250	Ikan mati 12 ekor		
	300	Tidak nafsu makan	Berenang pasif dan miring	50% menghitam
	350	Tidak nafsu makan	Berenang pasif, miring dan lebih sering berdiam di dasar	50% menghitam
	400	Tidak nafsu makan	Berenang pasif dan lebih sering berdiam di dasar	50% menghitam

Berdasarkan tabel hasil pengamatan gejala klinis patologis di atas dapat dilihat bahwa setiap perlakuan dengan interval waktu pengamatan 12 jam sekali

menunjukkan gejala klinis patologis yang berbeda. 12 jam pasca infeksi VNN, gejala klinis patologis ikan kerapu cantang, menunjukkan nafsu makan yang rendah dan gerakan yang pasif pada setiap perlakuan, tetapi warna tubuh ikan terlihat normal. Kondisi tersebut dikarenakan ikan kerapu cantang dalam keadaan stres setelah penyuntikkan virus VNN kedalam tubuhnya, hal ini sesuai dengan pendapat Sari, *et al.* (2012), gejala klinis pada ikan setelah dilakukan penyuntikan menimbulkan bercak merah pada bagian tubuh yang disuntik serta ikan mengalami stress setelah penyuntikan

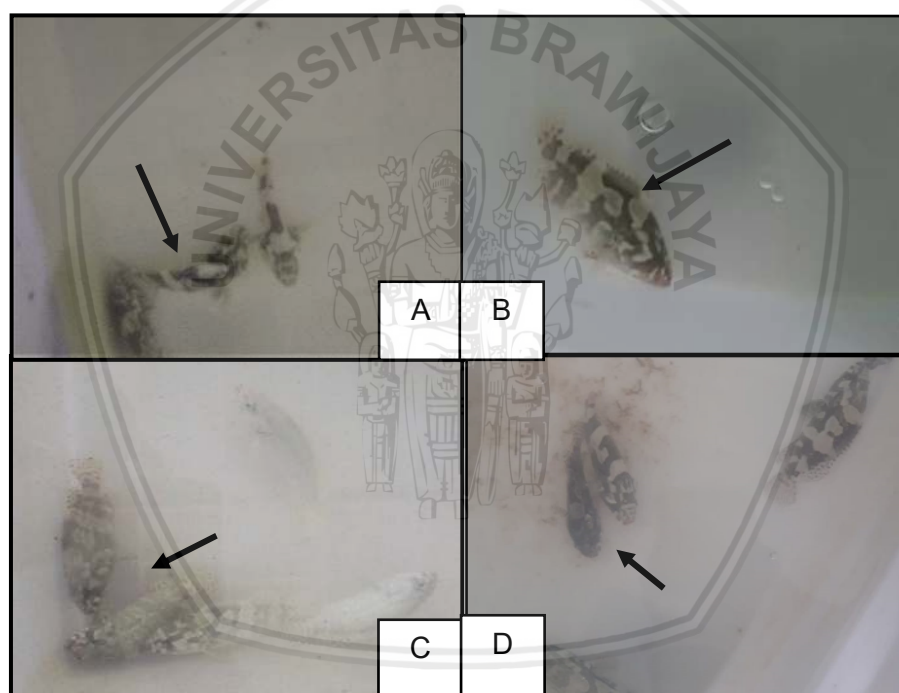
Pengamatan gejala klinis patologis Ikan kerapu cantang 24 sampai 36 jam pasca infeksi virus VNN menunjukkan nafsu yang kembali normal dan gerakan kembali aktif dengan warna tubuh normal pada setiap perlakuannya. Kondisi tersebut dikarenakan ikan kerapu cantang membaik setelah disuntik virus VNN. Ikan kerapu cantang setelah diinfeksi virus VNN selama 24 sampai 36 jam, belum menunjukan tanda-tanda adanya gejala akibat infeksi virus VNN. Kondisi tersebut sesuai dengan yang dikatakan oleh Lestari dan Sudaryatma (2014), bahwa ikan yang terinfeksi virus penyebab VNN akan mengalami perubahan tingkah laku, gaya berenang, warna tubuh yang mulai menggeap dan berenang dekat permukaan. Pengamatan gejala klinis patologis selanjutnya dilakukan 48 sampai 60 jam pasca infeksi virus VNN. Ikan kerapu cantang mulai menunjukkan adanya gejala terinfeksi virus VNN pada dosis 0 mg/kg, 250 mg/kg dan 300 mg/kg, sedangkan dosis 350 mg/kg dan 400mg/kg belum menunjukan adanya gejala tersebut. Ikan kerapu cantang pada dosis 0 mg/kg, 250 mg/kg dan 300 mg/kg mengalami penurunan nafsu makan, gerakan berenang yang pasif dan beberapa ikan berdiam di dasar dengan warna tubuh yang mulai menggelap (Gambar 12D). Kondisi diatas sesuai dengan pendapat Sudaryatma *et al.* (2012), bahwa ikan kerapu cantang yang telah diinfeksi virus VNN menunjukkan gejala

klinis berupa gerakan renang yang abnormal, disorientasi lingkungan dan perubahan warna tubuh menjadi lebih gelap.

Gejala klinis patologis yang terdapat pada ikan kerapu cantang setelah 72 sampai 84 jam infeksi VNN menunjukkan tingkah laku yang hampir sama pada dosis 0 mg/kg, 250 mg/kg, 300 mg/kg dan 350 mg/kg yaitu, ikan kerapu cantang terus mengalami penurunan nafsu makan, gerakan yang semakin pasif dan mayoritas ikan berdiam di dasar akuarium dengan tubuh yang miring (Gambar 12b) dan 50% dari total ikan kerapu cantang berwarna gelap. Ikan kerapu cantang yang diberi dosis 400 mg/kg mulai menunjukkan gejala penurunan nafsu makan dan tingkah laku setelah 84 jam infeksi virus VNN. Kandungan ekstrak *D. salina* yang tinggi pada dosis 400 mg/kg menyebabkan sistem imun ikan kerapu cantang pada perlakuan tersebut meningkat. Meningkatnya sistem imun terjadi karena kandungan yang terdapat pada ekstrak *D. salina* berupa zat β -karoten yang dapat meningkatkan aktivitas lisosim. Menurut Chuang *et al.* (2014), *Lysozyme* berfungsi untuk meningkatkan aktivitas fagositik. Pemberian ekstrak *D. salina* dapat meningkatkan aktivitas sel NK yang berperan dalam proses fagositik.

Pengamatan gejala klinis patologis terakhir dilakukan setelah 96 jam infeksi virus VNN. Ikan kerapu cantang disetiap perlakuan mulai menunjukkan gejala tidak merespon makanan yang diberikan, gerakan berenang yang semakin pasif dan miring, ikan lebih sering berdiam di dasar yang terlihat seperti ikan mati (Gambar 12C) serta 50% warna tubuh ikan kerapu cantang di semua perlakuan berubah menjadi gelap. Perlakuan K dan A terdapat ikan kerapu cantang yang mati sebanyak 18 & 12 ekor. Apabila diberi gerakan reflek pada ikan kerapu cantang, ikan sudah tidak memberi perlawanan yang gesit seperti saat keadaan normal hal ini dikarenakan infeksi VNN telah mempengaruhi sistem keseimbangan ikan kerapu cantang. Hal ini sesuai dengan pendapat Yoshikoshi

dan Inoue (1990), bahwa pada ikan yang mengalami infeksi virus VNN akan ditandai dengan gejala seperti pergerakan ikan berubah pasif atau lebih sering diam di dasar dengan posisi miring, karena pada ikan yang mengalami infeksi VNN kehilangan keseimbangan pada saat berenang, serta warna tubuh berubah menjadi gelap keputihan karena ikan dalam keadaan stress akibat infeksi VNN. Putri *et al.* (2013), juga mengatakan bahwa ikan yang terinfeksi berenang tidak beraturan, berputar-putar, hilang keseimbangan atau berenang terbalik, sering menghentakkan kepala ke permukaan air secara sporadik serta hilang nafsu makan, tubuh berwarna pucat sampai gelap.

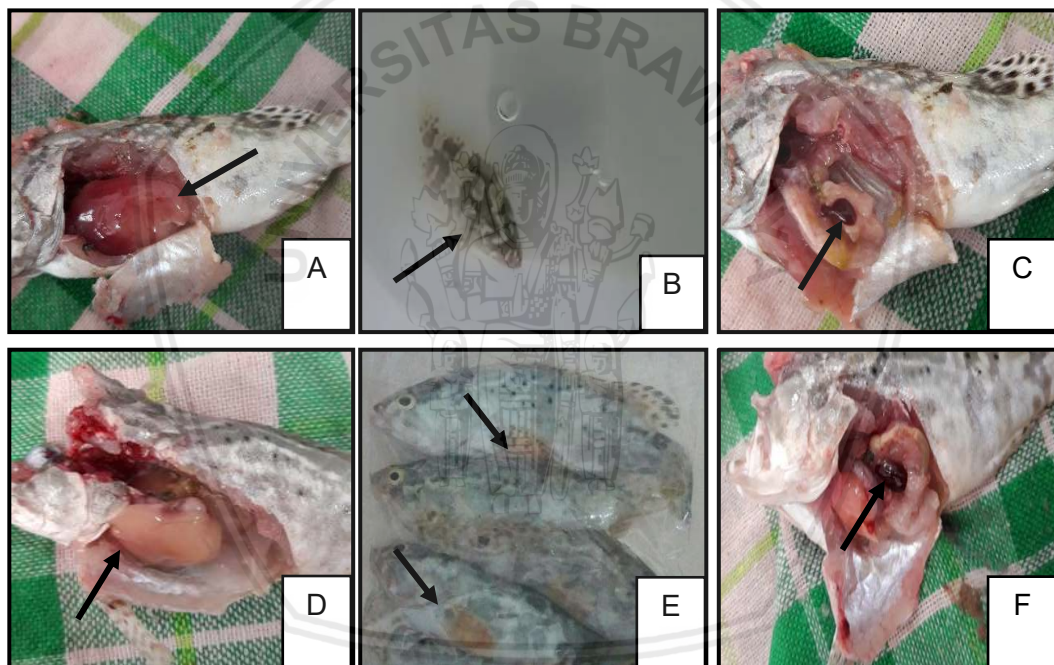


Gambar 12. Gejala Klinis Patologis Ikan Kerapu Cantang Pasca Infeksi virus VNN. Keterangan: (A) Ikan Normal (B) Ikan Berenang Miring (C) Ikan berdiam didasar (D) Warna Tubuh Menggelap (Dokumentasi Pribadi, 2019)

4.2 Lesi Anatomi

Lesi anatomi merupakan parameter lain yang diamati setelah 96 jam infeksi VNN. Berdasarkan hasil pembedahan yang dilakukan, sirip pectoral dan hati berwarna pucat dan terjadi pembengkakan pada limpa. Gilda dan Leobert

(2011), menyatakan bahwa ikan yang terinfeksi VNN hati dan limpanya akan rusak akibat adanya *viremia*. Sudaryatma dan Lestari (2014) menambahkan, pembengkakan pada limpa ikan yang terserang VNN diduga disebabkan karena pada organ tersebut mendapatkan aliran darah langsung dari jantung dan pembuluh darah balik dari otak. Darah tersebut mengandung bahan genetik replikasi dari VNN yang dapat menyebar melalui aliran darah. Hal tersebut mengakibatkan terjadinya pembengkakan pada organ internal terutama hati dan limpa yang dilewati oleh aliran darah. Kondisi lesi anatomi ikan kerapu cantang 96 jam pasca infeksi VNN disajikan pada gambar 13.



Gambar 13. Lesi Anatomi Ikan Kerapu Cantang 96 Jam Pasca Infeksi. Keterangan: (A) Hati Normal, (B) Sirip Pektoral Normal, (C) Limfa Normal, (D) Hati Memucat, (E) Sirip Pektoral Memerah, (F) Limfa Membengkak (Dokumentasi Pribadi, 2019).

4.3 Survival Rate (SR)

Survival Rate (SR) merupakan tingkat kelulushidupan ikan mulai awal pemeliharaan sampai akhir pemeliharaan. Nilai SR akan menunjukkan seberapa besar pengaruh *D. salina* terhadap penghambatan virus VNN. Nilai SR yang didapat pada 15 kontainer perlakuan selama penelitian disajikan pada Tabel 5.

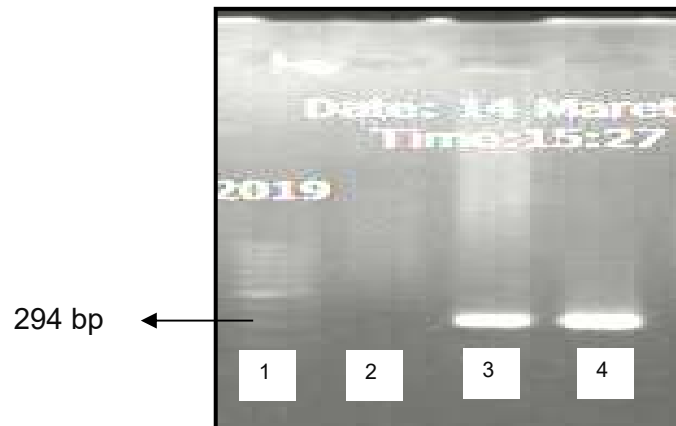
Tabel 5. Data Kematian Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang dengan VNN

Dosis (mg/kg pakan)	Kematian (ekor)	Ikan Awal (ekor)	SR (%)
0	20	30	33,3
250	17	30	43,3
300	14	30	53,3
350	13	30	56,6
400	10	30	66,6

Berdasarkan hasil pada Tabel 5. diketahui bahwa semakin tinggi dosis *D. salina* yang diberikan semakin tinggi pula tingkat kelulus hidupan ikan kerapu cantang. Nilai *survival rate* tertinggi didapatkan pada perlakuan dosis 400 mg/kg sebesar 66,6%. Peningkatan nilai SR diduga karena adanya pengaruh *D. salina* yang mengambant dan mengurangi kerusakan sel. Terdapat beberapa kandungan *D. salina* yang mampu menghambat dan mengurangi kerusakan akibat pertumbuhan VNN salah satunya yaitu senyawa fenol. Berdasarkan hasil uji GCMS diketahui bahwa ekstrak *Dunaliella salina* mengandung senyawa fenol. Sayed *et al.* (2007), mengatakan bahwa senyawa fenol berperan sebagai antioksidan dalam tubuh yang menagkal radikal bebas akibat infeksi VNN. Infeksi patogen yang tidak diiringi dengan adanya antioksidan untuk menangkal radikal bebas akan mengakibatkan terjadinya kerusakan sel akibat radikal bebas dalam tubuh serta dapat menyebabkan kematian. Radikal bebas yang disebabkan oleh virus salah satunya adalah ROS yang berhubungan dengan darah ikan. Banyaknya ROS dalam tubuh dapat menyebabkan terganggunya proses pembentukan sel darah dalam tubuh (Maswan, 2009).

4.4 Uji PCR

Data 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 13 seperti berikut.



Gambar 14. Hasil Elektroforesis Ikan Kerapu Cantang Positif VNN. Keterangan: 1. Marker, 2. Kontrol Negatif VNN, 3. Kontrol Positif VNN, 4. Sampel 1 Positif VNN

Berdasarkan gambar di atas, marker yang digunakan dalam uji PCR di BPBAP Situbondo dimulai dari fragmen 100 *base pair* (bp) Suratmi dan Aryani (2008) menambahkan, marker adalah barisan pita atau *band* yang telah diketahui berat molekulnya dan biasanya diletakkan pada sumur pertama gel agarosa. Pengamatan hasil positif atau negatif dari PCR dapat dilihat dari tidak adanya fragmen DNA pada kontrol negative. Sampel 1 dengan fragmen 294 bp menunjukkan pita yang berpendar sejajar dengan ukuran marker atau kontrol positif, sedangkan pada sampel 2 tidak ditemukan pita berpendar seperti kontrol negatif. Menurut Masri (2013), jika hanya terbentuk satu pita dapat dikatakan infeksi penyakit tersebut ringan, tetapi disebut sebagai *positif carrier* (pembawa yang dapat menulari). Pada sampel 2 dapat diindikasikan hanya memiliki jumlah virion yang sedikit sehingga tidak terlalu memperlihatkan ciri infeksinya. Hasil PCR yang didapat sesuai dengan hasil gejala klinis patologi dan lesi anatomi yang ditimbulkan setelah ikan kerapu cantang diinjeksi dengan VNN. PCR adalah sebuah teknik yang cepat, sensitif dan memiliki resiko kontaminasi yang rendah untuk deteksi penyakit virus dengan genom RNA seperti VNN (Novriadi, *et al.*, 2015).

4.5 Diferensial Leukosit

Pemeriksaan diferensial leukosit pada ikan telah banyak dilakukan untuk mengetahui gejala dan penyebab infeksi penyakit serta untuk mendiagnosa suatu penyakit. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan diferensial leukosit ikan kerapu cantang yang meliputi jumlah leukosit, limfosit monosit, neutrofil dan eosinofil. Hasil yang penelitian pada setiap parameter darah sebelum dan setelah uji tantang disajikan pada Tabel 5 dan Tabel 6 sebagai berikut, perhitungan dapat dilihat pada lampiran 4.

Tabel 6. Rerata Leukosit, Limfosit, Monosit, Neutrofil dan Eosinofil Ikan Kerapu Cantang Sebelum Diuji Tantang dengan VNN (setelah diberi perlakuan mikroalga *D. salina* selama 10 hari)

Dosis (mg/kg pakan)	Leukosit (sel/mm ³)	Limfosit (%)	Monosit (%)	Neutrofil (%)	Eosinofil (%)
0	4,46 ± 0,01 ^a	4,28 ± 0,01 ^a	3,24 ± 0,01 ^a	3,80 ± 0,01 ^a	3,24 ± 0,01 ^a
250	4,52 ± 0,02 ^b	4,33 ± 0,01 ^b	3,28 ± 0,02 ^b	3,85 ± 0,02 ^b	3,28 ± 0,02 ^b
300	4,52 ± 0,01 ^b	4,34 ± 0,01 ^b	3,30 ± 0,02 ^b	3,86 ± 0,02 ^b	3,30 ± 0,02 ^b
350	4,55 ± 0,02 ^c	4,36 ± 0,02 ^c	3,33 ± 0,01 ^c	3,89 ± 0,02 ^c	3,32 ± 0,01 ^c
400	4,56 ± 0,01 ^c	4,37 ± 0,01 ^c	3,34 ± 0,01 ^c	3,91 ± 0,03 ^c	3,34 ± 0,02 ^c

Tabel 7. Rerata Leukosit, Limfosit, Monosit, Neutrofil dan Eosinofil Ikan Kerapu Cantang Setelah Diuji Tantang dengan VNN.

