

**PENGARUH PEMANFAATAN DIATOMAE (*Chaetoceros ceratosporum*)
DALAM FORMULA PAKAN TERHADAP AKTIVITAS ENZIM PROTEASE
PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon* Fab.)**

SKRIPSI

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

Oleh :
ADITYO SEPTIADI
NIM.0710850014



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

**PENGARUH PEMANFAATAN DIATOMAE (*Chaetoceros ceratosporum*)
DALAM FORMULA PAKAN TERHADAP AKTIVITAS ENZIM PROTEASE
PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon* Fab.)**

SKRIPSI

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

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana

Oleh
ADITYO SEPTIADI
NIM. 0710850014



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2011

PENGARUH PEMANFAATAN DIATOMAE (*Chaetoceros ceratosporum*)
DALAM FORMULA PAKAN TERHADAP AKTIVITAS ENZIM PROTEASE
PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon* Fab.)

Oleh :
ADITYO SEPTIADI
NIM. 0710850014

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 14 juli 2011
dinyatakan telah memenuhi syarat



Dosen Penguji I

Menyetujui

Dosen Pembimbing I

(Ir. Maheno Sri Widodo, MS)**NIP. 19600425 198503 1 002****Tanggal :****(Ir. Arning Wilujeng E, MS)****NIP. 19620805 198603 2 001****Tanggal :**

Dosen Penguji II

Dosen Pembimbing II

(Ir. Anik Martinah H, M.Sc)**NIP. 19610310 198701 2 001****Tanggal :****(Yunita Maimunah, S.Pi, M.Sc)****NIP. 19780625 200501 2 002****Tanggal:**

Mengetahui,

Ketua Jurusan MSP

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

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau terdapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 14 Juli 2011

Adityo Septiadi

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

**RINGKASAN**

Adityo Septiadi. Pengaruh Pemanfaatan Diatomae (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam Formula Pakan terhadap Aktivitas Enzim Protease Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.). Di bawah bimbingan **Ir. Arning Wilujeng, E., MS dan Yunita Maimunah, M.Sc**

Dalam budidaya udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) pakan merupakan salah satu faktor yang penting dan harus diperhatikan dalam meningkatkan produksi. Udang windu dapat tumbuh dan berkembang dengan baik bila pakan yang diberikan dalam jumlah cukup, tepat waktu dan bernilai gizi baik. Untuk memenuhi kebutuhan pakan yang tepat, mempunyai nilai gizi yang baik dan dapat meningkatkan ketahanan tubuh udang windu (*Penaeus monodon* Fab.)



dari serangan penyakit seperti Vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi*. Udang windu seperti halnya krustaseae lainnya hanya memiliki respon kekebalan non spesifik, sehingga diperlukan cara untuk menginduksi kekebalan udang terhadap kemungkinan serangan patogen. Beberapa substansi diketahui mampu meningkatkan respon kekebalan tubuh seperti β -Glukan. Pada penelitian ini digunakan *Chaetoceros ceratosporum* dalam formula pakan, karena *Chaetoceros ceratosporum* diduga memiliki potensi sebagai imunostimulan yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) terutama terhadap serangan *Vibrio harveyi*.

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh pemanfaatan Diatomae (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam formula pakan terhadap aktivitas enzim protease udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) dan untuk mendapatkan dosis pemanfaatan Diatomae (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam formula pakan yang terbaik terhadap aktivitas enzim protease udang windu (*Penaeus monodon* Fab.).

Penelitian ini dilaksanakan pada 22 Desember 2010 – 28 Februari 2011 di BPAP Situbondo. Pada 01 Maret 2011 – 08 Maret 2011 di Work Shop Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, laboratorium Biomedik dan laboratorium Mikrobiologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Metode yang digunakan yaitu metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah pemanfaatan Diatomae (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam formula pakan dengan dosis perlakuan A (0%), perlakuan B (3.04%), perlakuan C (6.08%) dan perlakuan D (9.12%). Parameter utama yang diamati yaitu aktivitas enzim protease dan parameter penunjang yaitu kualitas air meliputi; suhu, oksigen terlarut/*Dissolved Oxygen* (DO), derajat keasaman (pH) dan amonia (NH_3).

Dari hasil penelitian ini ternyata memberikan pengaruh yang nyata terhadap daya tahan tubuh udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) dengan melihat parameter aktivitas enzim protease. Pemanfaatan Diatomae *Chaetoceros ceratosporum* dalam formula pakan udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) terhadap daya tahan tubuh dengan pengukuran parameter aktivitas enzim protease yang terbaik adalah pada dosis antara 5.65 % - 5.85 %.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disarankan bahwa perlu adanya pembuatan formulasi pakan dengan pemanfaatan *Diatomae* (*Chaetoceros ceratosporum*) dengan dosis 5.65%-5.85% dalam formula pakan untuk meningkatkan daya tahan tubuh khususnya pada budidaya udang sehingga dapat menekan kematian yang disebabkan oleh penyakit.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



KATA PENGANTAR

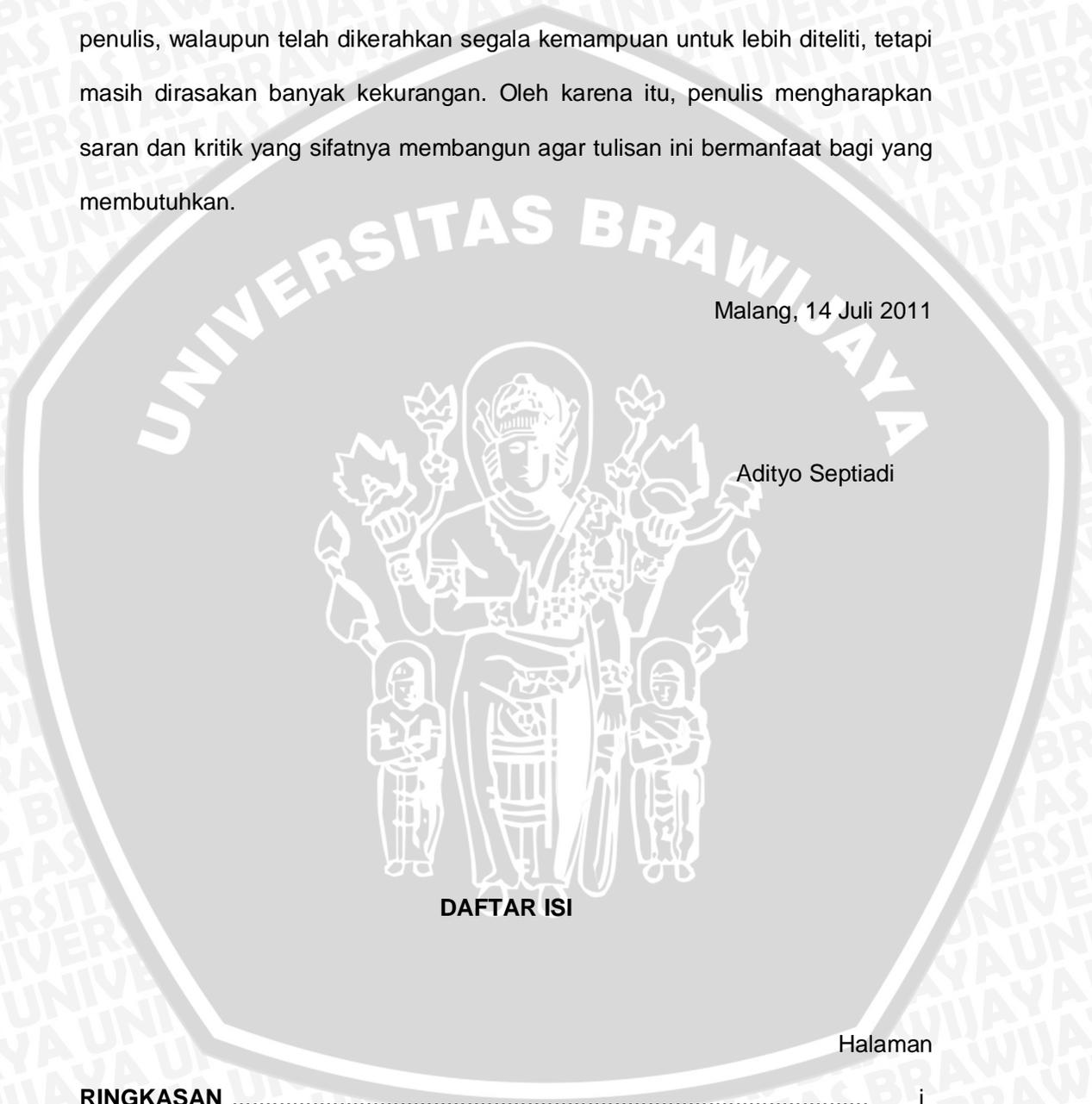
Dengan mengucap puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala anugerah dan karunia-Nya, penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul **“Pengaruh Pemanfaatan *Diatomae* (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam Formula Pakan terhadap Aktivitas Enzim Protease Pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.)”**. Laporan ini disusun sebagai salah satu persyaratan

untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

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

Malang, 14 Juli 2011

Adityo Septiadi



DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	viii



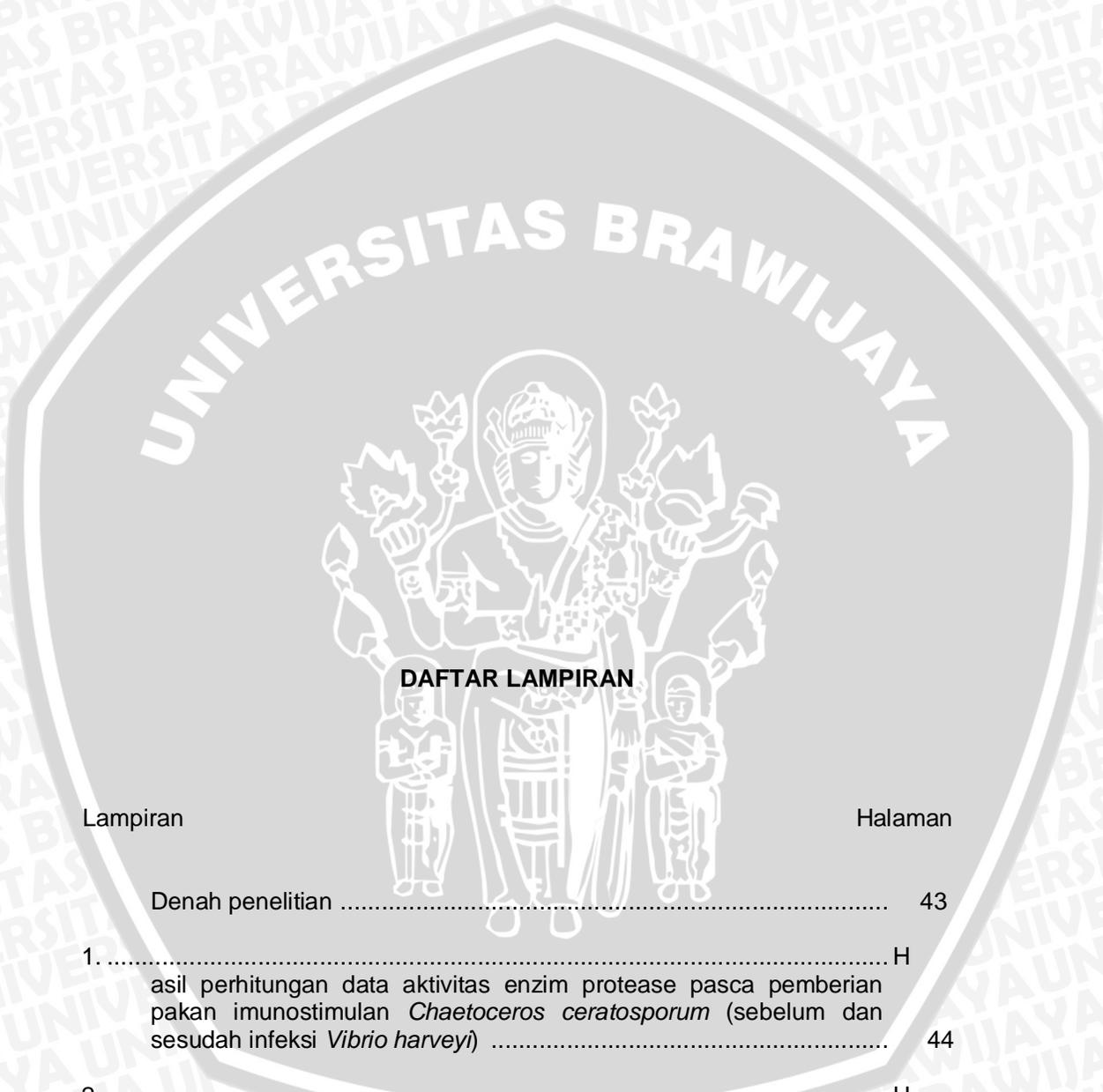
	8
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Kegunaan Penelitian	3
1.5 Hipotesis	4
1.6 Tempat dan Waktu	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biologi Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.).....	5
2.1.2 Habitat dan Daerah Penyebaran Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.).....	7
2.1.3 Siklus Hidup Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.).....	7
2.1.4 Kebiasaan dan Makan Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.).....	9
2.2 <i>Chaetoceros ceratosporum</i>	10
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Diatome	10
2.2.2 Habitat dan Perkembangbiakan Diatome	11
2.2.3 Kultur <i>Chaetoceros</i>	12
2.3 <i>Vibrio harveyii</i>	13
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	13
2.3.2 Aktivitas dan Pertumbuhan	14
2.4 Sistem Pertahanan Tubuh Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.)	14
2.5 Imunostimulan	15
2.6 Aktivitas Enzim Protease	15
III. MATERI DAN METODE PENELITIAN	17
3.1 Materi Penelitian	17
3.1.1 Peralatan Penelitian	17
a. Pemeliharaan Hewan Uji	17
b. Pembuatan Pakan	17
c. Uji Respon Imun	17
3.1.2 Bahan Penelitian	18
a. Hewan Uji	18
b. Media Penelitian	18
c. Formulasi Pakan	19
d. Bahan Uji Sistem Imun	20
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian	21
3.2.1 Metode Penelitian	21
3.2.2 Rancangan Penelitian	21
3.3 Prosedur Penelitian	22
3.3.1 Persiapan penelitian	22
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian	23
1) Pembuatan Formula Pakan	23
2) Percobaan Pakan terhadap Daya Tahan Tubuh Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.).....	23

