

**ANALISIS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE PADA UDANG WINDU
(*Penaeus monodon* Fabricius) YANG DIINFEKSI *Vibrio harveyi*
PASCA PEMBERIAN IMUNOSTIMULAN PILI *Vibrio alginolyticus***

SKRIPSI

PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Oleh:

SEPTIAN KUSUMA H.

NIM. 0710850009-85

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BUDIDAYA PERAIRAN

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2011

**ANALISIS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE PADA UDANG WINDU
(*Penaeus monodon* Fabricius) YANG DIINFEKSI *Vibrio harveyi*
PASCA PEMBERIAN IMUNOSTIMULAN PILI *Vibrio alginolyticus***

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

Oleh:

**SEPTIAN KUSUMA H.
NIM. 0710850009-85**

Dosen Penguji I

**(Ir. HENY SUPRASTYANI, MS.)
NIP. 19620904 198701 2 001
Tanggal:**

Dosen Penguji II

**(ATING YUNIARTI, S.Pi., M. Aqua)
NIP. 19750604 199903 2 002
Tanggal:**

**Menyetujui
Dosen Pembimbing I**

**(Prof. Ir. MARSOEDI, Ph.D)
NIP. 19460320 197303 1 001
Tanggal:**

Dosen Pembimbing II

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

**Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP**

**(Dr. Ir. HAPPY NURSYAM, MS.)
NIP. 19600322 198601 1001
Tanggal:**

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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



Malang, Juli 2011

Septian Kusuma H.

RINGKASAN

SEPTIAN KUSUMA H. Analisis Enzim Superoksida Dismutase pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius) yang Diinfeksi *Vibrio harveyi* Pasca Pemberian Imunostimulan Pili *Vibrio alginolyticus*. (di bawah bimbingan **Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D.** dan **Ir. Anik Martinah Hariati, M.Sc.**).

Selama satu dasawarsa terakhir, produksi budidaya udang windu secara nasional mengalami penurunan menjadi 70 ribu ton per tahun. Penyebab utama penurunan produksi udang hingga sekarang adalah kematian karena penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi*, *V. splendidus*, *V. fisherii* dan *V. parahaemoliticus*. Bakteri *Vibrio alginolyticus* yang hidup di perairan laut dan payau ternyata selain menjadi patogen juga dapat berperan sebagai kandidat imunostimulan. β -glukan dan LPS merupakan salah satu jenis protein dan polisakarida yang melimpah pada dinding sel bakteri yang mampu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag dan kekebalan tubuh ikan Mas (*Cyprinus carpio*) dalam menghadapi infeksi bakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peningkatan aktivitas enzim superoksida dismutase dan mendapatkan konsentrasi yang optimal dalam penggunaan Pili bakteri *V. alginolyticus* untuk meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (*Penaeus monodon* Fabricius) dengan bobot rata-rata $20 \pm 0,81$ gram/ekor. Penelitian ini dilaksanakan di Unit Pelaksana Teknis Pengembangan Budidaya Air Payau (UPT-PBAP) Bangil, Pasuruan dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 14 Desember 2010 sampai dengan 31 Maret 2011.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, sedangkan rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan tiga kali ulangan. Perlakuan tersebut yaitu kontrol normal, kontrol infeksi serta pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 10 $\mu\text{g/ekor}$, 20 $\mu\text{g/ekor}$ dan 30 $\mu\text{g/ekor}$. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur, digunakan analisis keragaman atau uji F. Apabila nilai F berbeda nyata atau sangat berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Parameter utama dalam penelitian ini adalah aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu yang diinfeksi dengan *V. harveyi*, sedangkan parameter penunjangnya adalah kualitas air yang meliputi suhu, oksigen terlarut, pH dan salinitas.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu. Nilai maksimum pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase pada konsentrasi 23,33 $\mu\text{g/ekor}$ dengan nilai aktivitas enzim superoksida dismutase sebesar 61,61 unit/ml. Kisaran kualitas air yang

didapatkan yaitu suhu 27 – 31 °C, oksigen terlarut (DO) 4,00 – 4,85 mg/l, pH 7,512 – 8,048 dan salinitas saat infeksi 26 ppt. Pemberian imunostimulan *Pili V. alginolyticus* dengan konsentrasi 23,33 µg/ekor disarankan untuk digunakan dalam rangka meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase serta mencegah adanya serangan penyakit pada udang windu.



KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan mengucapkan puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala anugerah dan karunia-Mu, penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi yang berjudul **Analisis Enzim Superoksida Dismutase pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius) yang Diinfeksi *Vibrio harveyi* Pasca Pemberian Imunostimulan Pili *Vibrio alginolyticus***. Laporan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

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

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

Malang, Juli 2011

Penulis

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
 الشُّكْرُ لِلَّهِ وَالْحَمْدُ لِلَّهِ وَرِكَاتُهُ

'Dan Dia-lah Tuhan yang membentangkan bumi dan menjadikan gunung-gunung dan sungai-sungai padanya. Dan menjadikan padanya semua buah-buahan berpasang-pasangan, Allah menutupkan malam kepada siang. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan'
 QS Ar Ra'd: 3

Alhamdulillahirobbilalamin..Segala puji syukur bagi Allah Tuhan semesta alam, hamba panjatkan atas rahmat dan hidayah-Mu sehingga dapat menyelesaikan studi dan mendapat gelar S.Pi...

Lewat sedikit tulisan ini, ijinlah kuucap terima kasih kepada:

Keluarga ku : Papa (Alm. Abdul Hadji) dan Mama (Farida Aini) terima kasih atas segala yang telah diberikan kepadaku selama ini..sungguh tidak bisa aku membalas kasih sayang, perhatian, pengorbanan, dukungan yang telah beliau berikan dan semoga Allah membalas kebaikan kedua orang tua ku....mbak Ucik, mas Adi, mas Bobby kakak-kakak ku yang aku banggakan dan selalu setia memberi dukungan, bantuan serta ilmu...dan seluruh keluarga besarku...semoga apa yang kalian berikan bisa bermanfaat bagiku saat ini dan nanti..



Bapak M. Rozik : Terima kasih banyak atas ijin yang bapak berikan kepada saya untuk bisa ikut dalam penelitian S-3 bapak. Banyak pengalaman, ilmu, bantuan serta motivasi yang saya dapat dari bapak...semoga semua itu bisa bermanfaat bagi saya...sekali lagi saya ucapkan terima kasih..

Bapak Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D. : Terima kasih atas kesabaran, dukungan, ilmu serta waktu yang telah bapak luangkan dalam proses studi saya. Mohon maaf bila

pada saat bimbingan, saya banyak membuat kesalahan dan semoga ilmu yang bapak berikan dapat bermanfaat bagi saya.

Ibu Ir. Anik Martinah Hariati, MSc. : Terima kasih atas kesabaran, dukungan, ilmu serta waktu yang telah ibu luangkan dalam proses studi saya. Mohon maaf jika saya telah banyak mengganggu kesibukan ibu dan semoga ilmu yang ibu berikan dapat bermanfaat bagi saya.

Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS. : Terima kasih atas ilmu serta waktu yang telah ibu luangkan untuk menguji skripsi saya. Semoga ilmu yang ibu berikan dapat bermanfaat bagi saya.

Ibu Ating Yuniarti, S.Pi. M.Aqua : Terima kasih atas ilmu serta waktu yang telah ibu luangkan untuk menguji skripsi saya. Semoga ilmu yang ibu berikan dapat bermanfaat bagi saya.

Teman-teman ku 'Tim Bangil' : (Dani, Oci, Nayla) terima kasih banyak teman..terima kasih atas kebersamaan, bantuan dan semua yang telah kita lakukan bersama...Alhamdulillah qt bisa melewati segala cobaan dalam penelitian dan akhirnya bisa mendapat gelar S.Pi....sukses buat kalian..Amin



Keluarga besar BP '07 mbait pweatill : (fitri, caca, arin, wahyu, marinda, lutfi, vivy, faad, mamal, riNtong, desi, adit, haris, yusep, dio, bahay, win, yayub, ndut, kanyah,sulis, dani, hendi, murna, kiki, oci, abdi, jeje, su, gokih, nayla) kalian adalah keluarga yang sangat aq banggakan. terima kasih telah menjadi keluarga yang baik dan semoga qt bisa menjaga kekeluargaan ini sampai kapanpun.. sukses buat kalian semua..Amin.

Untuk Lief Q tersayang **Sulistiwati**...terima kasih sayang.. sudah dengan sabar menemani, membantu, memberi semangat, berbagi ilmu, pengalaman, trz satu hal yang paling penting...cerewet bgt dlm hal pengerjaan laporan dan acc, terimakasih banyak sayang dan semoga Allah SWT mengijinkan qt tetap slalu bersama..Amin

Dan semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu-satu di sini....terima kasih banyak dan semoga Allah SWT membalas semua kebaikan kalian semua...Amin