Dosis (mg/kg pakan)	Leukosit (sel/mm ³)	Limfosit (%)	Monosit (%)	Neutrofil (%)	Eosinofil (%)
0	4,52 ± 0,02 ^a	4,33 ± 0,02 ^a	3,42 ± 0,02 ^a	3,90 ± 0,02 ^a	3,37 ± 0,02 ^a
250	4,57 ± 0,01 ^b	4,36 ± 0,01 ^b	3,48 ± 0,02 ^b	3,96 ± 0,02 ^b	3,43 ± 0,01 ^b
300	4,58 ± 0,02 ^b	4,37 ± 0,01 ^b	4,49 ± 0,01 ^b	3,97 ± 0,02 ^b	3,44 ± 0,01 ^b
350	4,62 ± 0,01 ^c	4,41 ± 0,01 ^c	3,52 ± 0,01 ^c	4,00 ± 0,02 ^c	3,46 ± 0,01 ^c
400	4,63 ± 0,01 ^c	4,42 ± 0,01 ^c	4,53 ± 0,01 ^c	4,01 ± 0,01 ^c	3,47 ± 0,01 ^c

a. Jumlah Leukosit

Berdasarkan hasil rerata jumlah leukosit sebelum dan setelah uji tantang dengan VNN, perlakuan dengan rerata jumlah leukosit tertinggi sebelum uji tantang didapatkan pada perlakuan dosis 400 mg/kg pakan yaitu sebesar 4,56, sedangkan perlakuan dengan rerata jumlah leukosit terendah didapatkan pada perlakuan dosis 0 mg/kg yaitu sebesar 4,46. Perlakuan dengan rerata jumlah leukosit tertinggi didapatkan pada dosis 400 mg/kg sebesar 4,63, sedangkan

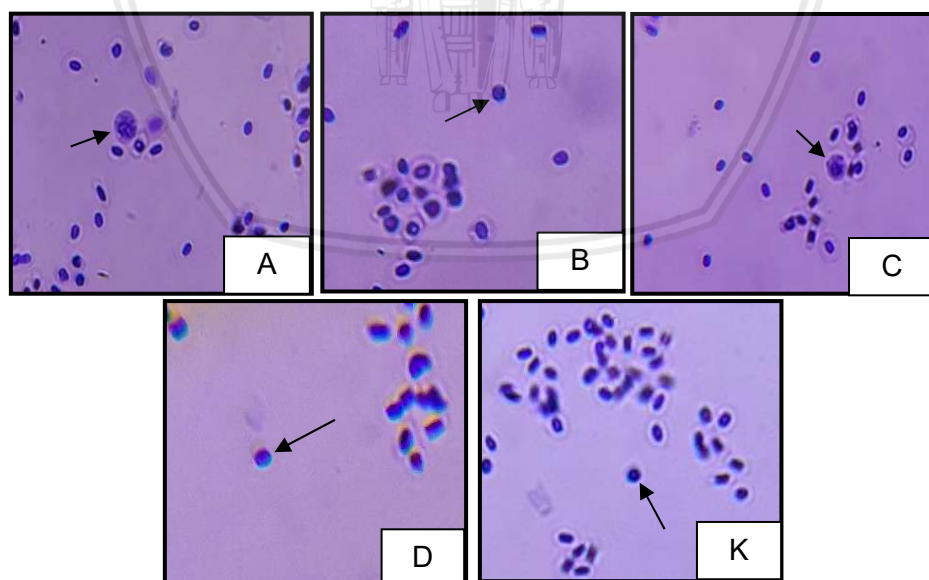
perlakuan dengan rerata jumlah leukosit terendah didapatkan pada dosis 0 mg/kg yaitu sebesar 4,52.

Leukosit merupakan sel darah putih yang berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh ketika terjadinya infeksi patogen. Hasil penelitian yang didapatkan menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak *D. salina* berbanding lurus dengan jumlah leukosit ikan kerapu cantang. Semakin tinggi dosis yang digunakan maka semakin meningkat pula jumlah leukosit yang berada pada tubuh ikan. Diketahui bahwa jumlah leukosit tertinggi terdapat pada dosis 400 mg/kg sebesar 4,64 sel/mm³, sedangkan jumlah leukosit terendah terdapat pada perlakuan kontrol negatif tanpa pemberian *D. salina* sebesar 4,45 sel/mm³. Peningkatan kadar leukosit ikan kerapu cantang diduga karena adanya pemberian ekstrak *D. salina* pada pakan. Ekstrak *D. salina* memiliki ikatan polisakarida yang terbentuk melalui ekstraksi β -karoten. Pernyataan tersebut sesuai dengan pendapat yang diutarakan oleh Jun Dai, *et al.* (2013), yaitu adanya kandungan polisakarida sebesar 12-40% yang terbentuk dari residu ekstraksi β -karoten dari *D. salina* dapat meningkatkan jumlah leukosit pada ikan kerapu cantang.

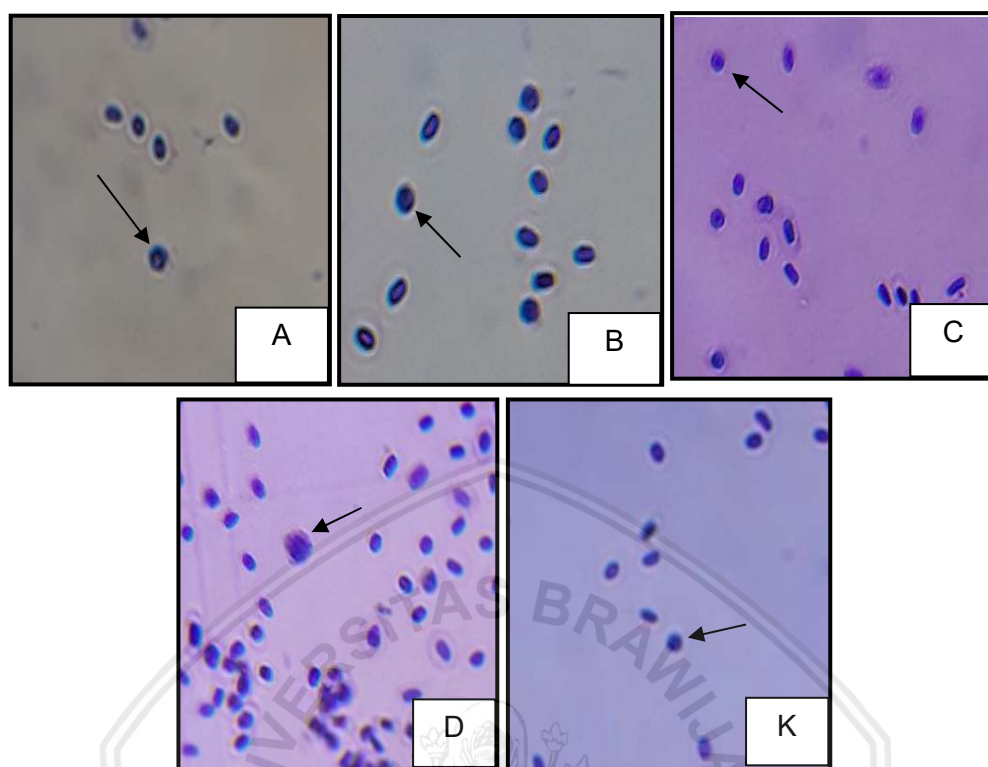
Palupi dan Marusiopono (2009), menambahkan bahwa β -karoten berfungsi untuk meningkatkan kekebalan tubuh karena adanya interaksi vitamin A dengan protein yang berfungsi dalam pembentukan antibodi. Kandungan lain yang terdapat dalam ekstrak *D. salina* adalah senyawa fenol. Senyawa fenol yang terkandung dapat menangkal radikal bebas yang masuk kedalam tubuh akibat infeksi. Menurut Zuraida *et al.* (2015), antioksidan alami yang terkandung dalam tanaman yaitu polifenol, karotenoid dan vitamin. Flavonoid merupakan salah satu golongan metabolit sekunder yang termasuk dalam kelompok polifenol. Flavonoid yang terkandung memiliki kemampuan sebagai penangkap radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui juga bahwa terjadi peningkatan jumlah leukosit setelah ikan diuji tantang dengan VNN selama 96 jam. Peningkatan ini dikarenakan produksi leukosit meningkat akibat adanya infeksi VNN. Pernyataan di atas didukung dengan pendapat Martin, *et al.* (2004), bahwa leukosit yang diproduksi meningkat jika terdapat infeksi pada tubuh ikan dan terdapat upaya dari tubuh untuk melawan. Kenaikan jumlah leukosit berkaitan dengan kerja sistem imun ikan dalam mereduksi serangan patogen, semakin meningkatnya serangan patogen maka akan semakin meningkat pula produksi leukosit dalam darah. Andayani, *et al.* (2009), menambahkan bahwa peningkatan leukosit berlangsung dengan semakin meningkatnya dosis dan lama proses infeksi. Sebagian besar leukosit ditransfer ke daerah-daerah infeksi untuk memberikan pertahanan yang cepat terhadap setiap gen infeksi.

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh gambaran leukosit ikan kerapu cantang sebelum dan setelah uji tantang dengan VNN yang disajikan pada Gambar 15 dan Gambar 16 sebagai berikut:

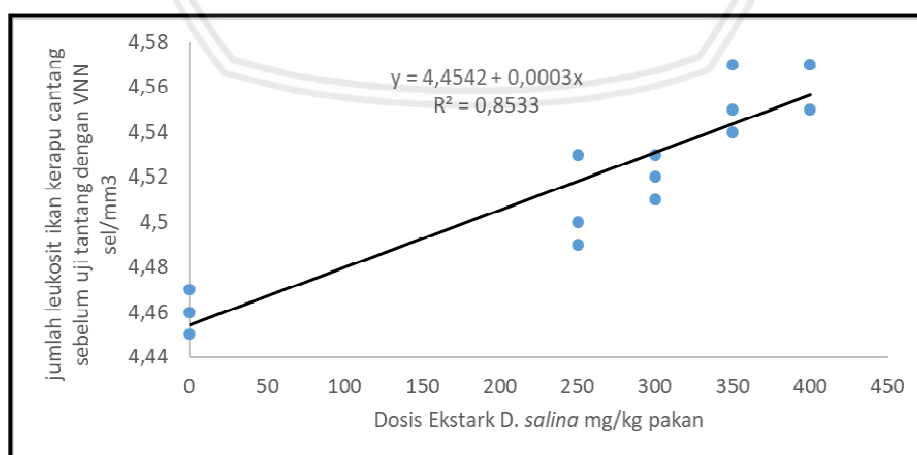


Gambar 15. Leukosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang dengan VNN dibawah Mikroskop Olympus dengan Perbesaran 400x. (A). Perlakuan A 250mg, (B). Perlakuan B 300mg, (C). Perlakuan C 350mg, (D). Perlakuan D 400mg, (K). Kontrol Negatif. (Dokumentasi Pribadi).



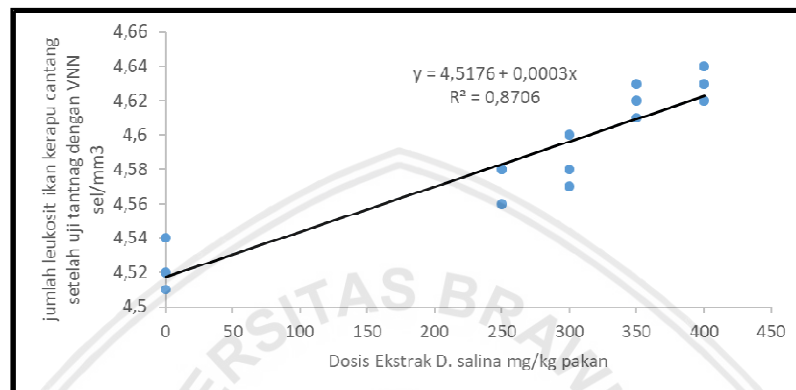
Gambar 16. Leukosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang dengan VNN dibawah Mikroskop Olympus dengan perbesaran 400x. (A). Perlakuan A 250mg, (B). Perlakuan B 300mg, (C). Perlakuan C 350mg, (D). Perlakuan D 400mg, (K). Kontrol Negatif (Dokumentasi Pribadi).

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



Gambar 17. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak *D. salina* terhadap Jumlah Leukosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Berdasarkan Gambar 17, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah leukosit ikan kerapu cantang sebelum uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 4,4542 + 0,0003x$ dengan $R^2 = 0,8533$, artinya perlakuan yang diberikan berpengaruh sebesar 85%, sisanya 24% merupakan pengaruh dari faktor lain.



Gambar 18. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak *D. salina* terhadap Jumlah Leukosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Berdasarkan Gambar 18, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah leukosit ikan kerapu cantang setelah uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 4,5176 + 0,0003x$ dengan $R^2 = 0,8706$. Berdasarkan persamaan yang diperoleh dapat diartikan bahwa faktor perlakuan yang diberikan terhadap ikan kerapu cantang berpengaruh sebesar 87%, sementara sisa 13% merupakan pengaruh dari faktor lain.

b. Jumlah Limfosit

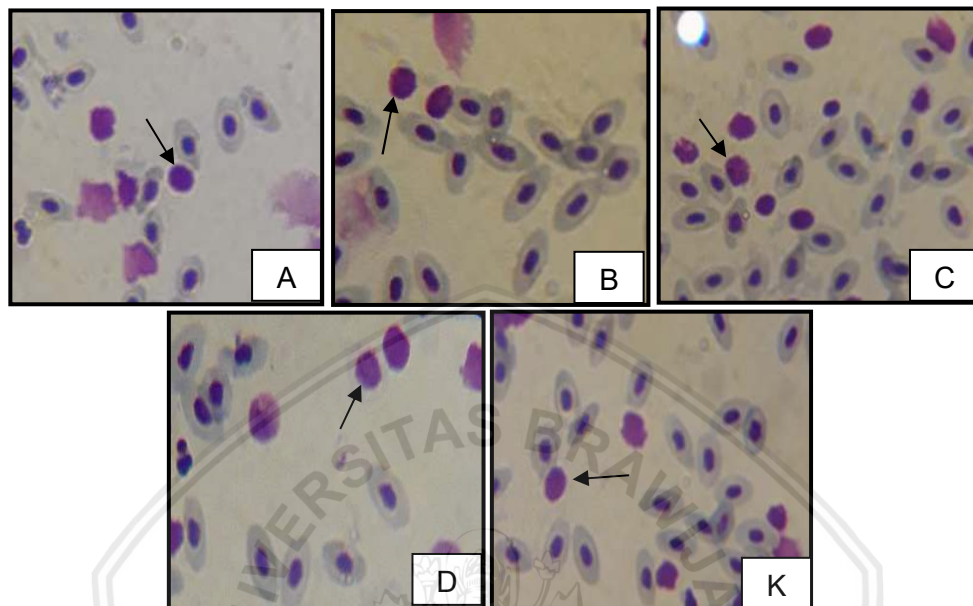
Berdasarkan hasil rerata jumlah limfosit sebelum dan setelah uji tantang dengan VNN, perlakuan dengan rerata jumlah limfosit tertinggi sebelum uji tantang didapatkan pada perlakuan dosis 400 mg/kg pakan yaitu sebesar 4,37, sedangkan perlakuan dengan rerata jumlah limfosit terendah didapatkan pada perlakuan dosis 0 mg/kg yaitu sebesar 4,28. Perlakuan dengan rerata jumlah limfosit tertinggi setelah uji tantang didapatkan pada dosis 400 mg/kg sebesar

4,42, sedangkan perlakuan dengan rerata jumlah limfosit terendah didapatkan pada dosis 0 mg/kg yaitu sebesar 4,33.

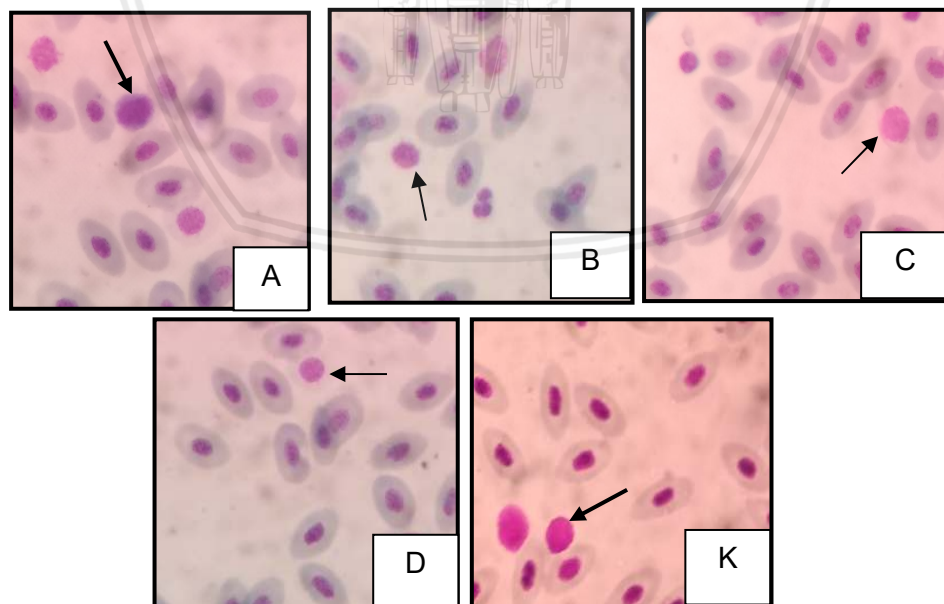
Limfosit merupakan salah satu sel darah putih yang berfungsi sebagai sistem kekebalan tubuh. Hasil penelitian yang didapat menunjukkan bahwa terjadinya peningkatan limfosit ikan kerapu cantang baik sebelum maupun setelah uji tantang. Peningkatan ini terjadi karena adanya pemberian ekstrak *D. salina* pada pakan yang diberikan pada ikan kerapu cantang. Ekstrak *D. salina* yang diberikan memiliki senyawa yang dapat merangsang pembentukan sel limfosit, sehingga semakin meningkatnya dosis yang diberikan maka sel limfosit yang diproduksi semakin tinggi. Meningkatnya sel limfosit pada tubuh ikan merupakan salah satu faktor keberhasilan sistem imun ikan dalam merespon suatu penyakit. Pernyataan diatas didukung oleh Widyaningrum, (2017), bahwa kandungan polisakarida yang terdapat pada *D. Salina* dapat meningkatkan sistem imun dengan menginduksi sel-sel pembentuk leukosit sehingga tubuh memproduksi lebih banyak leukosit, salah satu jenisnya adalah limfosit.