	9
a) Pembuatan Biakan Murni bakteri <i>V. Harveyi</i>	24
b) Pengambilan Darah Udang Windu (<i>P.monodon</i> Fab.)	24
c) Pemaparan udang windu (<i>P. monodon</i> Fab.) dengan <i>V. Harveyi</i>	25
d) Uji Respon imun	25
3) Parameter Penunjang	26
3.4 Analisis Data.....	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Uji Aktivitas Enzim Protease	28
4.2 Parameter Kualitas Air	34
4.2.1 Suhu	34
4.2.2 Derajat Keasaman (pH)	34
4.2.3 Oksigen Terlarut	36
4.2.4 Amonia	37
V. KESIMPULAN DAN SARAN	38
5.1 Kesimpulan	38
5.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi kimia bahan penyusun pakan percobaan.....	19
2. Formula pakan dasar percobaan	19
3. Hasil analisa proksimat	20
4. Aktivitas enzim protease pada hemosit udang windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.) sebelum dan sesudah diinfeksi <i>V.harveyii</i>	28
5. Perhitungan sidik ragam aktivitas enzim protease pada udang windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.) sebelum diinfeksi <i>Vibrio harveyi</i>	29
6. Perhitungan Sidik ragam aktivitas enzim protease pada udang windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.) sesudah diinfeksi <i>Vibrio harveyi</i>)	29

- 7. Kisaran hasil pengukuran parameter kualitas air media penelitian udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) selama penelitian 35



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Denah penelitian	43
1. H	
hasil perhitungan data aktivitas enzim protease pasca pemberian pakan imunostimulan <i>Chaetoceros ceratosporum</i> (sebelum dan sesudah infeksi <i>Vibrio harveyi</i>)	44
2. U	
uji normalitas aktivitas enzim protease pada udang windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.) sebelum diinfeksi <i>Vibrio harveyi</i>	45
3. U	
uji normalitas aktivitas enzim protease pada udang windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.) sesudah diinfeksi <i>Vibrio harveyi</i>	46



4.	Perhitungan uji ANOVA (<i>Analysis of Variance</i>) dan BNT (Beda Nyata Terkecil) pada penelitian sebelum dan sesudah diinfeksi <i>Vibrio harveyi</i>	P	11
5.	ata pengukuran suhu media pemeliharaan udang windu (<i>Penaeus monodon</i> fab.) selama penelitian	D	47
6.	ata pengukuran pH media pemeliharaan udang windu (<i>Penaeus monodon</i> fab.) selama penelitian	D	59
7.	ata pengukuran DO media pemeliharaan udang windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.) selama penelitian	D	62
8.	ata pengukuran amonia media pemeliharaan udang windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.) selama penelitian	D	63
		D	64



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi kimia bahan penyusun pakan percobaan.....	19
2. Formula pakan dasar percobaan	19
3. Hasil analisa proksimat	20
4. Aktivitas enzim protease pada hemosit udang windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.) sebelum dan sesudah diinfeksi <i>V.harveyii</i>	28
5. Perhitungan sidik ragam aktivitas enzim protease pada udang windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.) sebelum diinfeksi <i>Vibrio harveyi</i>	29
6. Perhitungan Sidik ragam aktivitas enzim protease pada udang windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.) sesudah diinfeksi <i>Vibrio harveyi</i>)	29
7. Kisaran hasil pengukuran parameter kualitas air media penelitian udang windu (<i>Penaeus monodon</i> Fab.) selama penelitian	35



BAB I PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

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

Namun budidaya udang windu banyak mengalami kendala yang harus dihadapi dan juga menyebabkan kerugian ekonomi yang tidak sedikit, yaitu kematian udang windu yang dimulai tahun 1990-an sampai puncaknya pada tahun 1992 hingga sekarang. Salah satu kendala tersebut adalah masalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *V. harveyi*, *V. fisherii* dan *V. parahaemoliticus* (Prajitno, 2007).

Untuk mengatasi penyakit tersebut, para pembudidaya menggunakan antibiotik, dimana penggunaan antibiotik yang tidak bijaksana telah meningkatkan kekhawatiran terhadap keamanan pangan dan kesehatan masyarakat. Penggunaan antibiotik untuk pencegahan penyakit justru meningkatkan mikroba dan memacu resistensi pada beragam bakteri, sehingga untuk sejumlah kasus penyakit pengendaliannya lebih sulit. Berdasarkan kekhawatiran ini perlu adanya sistem pengelolaan terhadap kesehatan biota yang dibudidayakan beserta lingkungannya antara lain dengan penggunaan imunostimulan (Fahri, 2009).

Menurut Sakai (1999), bahwa imunostimulan dapat meningkatkan daya tahan tubuh terhadap infeksi, serta dapat meningkatkan mekanisme pertahanan

non spesifik. Pemanfaatan imunostimulan tidak memperlihatkan efek samping negatif pada udang, tidak seperti pemberian antibiotik.

Salah satu uji imunostimulan dapat dilakukan dengan menggunakan parameter aktivitas enzim protease. Enzim protease adalah enzim yang berperan dalam proses degradasi protein nutrisi, protease juga diperlukan dalam sejumlah reaksi biokimia tubuh seperti mekanisme patogenisitas, proses koagulasi darah, proses osmoregulasi, diferensiasi, sejumlah proses pasca translasi protein, dan mekanisme ekspresi protein ekstraseluler (Yamin *et al*, 2008).

Untuk mengaktifkan enzim protease maupun pembentukan ROS dalam proses fagositosis, diperlukan stimulan yang berasal dari luar tubuh udang yang dikenal dengan imunostimulan. Bahan stimulan yang dapat digunakan antara lain kelompok senyawa biologi seperti dinding sel bakteri, senyawa kompleks karbohidrat, ekstrak dari hewan dan tanaman obat, peptida, nukleotida dan bahan-bahan yang berasal dari produk sintetis (Raa, 2000 dan Citarasu *et al.*, 2006 dalam Toban 2008).

Udang windu seperti halnya krustaseae lainnya hanya memiliki respon kekebalan non spesifik, sehingga diperlukan cara untuk menginduksi kekebalan udang terhadap kemungkinan serangan patogen. Beberapa substansi diketahui mampu meningkatkan respon kekebalan seperti Lipopolisakarida dan β -Glukan (Secombes, 1994). Untuk itu perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan jenis imunostimulan yang lebih baik dan mampu untuk memacu dan mengoptimalkan respon imun non spesifik udang.

Pada penelitian ini digunakan *Chaetoceros ceratosporum* dalam formula pakan, karena Menurut Setyaningsih (2004), *Chaetoceros sp* mempunyai bahan antibiotik. Salah satunya adalah *Chaetoceros gracilis* yang menghasilkan senyawa antimikroba. Sehingga *Chaetoceros ceratosporum* diduga juga memiliki

potensi sebagai imunostimulan yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) terutama terhadap serangan *Vibrio harveyi*.

1.2 RUMUSAN MASALAH

Udang windu seperti halnya krustasea lainnya hanya memiliki respon kekebalan non spesifik, sehingga diperlukan cara untuk menginduksi kekebalan udang terhadap kemungkinan serangan pathogen. Beberapa substansi diketahui mampu meningkatkan respon kekebalan seperti Lipopolisakarida dan β -glukan yang diduga *Chaetoceros ceratosporum* mengandung β -glukan yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab.). Apakah pemberian Diatome (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam formula pakan udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) akan berpengaruh terhadap daya tahan tubuh yang dapat diukur dengan parameter aktivitas enzim protease.

1.3 TUJUAN PENELITIAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemanfaatan pemberian Diatome (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam formula pakan udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) terhadap daya tahan tubuh dengan pengukuran parameter aktivitas enzim protease dan mencari jumlah yang optimal pemanfaatan pemberian Diatome (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam formula pakan udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) terhadap daya tahan tubuh dengan pengukuran parameter aktivitas enzim protease.

1.4 KEGUNAAN PENELITIAN

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai pemanfaatan *Chaetoceros ceratosporum* terhadap daya tahan tubuh udang

windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang diuji melalui parameter aktivitas enzim protease.

1.5 HIPOTESIS

H_0 : Diduga bahwa pemanfaatan *Chaetoceros ceratosporum* dalam formula pakan tidak dapat meningkatkan daya tahan tubuh udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) melalui parameter aktivitas enzim protease.

H_1 : Diduga bahwa pemanfaatan *Chaetoceros ceratosporum* dalam formula pakan dapat meningkatkan daya tahan tubuh udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) melalui parameter aktivitas enzim protease.

1.6 TEMPAT DAN WAKTU

Penelitian ini dilaksanakan pada 22 Desember 2010 – 28 Februari 2011 di BPAP Situbondo. Pada 01 Maret 2011 – 08 Maret 2011 di Work Shop Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, laboratorium Biomedik dan laboratorium Mikrobiologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

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

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) (Gambar 1) menurut

Abun (2006), adalah sebagai berikut:

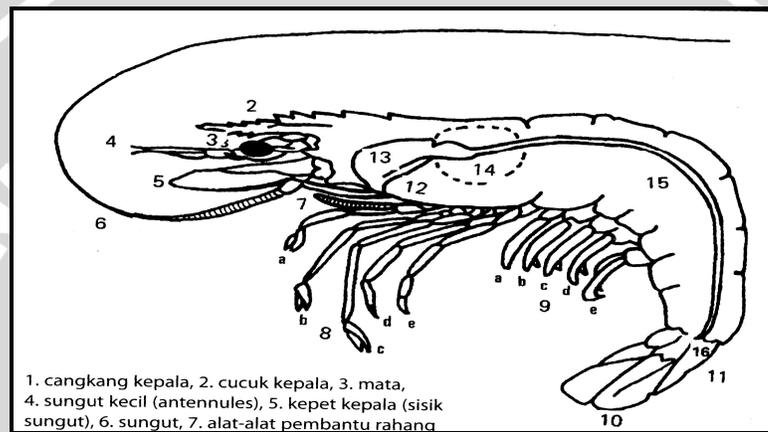
Phylum	: Arthropoda
Sub phylum	: Mandibulata
Class	: Crustaceae
Sub class	: Malacostraca
Ordo	: Decapoda
Sub ordo	: Matantia
Famili	: Penaidae
Genus	: <i>Penaeus</i>
Species	: <i>Penaeus monodon</i> Fabricus



Gambar 1. Udang Windu (*Penaeus monodon*) (Anonymous, 2010)

Udang windu memiliki kulit tubuh yang keras dari bahan kitin. Tubuh udang windu dibagi menjadi dua bagian besar, yakni bagian *cephalothorax* yang terdiri atas kepala dan dada serta bagian abdomen yang terdiri atas perut dan ekor. Bagian *cephalothorax* ini terdiri atas lima ruas kepala dan delapan ruas dada, sementara bagian abdomennya terdiri atas enam ruas perut dan satu ekor

(*telson*). Bagian kepala yang menonjol merupakan kelopak kepala yang memanjang dengan bagian pinggir bergerigi atau disebut dengan cucuk (*rostrum*). Cucuk dikepala memiliki tujuh buah gerigi di bagian atas dan tiga buah gerigi di bagian bawah. Sementara itu, dibawah pangkal kepala terdapat sepasang mata (Amri, 2003). Morfologi udang windu (*Penaeus monodon*) dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Morfologi *Penaeus monodon* (Motoh, 1981)

Keterangan :

- | | |
|--------------------|------------------|
| 1. Cangkang kepala | 9. Kaki renang |
| 2. Cucuk kepala | 10. Ekor kipas |
| 3. Mata | 11. Ujung ekor |
| 4. Sungut | 12. Kerongkongan |
| 5. Sisik sungut | 13. Perut |
| 6. Sungut | 14. Hati |
| 7. Rahang | 15. Usus |
| 8. Kaki jalan | 16. Dubur |

Udang jantan biasanya lebih besar, tubuh langsing, ruang bawah perut sempit, sedangkan udang betina gemuk karena ruang perutnya membesar. (Soetomo, 2000). Jenis kelamin udang windu betina dapat diketahui dengan adanya telikum diantara kaki jalan ke-4 dan ke-5. Telikum berupa garis yang tipis dan akan melebar setelah terjadi fertilisasi. Sementara, jenis kelamin udang windu jantan dapat diketahui dengan adanya pentasma, yakni tonjolan diantara

kaki renang pertama. Dalam habitatnya, pertumbuhan udang windu betina lebih cepat dibandingkan dengan yang jantan. Demikian juga, frekuensi pergantian kulit lebih banyak terjadi pada udang windu betina (Murtidjo, 2003).

2.1.2 Habitat dan Daerah Penyebarannya

Habitat udang berbeda-beda tergantung dari jenis dan persyaratan hidup dari tingkatan-tingkatan dalam daur hidupnya. Udang windu bersifat *euryhaline* yakni bisa hidup di laut yang berkadar garam tinggi hingga perairan payau yang berkadar garam rendah. Udang windu stadium juvenil (muda) umumnya memiliki laju pertumbuhan yang baik di perairan berkadar garam tinggi. Sebaliknya, semakin dewasa udang windu, pertumbuhan optimalnya justru terjadi di perairan yang berkadar garam rendah (Amri, 2003).

Apabila keadaan lingkungan tambak cukup baik, udang jarang sekali menampakkan diri pada siang hari. Apabila pada suatu tambak udang tampak aktif bergerak di waktu siang hari, hal tersebut merupakan tanda bahwa ada yang tidak sesuai. Ketidakesuaian ini dapat disebabkan oleh jumlah makanan yang kurang, kadar garam meningkat, suhu meningkat, kadar oksigen menurun, ataupun karena timbulnya senyawa-senyawa beracun (Suyanto dan Mujiman, 1994). Pada siang hari, udang hanya membenamkan diri dalam lumpur maupun menempelkan diri pada sesuatu benda yang terbenam dalam air (Soetomo, 2000).

Daerah penyebaran udang windu sangat luas, dari Barat Daya Samudra Pasifik hingga Samudra Hindia dan dari Afrika Selatan hingga Jepang dan Australia. Beberapa negara yang terkenal sebagai pembudidaya udang windu adalah Jepang, Cina, Taiwan, Indonesia, Malaysia, Filipina, India, Ekuador, dan Australia. Di Indonesia, udang windu hampir terdapat diseluruh perairan dan sudah lama dibudidayakan di tambak-tambak yang berair payau (Amri, 2003).

2.1.3 Siklus Hidup

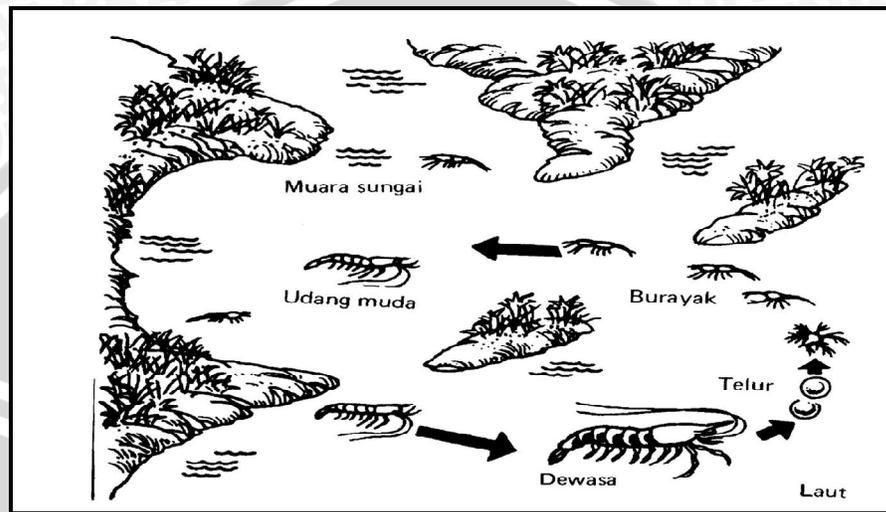
Udang windu daur hidupnya mempunyai beberapa tahap. Tahap pertama dimulai sejak udang tumbuh menjadi dewasa hingga matang gonad dan bergerak kelaut dalam. Disini udang akan melakukan perkawinan, memijah dan bertelur. Telur akan menetas dan berkembang menjadi larva, *nauplius*, *protozoa* dan *mysis*.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

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

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

melakukan pemijahan. Udang dewasa menyukai perairan payau dengan salinitas 15-20 ppt

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



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

2.1.4 Kebiasaan dan Makan Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.)

Aktivitas makan dan jenis pakan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan dari udang windu (*Penaeus monodon* Fab.), jika dilihat dari tingkah laku aktivitas makan, udang penaeid dipengaruhi oleh cahaya. Semakin berkurang intensitas cahaya yang masuk, semakin tinggi aktivitas makan dari udang. Di alam umumnya aktif mencari makan di malam hari, oleh karena itu udang dimasukkan dalam kelompok hewan nokturnal (Sudarmini dan Sulistiono, 1980).