وَالسَّلَامُ عَلَيْكُمْ وَرَحْمَةُ اللَّهِ وَبَرَكَاتُهُ

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Hipotesis.....	5
1.6 Tempat dan Waktu.....	5
2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Biologi Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fabricius).....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	6
2.1.2 Habitat dan Penyebaran.....	7
2.1.3 Siklus Hidup dan Perkembangbiakan.....	8
2.1.4 Sistem Imun Udang Windu (<i>P. monodon</i> Fabricius).....	10
2.2 <i>V. harveyi</i>	12
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	12
2.2.2 Aktivitas dan Pertumbuhan.....	13
2.2.3 Patogenitas.....	14
2.3 <i>V. alginolyticus</i>	16
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	16
2.2.2 Aktivitas dan Pertumbuhan.....	17
2.2.3 Pili.....	18
2.4 Enzim Superoksida Dismutase.....	20
2.5 Imunostimulan.....	22
3 MATERI DAN METODE PENELITIAN	25
3.1 Materi Penelitian.....	25
3.1.1 Alat.....	25
3.1.2 Bahan.....	25
3.2 Metode Penelitian.....	26
3.3 Rancangan Penelitian.....	26

3.4	Prosedur Penelitian.....	28
3.4.1	Pembuatan Biakan Murni <i>V. harveyi</i>	29
3.4.2	Penentuan Konsentrasi Infeksi Bakteri <i>V. harveyi</i>	30
3.4.3	Persiapan Udang Uji	30
3.4.4	Pemberian Imunostimulan pada Udang Windu.....	31
3.4.5	Uji Tantang <i>V. harveyi</i>	32
3.4.6	Pengambilan Hemolim	32
3.4.7	Uji Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase.....	32
3.5	Parameter Uji	34
3.5.1	Parameter Utama	34
3.5.2	Parameter Penunjang.....	34
3.6	Analisis Data	34
4	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
4.1	Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase.....	35
4.2	Kualitas Air.....	41
4.2.1	Oksigen Terlarut (DO)	42
4.2.2	pH.....	42
4.2.3	Suhu.....	43
4.2.4	Salinitas.....	44
5	KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
5.1	Kesimpulan	46
5.2	Saran	46
	DAFTAR PUSTAKA.....	47
	LAMPIRAN.....	52



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data aktivitas enzim superoksida dismutase pada hemolim udang windu (<i>P. monodon</i> Fabricius) 24 jam setelah diinfeksi bakteri <i>V. harveyi</i>	35
2. Sidik ragam aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (<i>P. monodon</i> Fabricius) yang diinfeksi bakteri <i>V. harveyi</i>	35
3. Uji BNT aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (<i>P. monodon</i> Fabricius) yang diinfeksi bakteri <i>V. harveyi</i>	36
4. Data kisaran hasil pengukuran kualitas air media pemeliharaan udang windu (<i>P. monodon</i> Fabricius) selama penelitian	42



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Udang windu (<i>P. monodon</i> Fabricius)	6
2. Morfologi udang windu	7
3. Siklus hidup udang windu	9
4. Sel darah udang windu (<i>P. monodon</i> Fabricius).....	11
5. <i>V. harveyi</i>	13
6. <i>V. alginolyticus</i>	16
7. Struktur sel bakteri gram negatif	18
8. Pili bakteri	19
9. Denah penelitian	27
10. Kerangka operasional penelitian	28
11. Prosedur uji aktivitas enzim superoksida dismutase	33
12. Hubungan antara perlakuan pemberian imunostimulan Pili <i>V. alginolyticus</i> dengan aktivitas enzim superoksida dismutase udang windu (<i>P. monodon</i> Fabricius) setelah diinfeksi bakteri <i>V. harveyi</i>	39



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Peralatan yang Digunakan.....	52
2. Bahan-bahan yang Digunakan.....	54
3. Penghitungan Konsentrasi Pili	56
4. Pengukuran Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase	57
5. Uji Normalitas Data Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase.....	58
6. Analisis Statistik Data Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase	59
7. Data Hasil Pengukuran DO (ppm) dan pH	66
8. Data Hasil Pengukuran Suhu dan Salinitas.....	68



1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Udang merupakan salah satu komoditas primadona di sub sektor perikanan yang diharapkan dapat meningkatkan devisa negara. Awal dekade 1980-an merupakan momentum yang sangat penting bagi dimulainya usaha budidaya udang di Indonesia. Kebijakan pemerintah, seperti larangan penggunaan jaring trawl dan berbagai kebijaksanaan yang mendukung peningkatan komoditas ekspor non migas pada tahun 1980 merupakan faktor yang merangsang pengusaha perikanan untuk lebih berorientasi pada peningkatan produksi udang melalui usaha budidaya (Sumeru dan Anna, 1992).