Nilai tertinggi limfosit ikan kerapu cantang diperoleh pada dosis 400 mg/kg setelah uji tantang dengan VNN yaitu sebesar 4,42 sel/mm³. Tingginya limfosit pada perlakuan tersebut dikarenakan terjadinya infeksi VNN pada tubuh ikan kerapu cantang, sehingga kadar limfosit semakin meningkat. Peningkatan jumlah limfosit yang terjadi menunjukkan keberhasilan sistem imun dalam merespon terjadinya infeksi dan membentuk kekebalan. Pernyataan ini didukung oleh Kresno, (2001), yaitu limfosit yang teraktifasi akan berdiferensiasi dari sel kognitif yang mengenal menjadi sel efektor yang berfungsi menyingkirkan antigen. Sel T-sitosilik yang berdiferensiasi berfungsi untuk melisiskan sasaran, sementara limfosit B berdiferensiasi menjadi plasma yang memproduksi antigen.

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh gambaran limfosit ikan kerapu cantang sebelum dan setelah uji tantang dengan VNN yang disajikan pada Gambar 19 dan Gambar 20 sebagai berikut:

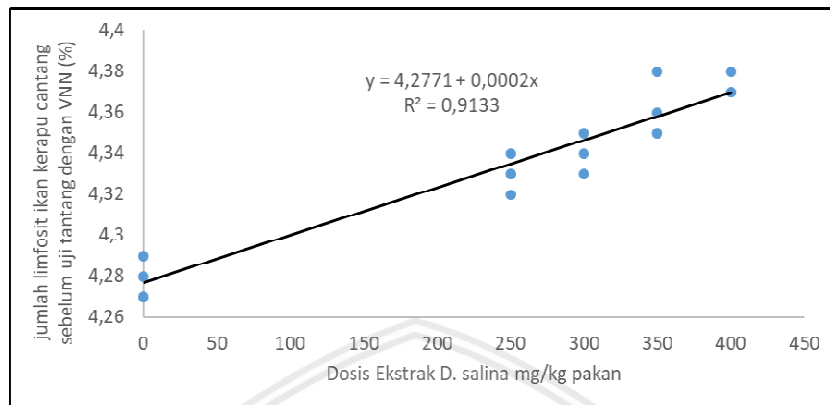


Gambar 19. Limfosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang dengan VNN dibawah Mikroskop Olympus Perbesaran 100x. (A). Perlakuan A 250mg, (B). Perlakuan B 300mg, (C). Perlakuan C 350mg, (D). Perlakuan D 400mg, (K). Perlakuan Kontrol (Dokumentasi Pribadi).



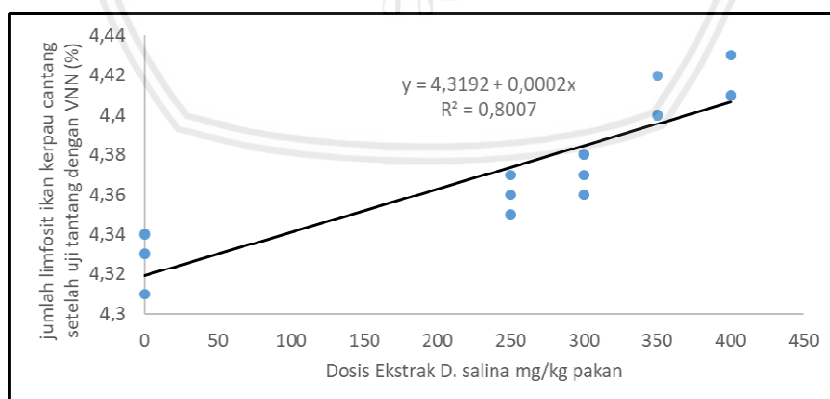
Gambar 20 . Limfosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang dengan VNN dibawah mikroskop Olympus perbesaran 1000x. (A). Perlakuan A 250m, (B). Perlakuan B 300mg, (C). Perlakuan C 350mg. (D), Perlakuan D 400mg, (K). Kontrol Negatif (Dokumentasi Pribadi).

Grafik hubungan perlakuan pemberian *D. salina* terhadap jumlah limfosit sebelum dan setelah uji tantang disajikan pada Gambar 21 dan Gambar 22:



Gambar 21. Grafik Hubungan Pemberian Dosis Ekstrak *D. salina* terhadap Jumlah Limfosit Ikan Kerapu Cantang Uji Tantang dengan VNN

Berdasarkan Gambar 21, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah limfosit ikan kerapu cantang sebelum uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 4,2771 + 0,0002x$ dengan $R^2 = 0,9133$. Berdasarkan persamaan yang telah didapat, diketahui bahwa faktor perlakuan yang diberikan berpengaruh sebesar 91%, sedangkan 9% sisanya merupakan pengaruh dari faktor lain.



Gambar 22. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak *D. salina* terhadap Jumlah Limfosit Ikan Kerapu Cantang setelah Uji Tantang

Berdasarkan Gambar 22, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah limfosit ikan kerapu cantang

sebelum uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 4,3192 + 0,0002x$ dengan $R^2 = 0,8007$. Berdasarkan persamaan yang didapat diketahui bahwa faktor perlakuan yang diberikan terhadap ikan kerapu cantang berpengaruh sebesar 80%, sedangkan 20% sisanya merupakan pengaruh dari faktor yang lain.

c. Jumlah Monosit

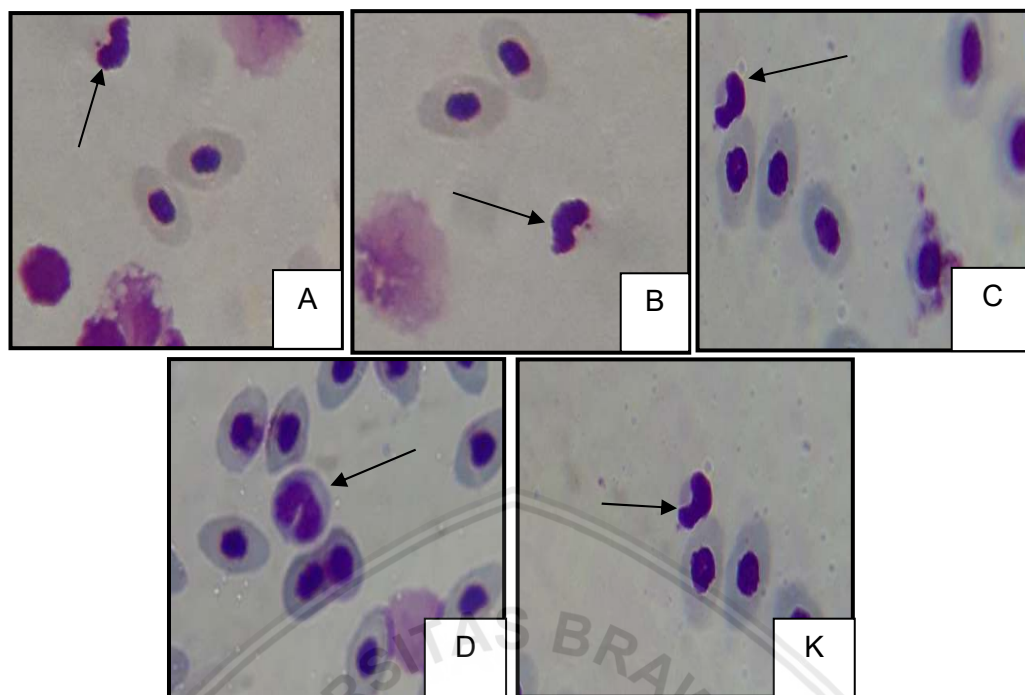
Berdasarkan hasil rerata jumlah monosit sebelum dan setelah uji tantang dengan VNN, perlakuan dengan rerata jumlah monosit tertinggi sebelum uji tantang didapatkan pada perlakuan dosis 400 mg/kg pakan yaitu sebesar 3,34%, sedangkan perlakuan dengan rerata jumlah monosit terendah didapatkan pada perlakuan dosis 0 mg/kg yaitu sebesar 3,24%. Perlakuan dengan rerata jumlah monosit tertinggi setelah uji tantang didapatkan pada dosis 400 mg/kg sebesar 3,53%, sedangkan perlakuan dengan rerata jumlah monosit terendah didapatkan pada dosis 0 mg/kg yaitu sebesar 3,42%.

Monosit merupakan salah satu bagian dari leukosit yang berfungsi sebagai makrofag atau memfagositosis agen penyebab penyakit yang masuk kedalam tubuh. Hasil penelitian yang didapat menunjukkan peningkatan pada jumlah monosit ikan kerapu cantang pada setiap perlakuan. Nilai tertinggi didapatkan pada dosis 400 mg/kg sebesar 3,34% dan 3,53%. Perlakuan ini memiliki nilai tertinggi dikarenakan dilakukan pemberian ekstrak *D. salina* tertinggi dan adanya infeksi VNN. Proses inflamasi saat terjadi kerusakan jaringan oleh infeksi maupun reaksi antigen-antibodi, akan meningkatkan produksi monosit dua kali lebih tinggi. Peredaran monosit dalam darah menjadi semakin singkat, pematangan monosit menjadi makrofag terjadi lebih cepat dan segera menuju jaringan yang mengalami kerusakan (Maftuch, 2007). Irianto (2005) menambahkan bahwa ketika mengalami aktivasi, makrofag memiliki

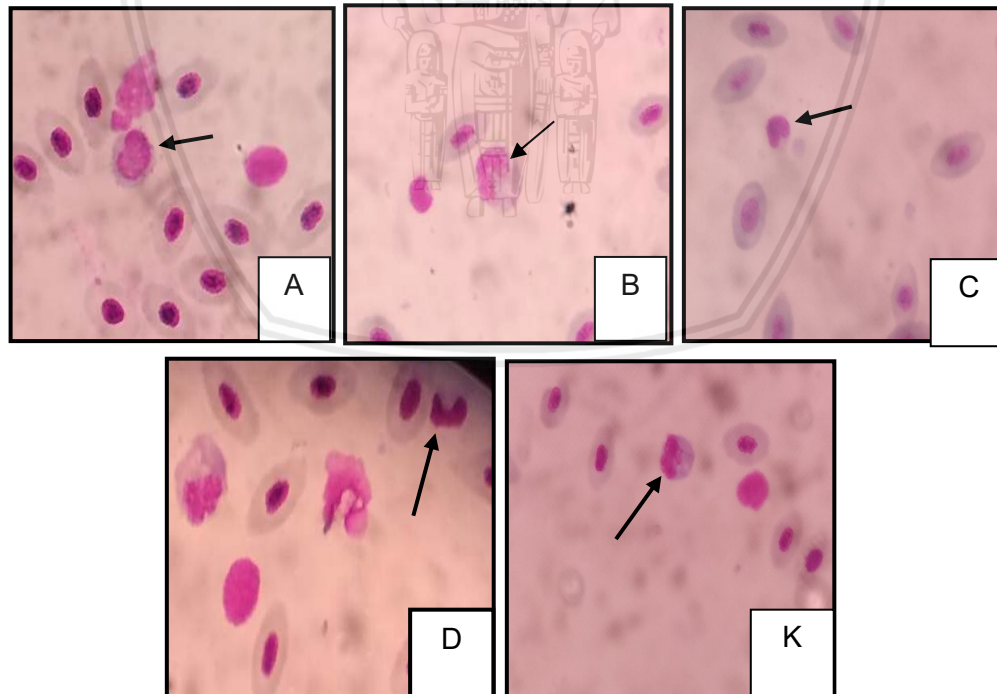
kapasitas yang lebih kuat dari pada neutrofil, meskipun granulosit yang mempunyai jumlah lebih besar.

Fatimah (2006) mengatakan bahwa vitamin A yang terkandung pada *D. salina* berperan penting dalam imunitas non spesifik melalui proses pematangan sel T dan merangsang sel T untuk melawan antigen asing. Sel T akan menyerang virus yang merupakan antigen asing dalam tubuh. Serangan virus dapat mengakibatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang bersifat radikal bebas dalam tubuh. Oksigen reaktif dapat menimbulkan kerusakan kromosom, DNA, protein sehingga mengakibatkan rusaknya sel dan jaringan tubuh. Rusaknya jaringan disebabkan oleh tingginya jumlah oksidatif. Antioksidan yang tidak dapat mengimbangi oksidatif maka akan menyebabkan oksidatif (ROS) langsung bereaksi pada jaringan. Kandungan β -karoten dalam ekstrak *D. salina* berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mencegah terjadinya kerusakan yang diakibatkan oleh ROS. Antioksidan akan mencegah kerusakan karena oksidatif akan bereaksi terlebih dahulu pada antioksidan. Danusantoso (2003), menyatakan bahwa antioksidan merupakan senyawa yang dengan mudah memberi elektron, maka suatu oksidan (ROS), akan terlebih dahulu bereaksi dengan antioksidan sebelum bereaksi dengan jaringan tubuh, sehingga sel tubuh tetap selamat. Pernyataan diatas didukung oleh pernyataan Novo dan Parola (2008), yang mengatakan bahwa β -karoten memiliki potensi sebagai antioksidan yang dapat mengurangi kerusakan yang disebabkan oleh ROS dan sebagai vitamin A yang dapat meningkatkan imunitas tubuh. Karotenoid yang terdapat pada ekstrak *D. salina* dapat menghambat peroksidan seperti aktivitas antioksidan.

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh gambaran monosit ikan kerapu cantang sebelum dan setelah uji tantang dengan VNN yang disajikan pada Gambar 23 dan Gambar 24 sebagai berikut:

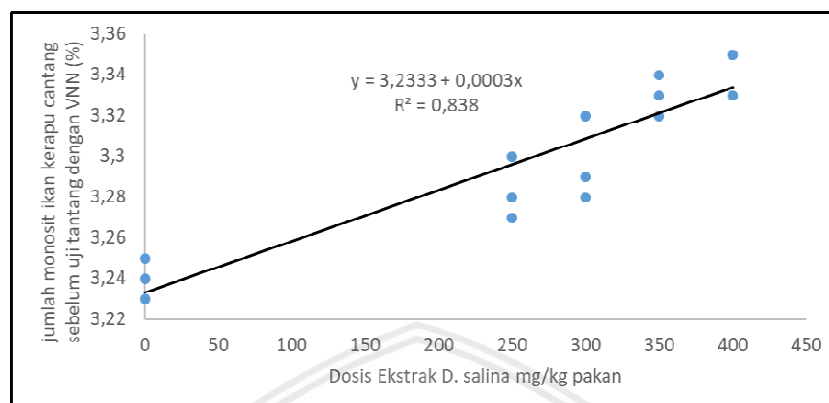


Gambar 23. Monosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang dengan VNN dibawah Mikroskop Olympus perbesaran 1000x. (A). Perlakuan A 250mg, (B). Perlakuan B 300mg, (C). Perlakuan C 350mg, (D). Perlakuan D 400mg, (K). Kontrol Negatif (Dokumentasi Pribadi)



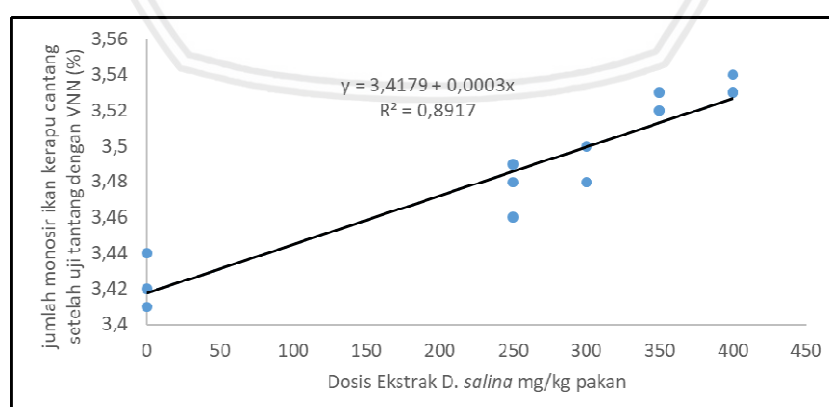
Gambar 24. Monosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang dengan VN dibawah Mikroskop Olympus Perbesaran 1000x. (A). Perlakuan A 250mg, (B). Perlakuan B300mg, (C). Perlakuan C 350mg, (D). Perlakuan D 400mg, (K). Kontrol Negatif (Dokumentasi Pribadi).

Grafik hubungan perlakuan pemberian *D. salina* terhadap jumlah monosit sebelum dan setelah uji tantang disajikan pada Gambar 25 dan Gambar 26:



Gambar 25. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak *D. salina* terhadap Jumlah Monosit Ikan Kerapu Cantang sebelum Uji Tantang.

Berdasarkan Gambar 25, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah monosit ikan kerapu cantang sebelum uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 3,2333 + 0,0003x$ dengan $R^2 = 0,838$. Berdasarkan persamaan yang didapatkan, diketahui bahwa faktor pemberian perlakuan terhadap ikan kerapu cantang berpengaruh sebesar 83%, sedangkan 17% sisanya merupakan pengaruh dari faktor lain.



Gambar 26. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak *D. salina* terhadap Jumlah Monosit Ikan Kerapu Cantang setelah Uji Tantang.