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

Polychaeta, dan crustacea. Dalam usaha budidaya, udang windu mendapatkan makanan alami yang tumbuh di tambak, yaitu klekap, lumut, plankton, dan benthos. Udang windu akan bersifat kanibal bila kekurangan makanan. Dalam usaha budidaya, udang windu mendapatkan makanan alami yang tumbuh di tambak, yaitu klekap, lumut, plankton, dan benthos. Udang windu akan bersifat kanibal bila kekurangan makanan (Soetomo, 2000).

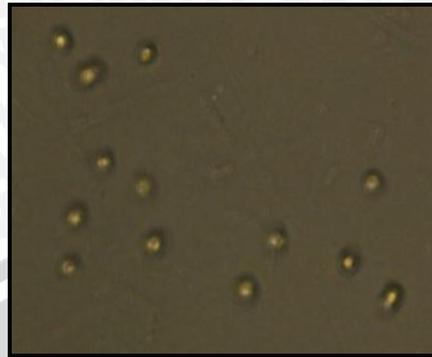
Udang windu bersifat *nocturnal*, artinya aktif mencari makan dan beraktifitas pada malam hari atau pada suasana gelap. Makanan udang windu bervariasi, baik jenis maupun komposisinya, tergantung dari umumnya. Udang umumnya bersifat karnivora (pemakan hewan). Makanannya berupa hewan-hewan kecil, seperti invertebrata air, udang kecil, kerang dan ikan kecil. Udang windu yang mencari makan akan berenang dan merayap di dasar perairan yang berpasir sambil menangkap mangsanya (Amri, 2003).

2.2 *Chaetoceros ceratosporum*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *Chaetoceros ceratosporum* (Bandungense, 2010) adalah sebagai berikut (Gambar *Chaetoceros cerapostorum* dapat dilihat pada Gambar 4):

Kingdom	: Chromista
Divisi	: Bacillariophyta
Kelas	: Bacillariophyceae
Bangsa	: Centrales
Suku	: Chaetocerotaceae
Marga	: Chaetoceros
Jenis	: <i>Chaetoceros ceratosporum</i>



Gambar 4. *Chaetoceros ceratoporum* dengan perbesaran 1.000X

Chaetoceros ceratoporum adalah Diatomae yang berbentuk bulat dengan diameter 4-6 mikron. Dinding selnya dibentuk dari silika dan pigmen yang dominan adalah *karotenoid* dan *diatomin*. Pada budidaya massal berwarna coklat (Nybakken, 1988).

Chaetoceros ceratoporum termasuk dalam golongan diatome. Mempunyai bentuk seperti silinder dan sebagian besar hidup dilaut. Merupakan organisme bersel tunggal dan mempunyai dinding sel yang mengandung silikat (SiO_2). Perkembangbiakannya dengan pembelahan sel. Sebuah sel induk akan terbelah melintang menjadi 2 sel anak. Salah satu sel anak mendapatkan bagian tutup kotak sementara sel anak yang lainnya mendapatkan bagian dasar kotak (Djarajah, 1995).

2.2.2 Habitat dan pertumbuhannya

Chaetoceros sp. termasuk dalam kelompok diatomae (*Bacillariophyceae*) yang mempunyai banyak species yang dimungkinkan untuk pakan larva udang. *Chaetoceros* sp mempunyai karakteristik toleransi yang tinggi terhadap temperatur. Bila kulturnya dilakukan pada temperatur 40°C , tidak terdapat pigmentasi, sedangkan pada temperatur $20 - 30^\circ\text{C}$ pertumbuhan terjadi secara normal, sedangkan temperatur yang optimal adalah $25 - 30^\circ\text{C}$. Salinitas minimal yaitu 6 ppt akan tetapi yang optimal adalah $17 - 25$ ppt (Sumeru, 2008).

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

2.2.3 Kultur *Chaetoceros*

Kultur *Chaetoceros* sp. dilakukan secara bertingkat mulai dari skala laboratorium, skala intermediet dan skala massal. Masing-masing kultur meliputi pembuatan pupuk, sterilisasi alat dan bahan, pemupukan, pengkulturan dan pemanenan. Kegiatan kultur *Chaetoceros* sp. dimulai dengan pemasukan inokulum pada kultur laboratorium dan dikultur sampai skala massal hingga siap dipanen memerlukan waktu ± 10 hari. Untuk kultur skala massal memerlukan waktu empat hari. Pupuk yang digunakan antara lain KNO_3 dengan dosis 30 ppm, Na_2HPO_4 dosis 2 ppm, silikat dosis 15 ppm, epizym 6 ml/m³. Pengukuran kualitas air dilakukan selama tujuh hari dengan hasil pengamatan suhu berkisar antara 29°C sampai 30°C, salinitas 32 sampai 33 ppt dan pH 8. Hasil kultur dihitung menggunakan haemocytometer neubauer dengan metode big blok dan didapat kepadatan sebagai berikut: H0: 307.500 sel/ml, H1: 660.000 sel/ml, H2: 940.000 sel/ml, H3: 1.292.500 sel/ml, H4: 862.500 sel/ml. Pemanenan dilakukan dengan cara pemanenan total bersama media kultur. Beberapa kendala yang sering dijumpai dalam kultur pakan alami antara lain kurangnya kepadatan *Chaetoceros* sp. yang dihasilkan serta adanya kontaminasi berupa protozoa yang berbau dengan media kultur (Hermawan, 2010).

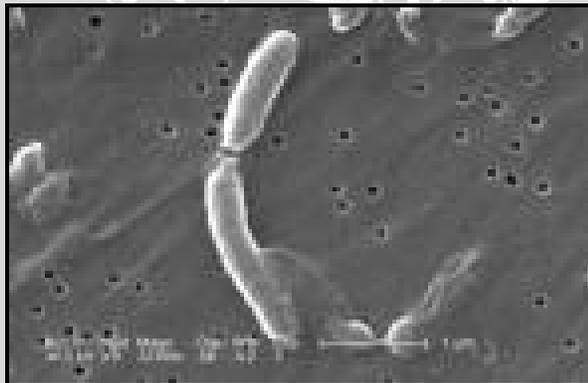
Menurut Kordi (2010), kultur *Chaetoceros* sebaiknya menggunakan air yang bersalinitas 25-30 ppt. proses kulturnya sm seperti *Skeletonema costatum*. Pemanenan *Chateceros* dapat dilakukan setelah 2-3 hari masa pemeliharaan.

2.3 *Vibrio harveyi*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Adapun klasifikasi bakteri *V. harveyi* menurut Breed *et al.* (1948) dalam Agung (2007) yang seperti tampak pada Gambar 5. adalah sebagai berikut :

Divisio	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Sub Ordo	: Pseudomonadineae
Famili	: Spirillaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Species	: <i>V. harveyi</i>



Gambar 5. *V. harveyi*

Vibrio merupakan bakteri berbentuk batang, bersifat gram negatif dan sebagian besar hidup diperairan payau. Infeksi *vibrio* umumnya terjadi pada ikan air payau atau ikan air laut, meskipun ada laporan mengenai infeksi *Vibrio* pada ikan air tawar. Infeksi *Vibrio* dapat menyebabkan mortalitas hingga >50% pada

ikan budidaya (Irianto, 2004). Menurut Harris, Leigh and Sandra (1996) *Vibrio harveyi* mempunyai bentuk yang kecil (diameter, 2 sampai 5 mm) dan berkoloni, bewarna hijau terang dengan gelap hijau di pusat.

2.3.2 Aktivitas dan Pertumbuhan

Aktivitas dan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh faktor abiotik, meliputi faktor fisik seperti temperatur, cahaya, tekanan osmose dan radiasi, selain itu juga faktor kimia seperti pH, salinitas, bahan organik, dan zat-zat kimia lain yang bersifat bakteriosidal maupun bakteristatik. Bakteri dapat bertahan hidup, tumbuh dan berkembang pada batas suhu tertentu. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Vibrio* spp berkisar antara 30⁰-35⁰C. Pada suhu 4⁰C dan 45⁰C bakteri tersebut tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55⁰C akan mati (Prajitno, 2007).

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

2.4 Sistem Pertahanan Tubuh Udang Windu (*Penaeus Monodon* Fab.)

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

Sistem pertahanan tubuh udang windu (*Penaeus monodon*) tidak mempunyai kemampuan mengingat antigen dan merupakan sistem kekebalan non spesifik. Seperti halnya hewan-hewan avertebrata yang lain, udang tidak memiliki antibodi dan karena itu mekanisme pertahanan tubuhnya sangat mengandalkan sistem imunitas bawaan (*innate imunity*) dalam membasmi patogen yang masuk ke dalam tubuhnya (Sritunyalucksana, 2001).

2.5 Imunostimulan

Imunostimulan adalah senyawa tertentu yang dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non spesifik, dan terjadi induksi non spesifik baik mekanisme pertahanan seluler maupun humoral. Pertahanan non spesifik terhadap antigen ini disebut paramunitas, dan zat berhubungan dengan penginduksi disebut paraimunitas (Usman, 2010).

Penggunaan imunostimulan sebagai suplemen pakan yang dapat meningkatkan pertahanan alami udang sehingga resisten terhadap patogen selama periode stress. Imunostimulan mengaktifkan mekanisme non spesifik, sel perantara immunitas dan respon imun spesifik. Imunostimulan dapat meningkatkan daya tahan tubuh terhadap infeksi, serta dapat meningkatkan mekanisme pertahanan non spesifik (Febrianto, 2009).

2.6 Aktivitas Enzim Protease

Enzim merupakan polimer biologik yang mengatalisis lebih dari satu proses dinamik yang memungkinkan kehidupan seperti yang kita kenal sekarang. Sebagai determinan yang menentukan kecepatan berlangsungnya berbagai peristiwa fisiologik, enzim memainkan peranan sentral dalam masalah kesehatan dan penyakit. Pemecahan makanan untuk memasok energi serta unsur-unsur kimia pembangunan tubuh (*building blocks*); perakitan *building blocks* tersebut

menjadi protein, membran sel, serta DNA yang mengkodekan informasi genetik; dan akhirnya penggunaan energi untuk menghasilkan gerakan sel, semua ini dimungkinkan dengan adanya kerja enzim-enzim yang terkoordinasi secara cermat. Sementara dalam keadaan sehat semua proses fisiologis akan berlangsung dalam cara yang tersusun rapi serta teratur dan homeostatis tetap dipertahankan, homeostatis dapat mengalami gangguan berat pada keadaan patologis (Wheny, 2010).

Enzim protease adalah enzim yang berperan dalam proses degradasi protein nutrisi, protease juga diperlukan dalam sejumlah reaksi biokimia tubuh seperti mekanisme patogenisitas, proses koagulasi darah, proses proliferasi, diferensiasi, sejumlah proses pasca translasi protein, dan mekanisme ekspresi protein ekstraseluler (Yamin *et al*, 2008).

Protease terdapat secara alami pada setiap organisme dengan prosentase 1-5% dari kandungan gen. Enzim ini berperan dalam berbagai reaksi fisiologi mulai dari yang sederhana seperti pencernaan makanan berprotein hingga yang kompleks seperti penggumpalan darah, apoptosis dan aktivasi prophenoloksidase pada invertebrate (Hypericum, 2008)

Untuk mengaktifkan enzim protease maupun pembentukan ROS dalam proses fagositosis, diperlukan stimulan yang berasal dari luar tubuh udang yang dikenal dengan imunostimulan. Bahan stimulan yang dapat digunakan antara lain kelompok senyawa biologi seperti dinding sel bakteri, senyawa kompleks karbohidrat, ekstrak dari hewan dan tanaman obat, peptida, nukleotida dan bahan-bahan yang berasal dari produk sintesis (Raa, 2000; Citarasu *et al.*, 2006 dalam Toban 2008).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut :

a. Pemeliharaan Hewan Uji

- Bak pemeliharaan udang beserta perlengkapan pemeliharaannya seperti akuarium yang berukuran 45x45X45 cm³ sebanyak 12 buah, aerator, selang air, selang aerasi, batu aerasi, selang penyiponan, serok, thermometer, DO meter, Bak fiber berukuran diameter 150 cm dan tinggi 80 cm dan pH meter

b. Pembuatan Pakan

- Gilingan Pakan
- *pelleting*
- Oven
- Ember
- Ayakan
- Timbangan digital (ketelitian 0.1 gr)

c. Uji respon imun

- Vortex Thermolyne (Type 37600 mixer)
- Syringe 1 ml
- Tabung eppendorf 1.5 ml
- Mikropipet 1000 µl
- Yellow tip dan Blue tip
- Tabung reaksi
- Rak tabung reaksi

- Inkubator
- Sentrifuse Mikro 22 R
- Camera digital
- Spektrofotometer UV-1700 PharmaSpec
- cuvet 1.5 ml
- Beaker glass 250 ml
- Timbangan analitik (ketelitian 0.001)
- Cool box

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut:

a. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang diperoleh dari petani yang berada di dusun Keperan desa Pecinan kecamatan Mangaran, Situbondo, Jawa Timur. Udag windu yang digunakan dengan bobot rata-rata 21.51 ± 0.95 gram/ekor.

b. Media Penelitian

Media yang digunakan dalam penelitian ini berupa air laut pada Laboratorium Nutrisi Balai Besar Budidaya Air Payau Situbondo. Air diperoleh dari laut yang ditampung kedalam tendon dengan salinitas 30 ppt kemudian dialirkan lewat pipa kemudian ke akuarium berukuran $45 \times 45 \times 45$ cm³ sebanyak 12 buah dengan ketinggian air 30 cm. Media percobaan sebelumnya telah diberi aerasi untuk meningkatkan kandungan oksigen terlarut. Pengelolaan media uji dilakukan dengan cara penyiponan air yang dilakukan sekali dalam satu hari yaitu pada pagi hari pukul 06.00 WIB. Penambahan media uji dilakukan setelah penyiponan, banyaknya media uji yang ditambahkan sesuai dengan media yang dibuang pada saat penyiponan.