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

Eksistensi udang windu (*Penaeus monodon* Fabricius) di Indonesia masih sangat diperlukan untuk meningkatkan produksi udang nasional. Salah satu upaya untuk mengembalikan nilai ekonomis udang windu dan menjadikan primadona andalan komoditas ekspor non migas dari sektor perikanan, dapat dilakukan dengan penerapan teknologi yang inovatif. Penyebab utama

penurunan produksi udang hingga sekarang adalah kematian udang yang disebabkan penyakit (Mahasri, 2008). Menurut Prajitno (2007), salah satu kendala dalam perkembangan budidaya udang windu adalah masalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *V. harveyi*, *V. splendidus*, *V. fisherii* dan *V. parahaemoliticus*.

Pertumbuhan bakteri *vibriosis* sangat merugikan petani tambak udang windu bahkan mengakibatkan gagal panen. Bakteri *Vibrio* melakukan serangan secara ganas dan cepat sehingga dapat menimbulkan kematian total serta menyerang udang di pembenihan maupun pembesaran. Serangan bakteri *vibriosis* merupakan masalah utama yang dihadapi petambak udang windu pada awal tahun 1990 hingga sekarang. Penyakit di kalangan petani tambak lebih dikenal dengan nama serangan penyakit udang menyala, karena udang yang sudah terserang pada lingkungan gelap akan tampak bercahaya (Rozi, 2008).

Pengendalian penyakit harus dilakukan sejak dini dan dimulai dari awal budidaya baik pada pembenihan maupun pembesaran udang windu. Hal yang harus diperhatikan dalam tindakan itu adalah keamanan, efisiensi dan ekonomi bagi penggunaan agen atau substansi yang dipakai. Bahan-bahan kimia yang dipakai dalam jangka panjang dapat menimbulkan dampak yang merugikan bagi lingkungan, kesehatan konsumen dan resistensi patogen. Atas dasar ini, perlu dicari alternatif jenis tindakan yang aman untuk diaplikasikan. Karena itu, dalam kegiatan budidaya berwawasan lingkungan maka bioremediasi, vaksin dan imunostimulan merupakan alternatif terhadap upaya yang memenuhi tiga tinjauan seperti di atas (aman, efisien dan ekonomis) (Budiardi, 2010).

Imunostimulan adalah zat kimia, obat-obatan, stressor atau aksi yang meningkatkan respon imun non spesifik atau bawaan (*innate immune respon*) yang berinteraksi secara langsung dengan sel dari sistem yang mengaktifkan respon imun bawaan tersebut (Sakai, 1999 dalam Anonymous, 2010). Rozi

(2008) mengatakan pemanfaatan bakteri antagonis sebagai agen biokontrol akan semakin penting dari segi ekosistem akuakultur yaitu dengan mengurangi bahkan menghilangkan penggunaan antibiotik sehingga tercipta sistem budidaya ramah lingkungan sekaligus menerapkan sistem *biosecurity* untuk mengurangi risiko kontaminasi penyakit pada produksi budidaya udang.

Bakteri *Vibrio alginolyticus* yang hidup di perairan laut dan payau ternyata selain menjadi patogen juga dapat berperan sebagai kandidat imunostimulan. β -glukan dan LPS merupakan salah satu jenis protein dan polisakarida yang melimpah pada dinding sel bakteri yang mampu meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag dan kekebalan tubuh ikan Mas (*Cyprinus carpio*) menghadapi infeksi bakteri (Fujiki *et al.*, 1997 dalam Prasetio, 2010). Guterres (2010) melaporkan bahwa pada protein Pili *V. alginolyticus* terdapat zat antibakteri yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* dan bisa digunakan untuk mempertinggi respon imun inang

Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemanfaatan Pili bakteri *V. alginolyticus* pada udang windu dalam meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase.

1.2 Rumusan Masalah

Selama satu dasawarsa terakhir, produksi budidaya udang windu secara nasional mengalami penurunan menjadi 70 ribu ton per tahun. Penyebab utama penurunan produksi udang hingga sekarang adalah kematian udang akibat serangan penyakit. udang windu seperti halnya *crustacea* 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, peptidoglikan dan β -glukan yang diduga Pili bakteri *V. alginolyticus* mengandung

Lipopolisakarida dan peptidoglikan yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh pada udang windu (*P. monodon* Fabricius).

Adapun perumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Apakah pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dapat meningkatkan sistem imun udang windu (*P. monodon* Fabricius) jika ditinjau dari aktivitas enzim superoksida dismutase?
- Berapa konsentrasi yang optimal dari pemberian Pili *V. alginolyticus* untuk meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase udang windu (*P. monodon* Fabricius)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

- Mengetahui peningkatan aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (*P. monodon* Fabricius).
- Mendapatkan konsentrasi yang optimal dalam pemberian Pili bakteri *V. alginolyticus* untuk meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (*P. monodon* Fabricius).