Berdasarkan Gambar 26, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah monosit ikan kerapu cantang setelah uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan yaitu $y = 3,4179 + 0,0003x$ dengan $R^2 = 0,8917$. Berdasarkan persamaan yang didapatkan, diketahui bahwa faktor perlakuan yang diberikan terhadap ikan kerapu cantang berpengaruh sebesar 89%, sementara 11% sisanya merupakan pengaruh dari faktor lain.

d. Jumlah Neutrofil

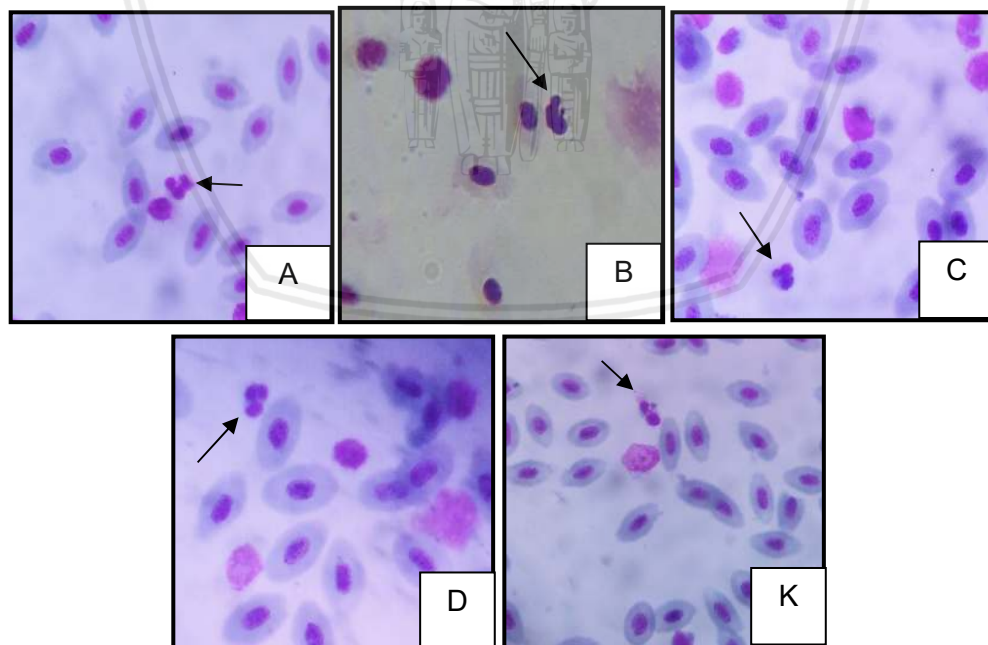
Berdasarkan hasil rerata jumlah neutrofil sebelum dan setelah uji tantang dengan VNN, perlakuan dengan rerata jumlah neutrofil tertinggi sebelum uji tantang didapatkan pada perlakuan dosis 400 mg/kg pakan yaitu sebesar 3,91%, sedangkan perlakuan dengan rerata jumlah neutrofil terendah didapatkan pada perlakuan dosis 0 mg/kg yaitu sebesar 3,80%. Perlakuan dengan rerata jumlah neutrofil tertinggi setelah uji tantang didapatkan pada dosis 400 mg/kg sebesar 4,01%, sedangkan perlakuan dengan rerata jumlah neutrofil terendah didapatkan pada dosis 0 mg/kg yaitu sebesar 3,90%.

Neutrofil merupakan sel darah putih atau leukosit yang bersifat fagositosis dengan memakan patogen yang berfungsi sebagai kekebalan tubuh. Hasil penelitian yang didapat menunjukkan adanya peningkatan neutrofil ikan kerapu cantang. Hasil menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yang digunakan maka semakin tinggi jumlah neutrofil. Peningkatan kadar neutrofil ikan kerapu cantang disebabkan karena adanya pemberian ekstrak *D. salina* yang memiliki ikatan polisakarida yang terbentuk dari ekstraksi β -karoten. Ali, *et al.* (2007), mengatakan bahwa peningkatan neutrofil diiringi dengan peningkatan jumlah leukosit pada setiap perlakuan, hal ini disebabkan oleh adanya senyawa aktif karotenoid pada ekstrak *D. salina* yang membantu proses pembentukan darah dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Pernyataan tersebut didukung oleh

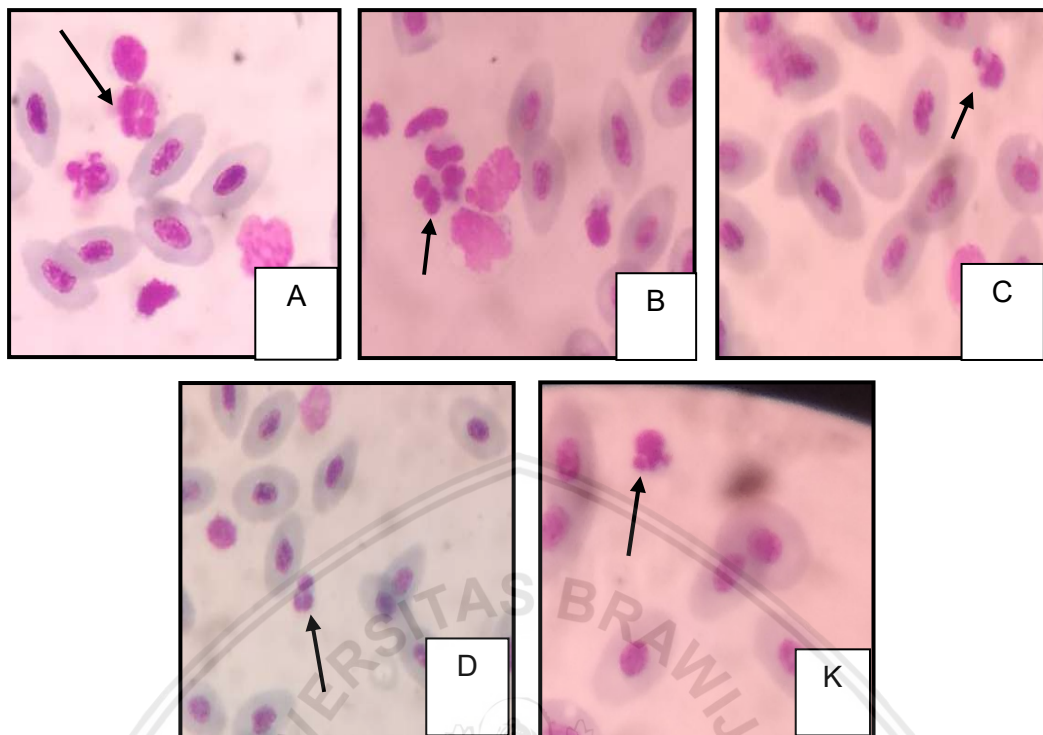
pendapat Nurjannah, *et al.* (2013) yang mengatakan bahwa peningkatan jumlah neutrofil terjadi sebagai imunostimulan yang meningkatkan respon imun untuk menjaga tubuh dari infeksi penyakit tertentu.

Jumlah neutrofil tertinggi didapat pada dosis 400 mg/kg setelah uji tantang sebesar 4,01%. Peningkatan ini disebabkan oleh adanya infeksi dari VNN, hal ini menunjukkan bahwa neutrofil menjadi aktif dan bergerak menuju bagian yang terinfeksi. Pernyataan tersebut sesuai dengan pendapat Utami, *et al.* (2013), bahwa peningkatan jumlah sel neutrofil mengindikasikan adanya peningkatan pengumpulan makrofag di tempat terjadinya infeksi, sehingga makrofag lebih mudah menghancurkan partikel asing VNN karena sistem kekebalan tubuh yang aktif akan menyerang patogen yang terdapat dalam tubuh.

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh gambaran neutrofil ikan kerapu cantang sebelum dan setelah uji tantang dengan VNN yang disajikan pada Gambar 27 dan Gambar 28 sebagai berikut:

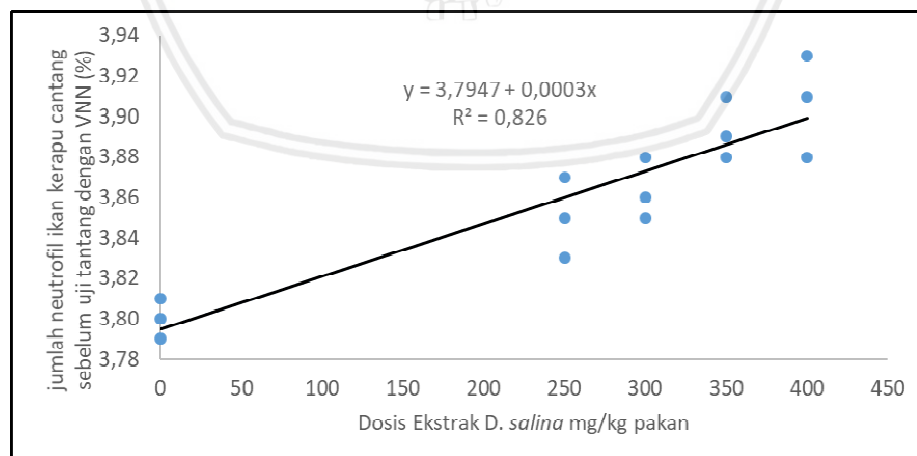


Gambar 27. Neutrofil Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji tantang dengan VNN dibawah Mikroskop Olympus perbesaran 1000x. (A). Perlakuan A 250mg, (B). Perlakuan B 300mg, (C). Perlakuan C 350mg, (D). Perlakuan D 400mg, (K). Kontrol Negatif (Dokumentasi Pribadi).



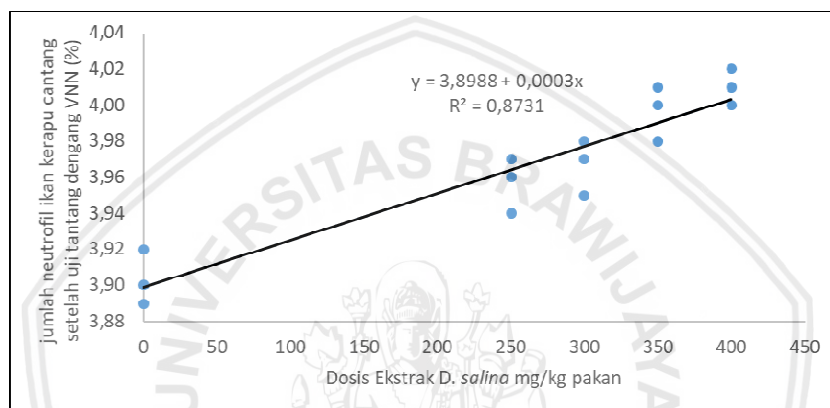
Gambar 28. Neutrofil Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang dengan VNN dibawah Mikroskop Olympus perbesaran 1000x. (A). Perlakuan A 250mg, (B). Perlakuan B 300mg, (C). Perlakuan C 350mg, (D). Perlakuan D 400mg, (K). Kontrol Negatif (Dokumentasi Pribadi).

Grafik hubungan perlakuan pemberian *D. salina* terhadap jumlah neutrofil sebelum dan setelah uji tantang disajikan pada Gambar 29 dan Gambar 30:



Gambar 29. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak *D. salina* terhadap Jumlah Neutrofil Ikan Kerapu Cantang sebelum Uji Tantang dengan VNN.

Berdasarkan Gambar 29, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah neutrofil ikan kerapu cantang sebelum uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 3,7947 + 0,0003x$ dengan $R^2 = 0,826$. Berdasarkan persamaan yang telah didapatkan, diketahui bahwa faktor perlakuan yang diberikan terhadap ikan kerapu cantang berpengaruh 83%, sedangkan 17% sisanya merupakan pengaruh dari faktor lain.



Gambar 30. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak *D. salina* terhadap Jumlah Neutrofil Ikan Kerapu Cantang setelah Uji Tantang dengan VNN

Berdasarkan Gambar 30, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah neutrofil ikan kerapu cantang sebelum uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 3,8988 + 0,0003x$ dengan $R^2 = 0,8731$. Hasil persamaan yang telah didapat menunjukkan bahwa faktor perlakuan yang diberikan terhadap ikan kerapu cantang berpengaruh 87%, sedangkan 13% sisanya merupakan pengaruh dari faktor yang lain.

e. Jumlah Eosinofil

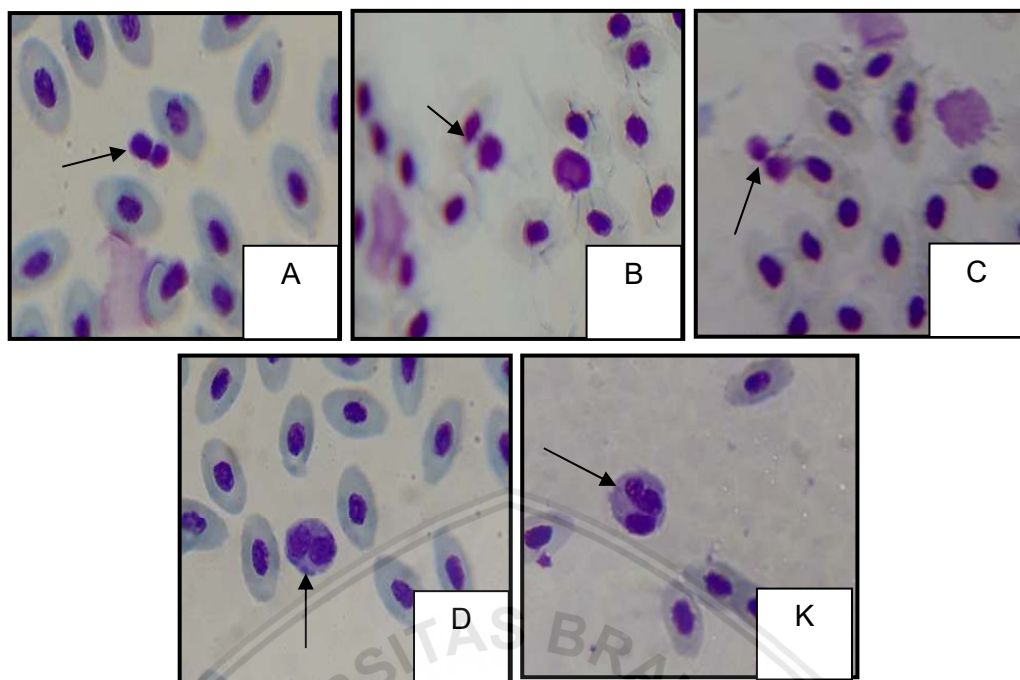
Berdasarkan hasil rerata jumlah eosinofil sebelum dan setelah uji tantang dengan VNN, perlakuan dengan rerata jumlah eosinofil tertinggi sebelum uji tantang didapatkan pada perlakuan dosis 400 mg/kg pakan yaitu sebesar 3,34%, sedangkan perlakuan dengan rerata jumlah eosinofil terendah didapatkan pada

perlakuan dosis 0 mg/kg yaitu sebesar 3,24%. Perlakuan dengan rerata jumlah eosinofil tertinggi setelah uji tangtang didapatkan pada dosis 400 mg/kg sebesar 3,47%, sedangkan perlakuan dengan rerata jumlah eosinofil terendah didapatkan pada dosis 0 mg/kg yaitu sebesar 3,37%.

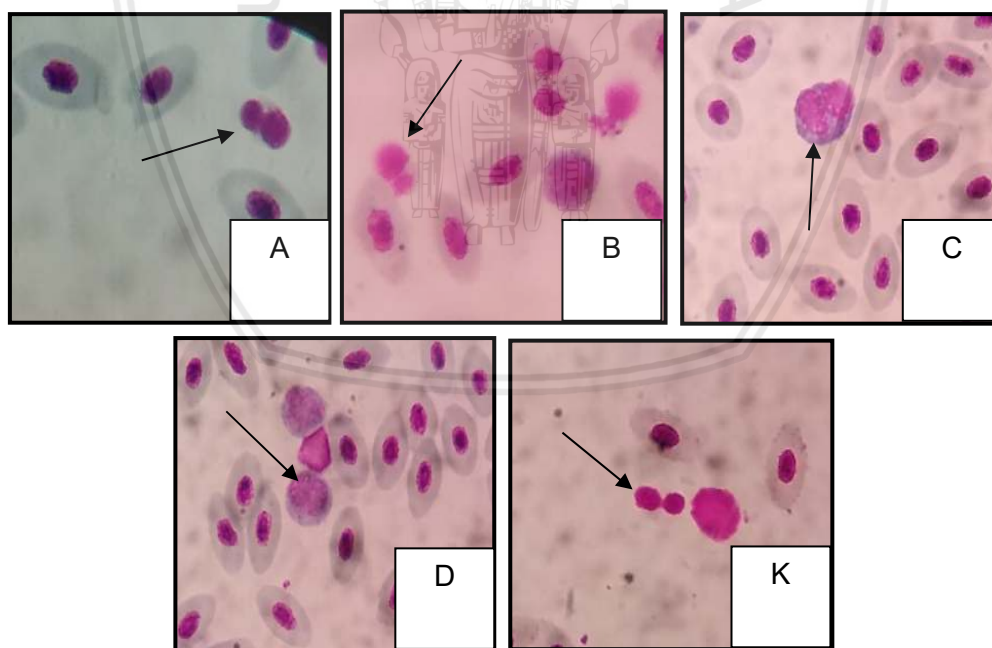
Eosinofil merupakan sel darah putih atau leukosit yang berfungsi melawan penyakit dan patogen bersama dengan neutrofil. Hasil penelitian yang didapat menunjukkan adanya peningkatan eosinofil ikan kerpau cantang. Hasil menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yang digunakan maka akan semakin meningkat pula jumlah eosinofil yang terdapat dalam tubuh. Peningkatan diduga terjadi karena adanya pemberian ekstrak *D. salina* yang mengandung ikatan polisakarida hasil ekstraksi β -karoten. Matofani, *et al.* (2013), menyatakan bahwa eosinofil berfungsi untuk melawan penyakit yang disebabkan oleh organisme mikroseluler seperti bakteri dan virus bersama-sama dengan neutrofil yang meningkat apabila terdapat senyawa karotenoid yang dapat membantu proses pembentukan sel darah serta meningkatkan kekebalan tubuh.