c. Formula Pakan

Pakan yang digunakan pada penelitian ini adalah pakan isoprotein (39.02) dan isoenergi (3.58 kkal/g pakan), dengan pemanfaatan tepung plankton (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam formulasi pakan. Jumlah dosis pemanfaatan tepung plankton (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam formula pakan adalah A : 0%, B: 3.04%, C: 6.08% dan D: 9.12%. Komposisi kimia masing-masing bahan penyusun pakan yang digunakan dalam formulasi pakan dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2, dan hasil analisa proksimat bahan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 1. Komposisi kimia bahan penyusun pakan percobaan

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

Keterangan :

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

** : BETN = 100-Protein-Lemak-Kadar Abu-Serat Kasar

*** : Energi = (4x%Protein)+(9x%Lemak)+(4xBETN)

Tabel 2. Formula pakan dasar Percobaan

Bahan %	Perlakuan (Pemanfaatan % Tepung Plankton dalam Formula Pakan)			
	A (0)	B (3,04)	C (6,08)	D (9,12)
Tepung rebon	61,96	61,96	61,96	61,96
Tepung tapioka	15,77	14,38	13,88	12,93
Tepung plankton	-	3,04	6,08	9,12
Minyak ikan	3,75	3,75	3,75	3,75
Minyak jagung	6,50	6,50	6,50	6,50
Vitamin miks	2,70	2,70	2,70	2,70
Mineral miks	2,00	2,00	2,00	2,00
CMC	7,32	5,22	3,13	1,03
Total	100	100	100	100

Tabel 3. Hasil Analisa Proksimat Bahan

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

d. Bahan Uji Sistem Imun

- Persiapan Haemocyte Lysate Supernatant (HLS)
 - Hemolim sebanyak 100 μ L
 - 100 μ L antikoagulan (natrium citrate 10%, pH 7.2)
 - 0.01 M Phosfat Buffer Saline (PBS) pH 7.0 sebanyak 100 μ L
 - 0.001 M PBS pH 7, sebanyak 1 ml
- Uji Aktivitas Enzim Protease
 - Casein solution 0.5%
 - Phosphate buffer pH 7.4
 - Sampel (HLS)
 - Tyrosin standart solution 3000ppm
 - Aquadest steril
 - TCA Solution 4%
 - Supernatan
 - Larutan folin

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat suatu hasil atau hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki. Tujuan eksperimen adalah untuk menegaskan bagaimana hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki dan seberapa besar hubungan sebab dan akibat tersebut, dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol untuk perbandingan. Teknik pengumpulan data dilakukan dengan observasi langsung atau dengan pengamatan secara langsung (Nazir, 1988).

3.2.2 Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Menurut Sastrosupadi (2000), rancangan acak lengkap digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau *homogen*, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan dilaboratorium, rumah kaca, dan peternakan.

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 1 kontrol serta 3 ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah pemanfaatan *Diatomae (Chaetoceros ceratosporum)* dalam formula pakan dengan dosis yang berbeda yaitu sebagai berikut:

- Pakan A : Pemanfaatan *Diatomae (Chaetoceros ceratosporum)* dalam formula pakan sebesar 0%
- Pakan B : Pemanfaatan *Diatomae (Chaetoceros ceratosporum)* dalam formula pakan sebesar 3.04 %
- Pakan C : Pemanfaatan *Diatomae (Chaetoceros ceratosporum)* dalam formula pakan sebesar 6.08 %

Pakan D : Pemanfaatan Diatomae (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam formula pakan sebesar 9.12 %.

Lamanya pemberian imunostimulan selama 30 hari. Untuk denah penelitian in dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Penelitian

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

- Formula pakan untuk udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) dengan menambahkan *C. cerastoporum* yang telah diketahui komposisi kimianya dengan berbagai dosis.
- Uji formula pakan skala Laboratorium untuk daya tahan udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) terhadap infeksi *Vibrio harveyi* melalui parameter aktiitas enzim protease dengan metode eksperimen dengan rancangan acak lengkap.
- Persiapan Hewan Uji

Udang windu diperoleh dari tambak tradisional di Kabupaten Situbondo dengan berat rata-rata 21.51 ± 0.95 gram/ekor sebanyak 250 ekor. Kemudian udang di aklimatisasi suhu yang disesuaikan dengan suhu di 3 bak fiber dengan diameter 150 cm tinggi 80 cm dan kepadatan udang pada masing-masing bak adalah 80 ekor/bak. Suhu yang didapat di bak fiber/pemeliharaan adalah 27°C. Salinitas yang digunakan untuk pemeliharaan udang yaitu 30 ppt. Setelah diaklimatisasi, udang dipelihara dalam akuarium dengan kapasitas 50 L atau diisi dengan ketinggian air 30 cm. Masing-masing akuarium berisi 4 ekor udang yang telah diadaptasi selama 24 jam. Selama masa pemeliharaan diberikan pakan berupa pelet sebanyak 3 kali per hari dengan berat 3 % total biomass.

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian terdiri dari :

▪ Pembuatan Formula Pakan

- Mempersiapkan bahan yang terdiri dari: *Chaetoceros ceratosporum* kering hasil kultur, tepung rebon, minyak ikan, minyak jagung, tepung tapioka, vitamin miks, mineral miks, Avisel, dan CMC.
- Membuat formula pakan dengan kadar protein 39.02% dan kadar energi 3.58k kal/g pakan sesuai hasil penelitian (Ekawati, 1990) sebagai formula pakan dasar (Tabel 2). Kemudian dibuat formula isoprotein (39.02%) dan isoenergi (3.58 k kal/g pakan) dengan memanfaatkan *Chaetoceros ceratosporum* sebagai bahan imunostimulan dengan mensubstitusikannya ke dalam formula pakan
- Pemberian pakan diberikan sesuai dengan perlakuan yang diberikan dengan frekuensi 3 kali sehari yaitu pukul 08.00 WIB, 16.00 WIB dan 21.00 WIB, serta jumlah pemberian pakan yang diberikan disesuaikan dengan berat rata-rata udang dengan persentase 30% untuk pagi hari, 30% untuk sore hari dan 40% untuk malam hari.

2) Percobaan Pakan terhadap Daya Tahan Tubuh Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.)

a) Pembuatan biakan murni bakteri *Vibrio harveyi*

a. Prosedur Kultur *Vibrio harveyi*

1. Sterilisasi ose lengkung dengan pemanasan diatas bunsen hingga pijar
2. Setelah ose dipastikan dingin ambil bakteri vibrio dari stock dengan cara menyentuhkan ujung ose pada stock
3. Goreskan dipermukaan media TCBSA, dengan metode streaking kuadran untuk mendapatkan koloni terpisah

4. Inkubasikan media 30°C selama 24 jam.
5. Koloni murni yang tumbuh diidentifikasi ulang untuk memastikan spesies bakteri.
6. Setelah terbukti spesies *Vibrio harveyi*, dilakukan kultur pengayaan untuk memproduksi dalam jumlah yang besar.

b. Prosedur kultur Pengayaan *Vibrio harveyi*

1. Dengan ose steril ambil koloni murni, masukkan kedalam erlemeyer yang berisi media cair TSB+
2. Tutup erlemeyer kembali dengan kapas steril, masukkan kedalam shaker waterbath
3. Inkubasikan pada suhu 30°C dengan kecepatan getaran 100 rpm selama 2 x 24 jam
4. Amati hasil kultur pastikan tidak ada kontaminasi dengan pewarnaan gram dan dilihat di bawah mikroskop
5. Kemudian kepadatan bakteri kultur dibaca dengan menggunakan metode Spektrofotometer.
6. Dari hasil pengukuran OD (Optical Density) lakukan pengenceran sesuai dengan kepadatan bakteri yang diinginkan.

b) Pengambilan darah udang windu (*Penaeus monodon* Fab.)

Diambil dari darah udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang telah mendapat perlakuan dengan pemberian *Chaetoceros ceratosporum* dalam formula pakan. Darah udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) diambil dengan menggunakan syringe 1 ml yang berisi 0.4 ml anti koagulan (natrium citrate 10%, pH 7,2) dengan perbandingan anti koagulan dan darah yaitu 1:1 yang disuntikan pada kaki jalan ketiga kemudian masukkan ke tabung eppendorf 1.5 ml dan disimpan di dalam *cool box*.

c) Penginfeksi Udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) dengan *Vibrio harveyi*

Setelah udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) diberi perlakuan selama 30 hari, dilakukan penginfeksi dengan *Vibrio harveyi* yang mengikuti metode Toban (2008) yaitu menginjeksikan bakteri tersebut secara intramuscular/IM (IM pada udang adalah bagian ventral diantara abdomen ke 2 dan 3 (kaki jalan)) dengan kepadatan 10^6 sel/ml sebanyak 50 μ l. Setelah diinfeksi, 24 jam kemudian dilakukan pengamatan terhadap aktivitas enzim protease.

d) Uji respon imun

Pada akhir percobaan pada masing-masing perlakuan pakan dilakukan pengamatan terhadap aktivitas enzim protease dengan tahapan sebagai berikut :

a. Persiapan Haemocyte Lysate Supernatant (HLS)

Untuk mendapatkan HLS dilakukan menggunakan metode Sahoo *et al.*, (2005) dengan langkah-langkah sebagai berikut :

- Hemolim sebanyak 100 μ L diambil dengan menggunakan syringe 1 ml yang berisi 100 μ L antikoagulan (sodium citrate 10%, pH 7,2) kemudian masukkan ke tabung eppendorf 1.5 ml.
- Hemolim selanjutnya disentrifuse pada 2.300 rpm suhu 4^oC selama 10 menit. Supernatant diambil sebagai plasma supernatant (PS) kemudian pellet ditambah 0.01 M Phosfat Buffer Saline (PBS) pH 7,0 sebanyak 100 μ L dan disentrifuse kembali pada 2.300 rpm selama 10 menit.
- Supernatan dibuang, pellet yang didapatkan diresuspensi dengan 0.001 M PBS pH 7, sebanyak 1 ml dilanjutkan dengan homogenisasi dan sentrifuse pada 4.000 rpm suhu 4^oC selama 30 menit

- HLS yang didapatkan disimpan pada suhu 4°C sebelum digunakan untuk uji aktivitas enzim protease.

b. Uji Aktivitas Enzim Protease

Uji aktivitas protease dilakukan dengan menggunakan metode Walter (1989) dengan langkah-langkah sebagai berikut :

	Sampel	Standart	Blangko
Casein solution 0.5%	400µl	400µl	400µl
Phospate buffer pH 7,4	100µl	100µl	100µl
Sampel (HLS)	200µl	-	-
Tyrosin standart solution 3000ppm	-	200µl	-
Aquadest steril	-	-	200µl
Inkubasi dalam incubator T 37°C selama 30 menit			
TCA Solution 4%	500µl	500µl	500µl
Disentrifuse 4°C 10.000 rpm selama 10 menit			
Supernatan	1ml	1ml	1ml
Larutan folin	2ml	2ml	2ml
Inkubasi dalam incubator T 37°C selama 30 menit			
Diukur absorbansi λ 650 nm dengan spektrofotometer			

Penghitungan aktivitas enzim sebagai berikut :

$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{\text{Absorbansi Sampel} - \text{Absorbansi Blanko}}{\text{Absorbansi Standart} - \text{Absorbansi Blanko}} \times F_p \times \frac{1}{t^{0nk}}$$

Keterangan : Fp = Faktor Pengencer
t^{0nk} = waktu selama sentrifuse

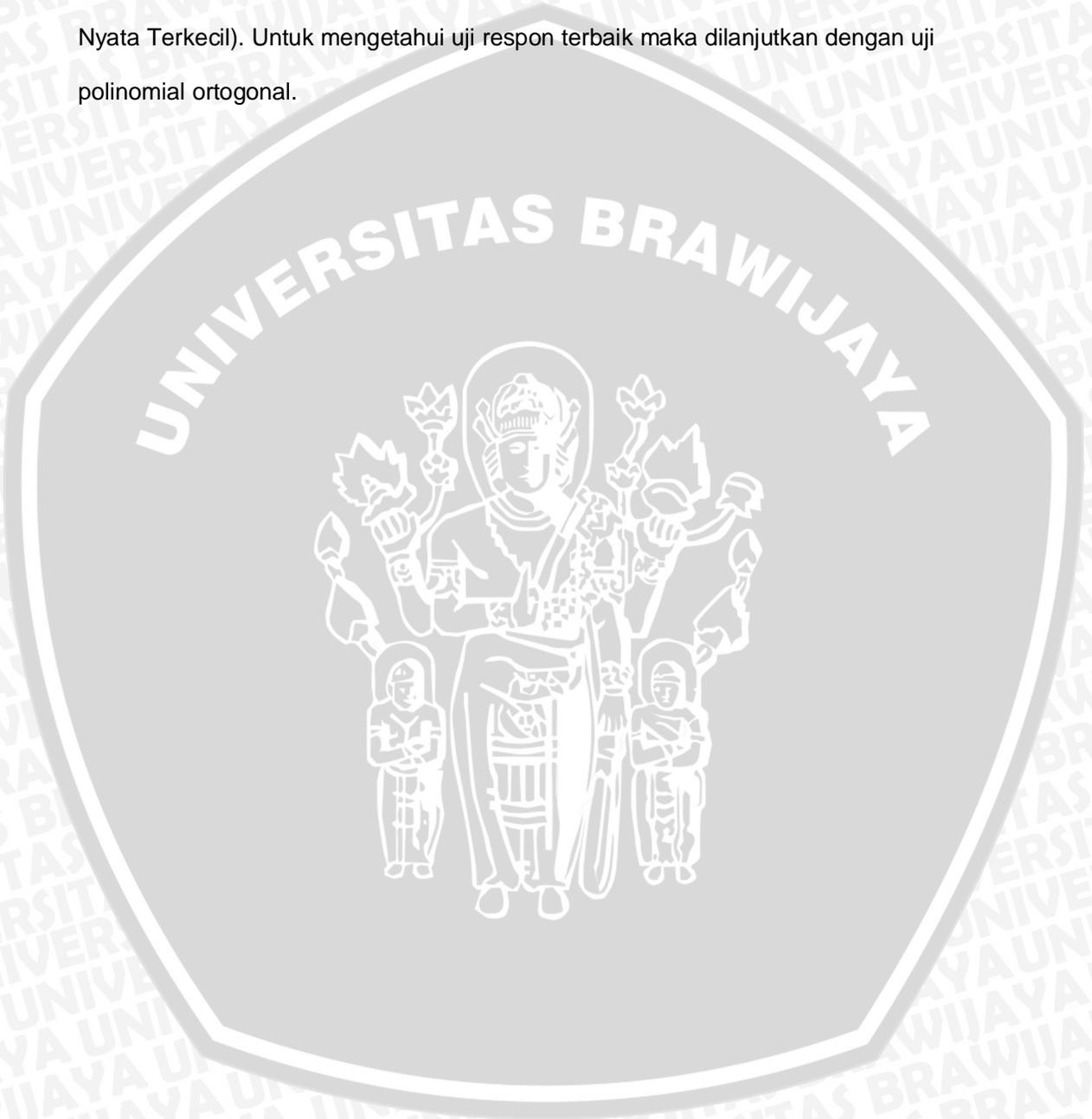
3) Parameter Penunjang

Parameter penunjang selama penelitian adalah pengukuran kualitas air meliputi suhu dengan menggunakan thermometer, derajat keasaman dengan pH meter, oksigen terlarut dengan DO meter dan amonia dengan *spectrometer*.

3.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian, akan di analisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan rancangan acak lengkap (RAL) ulangan tidak sama. Apabila dari

data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*), maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Untuk mengetahui uji respon terbaik maka dilanjutkan dengan uji polinomial ortogonal.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Aktivitas Enzim Protease

Aktivitas enzim protease dinyatakan dalam unit aktivitas dimana 1 unit aktivitas protease didefinisikan sebagai sejumlah enzim yang mampu membebaskan 1 μg tirosin ekivalen setiap menit pada kondisi analisis. Penghitungan aktivitas enzim protease pada hemosit udang windu dilakukan dalam 2 tahapan yaitu pasca pemberian pakan imunostimulan *Chaetoceros ceratosporum* (sebelum infeksi *Vibrio harveyi*) dan pasca pemberian pakan imunostimulan *Chaetoceros ceratosporum* (sesudah infeksi *Vibrio harveyi*).

Hasil perhitungan data aktivitas enzim protease pasca pemberian pakan imunostimulan *Chaetoceros ceratosporum* (sebelum dan sesudah infeksi *Vibrio harveyi*) dapat dilihat pada Lampiran 2 dan Tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas enzim protease pada hemosit udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) sebelum dan sesudah diinfeksi *Vibrio harveyi*

Perlakuan	Aktivitas enzim sebelum diinfeksi (Unit)	Aktivitas Enzim Protease sesudah diinfeksi (Unit)
A	0.06 \pm 0.006	0.01 \pm 0
B	0.10 \pm 0.006	0.03 \pm 0
C	0.22 \pm 0.01	0.1 \pm 0.01
D	0.12 \pm 0.006	0.04 \pm 0.006

Keterangan : Nilai menunjukkan nilai rerata \pm standard deviasi dari 3 ulangan masing-masing perlakuan.

Nilai rerata aktivitas enzim protease pada udang windu sebelum diinfeksi berkisar antara 0.06 – 0.22 unit dan setelah diinfeksi *Vibrio harveyi* berkisar antara 0.01 – 0.1 unit. Data pada Tabel 3 di analisis menggunakan SPSS 15

untuk menunjukkan data menyebar normal, dapat dilihat pada Lampiran 3. (Uji normalitas sebelum diinfeksi) dan Lampiran 4. (Uji normalitas sesudah diinfeksi *Vibrio harveyi*). Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap nilai aktivitas enzim protease sebelum diinfeksi maka dilakukan perhitungan seperti terlihat pada Lampiran 5. dan didapatkan hasil sidik ragam yang dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Perhitungan sidik ragam aktivitas enzim protease pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) sebelum diinfeksi *Vibrio harveyi*

Sumber keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0.044	0.015	290.83**	4.07	7.59
Acak	8	0.0004	0.00005			
Total	11					

Keterangan **: Berbeda Sangat Nyata

Untuk pengaruh perlakuan terhadap nilai aktivitas enzim protease setelah diinfeksi maka dilakukan perhitungan seperti terlihat pada Lampiran 5. dan didapatkan hasil sidik ragam yang dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Perhitungan Sidik ragam aktivitas enzim protease pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) sesudah diinfeksi *Vibrio harveyi*

Sumber keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0.0140	0.00467	136.25**	4.07	7.59
Acak	8	0.0003	0.0000375			
Total	11	0.259				

Keterangan **: Berbeda Sangat Nyata

Berdasarkan hasil uji Anova (*Analysis of Variance*) pada Tabel 4. dan Tabel 5. menunjukkan bahwa pemanfaatan *Chaetoceros ceratosporum* sangat memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai aktivitas enzim protease udang

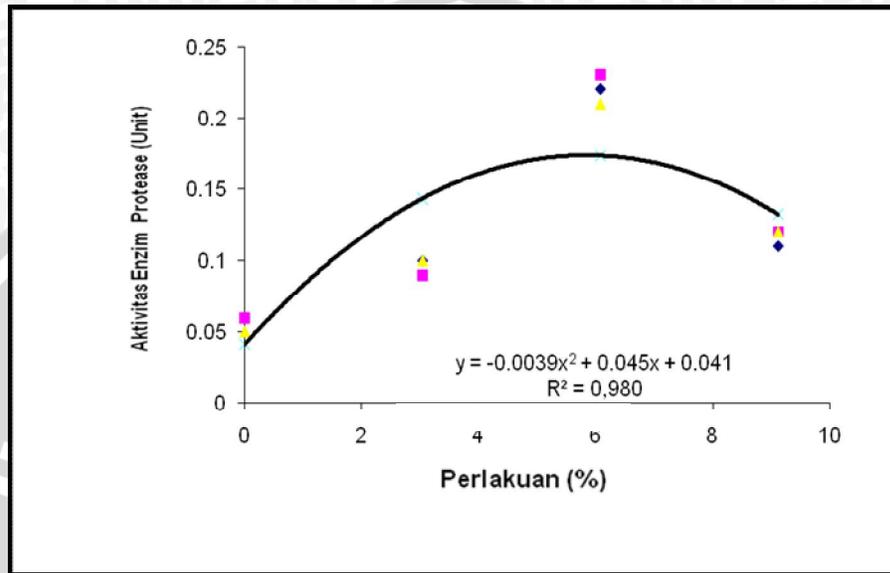
windu (*Penaeus monodon* Fab.) dimana F hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%. Maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang bertujuan untuk membandingkan nilai antar perlakuan baik pada sebelum diinfeksi dan setelah diinfeksi *Vibrio harveyi*, sehingga dapat dilihat pada masing-masing perlakuan terdapat perbandingan nilai rerata yaitu pada perlakuan C berbeda sangat nyata dengan semua perlakuan baik perlakuan D, B dan A. Sedangkan, perlakuan D berbeda sangat nyata dengan perlakuan B dan A, tetapi untuk setelah diinfeksi perlakuan D tidak berbeda nyata dengan perlakuan B tapi berbeda nyata dengan perlakuan A, dan perlakuan B berbeda sangat nyata dengan perlakuan A. Hasil uji ANOVA dan BNT sebelum dan sesudah diinfeksi *Vibrio harveyi* seperti terlihat pada Lampiran 5.

Dari uji BNT dilanjutkan dengan analisis regresi untuk mengetahui uji respon. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan pemanfaatan *Chaetoceros ceratosporum* dengan dosis yang berbeda dalam formula pakan terhadap daya tahan tubuh udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) dengan parameter aktivitas enzim protease sebelum diinfeksi dengan *Vibrio harveyi* maka dapat dilihat pada Gambar 6.

Hubungan antara pemanfaatan *Chaetoceros ceratosporum* dalam formula pakan terhadap aktivitas enzim protease menunjukkan persamaan kuadratik $Y=0.0412+0.0453X-0.0039X^2$ (Gambar.6) dengan R^2 yang didapatkan yaitu 0,980. Persamaan tersebut diperoleh nilai maksimum dengan perlakuan dosis *Chaetoceros ceratosporum* dalam formula pakan sebesar 5.85% sehingga didapatkan nilai aktivitas enzim protease sebesar 0.17.

Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan pemanfaatan *Chaetoceros ceratosporum* dengan dosis yang berbeda dalam formula pakan terhadap daya tahan tubuh udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) dengan parameter aktivitas

enzim protease sesudah diinfeksi dengan *Vibrio harveyi* maka dapat dilihat pada Gambar 7.

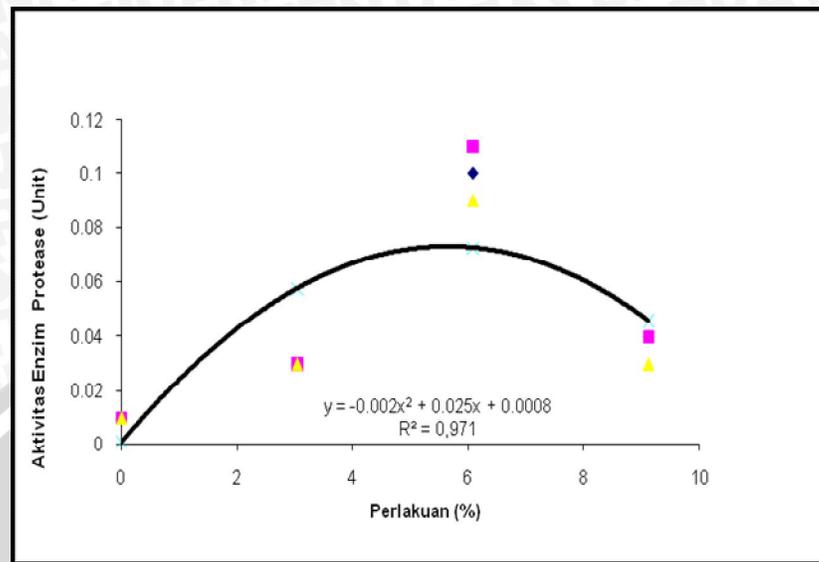


Gambar 6. Aktivitas enzim protease pada hemosit udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) sebelum diinfeksi *Vibrio harveyi*

Keterangan :

-  : Ulangan 1
-  : Ulangan 2
-  : Ulangan 3
-  : Hasil persamaan analisis polynomial orthogonal

Hubungan antara pemanfaatan *Chaetoceros ceratosporum* dalam formula pakan terhadap aktivitas enzim protease menunjukkan persamaan kuadratik $Y=0.00083+0.02549X-0.0023X^2$ dengan R^2 yang didapatkan yaitu 0.971. Persamaan tersebut diperoleh nilai maksimum dengan perlakuan dosis *C. ceratosporum* dalam formula pakan sebesar 5.65% sehingga didapatkan nilai aktivitas enzim protease sebesar 0,07.



Gambar 7. Aktivitas enzim protease pada hemosit udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) sesudah diinfeksi *Vibrio harveyi*

Keterangan :

- ◆ : Ulangan 1
- : Ulangan 2
- ▲ : Ulangan 3
- ✕ : Hasil Analisis Polinomial Orthogonal

Pada Gambar 6 maupun Gambar 7 nilai antara perlakuan 6.08% dengan 9.12% mengalami penurunan. Hal tersebut diduga karena didalam tubuh makhluk hidup termasuk udang bersifat homeostatis, sehingga tubuh akan menerima asupan dari luar seperti pakan yg masih sesuai dengan kondisi di dalam tubuh , jika asupan dari luar berlebih maka tubuh akan sulit untuk menerima asupan tersebut yg akibatnya tidak akan direspon oleh tubuh. Menurut Siagian (2004), bahwa homeostatis pada dasarnya adalah untuk menstabilkan cairan disekitar sel-sel organisme multisel yaitu cairan ekstrasel, yang merupakan *interface* antara sel dan lingkungan luar. Sel-sel tubuh harus mengandung zat-zat terlarut tertentu dalam kadar atau dosis tertentu demi kelangsungan proses-proses dalam sel.

Berdasarkan analisis data aktivitas enzim protease sebelum dan sesudah diinfeksi dengan bakteri *Vibrio harveyi* selama 24 jam, dapat dikatakan bahwa nilai aktivitas enzim protease sesudah diinfeksi dengan bakteri *Vibrio harveyi* selama 24 jam terjadi penurunan bila dibandingkan dengan nilai aktivitas enzim protease sebelum diinfeksi *Vibrio harveyi*. Hal ini diduga bahwa setelah 24 jam aktivitas enzim protease mengalami penurunan dikarenakan selama 24 jam penuh aktivitas enzim protease telah bekerja untuk mempertahankan daya tahan tubuh udang dari serangan bakteri *Vibrio harveyi*. Hal tersebut dapat dikatakan bahwa *Chaetoceros ceratosporum* memberikan pengaruh terhadap daya tahan tubuh udang windu melalui parameter aktivitas enzim protease, karena *Chaetoceros ceratosporum* diduga mengandung senyawa β -glukan. Menurut Storseth *et.al.* (2006), bahwa *chaetoceros mulleri* telah ditemukan adanya β -(1 \rightarrow 3) glukan dengan DP 19-24.

Cang *et al.* (2000) dalam Febrianto (2009), bahwa resistensi crustacea terhadap patogen karena adanya pemberian β -glukan sehingga memicu terjadinya aktifitas phenoloxidase, selanjutnya meningkatkan fagositosis, cell-adhesion, dan produk superoxide dalam hemosit.

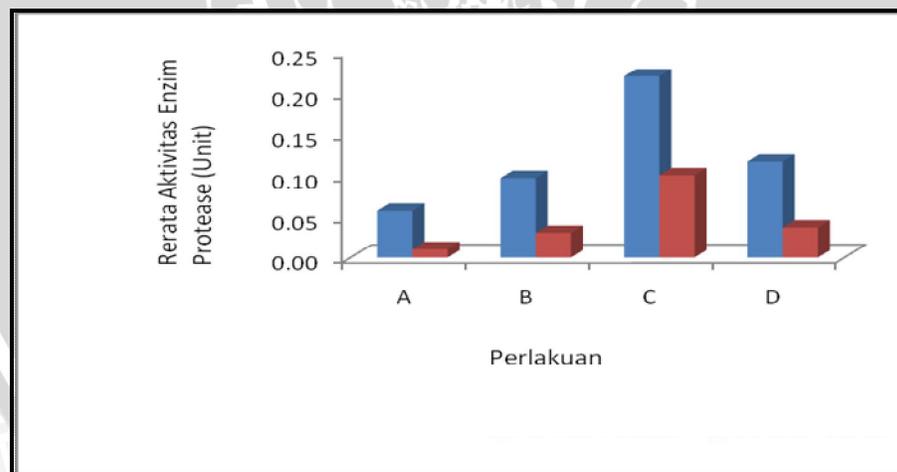
Saat terdapat antigen yang masuk, hemosit akan melakukan proses degranulasi dan akan menghasilkan beberapa protein. Salah satu diantaranya adalah enzim protease. Enzim ini memiliki peranan sebagai enzim lysosom dan aktivator prophenoloksidase menjadi enzim phenoloksidase (Van de Braak, 2002).

Dalam keadaan tidak aktif enzim protease ini akan berada di dalam hemosit sebagai *inactive serine proteinase* (proppA). Saat terdapat antigen yang masuk, hemosit (granula dan semi granula) akan melakukan ikatan dengan material tersebut selanjutnya mengirimkan "signal" biokimia dan molukel untuk

aktivasi enzim protease tersebut menjadi *Prophenoloksidase activating enzim* (ppA). PpA selanjutnya akan berperan sebagai aktivator dalam proses aktivasi Prophenoloksidase (Propo) menjadi enzim Phenoloksidase (PO). Aktivasi tersebut akan diikuti dengan proses oksidase phenol menjadi quinon, yang merupakan senyawa antibakteri yang dapat membasmi patogen (Smith *et al.*, 2003).