Jumlah eosinofil tertinggi didapat pada perlakuan D setelah uji tantang sebesar 3,47%. Peningkatan ini terjadi karena adanya infeksi dari VNN, karena pada dasarnya tubuh memiliki sistem kekebalan tubuh berupa leukosit yang didalamnya terdapat eosinofil. Eosinofil akan aktif apabila didalam tubuh terdapat benda asing berupa patogen. Ali, *et al.* (2007), menambahkan bahwa peningkatan jumlah eosinofil diiringi dengan peningkatan jumlah leukosit pada tiap perlakuan, hal ini dikarenakan oleh adanya senyawa aktif karotenoid pada ekstrak *D. salina* yang berperan dalam membantu proses pembentukan darah dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh.

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh gambaran eosinofil ikan kerpau cantang sebelum dan setelah uji tantang dengan VNN yang disajikan pada Gambar 31 dan Gambar 32 sebagai berikut:

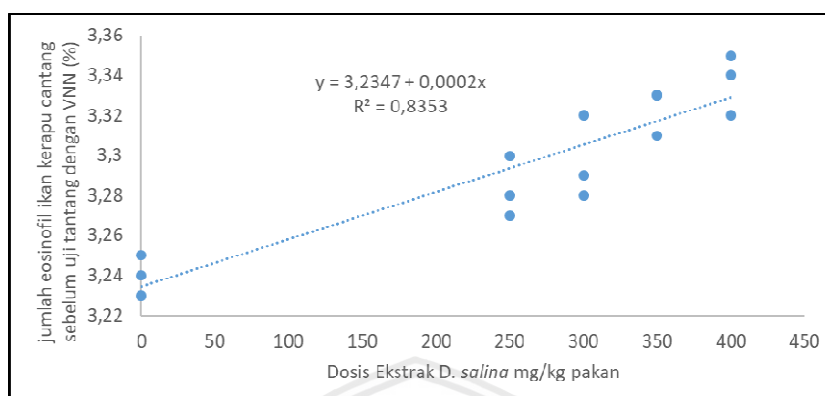


Gambar 31. Eosinofil Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang dengan VNN dibawah Mikroskop Olympus perbesaran 1000x. (A). Perlakuan A 250mg, (B). Perlakuan B 300mg, (C). Perlakuan C 350mg, (D). Perlakuan D 400mg, (K). Kontrol Negatif (Dokumentasi Pribadi).



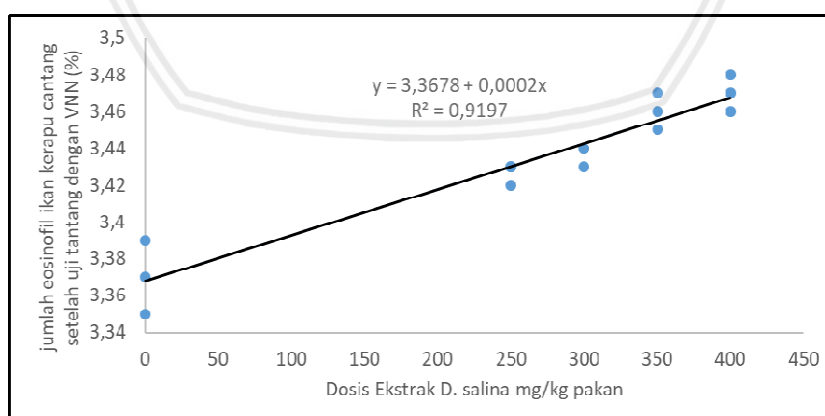
Gambar 32. Eosinofil Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang dengan VNN dibawah Mikroskop Olympus Perbesaran 1000x. (A). Perlakuan A 250mg, (B). Perlakuan B 300mg, (C). Perlakuan C 350mg, (D). Perlakuan D 400mg, (K). Perlakuan Kontrol (Dokumentasi Pribadi)

Grafik hubungan perlakuan pemberian *D. salina* terhadap jumlah eosinofil sebelum dan setelah uji tantang disajikan pada Gambar 33 dan Gambar 34:



Gambar 33. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak *D. salina* Terhadap Jumlah Eosinofil Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang dengan VNN

Berdasarkan Gambar 32, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah neutrofil ikan kerapu cantang sebelum uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 3,2347 + 0,0002x$ dengan $R^2 = 0,8353$. Persamaan yang diperoleh menunjukan bahwa fsktor perlakuan yang diberikan terhadap ikan kerapu cantang berpengaruh 83%, sedangkan 17% sisanya merupakan faktor dari perlakuan yang lain.



Gambar 34. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak *D. salina* terhadap Jumlah Eosinofil setelah Uji Tantang dengan VNN.

Berdasarkan Gambar 32, diperoleh hasil bahwa hubungan antara pemberian *D. salina* pada pakan terhadap jumlah eosinofil ikan kerapu cantang

sebelum uji tantang dengan VNN menghasilkan pola linear dengan persamaan $y = 3,3678 + 0,0002x$ dengan $R^2 = 0,9197$. Persamaan yang diperoleh menunjukan bahwa faktor perlakuan yang diberikan berpengaruh 92%, sementara 9% sisanya merupakan faktor perlakuan yang lain.

4.6 Kualitas Air

Selama masa pemeliharaan ikan kerapu cantang dilakukan pengukuran kualitas air sebelum uji tantang. Kualitas air yang diamati pada penelitian ini meliputi suhu, derajat keasaman (pH), oksigen terlarut (DO) dan salinitas. Pengukuran kualitas air ini diuji pada pagi dan sore hari selama pengamatan berlangsung. Data mengenai pengamatan kualitas air selama pemeliharaan disajikan pada lampiran 2. Hasil pengamatan kualitas air selama penelitian disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Kisaran Kualitas Air Selama Pemeliharaan

Parameter	Nilai	Literatur (Utami, <i>et al.</i> , 2015)
Suhu (°C)	27 - 30	24 - 32
Derajat Keasaman (pH)	7,02 - 8,16	7,0 - 8,5
Oksigen Terlarut (DO) (ppm)	3,8 - 9,2	5,0 - 8,2
Salinitas (ppt)	31 - 35	28 - 35

Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air selama pemeliharaan didapatkan bahwa nilai suhu berkisar antara 27-30°C yang masih berada dalam kisaran normal bagi kehidupan ikan kerapu cantang. Nilai suhu selama pemeliharaan tidak menunjukkan perubahan yang signifikan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Utami, *et al.* (2015), bahwa nilai suhu optimal untuk pemeliharaan kerapu cantang yaitu 24-32°C. Menurut Fadhil *et al.* (2011), suhu dapat mempengaruhi tingkah laku, metabolisme, pertumbuhan, reproduksi dan nafsu makan pada ikan. Nilai derajat keasaman (pH) menunjukkan bahwa kisaran 6,78-8,59 masih tergolong kisaran yang optimal bagi pemeliharaan ikan kerapu cantang. 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 bahwa pH air selama masa pemeliharaan masih tergolong kisaran yang optimal bagi pemeliharaan ikan kerapu cantang.

Hasil pengukuran DO selama pemeliharaan yaitu berkisar 3,8-8,2. Kisaran nilai DO yang didapat selama pemeliharaan merupakan faktor terpenting dalam menentukan kelangsungan hidup ikan. Kisaran tersebut termasuk nilai yang dapat ditolerir oleh ikan kerapu cantang. Menurut Utami, *et al.* (2015), kisaran optimal DO untuk pemeliharaan ikan kerapu cantang yaitu 5,0-8,2. Maryam (2010), menambahkan bahwa ikan dapat bertahan hidup pada perairan dengan kadar DO minimal 3 ppm.

Kadar salinitas selama pemeliharaan yaitu berkisar 31-35 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 leukosit ikan kerapu cantang yang diinfeksi VNN. Perlakuan terbaik sebelum dan sesudah uji tantang didapat pada dosis 400 mg/kg pakan dengan nilai rerata limfosit sebesar 4,37% dan 4,42%. Nilai rerata monosit sebesar 3,34% dan 3,53%, nilai rerata neutrofil sebesar 3,91% dan 4,01%, serta nilai rerata eosinofil sebesar 3,34% dan 3,47%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disarankan agar pembudidaya menggunakan ekstrak *D. salina* dengan dosis 400 mg/kg untuk pencegahan VNN. Disarankan juga untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metode pemanfaatan *D. salina* sebagai antivirus, sehingga didapatkan metode yang optimal dalam pemanfaatan *D. salina*. Perlu juga dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis yang digunakan sehingga mendapatkan dosis yang lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd EL-Baky, H. H., El-Baz F. K. and G. S. El-Baroty. 2007. Production of carotenoids from marine microalgae and it's evaluation as save food colorant and lowering cholesterol agent. *Am-Euras J Agric and Environ Sci*. 2: 792–800.
- 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.
- Ali, 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.
- Andayani, S. 2009. Respon imun non-spesifik ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) terhadap imunostimulan senyawa aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) melalui pakan. *Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus 3B*: 67-73.
- Astrid, T., B. S. Rahardja dan E. D. Masithah. 2013. Pengaruh konsentrasi pupuk *Lemna minor* terhadap populasi *D. salina*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Ilmu Kelautan*. 5 (1): 61-66
- Balaban, E.P., T.R. Simon and E.P. Frenkel. 1987. Toxicity of Indium- 111 on the Radiolabeled Lymphocyte. *J. Nucl. Med*. 28: 229-233.
- 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 spesies, handbook of microargal 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. Phsysiology. 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.
- Bonnefond, H., N. Moelants, A. Talec, O. Bernard and A. Sciandra. 2016. Concomitant effects of light and temperature diel variations on the growth rate and lipid production of *D. salina*. *Alga Research* 14: 72–78.
- 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.
- Chi, S. C., B. J. Lo and S. C. Lin. 2001. Characterization of Groper Nervous Necrosis Virus (GNNV). *J. Fish Dis*. **24**(1): 3–14.
- Chi, S. C., Wu, Y. C and Cheng, T. M. 2005. Persistent infection of beranodavirus in a novel cell line derived from the brain tissues of barramundi *Lates calcalifer*. *Dis Aquat*. **65**(1): 91–98.
- Chuang, W., Y. Ho, J. Liao and F. Lu. 2014. *Dunaliella salina* exhibit an antileukimic immunity in a mouse model of WEHI-3 leukomia cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **62**(47): 11479-11487.
- Cozta, J. Z. and Kim D. Thompson. 2016. Understanding the interaction between *Betanodavirus* and its host for the development of prophylactic measures for viral encephalopathy and retinopathy. *Fish and Shellfish Immunology*. **53**: 35-49.
- Danusantoso, H. 2003. Peran radika bebas terhadap beberapa penyakit paru. **22**(1): 31-36.
- Dellman, H.D., and E.M. Brown. 1989. Textbook of Veterinary Histology 3rd Edition. Lea & Febiger, Philadelphia. 72 hlm.
- 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.
- 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.
- Fatimah. 2006. Respon imunitas yang rendah pada tubuh manusia lanjut usia. *Jurnal Makara Kesehatan*. **10**(1): 47-53.
- Fitriatin, E., Dan A. Manan. 2015. Pemeriksaan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada ikan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **7** (2): 149–152.

- Froberg, M. K., R. D. Brunning, P. Dorion, C. E. Litz and E. Torlakovic. 1998. Demonstration of clonality in neutrophils using fish in a case of chronic neutrophilic leukimia. Brief Communication Stockton Press. 12: 623-626.
- Gilda, D. Lio-Po and Leobert, D. P. 2006. Viral Disease Chapter 1: Aquaculture. 161 hlm.
- Giri, N. A., K. Suwiryana dan M. Marzuqi. Kebutuhan asam amino lisin untuk benih ikan kerapu bebek (). *Jurnal Riset Akuakultur*. **1**(2): 143–150.
- 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. UNDIP Press: Semarang. 124hlm.
- Hamdi, A. A., dan E. Bahruddin. 2014. Metode Penelitian Kuantitatif dalam Pendidikan. Daepublish. Yogyakarta 171 hlm.
- Hamed, I., A. Burcu, O. Isik and L. Uslu. 2017. The effect of salinity and temperature on the growth of *Dunaliella* sp. isolated from the salt lake (Tuz Gölü), Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Science*. **17**: 1367–1372.
- Harti, A. S. 2015. Mikrobiologi Kesehatan. Publisher. Jakarta. 274hlm
- Hastuti, S.D. dan Karoror, R.J. 2007. Pengaruh Pemberian Lps (Lipopolisakarida) terhadap Aktivitas Fagositosis dan Jumlah Eritrosit Darah Ikan Nila (*Oreochromis* sp). *Jurnal Protein*. **15** (1): 5-10.
- Hata, N., Y. Okinaka, T. Sakamoto, T. Iwamoto, and T. Nakai. 2007. Upper limits for the multiplication of betanodaviruses. *Fish Pathology*. **42** (4): 225–228.
- Herlina, T. 2008. Hematologi. Infokartikan. Vol.5 No.1. 30hlm.
- Irianto, A. 2005. Patologi Ikan Teleostei. Penerbit Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Fitoplankton dan Zooplankton: Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut, Kanisius: Yogyakarta. 55hlm
- 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.
- Jun Dai., Yan Wu., Shang-Wei Chen., Song Zhu., Hong-ping Yi., Min Wang and Jian Tang. 2010. Sugar compositional determination on polysaccharides from *Dunaliella salina* by modified RP-HPLC method of precolumn

derivization with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone. *Elsevier Carbohydrates Polymer*. **82**: 629-635.

- Kordi, K. M. G. H. 2010. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Rineka Cipta dan Bina Adiaksara. Jakarta. 190 hlm.
- Kresno, S. B. 2001. Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Edisi Ketiga. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta. 437 hlm.
- Krishnakumar, S., V. D. M. Bai and R. A. Rajan. 2013. Evaluation of bioactive metabolites from halophilic microalgae *D. salina* by GC-MS analysis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. **5**(4): 296–230.
- Kusdarwati R., M. Akhyar dan B. S. Rahardja. 2011. Pengaruh penambahan vitamin b12 pada media blotong kering terhadap pertumbuhan populasi *D. salina*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **3** (1): 73–77.
- Kusumaningrum, H. P dan M. Zanuari. 2015. Aplikasi pakan alami kaya karotenoid untuk post larvae *Penaeus monodon* fab. *Ilmu Kelautan*. **18** (3): 143-149.
- 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.
- Maftuch. 2007. Paparan *Vibrio alginoliticus* terhadap histopatologi usus ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) dan peningkatan jumlah serta aktivitas sel makrofag. *Jurnal Penelitian Perikanan*. **10**(1): 66-70.
- Mahasri G, Pristita W, Laksmi S. 2011. Gambaran Leukosit Darah Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang Terinfestasi *Ichthyophthirius multifiliis* pada Derajat Infestasi yang Berbeda dengan Metode Kohabitasi. Surabaya: Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. **3**(1): 91-96.
- 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): 27-31.
- 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.
- Matofani, A. S., Hastuti dan F. Basuki. 2013. Profil darah ikan nila kunti yang diinjeksi *Streptococcus agalactiae* dengan kepadatan berbeda. *Jurnal of Aquaculture Management and Technology*. **2**(2): 64-72.
- Moyle, P.B and J.J Cech. 2004. Fish An Introduction To Ichthyology Fifth Edition. Prentice Hall: New Jersey
- Murtidjo, B. A. 2002. Budi Daya Kerapu dalam Tambak. Kanisius. Yogyakarta. 81hlm.
- 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.
- Novo, E and M. Parola. 2008. Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. *Fibrogenesis Tissue Repair*. **1**(1): 1-5.
- Novriadi, R., R. Purnomowati, D. Yunianto dan J. Santosa. 2014. Kementrian Kelautan dan Perikanan Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Direktorat Kesehatan Ikan dan Lingkungan. 37hlm.
- 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.
- Ode, I. 2013. Kajian sistem imunitas untuk pengendalian penyakit pada ikan dan udang. *Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan*. **6** (2): 41-43.
- Oktavia, W., K. Sukarti dan H. Kusdianto. 2015. Pengaruh kombinasi sumber lemak yang berbeda pada pakan terhadap pertumbuhan ikan kerapu cantang (*Epinephelus* sp.). *Jurnal Ilmu Perikanan Tropis*. **20**(2): 1-7.
- 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.
- Palic, D., L. S. Beck, J. Palic and C. B. Andreasen. 2011. Use of rapid cytochemical staining to characterize fish blood granulocytes in species of special concern and determine potential for function testing. *Fish and Shellfish Immunology*. **30**: 646-652.
- Palupi, L. A., dan M. Martosupono. 2009. Buah merah 9potensi dan manfaat sebagai antioksidan). *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*. 42-48.
- Pereira, J. A., I. Oliveira, 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): 23–267.
- Preanger, C., I. H. Utama dan I. M. Kardenia. 2016. Gambaran ulas darah ikan lele di Denpasar Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*. **5**(2): 96-103.
- 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.
- Roza, D., F. Johnny dan Tridjoko. 2006. Peningkatan Respon Imun Non-Spesifik Benih Kerapu Bebek, *Cromileptes altivelis* dengan Imunostimulan dan Bakterin terhadap Infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN). *Jurnal Perikanan*, vol. **8** (1): 25-35.
- 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.
- 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.
- 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 Budidaya Kerapu. Penebar Swadaya. Jakarta. 148 hlm.
- Subyakto, S., dan S. Cahyaningsih. 2003. Pembenihan Kerapu Skala Rumah Tangga. Agromedia Pustaka. 63hlm.