Yeh *et al* (2005) menyatakan bahwa terjadi peningkatan aktivitas enzim Phenoloksidase pada udang *Litopenaeus vannamei* pasca pemberian imunostimulan. Peningkatan ini diduga sebagai akibat meningkatnya aktivitas enzim protease yang merupakan aktivator pembentukan enzim Phenoloksidase tersebut.

Penurunan aktivitas enzim protease antara perlakuan pemberian pakan *Chaetoceros ceratosporum* sebelum dan sesudah diinfeksi dengan *V. harveyi* maka dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Penurunan aktivitas enzim protease pada hemosit udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) pasca pemberian pakan *Chaetoceros ceratosporum* sebelum dan sesudah diinfeksi dengan *V. harveyi*.

Keterangan :

- : Perlakuan Sesudah Infeksi
- : Perlakuan Sebelum infeksi

4.2 Parameter Penunjang (Kualitas Air)

Kualitas air merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi keberhasilan suatu usaha budidaya. Pengelolaan kualitas air dengan cara mengkondisikan air sedemikian rupa sehingga memenuhi persyaratan fisik dan kimiawi bagi kehidupan dan pertumbuhan udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang dipelihara. Kisaran kualitas air selama penelitian udang windu dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Kisaran hasil pengukuran parameter kualitas air media penelitian udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) selama penelitian

Perlakuan	Parameter Kualitas Air				
	Suhu (°C)		pH	DO mg/l	NH ₃ mg/L
	Pagi	Sore			
A	28-29	28-29	7.84-8.44	5.4-6.5	0.018-0.038
B	28-29	28-29	7.81-8.45	5.5-5.7	0.018-0.044
C	28-29	28-29	7.77-8.25	6-6.5	0.012-0.026
D	28-29	28-29	7.67-8.21	5.6-6	0.014-0.044

4.5.1 Suhu

Hasil pengukuran suhu pada media pemeliharaan udang windu (*P. monodon*) selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 6. dengan kisaran pagi hari 28-29 °C dan sore hari 28-29 °C. Menurut Lamadi (2009), Suhu air mempunyai peranan paling besar dalam perkembangan dan pertumbuhan udang. Kecepatan metabolisme udang meningkat cepat sejalan dengan meningkatnya suhu lingkungan. Secara umum suhu optimal bagi udang windu adalah 25-30 °C. Suhu diatas 30 °C masih dianggap baik bagi budidaya udang.

Udang akan kurang aktif apabila suhu air turun dibawah 18 °C dan pada suhu 15 °C atau lebih rendah akan menyebabkan udang stress bahkan mati.

4.5.2 Derajat Keasaman (pH)

Hasil pengukuran pH pada media pemeliharaan udang windu (*P. monodon*) selama penelitian yang diukur dengan menggunakan pH meter dapat dilihat pada Lampiran 7. dengan kisaran nilai pH antara 7.67 – 8.45. Menurut Lamadi (2009), pH merupakan indikator keasaman dan kebasaan air. pH perlu dipertimbangkan karena mempengaruhi metabolisme dan proses fisiologis udang. Kisaran pH yang optimal untuk pertumbuhan udang windu adalah 6.5-8.5.

Perubahan pH didalam perairan terutama dipengaruhi oleh karbondioksida dan ion-ion yang berada dalam kesetimbangan dengannya sehingga pH akan sangat dipengaruhi oleh fluktuasi karbondioksida diperairan. Pada saat pH mencapai nilai minimum terutama pada sore hari, maka perairan akan bersifat basa dan sebaliknya apabila karbondioksida mencapai nilai maksimum pada saat menjelang fajar maka perairan akan bersifat asam. Meskipun pH sangat dipengaruhi oleh karbondioksida tersebut tidak membuat air lebih rendah dari pH 4.5 (Boyd, 1982).

4.5.3 Oksigen Terlarut (DO)

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

Hasil pengukuran oksigen terlarut (DO) pada media pemeliharaan udang windu (*P. monodon*) selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 8. dengan kisaran nilai DO antara 5.4 – 6.5 mg/L. Menurut Lamadi (2009), Konsentrasi oksigen terlarut minimum untuk menunjang pertumbuhan optimal udang adalah 4

ppm. Konsentrasi oksigen terlarut yang rendah adalah faktor yang paling lazim menyebabkan mortalitas dan kelambatan pertumbuhan udang. Kelarutan oksigen dalam air dipengaruhi oleh suhu dan kadar garam. Kelarutan oksigen akan menurun jika suhu dan kadar garam meningkat atau tekanan udara menurun.

4.5.4 Amonia

Di air amonia nitrogen mempunyai dua bentuk yaitu amonia (NH_3) bukan ion dan ion amonia (NH_4^+). NH_3 bukan ion adalah racun untuk ikan sedangkan ion NH_4^+ tidak berbahaya kecuali bila konsentrasinya sangat tinggi. Hasil pengukuran amonia pada media pemeliharaan udang windu (*P. monodon*) selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 9. dengan nilai NH_3 rata-rata pada semua perlakuan antara 0.012 – 0.044. Menurut Cholik (1986) Tingkat daya racun ammonia (NH_3) bukan ion adalah antara 0.6 – 2.0 mg/l. Batas pengaruh yang mematikan dapat terjadi bila konsentrasi NH_3 bukan ion pada air berkisar 0.1 – 0.3 mg/l.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian tentang pengaruh pemanfaatan diatome (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam formula pakan terhadap aktivitas enzim protease udang windu (*Penaeus monodon* Fab.), dapat diambil kesimpulan bahwa :

- Pemanfaatan Diatomae (*Chaetoceros ceratosporum*) dalam formula pakan udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) berpengaruh terhadap daya tahan tubuh yang diamati dengan parameter aktivitas enzim protease
- Pemanfaatan Diatomae *Chaetoceros ceratosporum* dalam formula pakan udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) terhadap daya tahan tubuh dengan pengukuran parameter aktivitas enzim protease yang terbaik adalah pada dosis antara 5.65 % - 5.85 %.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disarankan bahwa perlu adanya pembuatan formulasi pakan dengan memanfaatkan Diatomae (*Chaetoceros ceratosporum*) dengan dosis 5.65%-5.85% dalam formula pakan untuk meningkatkan daya tahan tubuh khususnya pada budidaya udang sehingga dapat menekan kematian yang disebabkan oleh penyakit.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2010. Udang windu. <http://www.google.com/images-udang-windu.com>. Diakses tanggal 28 November 2010
- _____.2010. *Chaetoceros* sp.<http://www.google.com/images-caetoceros-sp.com>. Diakses tanggal 28 November 2010
- Abun. 2006. Bioproses limbah udang windu melalui tahapan deproteinasi dan demineralisasi terhadap protein dan mineral terlarut. Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran. Jatinangor.
- Agung,M. U. K. 2007. Penelurusan efektifitas beberapa bahan alam sebagai kandidat antibakteri dalam mengatasi penyakit *vibrio* sp. pada udang windu. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjajaran. Jatinangor. 36 hal.
- Amri, K. 2005. Budidaya Udang Windu Secara Intensif. Agromedia Pustaka. Jakarta. 98 hal.
- Bandungense, H. 2010. Klasifikasi tumbuhan *Chaetoceros ceratosporum*. Institut Teknologi Bandung. Bandung. <http://www.sith.itb.ac.id/> . Diakses pada 01 Mei 2011
- Boyd, E.C. 1982. Water Quality in Ponds For Aquaculture. Birmingham Publishing Co., Alabama. P.482.
- Cholik F, Artati, dan Arifudin R. 1986. Pengelolaan Kualitas Air Kolam Ikan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan.Jakarta.52 hal.
- Djarajah, A.S. 1995. Pakan Ikan Alami. Kanisius. Yogyakarta. 87 hal
- Ekawati, A. W. 2005. Budidaya Makanan Alami. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 100 hal.
- Fahri, M. 2009. Bakteri pathogen pada budidaya perikanan *Vibrio* sp. *Alginolyticus*. Program Pasca Sarjana Budidaya Perikanan, Universitas Brawijaya Malang. <http://elfahrybima.blogspot.com/2009/01/bakteri-pathogen-pada-budidaya.html>. Diakses pada 01 Mei 2011
- Febrianto, C.A. 2009. Potensi *Trichoderma* sp. sebagai bahan antibakterial dan imunostimulan pada udang vaname, *Litopenaeus vannamei*. Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 10 hal
- Harris, L.,Leigh, O., and Sandra, S. 1996. A selective and differential mediuon for *Vibrio harveyi*. *Applied And Environmental Microbiology* 62(9) : 2.
- Hermawan, T. 2010. Kultur *Chaetoceros* sp. secara massal di Unit Pembenuhan Udang Balai Budidaya Air Payau Situbondo.

- Hypericum. 2008. Multi-life complete vitamin blend with 72 trace minerals, electrolytes, brain support blend and 10 enzyme pattern bursts. <http://hypericum.wordpress.com/>. Diakses pada 01 Mei 2011
- Irianto, A., 2004. Patologi Ikan Teleostei. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Johansson MW and K. Soderhall 1989. Cellular immunity in crustaceans and the proPO system. *Parasitology Today*. 5 : 171-176
- Juliantok, E. 2002. Isolasi dan seleksi bakteri *Vibrio* sp. sebagai biokontrol untuk penyakit kunang-kunang pada larva udang windu (*Penaeus monodon* Fab.). Fakultas perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB. Bogor. 56 hal
- Kordi, M. G. 2010. Pakan Udang. Akademia. Jakarta. 223 hal.
- Lamadi, A. 2009. Pembenihan udang windu (*Penaeus monodon*). <http://limiadi.blogspot/pembenihan-udang-windu-penaeus-monodon.html>. 28 November 2010
- Motoh, H. 1981. Studies on the fisheries biology of the giant tiger prawn *Penaeus monodon* in the Philippines. SEAFDEC Aquaculture Department. Technical Report no. 7. Iloilo City. 128 page.
- Murachman. 2001. Identifikasi pengaruh faktor lingkungan terhadap pelimpahan mikroorganisme patogen pada udang windu (*Penaeus monodon*) Selama pemeliharaan di tambak pantai selat madura, propinsi Jawa Timur. AGRITEK Volume 9 Nomor 2. Maret 2001. Hal 912-924.
- Murtidjo, B.A., 2003. Benih Udang Windu Skala Kecil. Kanisius. Yogyakarta. 84 hal
- Natzir. 1983. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta. 216 hal
- Nybakken, J.W. 1988. Biologi Laut : Suatu Pendekatan Ekologis. PT. Gramedia. Jakarta.
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan-Udang Bakteri. Penerbit universitas Negeri Malang (UM Press). Malang. 107 hal
- Sahoo, B, S. Sethi, B. K. Mishra and B. K. Das. 2005. Effects elecitors on prophenonoxidase and superoxide anion activities of freshwater prawn, *Macrobrachium malcolmsonii*. *Asian Fisheries Science* 18 (2005): 345-353
- Sakai M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*:172:63-92.
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius. Yogyakarta. 276 hal
- Scombes, C.J. 1994. Enhancement of fish phagocyte activity. *Fish and Shellfish Immunology*, 4 : 421-436.

- Setyaningsih. 2004. Resistensi Bakteri dan Antibiotik Alami dari Laut. Pasca sarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor. 11 hal.
- Siagian, M. 2004. Homeostatis : kesimbangan yang halus dan dinamis. Departemen Ilmu Faal. Universitas Indonesia. 4 hal. <http://staff.ui.ac.id/internal/130683855/material/HOMEOSTASISmsHO.pdf>
- Smith, V.J, J.H Brown and C. Hauton. 2003. Immunostimulation in crustaceans: does it really protect against infection?. *Fish & Shellfish Immunology* 15: 71–90
- Soetomo, M.J.A., 2000. Teknik Budidaya Udang Windu (*Penaeus monodon*). Kansius. Yogyakarta. 76 hal
- Sritunyalucksana, K. 2001. *Characteristic of some immune genes in the black tiger shrimp, Penaeus monodon*. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from The Faculty of Science and Technology. Uppsala University.Sweden. 91 (3) : 3-4
- Storseth, Trond R., Karina,H., Kjell, and Jorunn. 2004. Structural characterization of β -DD-(1!3)-glucans from different growth phases of the marine diatoms *Chaetoceros mulleri* and *Thalassiosiraweissflogii*. *Carbohydrate Research* 340 (2005) : 1159–1164
- Sudarmini, E dan B. Sulistiono. 1980. Udang Windu Biologi dan Perkembangannya. Balai Budidaya Air Payau Jepara. Jepara.
- Sumeru, S. U dan Suzy, A. 2005. Pakan Udang Windu (*Penaeus monodon*). Kanisius. Yogyakarta. 94 hal.
- Sumeru, S. U. 2008. Budidaya perikanan pada tiap jenis ikan. Fishblogs. http://hobiikan.blogspot.com/2008/10/tetraselmis-chuui_chaetoceros.html. 28 November 2010
- Sumisdianto. 2009. Pengaruh imunostimulan bakterin *vibrio alginolyticus* terhadap respon imun seluler udang windu (*Penaeus monodon*) yang dipapar bakteri *Vibrio alginolyticus*. Universitas Brawijaya. Malang
- Suyanto, S.R dan A. Mujiman., 1994. Budidaya Udang Windu. Penebar Swadaya. Jakarta.97 hal
- Toban, M.H. 2008. Perubahan Jumlah Hemosit, Kandungan Superoksida dan Aktivitas Enzim Protease Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) Pasca Pemberian Imunostimulan *Gracilaria Verrucosa*. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya. Malang.
- Toro, V dan Soegiarto. 1979. Biologi Udang Windu. Proyek Penelitian Sumberdaya Ekonomi. Lembaga Oceanologi LIPI. Jakarta. 144 Hal.
- Usman, B. 2010. Immunomodulator, Imunosupresan, Imunostimulan. Universitas Indonesia. Jakarta. 17 hal

Walter HE.1984.*Method with haemoglobin, casein, and azocoll as substrate In.* Bergmeyer. HU (ed). *Methods of enzymatic analysis.* Verlag Chemie. Deerfield Beach Florida Basel.

Wheny. 2010. Enzim (sifat – sifat umum). <http://www.google.co.id/files.wordpress.com%enzim-sifat-dan-cara-kerja.doc>. 26 hal. Diakses pada 10 Mei 2011

Van de Braak, K. 2002. *Haemocytic Defence in Balck Tiger Shrimp (Penaeus monodon).* PhD Thesis, Wageningen University. Netherland.