- 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.
- 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* pada lendir ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Jurnal Sain Veteriner*. **30**(1): 99 – 109.
- Supamattaya, K., S. Kiriratnikom, M. Boonyaratpalin dan L. Borowitzka. 2005. Effect of a *dunaliella* extract on growth performance, health condition, immune response and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*. **248** (1-4): 207-216.
- 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.
- Suratmi, S. dan N. T. Aryani. 2008. Kasus infeksi penyakit *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada ikan kerapu di Pulau Bali. *Buletin Teknik Literatur Akuakultur*. **7**(1).
- Surfianti, O., Soewarno dan G. Mahasri. 2016. Identifikasi KHV dengan uji immunofluorescence dan immunocytochemistry berdasarkan uji polymerase chain reaction positif KHV pada ikan koi (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Biosains Pascasarja*. **18** (3): 1-17.
- Sutarmat, T. dan H. T. Yudha. 2013. Analisis keragaman pertumbuhan benih kerapu hibrida hasil hibridisasi kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dengan kerapu kertang (*Epinephelus lanceolatus*) dan kerapu batik (*Epinephelus microdon*). *Jurnal Riset Akuakultur*. **8**(3): 363-372.
- Tang, L., C. S. Lin, N. K. Khrisna and M. Yeagar. 2002. Virus like particles of a fish nodavirus display a capsid sub unit domain organization different from that of insect nodavirus. *Journal of Virology*. **76**(12): 6370–6375.
- Tizard I. 1982. *Veterinary Immunology, An Introduction*. Ed Ke-3. W.B. Saunders Company, Canada.
- Toffan, A., F. Pascoli, T. Pretto, V. Panzarin, M. Abaddi, A. Buratin, R. Quartesan, D. Gijoh dan F. Padros. 2017. Viral Nervous Necrosis in gilthead seabarm (*Sparus auratus*) caused by reassortant betanodavirus RGNNV/SJNNV: an emerging threat for mediteranean aquaculture. *Scientific Report*. 1–12.
- Tran, D., C. Louime, T. Vő, 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. Sampekalo 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.
- Utami, D. T., S. B. Prayitno., S. Hastuti dan A. Santika. 2013. Gambaran parameter hematologis pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi vaksin DNA *Streptococcus iniae* dengan dosis yang berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2**(4): 7-20.
- Venkatesan, S., M. S. Swamy, C. Senthil, S. Bhaskar and R. Rengasamy. 2013. Culturing marine green microalgae *D. salina* Teod. and *Dunaliella tertiolecta* masuk in devalne's medium for valuable feeds stock. *Journal of Modern Biotechnology*. **2**(2): 40–44.
- Widiastuti, D., S. R. Umniyati dan N. Wijayanti. 2012. Pemeriksaan virus dengue-3 pada nyamuk aedes aegypti yang diinfeksi secara intrathorakal dengan teknik imunositokimia menggunakan antibodi DSSE10. *Balaba*. **8** (1): 21-25.
- Widyaningrum, H., I, S. S. Basar dan S. Priyono. 2017. Diferensial leukosit ikan gurami (*Ospranemus gouramy* Lac) dengan perbedaan level suplementasi *Spirulina platensis* dalam pakan. *Scripta Biologica*. **4**(1): 37-40.
- Yanuhar, U. 2011. Respon imun sel interleukin -4 (il-4) pada ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) yang dipapar protein imunogenik *Vibrio harveyi*. *Jurnal Kelautan*. **4** (2): 126 – 135.
- 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.
- Yuasa, K., I. Koesharyani, D. Roza, F. Jhonny and Zafran. 2001. Manual of PCR procedure; rapid diagnosis on *Viral Nervous Necrosis* (VNN) in grouper. *Lolita-kanta-JICA Booklet No. 13*. 35pp.
- Yudha, A. A., F. Agustriani dan Isnaini. 2013. Pemberian Mikroalga Terhadap Pertambahan Populasi Rotifera (*Brachionus plicatillis*) Pada Skala Laboratorium di BBPBL Lampung. *Maspari Jurnal*. **5** (2): 140-144.
- Yuwanita, R., N. R. Buwono dan H. F. E. Putra. 2018. Pengaruh *D. 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.
- Zainuddin, M. 2017. Aktivitas antioksidan biopigmen *D. salina* pada media kultur hiposalin dan hipersalin. *Jurnal Enggano*. **2** (1): 25-38.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat – alat Penelitian

	
Autoklaf	Mikroskop
	
Timbangan Analitik	Freezer
	
Sentrifugasi	Rotator Evaporator



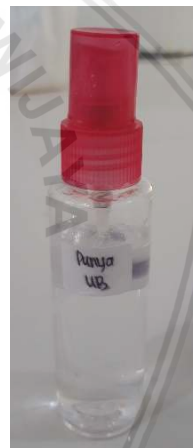
pH Meter



Centrifuge Hematokrit



Tabung Mikrohematokrit



Botol Sprayer



Tempat Pewarnaan



Hemocytometer

	
Handtally Counter	Mikro Pipet
	
Haemometer	Cetakan Pelet
	
Blower	Toples Kaca

	
Timbangan Digital	Refraktometer
	
DO Meter	Bak Penampungan
	
Termometer	Kontainer Plastik
	
Coolbox	Blender

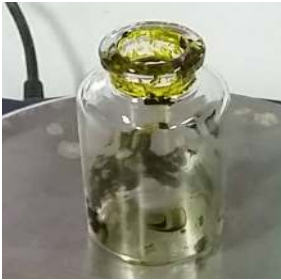
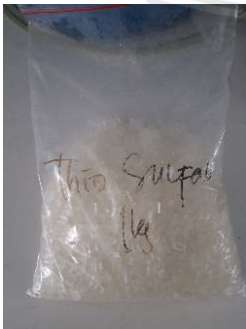
	
Timbangan	Selang Aerasi
	
Seser	Botol Larutan
	
Toples Tepung D. Salina	Batu Aerasi
	
Blower	Lap Basah

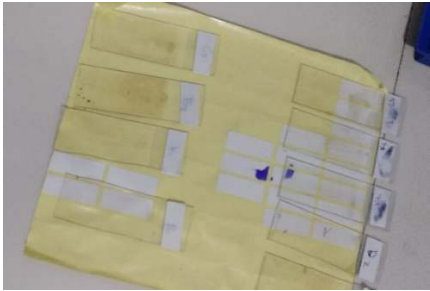
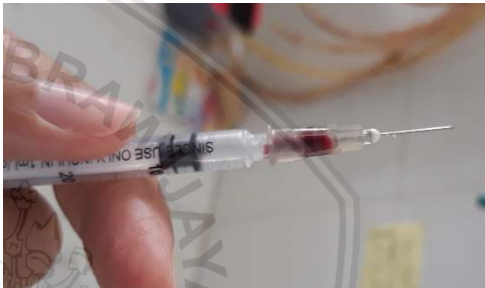
	
Nampan	Mortar & Alu
	
Pipet Tetes	

Lampiran 2. Bahan – bahan Penelitian

	
Methanol	Akuades
	
Giemsa	EDTA
	
Alkohol	Minyak Emersi

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

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

	
Air Laut	Objek Glass
	
Cover Glass	Darah Ikan Kerapu
	
Kertas Label	pH Paper
	
Isolat VNN	Tissue

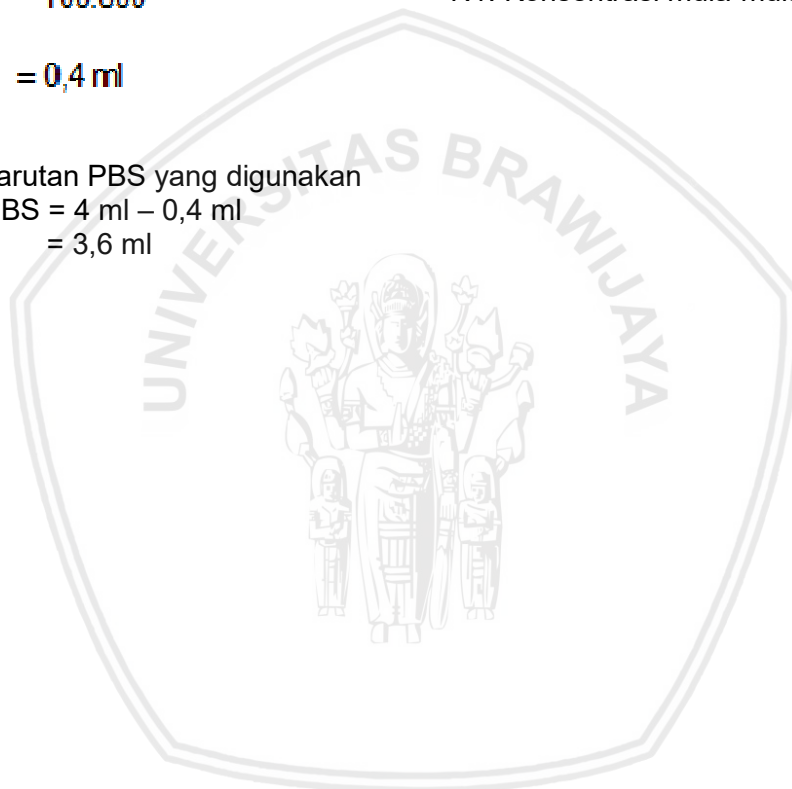


Microtube



Lampiran 3. Perhitungan Konsentrasi VNN

- Konsentrasi 10^5 (Hasil dari pengujian *Real Time* PCR)
- Konsentrasi 10^4
 - $N_2 = \text{Virus yang diinjeksi} \times \text{Jumlah ikan}$
 $= 0,2 \text{ ml} \times 20 = 4 \text{ ml}$
 - $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$ Keterangan:
 $10^5 \times N_1 = 10^4 \times 4$ V1: Volume mula-mula
 $N_1 = \frac{40.000}{100.000}$ N1: Konsentrasi mula-mula
 $= 0,4 \text{ ml}$
 - Larutan PBS yang digunakan
 $\text{PBS} = 4 \text{ ml} - 0,4 \text{ ml}$
 $= 3,6 \text{ ml}$



Lampiran 4. Analisa Data Leukosit

➤ Leukosit

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

Perlakuan	Sebelum Uji Tantang	Setelah Uji Tantang	Rerata
K1	28250	32350	30300
K2	28850	34750	31800
K3	29300	33250	31275
A1	31850	38450	35150
A2	30700	37850	34275
A3	33500	36350	34925
B1	32750	39650	36200
B2	32050	38300	35175
B3	33950	37450	35700
C1	35850	41200	38525
C2	34600	42500	38550
C3	37350	41450	39400
D1	36950	42400	39675
D2	35750	43650	39700
D3	37450	41850	39650

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

Perlakuan	Sebelum Uji Tantang	Setelah Uji Tantang	Rerata
K1	4,45	4,51	4,48
K2	4,46	4,54	4,50
K3	4,47	4,52	4,50
A1	4,50	4,58	4,54
A2	4,49	4,58	4,54
A3	4,53	4,56	4,55
B1	4,52	4,60	4,56
B2	4,51	4,58	4,55
B3	4,53	4,57	4,55
C1	4,55	4,61	4,58
C2	4,54	4,63	4,59
C3	4,57	4,62	4,60
D1	4,57	4,63	4,6
D2	4,55	4,64	4,60
D3	4,57	4,62	4,60

➤ Analisa Data Leukosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

a. Data Rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	4,45	4,46	4,47	13,38	4,460
A	4,50	4,49	4,53	13,52	4,507
B	4,52	4,51	4,53	13,56	4,520
C	4,55	4,54	4,57	13,66	4,553
D	4,57	4,55	4,57	13,69	4,563
Total	22,59	22,55	22,67	67,81	
Rerata	4,518	4,51	4,534		

Lampiran 4. Lanjutan

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{67,81^2}{15} = 306,546 \\
 \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + (D3^2) - FK \\
 &= ((4,45^2) + (4,46^2) + (4,47^2) + \dots + (4,57^2) - 306,546 = 0,022 \\
 \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - FK \\
 &= \frac{13,38^2 + 13,52^2 + 13,56^2 + 13,66^2 + 13,69^2}{3} - 306,546 \\
 &= 0,02 \\
 \text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} &= \text{JKT} - \text{JKP} = 0,022 - 0,02 = 0,002 \\
 \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (n \times r) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 14 \\
 \text{Derajat Bebas (db) perlakuan} &= n - 1 = 5 - 1 = 4 \\
 \text{Derajat Bebas (db) Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 14 - 4 = 10 \\
 \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,02}{4} = 0,00507333 \\
 \text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,002}{10} = 0,00020 \\
 \text{F Hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{0,00507333}{0,00020} = 25,36667
 \end{aligned}$$

c. Analisa Keragaman Leukosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,02	0,00507333	25,37	3,48	5,99
Acak	10	0,002	0,00020			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

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

Perlakuan		K	A	B	C	D	Signifikansi
		6,27	6,35	6,38	6,44	6,46	1%
K	6,27	-					a
A	6,35	0,047**	-				b
B	6,38	0,06**	0,013 ^{ns}	-			b
C	6,44	0,08**	0,04**	0,033**	-		c
D	6,46	0,13**	0,08**	0,07**	0,010 ^{ns}	-	c

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

Lampiran 4. Lanjutan

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{Ulangan}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,00020}{3}} = 0,006667$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times SED \\ &= 2,22814 \times 0,006667 = 0,015 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times SED \\ &= 3,16927 \times 0,006667 = 0,021 \end{aligned}$$

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

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	13,38	-2	2	-1	1
A	13,52	-1	-1	2	-4
B	13,56	0	-2	0	6
C	13,66	1	-1	-2	-4
D	13,69	2	2	1	1
Q		0,76	-0,16	0,03	-0,29
K π		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		0,02	0,000610	0,0000	0,0004
total jk regresi		0,02			

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

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,02	0,00507333			
Linier	1	0,02	0,01925333	96,26667**	3,48	5,99
Kuadratik	1	0,000610	0,00060952	3,047619		
Kubik	1	0,00003	3E-05	0,15		
Kuartik	1	4,00E-04	4,00E-04	2,00E+00		
Acak	10	0,002	0,00020			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,02}{0,02 + 0,002} = 0,905897$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,000610}{0,000610 + 0,002} = 0,233577$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0001}{0,0001 + 0,0070} = 0,014778$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{JK \text{ Kuartik}}{JK \text{ Kuartik} + JK \text{ Acak}} = \frac{4,00E-04}{4,00E-04 + 0,002} = 1,67E-01$$

Lampiran 4. 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	4,45	0	0
K2	0	4,46	0	0
K3	0	4,47	0	0
A1	250	4,50	1125	62500
A2	250	4,49	1122,5	62500
A3	250	4,53	1132,5	62500
B1	300	4,52	1356	90000
B2	300	4,51	1353	90000
B3	300	4,53	1359	90000
C1	350	4,55	1592,5	122500
C2	350	4,54	1589	122500
C3	350	4,57	1599,5	122500
D1	400	4,57	1828	160000
D2	400	4,55	1820	160000
D3	400	4,57	1828	160000
Jumlah	3900	67,81	17705	1305000
Rerata	260	4,52066667		

h. Mencari Persamaan

$$B_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{17705 - \frac{3900 \times 67,81}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = 0,0003$$

$$B_0 = \bar{Y} - b_1 (\bar{x}) = 4,52 - (0,0003 \times 260) = 4,45$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 4,45 + 0,0003x$

➤ Analisa Data Leukosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

a. Data Rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	4,51	4,54	4,52	13,57	4,52
A	4,58	4,58	4,56	13,72	4,57
B	4,60	4,58	4,57	13,75	4,58
C	4,61	4,63	4,62	13,86	4,62
D	4,63	4,64	4,62	13,89	4,63
Total	22,93	22,97	22,89	68,79	
Rerata	4,586	4,594	4,578		

Lampiran 4. Lanjutan

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{68,79^2}{15} = 315,47094$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + (D3^2) - FK \\ &= ((4,51^2) + (4,54^2) + (4,52^2) + \dots + (4,62^2) - 315,47094 = 0,0232 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - FK \\ &= \frac{13,67^2 + 13,72^2 + 13,76^2 + 13,86^2 + 13,89^2}{3} - 315,471 \\ &= 0,0216 \end{aligned}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} = \text{JKT} - \text{JKP} = 0,0232 - 0,0216 = 0,0016$$

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

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

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

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,0216}{4} = 0,00539$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,0016}{10} = 0,00016$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{0,00539}{0,00016} = 33,6875$$

c. Analisa Keragaman Leukosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,0216	0,00539	33,69**	3,48	5,99
Acak	10	0,0016	0,00016			
Total	14	0,0232				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

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

Perlakuan		K	A	B	C	D	Signifikansi
		6,06	6,22	6,23	6,28	6,30	1%
K	6,06	-					a
A	6,22	0,05**	-				b
B	6,23	0,07**	0,010 ^{ns}	-			b
C	6,28	0,08**	0,03**	0,04**	-		c
D	6,30	0,10**	0,05**	0,03**	0,010 ^{ns}	-	c

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

Lampiran 4. Lanjutan

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,00539}{3}} = 0,005963$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} \\ &= 2,22814 \times 0,005963 = 0,013 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} \\ &= 3,16927 \times 0,005963 = 0,019 \end{aligned}$$

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

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	13,57	-2	2	-1	1
A	13,72	-1	-1	2	-4
B	13,75	0	-2	0	6
C	13,86	1	-1	-2	-4
D	13,89	2	2	1	1
Q		0,78	-0,16	0,04	-0,36
Kπ		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		0,02	0,000610	0,0001	6,17E-04
total jk regresi		0,02			

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

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,02	0,00539			
Linier	1	0,02	0,02028	126,75**	3,48	5,99
Kuadratik	1	0,000610	0,00060952	3,8095238		
Kubik	1	0,0001	5,3333E-05	0,3333333		
Kuartik	1	6,17E-04	6,17E-04	3,86E+00		
Acak	10	0,002	0,00016			
Total	14	0,02				

Keterangan: **berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{JK Acak}} = \frac{0,02}{0,02 + 0,002} = 0,9269$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak}} = \frac{0,00061}{0,00061 + 0,002} = 0,2759$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik} + \text{JK Acak}} = \frac{0,0001}{0,0001 + 0,002} = 0,0323$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{\text{JK Kuartik}}{\text{JK Kuartik} + \text{JK Acak}} = \frac{617E-04}{617E-04 + 0,002} = 278E-01$$

Nilai regresi linier > regresi Kuadratik, Kubik dan Kuartik

Lampiran 4. Lanjutan

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	4,51	0	0
K2	0	4,54	0	0
K3	0	4,52	0	0
A1	250	4,58	1145	62500
A2	250	4,58	1145	62500
A3	250	4,56	1140	62500
B1	300	4,60	1380	90000
B2	300	4,58	1374	90000
B3	300	4,57	1371	90000
C1	350	4,61	1613,5	122500
C2	350	4,63	1620,5	122500
C3	350	4,62	1617	122500
D1	400	4,63	1852	160000
D2	400	4,64	1856	160000
D3	400	4,62	1848	160000
Jumlah	3900	68,79	17962	1305000
Rerata	260	4,586		

h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{17962 - \frac{3900 \times 68,79}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = 0,0003$$