Yamin, M., Neltje N, dan Rachmansyah. 2008. Aktivitas enzim protease dalam lambung dan usus ikan kerapu macan setelah pemberian pakan. 3 (1) : 1

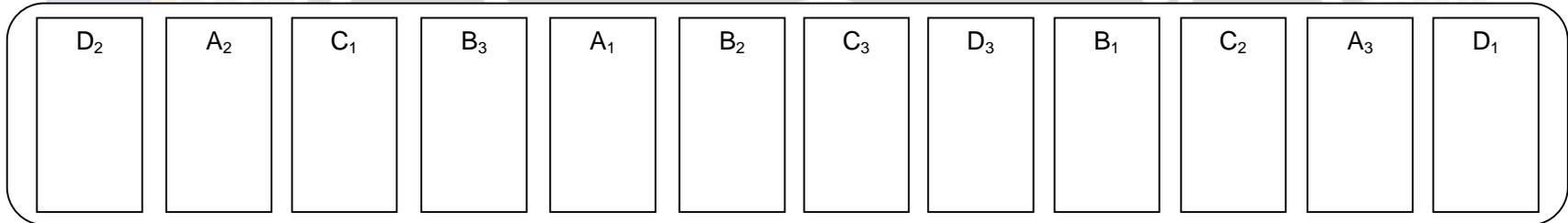
Yeh, S.T, Chiu S. Lee and Jiann C. C. 2006. Administration of hot-water extract of brown seaweed *Sargassum duplicatum* via immersion and injection enhances the immune resistance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology* 20 (2006) : 332-345. Abstract

Zulkifli. 2010. Konsentrasi nitrat yg berbeda pada media kultur terhadap pertumbuhan *Chaetoceros* sp. Balai Benih Ikan Pantai (BBIP), Kelurahan Kampal, Kecamatan Parigi Utara, Kabupaten Parigi Moutong, Provinsi Sulawesi Tengah. 7 hal.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Denah penelitian



Keterangan :

Perlakuan : A, B, C dan D

Ulangan : 1, 2 dan 3

Lampiran 2. Hasil perhitungan data aktivitas enzim protease pasca pemberian pakan imunostimulan *Chaetoceros ceratosporum* (sebelum dan sesudah infeksi *vibrio harveyi*)

A. Data Hasil Perhitungan Aktivitas Enzim Protease Pasca Pemberian Pakan Imunostimulan *Chaetoceros Ceratosporum* (Sebelum Infeksi *Vibrio Harveyi*)

Perlakuan (%)	Sampel	Absorbansi			Aktivitas Enzim Protease (unit)
		Blanko	Sampel	Standar	
0	A1	0.025	0.052	0.04	0.06
	A2	0.029	0.055	0.043	0.06
	A3	0.025	0.048	0.04	0.05
3,04	B1	0.025	0.073	0.041	0.1
	B2	0.026	0.071	0.042	0.09
	B3	0.024	0.072	0.04	0.1
6,08	C1	0.038	0.064	0.042	0.22
	C2	0.035	0.063	0.039	0.23
	C3	0.037	0.069	0.042	0.21
9,12	D1	0.03	0.071	0.042	0.11
	D2	0.025	0.079	0.04	0.12
	D3	0.027	0.082	0.042	0.12

B. Data Hasil Perhitungan Aktivitas Enzim Protease Pasca Pemberian Pakan Imunostimulan *Chaetoceros Ceratosporum* (Sesudah Infeksi *Vibrio Harveyi*)

perlakuan (%)	Sampel	Absorbansi			Aktivitas Enzim Protease
		Blanko	Sampel	Standar	
0	A1	0.025	0.03	0.04	0.01
	A2	0.025	0.031	0.041	0.01
	A3	0.024	0.03	0.04	0.01
3,04	B1	0.025	0.038	0.041	0.03
	B2	0.026	0.038	0.041	0.03
	B3	0.024	0.039	0.04	0.03
6,08	C1	0.035	0.055	0.042	0.1
	C2	0.03	0.059	0.039	0.11
	C3	0.036	0.052	0.042	0.09
9,12	D1	0.03	0.043	0.042	0.04
	D2	0.028	0.042	0.04	0.04
	D3	0.027	0.042	0.042	0.03

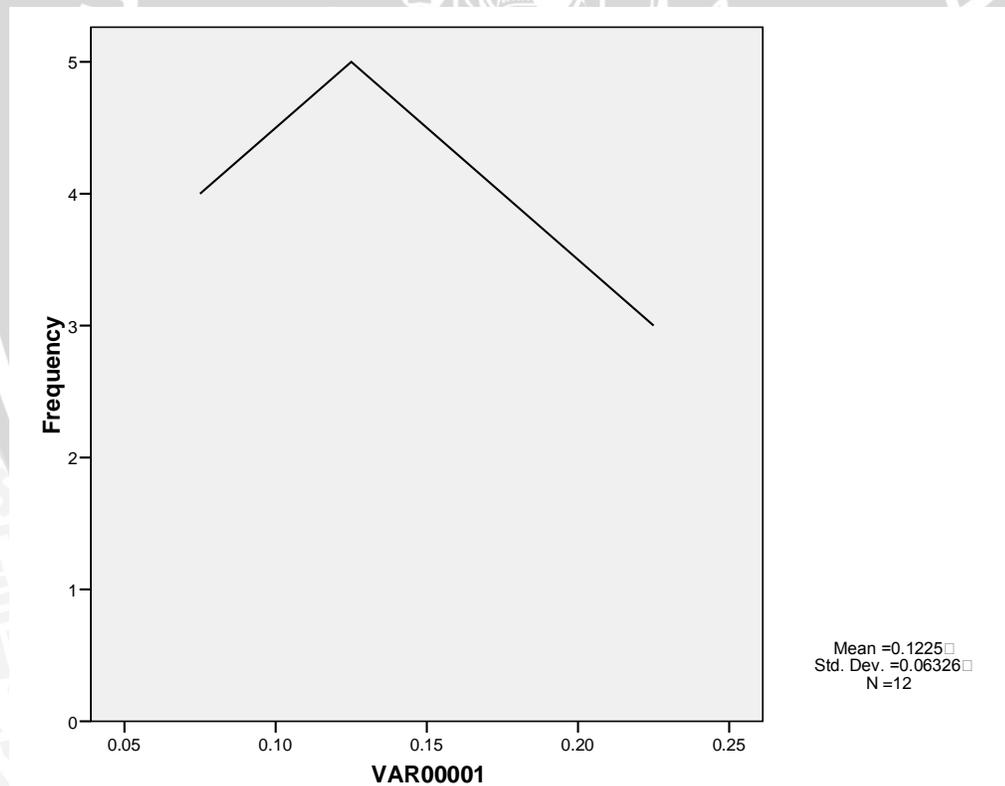
Lampiran 3. Uji normalitas aktivitas enzim protease pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) sebelum diinfeksi *Vibrio harveyi*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

			VAR00001
			1
N			12
Normal Parameters(a,b)	Mean		.1225
	Std. Deviation		.06326
Most Extreme Differences	Absolute		.266
	Positive		.266
	Negative		-.167
Kolmogorov-Smirnov Z			.921
Asymp. Sig. (2-tailed)			.365

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.



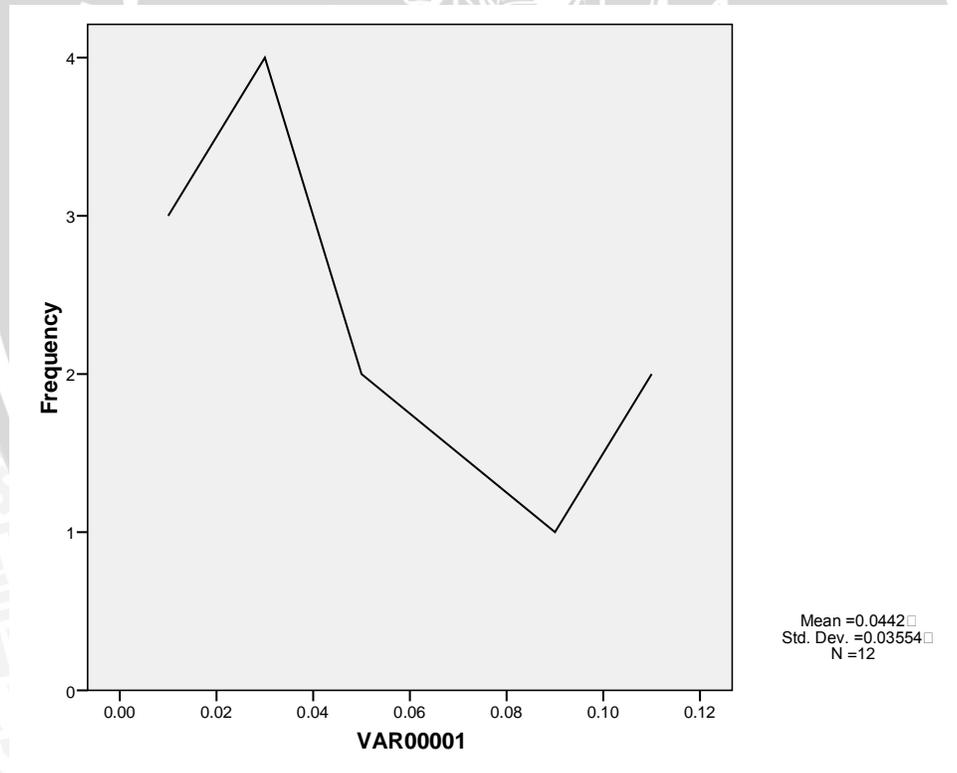
Lampiran 4. Uji normalitas aktivitas enzim protease pada udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) sesudah diinfeksi *Vibrio harveyi*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

			VAR00001
			1
N			12
Normal Parameters(a,b)	Mean		.0442
	Std. Deviation		.03554
Most Extreme Differences	Absolute		.297
	Positive		.297
	Negative		-.168
Kolmogorov-Smirnov Z			1.028
Asymp. Sig. (2-tailed)			.241

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.



Lampiran 5. Perhitungan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) dan BNT (Beda Nyata Terkecil) pada penelitian sebelum dan sesudah infeksi *Vibrio harveyi*

A. Perhitungan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) dan BNT (Beda Nyata Terkecil) pada penelitian sebelum diinfeksi *Vibrio harveyi*

Perlakuan	Ulangan			Total P	r	Rerata	Standart Deviasi
	1	2	3				
A	0.06	0.06	0.05	0.17	3	0.06	0.006
B	0.1	0.09	0.1	0.29	3	0.1	0.006
C	0.22	0.23	0.21	0.66	3	0.22	0.01
D	0.11	0.12	0.12	0.35	3	0.12	0.006
Total				1.47	12	0.49	

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{G^2}{r} = \frac{1.47^2}{12}$$

$$= 0,180$$

$$\text{JK Total} = (0.06^2 + 0.06^2 + 0.05^2 + 0.1^2 + 0.09^2 + 0.1^2 + 0.22^2 + 0.23^2 + 0.21^2 + 0.11^2 + 0.12^2 + 0.12^2) - \text{FK}$$

$$= 0.224 - 0,180$$

$$= 0.0440$$

$$\text{JK Perlakuan} = \frac{(0.17)^2 + (0.29)^2 + (0.66)^2 + (0.35)^2}{3} - \text{FK}$$

$$= 0.2236 - 0.180$$

$$= 0.0436$$

$$\text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan}$$

$$= 0.0440 - 0.0436$$

$$= 0.0004$$

Lampiran 5. (Lanjutan)

Tabel Sidik Ragam

Sbr keragaman	dB	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0.044	0.015	290.83**	4.07	7.59
Acak	8	0.0004	0.00005			
Total	11					

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

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

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2\text{KT Acak}}{\text{Ulangan}}}$$

$$= \sqrt{\frac{2(0,00005)}{3}}$$

$$= 0,005774$$

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

$$= 2.31 \times 0.005774$$

$$= 0.01333679$$

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

$$= 3.36 \times 0.005774$$

$$= 0.02$$

Lampiran 5. (lanjutan)

Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rerata Perlakuan	A=0.06	B=0.1	D=0.12	C=0.22	Notasi
A=0.06	-	-	-	-	a
B= 0.1	0.04**	-	-	-	b
D=0.12	0.06**	0.02**	-	-	c
C=0.22	0.16**	0.12**	0.1**	-	d

Keterangan : (**) = Sangat berbeda nyata

Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	0,17	-3	1	-1
B	0,29	-1	-1	3
C	0,66	1	-1	-3
D	0,35	3	1	1
Q = $\sum (Ci Ti)$		0,91	-0,43	-0,93
Kr = $\sum (Ci^2)r$		60	12	60
JK Reg. = Q^2/Kr		0,014	0,02	0,01

Tabel Sidik Ragam Regresi

sumber keragaman	Db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,04			5,32	11,26
Linear	1	0,014	0.014	280**		
Kuadratik	1	0,02	0.02	400**		
Kubik	1	0,01	0.01	200**		
Acak	8	0,0004	0,00005			

Keterangan : ** Berbeda Sangat Nyata

Lampiran 5. (lanjutan)

$$\begin{aligned} R^2 \text{ linear} &= \frac{JK_{\text{Linear}}}{JK_{\text{Linear}} + JK_{\text{Acak}}} \\ &= \frac{0.014}{0.014 + 0.0004} \\ &= 0.972 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK_{\text{Acak}}} \\ &= \frac{0.02}{0.02 + 0.0004} \\ &= 0.980 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2 \text{ Kubik} &= \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} \\ &= \frac{0.01}{0.01 + 0.0004} \\ &= 0.962 \end{aligned}$$

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

UJ	-1.5	-0.5	0.5	1.5	Rerata
Perlakuan	0	3.04	6.08	9.12	4.56
xrata	456.0%				
Perlakuan	0.0%	304.0%	608.0%	912.0%	
n = 12	0.06	0.1	0.22	0.11	
r = 3	0.06	0.09	0.23	0.12	
	0.05	0.1	0.21	0.12	Total
Yij	0.17	0.29	0.66	0.35	1.47
Uj	-1.5	-0.5	0.5	1.5	0
Uj ²	2.25	0.25	0.25	2.25	5
Uj ⁴	5.0625	0.0625	0.0625	5.0625	10.25
$\sum u_j Y_{ij}$	-0.255	-0.145	0.33	0.525	0.455
$\sum u_j^2 Y_{ij}$	0.3825	0.0725	0.165	0.7875	1.4075

Lampiran 5. (Lanjutan)

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

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

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

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

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

Keterangan :