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 (\bar{x}) = 4,59 - 0,0006 (260) = 4,52$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 4,52 + 0,0003x$

Lampiran 5. Analisa Data Limfosit

➤ Data Kadar Limfosit

• Data Rerata Kadar Limfosit (g%)

Perlakuan	Sebelum uji tantang	Setelah uji tantang	Rerata
K1	4,27	4,34	4,31
K2	4,28	4,33	4,31
K3	4,29	4,31	4,30
A1	4,32	4,37	4,35
A2	4,33	4,36	4,35
A3	4,34	4,35	4,35
B1	4,33	4,38	4,36
B2	4,34	4,37	4,36
B3	4,35	4,36	4,36
C1	4,36	4,4	4,38
C2	4,35	4,42	4,39
C3	4,38	4,4	4,39
D1	4,38	4,41	4,40
D2	4,37	4,43	4,40
D3	4,37	4,41	4,39

• Analisa Data Limfosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

a. Data rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	4,27	4,28	4,29	12,84	4,28
A	4,32	4,33	4,34	12,99	4,33
B	4,33	4,34	4,35	13,02	4,34
C	4,36	4,35	4,38	13,09	4,36
D	4,38	4,37	4,37	13,12	4,37
Total	21,66	21,67	21,73	65,06	
Rerata	4,332	4,334	4,346		

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{65,06^2}{15} = 282,187$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + (D3^2)) - \text{FK} \\ &= ((4,27^2) + (4,28^2) + (4,29^2) + \dots + (4,37^2)) - \\ &282,187 = 0,017 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{12,84^2 + 12,99^2 + 13,02^2 + 13,09^2 + 13,12^2}{3} - 282,187 \\ &= 0,016 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Lanjutan

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} &= \text{JKT} - \text{JKP} = 0,017 - 0,016 = 0,001 \\
 \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (n \times r) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 14 \\
 \text{Derajat Bebas (db) perlakuan} &= n - 1 = 5 - 1 = 4 \\
 \text{Derajat Bebas (db) Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 14 - 4 = 10 \\
 \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,017}{4} = 0,00399 \\
 \text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,001}{10} = 0,0001 \\
 \text{F Hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{0,00399}{0,0001} = 35,20588
 \end{aligned}$$

c. Analisa Keragaman Limfosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,02	0,00399	35,20588**	3,48	5,99
Acak	10	0,001	0,00011			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** (sangat berbeda nyata)

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

Perlakuan	K	A	B	C	D	Signifikansi
	6,03	6,60	6,63	7,47	7,57	1%
K 6,03	-					a
A 6,60	0,05**	-				b
B 6,63	0,06**	0,010 ^{ns}	-			b
C 7,47	0,08**	0,04**	0,023**	-		c
D 7,57	0,13**	0,09**	0,07**	0,010 ^{ns}	-	c

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

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

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	12,84	-2	2	-1	1
A	12,99	-1	-1	2	-4
B	13,02	0	-2	0	6
C	13,09	1	-1	-2	-4
D	13,12	2	2	1	1
Q		0,66	-0,2	0,08	-0,24
K _π		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		0,01	0,000952	0,0002	2,74E-04
total jk regresi		0,02			

Lampiran 5. Lanjutan

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

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	0,02	0,00399			
Linier	1	0,01	0,01452	128,1176	3,48	5,99
Kuadratik	1	0,000952	0,00095238	8,403361		
Kubik	1	0,0002	0,00021333	1,882353		
Kuartik	1	2,74E-04	2,74E-04	2,42E+00		
Acak	10	0,001	0,00011			
Total	14	0,02				

Keterangan: **berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,01}{0,01 + 0,001} = 0,927598$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,000952}{0,000952 + 0,001} = 0,456621$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0002}{0,0002 + 0,001} = 0,158416$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{JK \text{ Kuartik}}{JK \text{ Kuartik} + JK \text{ Acak}} = \frac{2,74E-04}{0,362 + 0,387} = 0,195$$

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	4,27	0	0
K2	0	4,28	0	0
K3	0	4,29	0	0
A1	250	4,32	1080	62500
A2	250	4,33	1082,5	62500
A3	250	4,34	1085	62500
B1	300	4,33	1299	90000
B2	300	4,34	1302	90000
B3	300	4,35	1305	90000
C1	350	4,36	1526	122500
C2	350	4,35	1522,5	122500
C3	350	4,38	1533	122500
D1	400	4,38	1752	160000
D2	400	4,37	1748	160000
D3	400	4,37	1748	160000
Jumlah	3900	65,06	16983	1305000
Rerata	260	4,33733333		

Lampiran 5. Lanjutan

h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{169,83 - \frac{3900 \times 65,06}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = 0,0002$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 (\bar{x}) = 4,34 - (0,0002 \times 260) = 4,28$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 4,28 + 0,0002x$

• Analisa Data Limfosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

a. Data rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	4,34	4,33	4,31	12,98	4,33
A	4,37	4,36	4,35	13,08	4,36
B	4,38	4,37	4,36	13,11	4,37
C	4,4	4,42	4,4	13,22	4,41
D	4,41	4,43	4,41	13,25	4,42
Total	21,9	21,91	21,83	65,64	
Rerata	4,38	4,382	4,366		

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{65,64^2}{15} = 287,241$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + (D3^2) - \text{FK}) \\ &= ((4,34^2) + (4,33^2) + (4,31^2) + \dots + (4,41^2) - 287,241 = 0,017 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{13,60^2 + 15,00^2 + 17,20^2 + 17,60^2 + 22,70^2}{3} - 287,241 \\ &= 0,0016 \end{aligned}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} = \text{JKT} - \text{JKP} = 0,017 - 0,0016 = 0,001$$

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

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

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

Lampiran 5. Lanjutan

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{0,016}{4} = 0,00399$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{0,001}{10} = 0,00014$$

$$F \text{ Hitung} = \frac{KTP}{KTA} = \frac{0,00399}{0,00014} = 28,5$$

c. Analisa Keragaman Limfosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,02	0,00399	28,5**	3,48	5,99
Acak	10	0,001	0,00014			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** (berbeda sangat nyata)

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

Perlakuan	K	A	B	C	D	Signifikansi
	4,50	5,00	5,17	5,73	5,87	1%
K	4,50	-				a
A	5,00	0,03**	-			b
B	5,17	0,04**	0,010 ^{ns}	-		b
C	5,73	0,08**	0,05**	0,037**	-	c
D	5,87	0,09**	0,06**	0,05**	0,010 ^{ns}	c

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

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{Ulangan}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,00014}{3}} = 0,00558$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times SED \\ &= 2,22814 \times 0,00558 = 0,352 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times SED \\ &= 3,16927 \times 0,00558 = 0,500 \end{aligned}$$

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

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadrat	Kubik	Kuartik
K	12,98	-2	2	-1	1
A	13,08	-1	-1	2	-4
B	13,11	0	-2	0	6
C	13,22	1	-1	-2	-4
D	13,25	2	2	1	1
Q		0,68	-0,06	-0,01	-0,31
K _{TT}		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		0,02	0,000086	0,0000	4,58E-04
total jk regresi		0,02			

Lampiran 5. Lanjutan

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

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	0,02	0,00399			
Linier	1	0,02	0,01541333	110,09524	3,48	5,99
Kuadratik	1	0,000086	8,5714E-05	0,6122449		
Kubik	1	0,000003	3,3333E-06	0,0238095		
Kuartik	1	4,58E-04	4,58E-04	3,27E+00		
Acak	10	0,001	0,00014			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R^2)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,02}{0,02 + 0,001} = 0,9167$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,000086}{0,000086 + 0,001} = 0,0578$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,000003}{0,000003 + 0,001} = 0,00238$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{JK \text{ Kuartik}}{JK \text{ Kuartik} + JK \text{ Acak}} = \frac{4,58E-04}{4,58E-04 + 0,001} = 2,46E-01$$

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	4,34	0	0
K2	0	4,33	0	0
K3	0	4,31	0	0
A1	250	4,37	1092,5	62500
A2	250	4,36	1090	62500
A3	250	4,35	1087,5	62500
B1	300	4,38	1314	90000
B2	300	4,37	1311	90000
B3	300	4,36	1308	90000
C1	350	4,4	1540	122500
C2	350	4,42	1547	122500
C3	350	4,4	1540	122500
D1	400	4,41	1764	160000
D2	400	4,43	1772	160000
D3	400	4,41	1764	160000
Jumlah	3900	65,64	17130	1305000
Rerata	260	4,376		

Lampiran 5. Lanjutan

h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{17130 - \frac{3900 \times 65,64}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = 0,0002$$

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 (\bar{x}) = 4,38 - (0,0002 \times 260) = 4,32$$

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

$$= 4,32 + 0,0002x$$



Lampiran 6. Analisa Data Monosit

➤ Data Kadar Monosit

• Data Rerata Kadar Monosit (%)

Perlakuan	Sebelum uji tantang	Setelah uji tantang	Rerata
K1	3,23	3,41	3,32
K2	3,24	3,44	3,34
K3	3,25	3,42	3,34
A1	3,28	3,49	3,39
A2	3,27	3,48	3,38
A3	3,30	3,46	3,38
B1	3,29	3,5	3,40
B2	3,28	3,48	3,38
B3	3,32	3,48	3,4
C1	3,32	3,52	3,42
C2	3,34	3,53	3,44
C3	3,33	3,52	3,43
D1	3,33	3,53	3,43
D2	3,35	3,54	3,45
D3	3,35	3,53	3,44

• Analisa Data Monosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

a. Data Rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	3,23	3,24	3,25	9,72	3,24
A	3,28	3,27	3,30	9,85	3,28
B	3,29	3,28	3,32	9,89	3,30
C	3,32	3,34	3,33	9,99	3,33
D	3,33	3,35	3,35	10,03	3,34
Total	16,45	16,48	16,55	49,48	
Rerata	3,29	3,296	3,31		

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{49,48^2}{15} = 163,218$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + (D3^2)) - \text{FK} \\ &= ((3,23^2) + (3,24^2) + (3,25^2) + \dots + (3,35^2)) - \\ &163,218 \\ &= 0,022 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{9,72^2 + 9,85^2 + 9,89^2 + 9,99^2 + 10,03^2}{3} - 163,218 \\ &= 0,020 \end{aligned}$$

Lampiran 6. Lanjutan

$$\text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} = \text{JKT} - \text{JKP} = 0,022 - 0,020 = 0,002$$

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

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

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

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,020}{4} = 0,004993$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,002}{10} = 0,00020$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{0,004993}{0,00020} = 24,96667$$

c. Analisa Keragaman Monosit Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,020	0,004993	24,97**	3,48	5,99
Acak	10	0,002	0,00020			
Total	14	0,022				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

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

Perlakuan		K	A	B	C	D	Signifikansi
		20,67	26,00	26,33	29,33	29,33	1%
K	20,67	-					a
A	26,00	0,04**	-				b
B	26,33	0,06**	0,013 ^{ns}	-			b
C	29,00	0,08**	0,04**	0,033**	-		c
D	29,33	0,13**	0,09**	0,07**	0,013 ^{ns}	-	c

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

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,0002}{3}} = 0,00667$$

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

$$= 2,22814 \times 0,00667 = 0,015$$

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

$$= 3,16927 \times 0,00667 = 0,021$$

Lampiran 6. Lanjutan

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

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	9,72	-2	2	-1	1
A	9,85	-1	-1	2	-4
B	9,89	0	-2	0	6
C	9,99	1	-1	-2	-4
D	10,03	2	2	1	1
Q		0,76	-0,12	0,03	-0,27
K π		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		0,02	0,000343	0,0000	3,47E-04
total jk regresi		0,02			

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

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	0,02	0,00499333			
Linier	1	0,02	0,01925333	96,26667	3,48	5,99
Kuadratik	1	0,000343	0,00034286	1,714286		
Kubik	1	0,00003	3E-05	0,15		
Kuartik	1	3,47E-04	3,47E-04	1,74E+00		
Acak	10	0,002	0,00020			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,02}{0,02 + 0,002} = 0,905897$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,000343}{0,000343 + 0,002} = 0,146341$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,00003}{0,00003 + 0,002} = 0,014778$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{JK \text{ Kuartik}}{JK \text{ Kuartik} + JK \text{ Acak}} = \frac{3,47E-04}{3,47E-04 + 0,002} = 0,148E-01$$

Nilai regresi linier > regresi Kuadratik, Kubik dan Kuartik

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Lampiran 6. Lanjutan

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	3,23	0	0
K2	0	3,24	0	0
K3	0	3,25	0	0
A1	250	3,28	820	62500
A2	250	3,27	817,5	62500
A3	250	3,30	825	62500
B1	300	3,29	987	90000
B2	300	3,28	984	90000
B3	300	3,32	996	90000
C1	350	3,32	1162	122500
C2	350	3,34	1169	122500
C3	350	3,33	1165,5	122500
D1	400	3,33	1332	160000
D2	400	3,35	1340	160000
D3	400	3,35	1340	160000
Jumlah	3900	49,48	12938	1305000
Rerata	260	3,30		

h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{12938 - \frac{3900 \times 49,48}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = 0,0003$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 (\bar{x}) = 3,3 - (0,0003 \times 260) = 3,23$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1 x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 3,23 + 0,0003x$

• Analisa Data Monosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

a. Data Rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	3,41	3,44	3,42	10,27	3,42
A	3,49	3,48	3,46	10,43	3,48
B	3,5	3,48	3,48	10,46	3,49
C	3,52	3,53	3,52	10,57	3,52
D	3,53	3,54	3,53	10,6	3,53
Total	17,45	17,47	17,41	52,33	
Rerata	3,49	3,494	3,482		

Lampiran 6. Lanjutan

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{52,39^2}{15} = 182,562 \\
 \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + (D3^2)) - FK \\
 &= ((3,41^2) + (3,44^2) + (3,42^2) + \dots + (20,00^2)) - 182,562 = 0,024 \\
 \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - FK \\
 &= \frac{10,27^2 + 10,43^2 + 10,46^2 + 10,67^2 + 10,6^2}{3} - 182,562 \\
 &= 0,023 \\
 \text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} &= \text{JKT} - \text{JKP} = 0,024 - 0,023 = 0,001 \\
 \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (n \times r) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 14 \\
 \text{Derajat Bebas (db) perlakuan} &= n - 1 = 5 - 1 = 4 \\
 \text{Derajat Bebas (db) Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 14 - 4 = 10 \\
 \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,023}{4} = 0,00571 \\
 \text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,001}{10} = 0,00013 \\
 \text{F Hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{0,00571}{0,00013} = 42,825
 \end{aligned}$$

c. Analisa Keragaman Monosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,02	0,00571	42,825**	3,48	5,99
Acak	10	0,001	0,00013			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

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

Perlakuan		K	A	B	C	D	Signifikansi
		10,67	15,67	16,67	19,00	20,00	1%
K	10,67	-					a
A	15,67	0,05**	-				b
B	16,67	0,06**	0,010 ^{ns}	-			b
C	19,00	0,10**	0,05**	0,037**	-		c
D	20,00	0,11**	0,06**	0,05**	0,010 ^{ns}	-	c

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

Lampiran 6. Lanjutan

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,00013}{3}} = 0,00543$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} \\ &= 2,22814 \times 0,00543 = 0,012 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} \\ &= 3,16927 \times 0,00543 = 0,017 \end{aligned}$$

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

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	10,27	-2	2	-1	1
A	10,43	-1	-1	2	-4
B	10,46	0	-2	0	6
C	10,57	1	-1	-2	-4
D	10,60	2	2	1	1
Q		0,8	-0,18	0,05	-0,37
K π		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		0,02	0,000771	0,0001	6,52E-04
total jk regresi		0,02			

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

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	0,02	0,00571			
Linier	1	0,02	0,02133333	160	3,48	5,99
Kuadratik	1	0,000771	0,00077143	5,785714		
Kubik	1	0,0001	8,3333E-05	0,625		
Kuartik	1	6,52E-04	6,52E-04	4,89E+00		
Acak	10	0,001	0,00013			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{JK Acak}} = \frac{0,02}{0,02 + 0,001} = 0,941176$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak}} = \frac{0,000771}{0,000771 + 0,001} = 0,366516$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik} + \text{JK Acak}} = \frac{0,0001}{0,0001 + 0,001} = 0,058824$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{\text{JK Kuartik}}{\text{JK Kuartik} + \text{JK Acak}} = \frac{6,52E-04}{6,52E-04 + 0,001} = 3,28E-01$$

Lampiran 6. 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	3,41	0	0
K2	0	3,44	0	0
K3	0	3,42	0	0
A1	250	3,49	872,5	62500
A2	250	3,48	870	62500
A3	250	3,46	865	62500
B1	300	3,5	1050	90000
B2	300	3,48	1044	90000
B3	300	3,48	1044	90000
C1	350	3,52	1232	122500
C2	350	3,53	1235,5	122500
C3	350	3,52	1232	122500
D1	400	3,53	1412	160000
D2	400	3,54	1416	160000
D3	400	3,53	1412	160000
Jumlah	3900	52,33	13685	1305000
Rerata	260	3,48866667		

h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{13685 - \frac{3900 \times 52,33}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = 0,0003$$

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 (\bar{x}) = 3,49 - (0,0003 \times 260) = 3,42$$

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

$$= 3,42 + 0,0003x$$

Lampiran 7. Analisa Data Neutrofil

➤ Data Neutrofil

• Data Rerata Jumlah Neutrofil (MN/100 sel)

Perlakuan	Sebelum uji tantang	Setelah uji tantang	Rerata
K1	3,79	3,89	3,84
K2	3,80	3,92	3,86
K3	3,81	3,90	3,86
A1	3,85	3,97	3,91
A2	3,83	3,96	3,90
A3	3,87	3,94	3,91
B1	3,86	3,98	3,92
B2	3,85	3,97	3,91
B3	3,88	3,95	3,92
C1	3,89	4,00	3,95
C2	3,88	3,98	3,93
C3	3,91	4,01	3,96
D1	3,93	4,01	3,97
D2	3,88	4,02	3,95
D3	3,91	4,00	3,96

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

a. Data Rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	3,79	3,80	3,81	11,4	3,80
A	3,85	3,83	3,87	11,55	3,85
B	3,86	3,85	3,88	11,59	3,86
C	3,89	3,88	3,91	11,68	3,89
D	3,93	3,88	3,91	11,72	3,91
Total	19,32	19,24	19,38	57,94	
Rerata	3,864	3,848	3,876		

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{57,94^2}{15} = 223,803$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + (D3^2)) - \text{FK} \\ &= ((3,79^2) + (3,80^2) + (3,81^2) + \dots + (3,91^2)) - 223,803 = 0,024 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{11,4^2 + 11,55^2 + 11,59^2 + 11,68^2 + 11,72^2}{3} - 223,803 \\ &= 0,021 \end{aligned}$$

Lampiran 7. Lanjutan

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} &= \text{JKT} - \text{JKP} = 0,024 - 0,021 = 0,003 \\
 \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (n \times r) - 1 = (5 \times 3) - 1 = 14 \\
 \text{Derajat Bebas (db) perlakuan} &= n - 1 = 5 - 1 = 4 \\
 \text{Derajat Bebas (db) Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 14 - 4 = 10 \\
 \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,021}{4} = 0,00522333 \\
 \text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,003}{10} = 0,0003 \\
 \text{F Hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{0,00522333}{0,0003} = 16,32292
 \end{aligned}$$

c. Analisa Keragaman Neutrofil Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,02	0,00522333	16,32**	3,48	5,99
Acak	10	0,003	0,0003			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

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

Perlakuan		K	A	B	C	D	Signifikansi
		11,33	8,92	8,20	7,61	7,16	1%
K	11,33	-					a
A	8,92	0,05**	-				b
B	8,20	0,06**	0,013 ^{ns}	-			b
C	7,61	0,09**	0,04**	0,03**	-		c
D	7,16	0,13**	0,08**	0,07**	0,013 ^{ns}	-	c

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

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,0003}{3}} = 0,008433$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} \\
 &= 2,22814 \times 0,008433 = 0,019
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} \\
 &= 3,16927 \times 0,008433 = 0,027
 \end{aligned}$$

Lampiran 7. Lanjutan

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

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	11,4	-2	2	-1	1
A	11,55	-1	-1	2	-4
B	11,59	0	-2	0	6
C	11,68	1	-1	-2	-4
D	11,72	2	2	1	1
Q		0,77	-0,17	0,06	-0,26
K _π		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		0,02	0,000688	0,0001	3,22E-04
total jk regresi		0,02			

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

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,02	0,00522333			
Linier	1	0,02	0,01976333	61,76042	3,48	5,99
Kuadratik	1	0,000688	0,0006881	2,150298		
Kubik	1	0,0001	0,00012	0,375		
Kuartik	1	0,0003219	0,0003219	1,005952		
Acak	10	0,003	0,00032			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,02}{0,02 + 0,003} = 0,860647$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,000688}{0,000688 + 0,003} = 0,176975$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0001}{0,0001 + 0,003} = 0,036145$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{JK \text{ Kuartik}}{JK \text{ Kuartik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0003219}{0,0003219 + 0,003} = 0,091401$$

Nilai regresi linier > regresi Kuadratik, Kubik dan Kuartik

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Lampiran 7. Lanjutan

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	3,79	0	0
K2	0	3,80	0	0
K3	0	3,81	0	0
A1	250	3,85	962,5	62500
A2	250	3,83	957,5	62500
A3	250	3,87	967,5	62500
B1	300	3,86	1158	90000
B2	300	3,85	1155	90000
B3	300	3,88	1164	90000
C1	350	3,89	1361,5	122500
C2	350	3,88	1358	122500
C3	350	3,91	1368,5	122500
D1	400	3,93	1572	160000
D2	400	3,88	1552	160000
D3	400	3,91	1564	160000
Jumlah	3900	57,94	15140,5	1305000
Rerata	260	3,86266667		

h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{15140,5 - \frac{3900 \times 57,94}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = -0,0003$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 (\bar{x}) = 3,86 - (0,0003 \times 260) = 3,79$$

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

$$= 3,79 + 0,0003x$$

• Analisa Data Neutrofil Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

a. Data Rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	3,89	3,92	3,90	11,71	3,90
A	3,97	3,96	3,94	11,87	3,96
B	3,98	3,97	3,95	11,9	3,97
C	4,00	3,98	4,01	11,99	4,00
D	4,01	4,02	4,00	12,03	4,01
Total	19,85	19,85	19,8	59,5	
Rerata	3,97	3,97	3,96		

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{59,5^2}{15} = 236,0167$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + (D3^2)) - \text{FK} \\ &= ((3,89^2) + (3,92^2) + (3,90^2) + \dots + (4,00^2)) - 236,0167 = 0,023 \end{aligned}$$

Lampiran 7. Lanjutan

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - FK \\ &= \frac{11,71^2 + 11,87^2 + 11,9^2 + 11,99^2 + 12,03^2}{3} - 236,0167 \\ &= 0,021\end{aligned}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} = \text{JKT} - \text{JKP} = 0,023 - 0,021 = 0,002$$

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

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

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

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,023}{4} = 0,00516667$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,001}{10} = 0,00021$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{0,00516667}{0,00021} = 25$$

c. Analisa Keragaman Leukosit Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,02	0,00516667	25**	3,48	5,99
Acak	10	0,002	0,0002			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

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

Perlakuan		K	A	B	C	D	Signifikansi
		20,99	17,23	15,90	14,48	13,79	1%
K	20,99	-					a
A	17,23	0,05**	-				b
B	15,90	0,06**	0,010 ^{ns}	-			b
C	14,48	0,09**	0,04**	0,03**	-		c
D	13,79	0,11**	0,05**	0,04**	0,013 ^{ns}	-	c

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

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,0002}{3}} = 0,0067769$$

$$\begin{aligned}\text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} \\ &= 2,22814 \times 0,0067769 = 0,015\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} \\ &= 3,16927 \times 0,0067769 = 0,021\end{aligned}$$

Lampiran 7. Lanjutan

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

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	11,71	-2	2	-1	1
A	11,87	-1	-1	2	-4
B	11,9	0	-2	0	6
C	11,99	1	-1	-2	-4
D	12,03	2	2	1	1
Q		0,76	-0,18	0,08	-0,3
K _{TP}		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		0,02	0,000771	0,0002	0,000429
total jk regresi		0,02			

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

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,02	0,00516667			
Linier	1	0,02	0,01925333	93,16129	3,48	5,99
Kuadratik	1	0,000771	0,00077143	3,732719		
Kubik	1	0,0002	0,00021333	1,032258		
Kuartik	1	0,000429	0,000429	2,073733		
Acak	10	0,002	0,00021			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,02}{0,02 + 0,002} = 0,9030644$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,000771}{0,000771 + 0,002} = 0,2718121$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0002}{0,0002 + 0,002} = 0,0935673$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{JK \text{ Kuartik}}{JK \text{ Kuartik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,000429}{0,000429 + 0,002} = 0,1717557$$

Nilai regresi linier > regresi kuadratik, kubik dan kuartik

Lampiran 7. Lanjutan

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	3,89	0	0
K2	0	3,92	0	0
K3	0	3,90	0	0
A1	250	3,97	992,5	62500
A2	250	3,96	990	62500
A1	250	3,94	985	62500
B1	300	3,98	1194	90000
B2	300	3,97	1191	90000
B3	300	3,95	1185	90000
C1	350	4,00	1400	122500
C2	350	3,98	1393	122500
C3	350	4,01	1403,5	122500
D1	400	4,01	1604	160000
D2	400	4,02	1608	160000
D3	400	4,00	1600	160000
Jumlah	3900	59,5	15546	1305000
Rerata	260	3,96666667		

h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{15546 - \frac{3900 \times 59,5}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = -0,0003$$

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 (\bar{x}) = 3,97 - (0,0003 \times 260) = 3,9$$

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

$$= 3,9 + 0,0003x$$

Lampiran 8. Analisa Data Jumlah Eosinofil

➤ Data Jumlah Eosinofil

• Data Rerata Jumlah Eosinofil ($\times 10^4$ sel/mm³)

Perlakuan	Sebelum uji tantang	Setelah uji tantang	Rerata
K1	3,23	3,35	3,29
K2	3,24	3,39	3,32
K3	3,25	3,37	3,31
A1	3,28	3,43	3,36
A2	3,27	3,42	3,35
A3	3,3	3,43	3,37
B1	3,29	3,44	3,37
B2	3,28	3,43	3,36
B3	3,32	3,44	3,38
C1	3,33	3,47	3,4
C2	3,31	3,45	3,38
C3	3,33	3,46	3,40
D1	3,32	3,48	3,4
D2	3,34	3,46	3,4
D3	3,35	3,47	3,41

• Analisa Data Jumlah Eosinofil Ikan Kerapu Cantang Sebelum Uji Tantang

a. Data Rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	3,23	3,24	3,25	9,72	3,24
A	3,28	3,27	3,3	9,85	3,28
B	3,29	3,28	3,32	9,89	3,30
C	3,33	3,31	3,33	9,97	3,32
D	3,32	3,34	3,35	10,01	3,34
Total	16,45	16,44	16,55	49,44	
Rerata	3,29	3,288	3,31		

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{49,44^2}{15} = 162,954$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + (D3^2) - \text{FK}) \\ &= ((3,23^2) + (3,24^2) + (3,25^2) + \dots + (3,35^2)) - 162,954 = 0,019 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{9,72^2 + 9,85^2 + 9,89^2 + 9,97^2 + 10,01^2}{3} - 162,954 \\ &= 0,017 \end{aligned}$$

$$= 0,017$$

Lampiran 8. Lanjutan

$$\text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} = \text{JKT} - \text{JKP} = 0,019 - 0,017 = 0,002$$

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

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

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

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,017}{4} = 0,00427333$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,002}{10} = 0,0002$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{0,00427333}{0,00023} = 18,85294$$

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

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,02	0,00427333	18,86**	3,48	5,99
Acak	10	0,002	0,0002			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

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

Perlakuan	K	A	B	C	D	Signifikansi
	11,65	9,91	8,71	7,46	7,81	1%
K	11,65	-				a
A	9,91	0,04**	-			b
B	8,71	0,06**	0,013 ^{ns}	-		b
C	8,46	0,08**	0,04**	0,027**	-	c
D	7,81	0,13**	0,09**	0,07**	0,013 ^{ns}	c

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

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,0002}{3}} = 0,007097$$

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

$$= 2,22814 \times 0,007097 = 0,019$$

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

$$= 3,16927 \times 0,007097 = 0,027$$

Lampiran 8. Lanjutan

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

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	9,72	-2	2	-1	1
A	9,85	-1	-1	2	-4
B	9,89	0	-2	0	6
C	9,97	1	-1	-2	-4
D	10,01	2	2	1	1
Q		0,7	-0,14	0,05	-0,21
K π		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		0,02	0,000467	0,0001	0,00021
total jk regresi		0,02			

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

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,02	0,00427333			
Linier	1	0,02	0,01633333	72,05882**	3,48	5,99
Kuadratik	1	0,000467	0,00046667	2,058824		
Kubik	1	0,0001	8,3333E-05	0,367647		
Kuartik	1	0,00021	0,00021	0,926471		
Acak	10	0,002	0,00023			
Total	14	0,02				

Keterangan: **berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,02}{0,02 + 0,002} = 0,878136$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,000467}{0,000467 + 0,002} = 0,170732$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,0001}{0,0001 + 0,002} = 0,035461$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{JK \text{ Kuartik}}{JK \text{ Kuartik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,00021}{0,00021 + 0,002} = 0,084791$$

Nilai regresi linier > regresi kuadratik, kubik dan kuartik

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Lampiran 8. Lanjutan

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	3,23	0	0
K2	0	3,24	0	0
K3	0	3,25	0	0
A1	250	3,28	820	62500
A2	250	3,27	817,5	62500
A3	250	3,3	825	62500
B1	300	3,29	987	90000
B2	300	3,28	984	90000
B3	300	3,32	996	90000
C1	350	3,33	1165,5	122500
C2	350	3,31	1158,5	122500
C3	350	3,33	1165,5	122500
D1	400	3,32	1328	160000
D2	400	3,34	1336	160000
D3	400	3,35	1340	160000
Jumlah	3900	49,44	12923	1305000
Rerata	260	3,296		

h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{12923 - \frac{3900 \times 49,44}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = -0,00024$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 (\bar{x}) = 3,3 - (0,00024 \times 260) = 3,24$$

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

$$= 3,24 + 0,00024x$$

• Analisa Data Jumlah Eosinofil Ikan Kerapu Cantang Setelah Uji Tantang

a. Data rerata

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
K	3,35	3,39	3,37	10,11	3,37
A	3,43	3,42	3,43	10,28	3,43
B	3,44	3,43	3,44	10,31	3,44
C	3,47	3,45	3,46	10,38	3,46
D	3,48	3,46	3,47	10,41	3,47
Total	17,17	17,15	17,17	51,49	
Rerata	3,434	3,43	3,434		

Lampiran 8. Lanjutan

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{\text{Total}^2}{n(r)} = \frac{51,49^2}{15} = 176,748$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= ((K1^2) + (K2^2) + (K3^2) + \dots + (D3^2) - \text{FK}) \\ &= ((3,35^2) + (3,39^2) + (3,37^2) + \dots + (3,47^2)) - \\ &\quad 176,748 = 0,020 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{\sum K^2 + \sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{10,11^2 + 10,28^2 + 10,31^2 + 10,38^2 + 10,41^2}{3} - 176,748 \\ &= 0,018 \end{aligned}$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} = \text{JKT} - \text{JKP} = 0,020 - 0,018 = 0,001$$

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

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

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

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,018}{4} = 0,00459$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,001}{10} = 0,0001$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} = \frac{0,00459}{0,001} = 34,425$$

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

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,02	0,00459	34,46**	3,48	5,99
Acak	10	0,001	0,0001			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

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

Kerapa Samang Coklat Uji Rancangan							
Perlakuan		K	A	B	C	D	Signifikansi
		19,34	14,76	14,11	12,33	11,48	1%
K	19,34	-					a
A	14,76	0,06**	-				b
B	14,11	0,06**	0,010 ^{ns}	-			b
C	12,33	0,08**	0,03**	0,023**	-		c
D	11,48	0,10**	0,05**	0,03**	0,010 ^{ns}	-	c

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

Lampiran 8. Lanjutan

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,00459}{3}} = 0,00543$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} \\ &= 2,22814 \times 0,00543 = 0,012 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} \\ &= 3,16927 \times 0,00543 = 0,017 \end{aligned}$$

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

Perlakuan	TOTAL	Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K	10,11	-2	2	-1	1
A	10,28	-1	-1	2	-4
B	10,31	0	-2	0	6
C	10,38	1	-1	-2	-4
D	10,41	2	2	1	1
Q		0,7	-0,24	0,1	-0,26
K _{TT}		30,00	42,00	30,00	210,00
jk regresi		0,02	0,001371	0,0003	3,22E-04
total jk regresi		0,02			

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

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	0,02	0,00459			
Linier	1	0,02	0,01633333	122,5**	3,48	5,99
Kuadratik	1	0,001371	0,00137143	10,28571		
Kubik	1	0,0003	0,00033333	2,5		
Kuartik	1	3,22E-04	3,22E-04	2,41E+00		
Acak	10	0,001	0,00013			
Total	14	0,02				

Keterangan: ** berbeda sangat nyata

g. Perhitungan R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK linier} + \text{JK Acak}} = \frac{0,02}{0,02 + 0,001} = 0,924528$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak}} = \frac{0,001371}{0,001371 + 0,001} = 0,507042$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik} + \text{JK Acak}} = \frac{0,0003}{0,0003 + 0,001} = 0,2$$

$$R^2 \text{ Kuartik} = \frac{\text{JK Kuartik}}{\text{JK Kuartik} + \text{JK Acak}} = \frac{322\text{E-}04}{322\text{E-}04 + 0,001} = 0,194476$$

Nilai regresi linier > regresi kuadratik, kubik dan kuartik

Lampiran 8. Lanjutan

Persamaan regresi linier dapat diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	XY	X ²
K1	0	3,35	0	0
K2	0	3,39	0	0
K3	0	3,37	0	0
A1	250	3,43	857,5	62500
A2	250	3,42	855	62500
A3	250	3,43	857,5	62500
B1	300	3,44	1032	90000
B2	300	3,43	1029	90000
B3	300	3,44	1032	90000
C1	350	3,47	1214,5	122500
C2	350	3,45	1207,5	122500
C3	350	3,46	1211	122500
D1	400	3,48	1392	160000
D2	400	3,46	1384	160000
D3	400	3,47	1388	160000
Jumlah	3900	51,49	13460	1305000
Rerata	260	3,43266667		

h. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{13460 - \frac{3900 \times 51,49}{15}}{1305000 - \frac{(3900)^2}{15}} = -0,0003$$

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 (\bar{x}) = 3,43 - (0,00025 \times 260) = 3,36$$

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

$$= 3,36 + 0,0002$$

Lampiran 9. 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
	B2	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-	K1	27	28,5	6,7	6,7	8,01	7,67	34	33

2019	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 10. 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	

Tanggal	Perlakuan	Jumlah Ikan Hidup (ekor)	Jumlah ikan Mati (ekor)	Survival rate (SR) %
Minggu, 3 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	
Senin, 4 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	
Selasa, 5 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	
Rabu, 6	K1	10	0	100%

Tanggal	Perlakuan	Jumlah Ikan Hidup (ekor)	Jumlah ikan Mati (ekor)	Survival rate (SR) %
Maret 2019	K2	10	0	100%
	K3	10	0	
	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	100%
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	100%
	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	100%
	D2	10	0	
	D3	10	0	
Sabtu, 9 Maret	K1	10	0	100%
	K2	10	0	

Tanggal	Perlakuan	Jumlah Ikan Hidup (ekor)	Jumlah ikan Mati (ekor)	Survival rate (SR) %
2019	K3	10	0	100%
	A1	10	0	
	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	
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	