Y_{ij} : nilai pengamatan

X_j : nilai taraf dari pada factor

N : banyaknya pengamatan

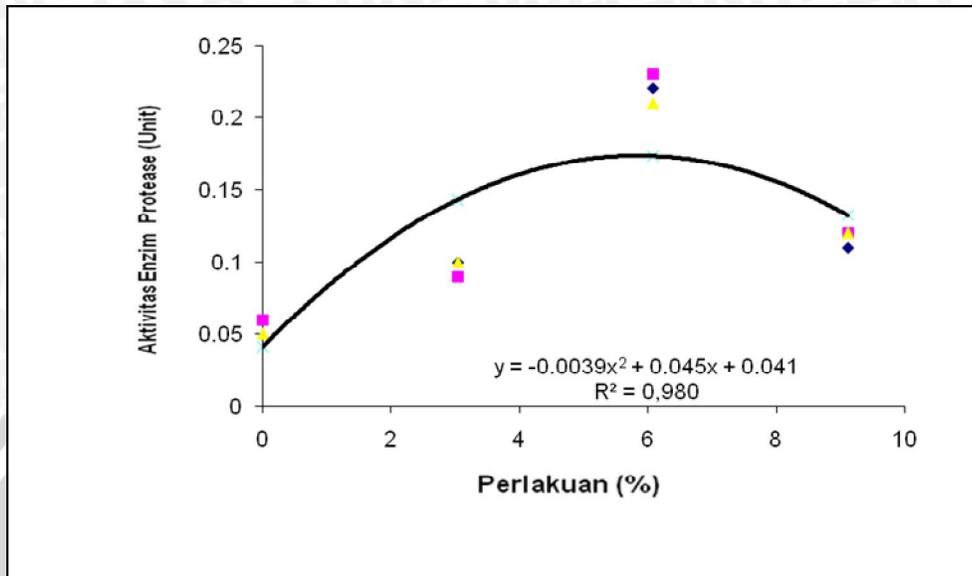
$$Y = 0.0412 + 0.0453X - 0.0039X^2$$

x	y
0	0.04
3,04	0.14
6,08	0.17
9,12	0.13

Untuk Membuat Grafik Trend line berdasar seri 4 dari Y

Sumbu X	Sumbu Y			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Hasil Aktivitas Enzim Protease dari Persamaan 4
0	0.06	0.06	0.05	0.04
3.04	0.10	0.09	0.10	0.14
6.08	0.22	0.23	0.21	0.17
9.12	0.11	0.12	0.12	0.13

Lampiran 5. (lanjutan)



Lampiran 5. (lanjutan)

B. Perhitungan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) dan BNT (Beda Nyata Terkecil) pada penelitian sebelum diinfeksi *Vibrio harveyi*

Perlakuan	Ulangan			Total P	r	Rerata	Standart Deviasi
	1	2	3				
A	0.01	0.01	0.01	0.03	3	0.01	0
B	0.03	0.03	0.03	0.09	3	0.03	0
C	0.1	0.11	0.09	0.3	3	0.1	0,01
D	0.04	0.04	0.03	0.11	3	0.04	0,006
Total				0.53	12	0.18	

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{G^2}{r} = \frac{0.53^2}{12}$$

$$= 0.023$$

$$\text{JK Total} = (0.01^2 + 0.01^2 + 0.01^2 + 0.03^2 + 0.03^2 + 0.03^2 + 0.1^2 + 0.11^2 + 0.09^2 + 0.04^2 + 0.04^2 + 0.03^2) - \text{FK}$$

$$= 0.0373 - 0.023$$

$$= 0.0143$$

$$\text{JK Perlakuan} = \frac{(0.03)^2 + (0.09)^2 + (0.3)^2 + (0.11)^2}{3} - \text{FK}$$

$$= \frac{0.1111}{3} - 0.023$$

$$= 0.0140$$

$$\text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan}$$

$$= 0.0143 - 0.0140$$

$$= 0.0003$$

Lampiran 5. (lanjutan)

Tabel Sidik Ragam

Sumber keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0.0140	0.00467	136.25**	4.07	7.59
Acak	8	0.0003	0.0000375			
Total	11	0.259				

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

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

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2KT \text{ Acak}}{\text{Ulangan}}}$$

$$= \sqrt{\frac{2(0.0000375)}{3}}$$

$$= 0.005$$

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

$$= 2.31 \times 0.005$$

$$= 0.01155$$

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

$$= 3.36 \times 0.005$$

$$= 0.0168$$



Lampiran 5. (lanjutan)

Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rerata Perlakuan	A=0.01	B=0.03	D=0.04	C=0.1	Notasi
A=0.01	-	-	-	-	a
B=0.03	0.02**	-	-	-	b
D=0.04	0.03**	0.01 ^{ns}	-	-	b
C=0.1	0.09**	0.07**	0.06**	-	c

Keterangan : (ns) = Tidak berbeda nyata
 (**) = Sangat berbeda nyata

Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	0,03	-3	1	-1
B	0,09	-1	-1	3
C	0,3	1	-1	-3
D	0,11	3	1	1
Q = $\sum (Ci Ti)$		0.45	25	-55
Kr = $\sum (Ci^2)r$		60	12	60
JK Reg. = Q^2/Kr		0.003	0.01	0.01

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0.01				
Linear	1	0.003	0.003	80	5.32	11.26
Kuadratik	1	0.01	0.01	266.67		
Kubik	1	0.01	0.01	266.67		
Acak	8	0.0003	0.0000375			
Total	11					

Lampiran 5. (lanjutan)

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

$$= \frac{0.003}{0.003 + 0.0003}$$

$$= 0.91$$

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

$$= \frac{0.01}{0.01 + 0.0003}$$

$$= 0.971$$

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

$$= \frac{0.01}{0.01 + 0.0003}$$

$$= 0.971$$

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

UJ	-1.5	-0.5	0.5	1.5	Rerata
Perlakuan	0	3.04	6.08	9.12	4.56
xrata	456.0%				
Perlakuan	0.0%	304.0%	608.0%	912.0%	
n = 12	0.01	0.03	0.1	0.04	
r = 3	0.01	0.03	0.11	0.04	
	0.01	0.03	0.09	0.03	Total
Yij	0.03	0.09	0.3	0.11	0.53
Uj	-1.5	-0.5	0.5	1.5	0
Uj ²	2.25	0.25	0.25	2.25	5
Uj ⁴	5.0625	0.0625	0.0625	5.0625	10.25
∑ujYij	-0.045	-0.045	0.15	0.165	0.225
∑uj ² Yij	0.0675	0.0225	0.075	0.2475	0.4125

Lampiran 5. (lanjutan)

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

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

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

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

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

Keterangan :

Y_{ij} : nilai pengamatan

X_j : nilai taraf dari pada factor

N : banyaknya pengamatan

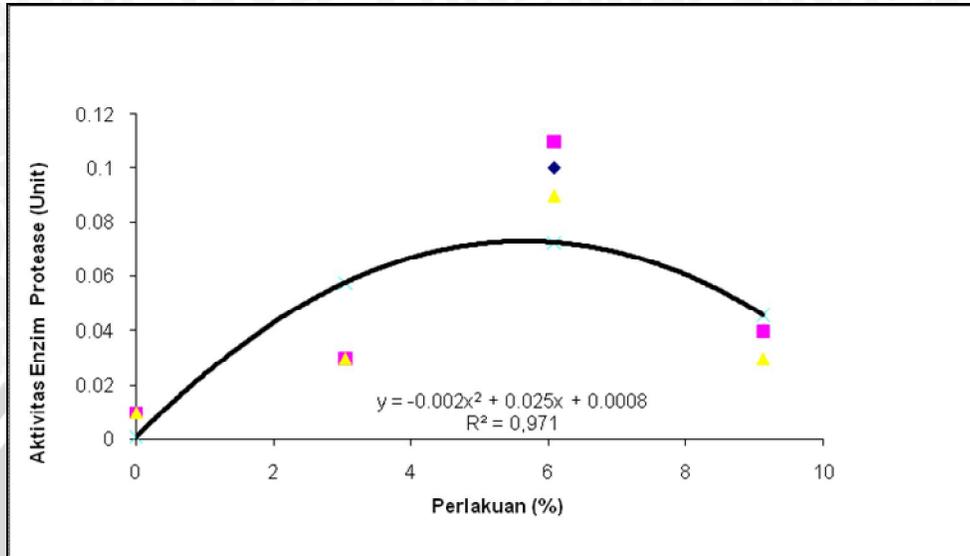
$$Y = 0.00083 + 0.02549X - 0.0023X^2$$

x	y
0	0.00
3,04	0.06
6,08	0.07
9,12	0.05

Untuk Membuat Grafik Trend line berdasar seri 4 dari Y

Sumbu x	Sumbu Y			Hasil Enzim Protease Persamaan	Aktivitas dari
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0	0.01	0.01	0.01	0.00	
3,04	0.03	0.03	0.03	0.06	
6,08	0.10	0.11	0.09	0.07	
9,12	0.04	0.04	0.03	0.05	

Lampiran 5. (lanjutan)



DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2010. Udang Windu. <http://www.google.com/images-udang-windu.com>. Diakses tanggal 28 November 2010
- _____.2010. *Chaetoceros* sp.<http://www.google.com/images-caetoceros-sp.com>. Diakses tanggal 28 November 2010
- Amri, K. 2005. Budidaya Udang Windu Secara Intensif. Agromedia Pustaka. Jakarta. 98 hal
- Bahgat,M, M.Doenhoff, M.Kirschfink and A. Ruppel. 2002. Serine Protease and Phenoloksidase Activities in Hemocytes of *Biomphalaria glabrata* Snails with Varying Susceptibility to Infection With The Parasite *Schistosoma mansoni*. *Parasitol Res* (2002) **88** : 489-494.
- Bandungense, H. 2010. Klasifikasi Tumbuhan *Chaetoceros ceratosporum*. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 1 hal
- Buwono, I. D. 2000. Kebutuhan Asam Amino Essensial dalam Ransum Pakan Ikan. Kanisius. Yogyakarta. 55 hal.
- Djarajah, A.S. 1995. Pakan Ikan Alami. Kanisius. Yogyakarta. 87 hal
- Ekawati, A. W. 2005. Budidaya Makanan Alami. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 100 hal.
- Hypericum. 2008. [Multi-Life Complete vitamin blend with 72 trace minerals, Electrolytes, Brain Support blend and 10 Enzyme pattern bursts.](http://hypericum.wordpress.com/) Diakses tanggal 01 Mei 2011 Pukul 09.00 WIB.
- Irianto, A., 2004. Patologi Ikan Teleostei. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Johansson MW and K. Soderhall 1989. Cellular immunity in crustaceans and the proPO system. *Parasitology Today*. 5 : 171-176
- Kordi, M. G. 2010. **Pakan Udang**. Akademia. Jakarta. 223 hal.
- Juliantok, E. 2002. Isolasi dan Seleksi Bakteri *Vibrio* sp. sebagai Biokontrol Untuk Penyakit Kunang-Kunang Pada Larva Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.). Fakultas perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB. Bogor. 56 hal
- Lamadi, A. 2009. Pembenihan udang windu (*Penaeus monodon*). <http://limiadi.blogspot/pembenihan-udang-windu-penaeus-monodon.html>.Diakses tanggal 28 November 2010
- Murtidjo, B.A., 2003. Benih Udang Windu Skala Kecil. Kanisius. Yogyakarta. 84 hal

- Natzir. 1983. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta. 216 hal
- Febrianto, C.A. 2009. Potensi *Trichoderma* sp. sebagai Bahan Antibakterial dan Imunostimulan pada Udang Vaname, *Litopenaeus vannamei*. Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 10 hal
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan-Udang Bakteri. Penerbit universitas Negri Malang (UM Press). Malang. 107 hal
- Raa, Jan. 2000. *The Use of Immune-Stimulants in Fish and Shellfish Feeds*. Avances en Nutricion Acuicola V. memoras del V Simposium Internacional de Nutricion Acuicola. 19-22 Nopember 2000. Merida, Yucatan. Mexico.
- Citarasu T.V.S, Grasian I, Namita R and Vadivel M. 2006. Influence of Selected Indian Immunostimulant Herbs Againsts White Spot Syndrome Virus (WSSV) Infection in Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon* With Reference to Haematological, Biochemical and Immunological Changes. *Fish&Shellfish Immunology* **21** (2006) : 372-384.
- Sahoo, B, S. Sethi, B. K. Mishra and B. K. Das. 2005. Effects Elecitors on Prophenonoxidase and Superoxide Anion Activities of Freshwater Prawn, *Macrobrachium malcolmsonii*. *Asian Fisheries Science* **18** (2005): 345-353
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius. Yogyakarta. 276 hal
- Scombes, C.J. 1994. *Enhancement of Fish Phagocyte Activity*. Fish and Shellfish Immunology, 4 : 421-436.
- Smith, V.J, J.H Brown and C. Hauton. 2003. Immunostimulation in Crustaceans: Does it Really Protect Against Infection?. *Fish & Shellfish Immunology* **15**: 71-90
- Soetomo, M.J.A., 2000. Teknik Budidaya Udang Windu (*Penaeus monodon*). Kansius. Yogyakarta. 76 hal
- Sritunyalucksana, K. 2001. *Characteristic of Some Immune Genes in the Black Tiger Shrimp, Penaeus monodon*. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from The Faculty of Science and Technology. Uppsala University.Sweden. 91 (3) : 3-4
- Sumeru, S. U dan Suzy, A. 2005. Pakan Udang Windu (*Penaeus monodon*). Kanisius. Yogyakarta. 94 hal.
- Sumeru, S. U. 2008. Budidaya Perikanan pada tiap jenis ikan. Fishblogs. http://hobiikan.blogspot.com/2008/10/tetraselmis-chuii_chaetoceros.html. Diakses tanggal 28 November 2010
- Sumisdiyanto. 2009. PENGARUH IMMUNOSTIMULAN BAKTERIN *Vibrio alginolyticus* TERHADAP RESPON IMMUN SELULER UDANG WINDU (*Penaeus monodon*) YANG DIPAPAR BAKTERI *Vibrio alginolyticus*. Universitas Brawijaya. Malang

- Suyanto, S.R dan A. Mujiman., 1994. Budidaya Udang Windu. Penebar Swadaya. Jakarta.97 hal
- Toro, V dan Soegiarto. 1979. Biologi Udang Windu. Proyek Penelitian Sumberdaya Ekonomi. Lembaga Oceanoligi LIPI. Jakarta. 144 Hal.
- Usman, B. 2010. Immunomodulator, Imunosupresan, Immunostimulan. Universitas Indonesia. Jakarta. 17 hal
- Walter HE.1984.*Method with haemoglobin, casein, and azocoll as substrate* In. Bergmeyer. HU (ed). Methods of enzymatic analysis. Verlag Chemie. Deerfield Beach Florida Basel.
- Wheny. 2010. ENZIM (SIFAT – SIFAT UMUM). Institut Pertanian Bogor.Bogor. 26 hal
- Van de Braak, K. 2002. *Haemocytic Defence in Balck Tiger Shrimp (Penaeus monodon)*. PhD Thesis, Wageningen University. Netherland.
- Yamin, M., Neltje N, dan Rachmansyah. 2008. Aktivitas enzim protease dalam lambung dan usus ikan kerapu macan setelah pemberian pakan. 3 (1) : 1
- Yeh, S.T, Chiu S. Lee and Jiann C. C. 2006. Administration of Hot-Water Extract of Brown Seaweed *Sargassum duplicatum* Via Immersion and Injection Enhances The Immune Resistance of White Shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology* **20** (2006) : 332-345.
- Zulkifli. 2010. Konsentrasi nitrat yg berbeda pada media kulkur terhadap pertumbuhan Chaetoceros sp. Balai Benih Ikan Pantai (BBIP), Kelurahan Kampal, Kecamatan Parigi Utara, Kabupaten Parigi Moutong, Provinsi Sulawesi Tengah. 7 hal.