1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai peranan Pili bakteri *V. alginolyticus* sebagai imunostimulan pada sistem imun udang windu (*P. monodon* Fabricius) jika ditinjau dari aktivitas enzim superoksida dismutase. Selain itu Pili bakteri *V. alginolyticus* juga diharapkan dapat dijadikan sebagai salah satu solusi pencegahan penyakit pada udang windu (*P. monodon* Fabricius).

1.5 Hipotesis

Diduga bahwa pemberian Pili bakteri *V. alginolyticus* dapat meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (*P. monodon* Fabricius).

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Unit Pelaksana Teknis Pengembangan Budidaya Air Payau (UPT-PBAP) Bangil, Pasuruan dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 14 Desember 2010 sampai dengan 31 Maret 2011.



2 TINJAUAN PUSTAKA

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

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

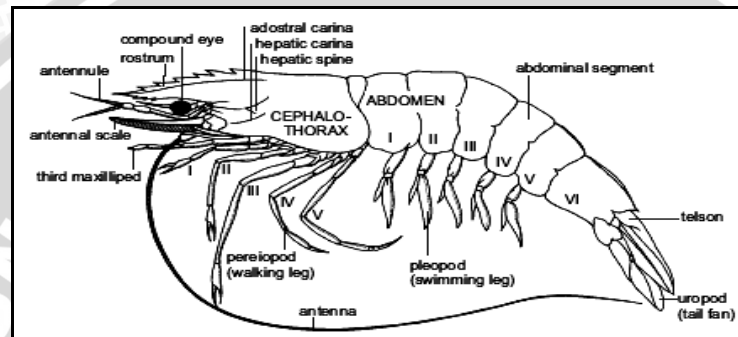
Udang *penaeid* termasuk dalam phylum terbesar kerajaan binatang yaitu *Arthropoda*. Kelompok ini dicirikan dengan adanya sepasang apendiks dan lapisan kutikula atau eksoskeleton yang menutupi seluruh permukaan tubuhnya. Udang *penaeid* termasuk dalam subphylum *Crustacea* yang memiliki 10 kelas dan 42.000 species yang dominan hidup di air. Tergabung dalam kelas *Malacostraca*, udang bersama lobster dan kepiting berada pada ordo *Decapoda* (Van de Braak, 2002). Adapun klasifikasi udang windu (*P. monodon* Fabricius) adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Animal
Filum	: Arthropoda
Subfilum	: Crustacea
Kelas	: Malacostraca
Ordo	: Decapoda
Superfamilia	: Penaeoidea
Familia	: Penaeidae
Genus	: <i>Penaeus</i>
Spesies	: <i>Penaeus monodon</i> Fabricius



Gambar 1. Udang windu (*P. monodon* Fabricius) (Anonymous, 2011^b)

Ditinjau dari morfologinya, tubuh udang windu terbagi menjadi dua bagian yakni bagian kepala hingga dada dan *abdomen* yang meliputi bagian perut dan ekor. Bagian kepala hingga dada disebut *cephalothorax*, dibungkus kulit *khitin* yang tebal atau *carapace*. Bagian ini terdiri dari kepala dengan 5 *segmen* dan dada dengan 8 *segmen*. Bagian *abdomen* terdiri atas 6 *segmen* dan 1 *telson* (Murtidjo, 2003). Morfologi udang windu bisa dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Morfologi udang windu (Sumber: Van de Braak, 2002)

Udang windu memiliki kulit tubuh yang keras, berwarna hijau kebiru-biruan dan berloreng-loreng besar. Namun, pada udang dewasa yang hidup di laut memiliki warna kulit merah muda kekuning-kuningan dengan ujung kaki renang yang berwarna merah. Sedangkan udang muda memiliki kulit dengan ciri khas totol-totol hijau. Udang jantan dan betina dapat dibedakan dengan melihat alat kelamin luarnya. Alat kelamin udang jantan yang disebut *petasma* terletak di antara kaki renang pertama, sedangkan alat kelamin udang betina disebut juga *thelicum* yang terletak di antara pangkal kaki jalan ke- 4 dan ke- 5, dengan lubang saluran kelamin terletak di antara pangkal kaki ke- 3 (Kordi, 2009).

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Udang windu digolongkan jenis binatang *euryhaline* atau binatang air yang dapat hidup dalam kisaran kadar garam 3 – 45 ppt (pertumbuhan optimal pada salinitas 15 – 30 ppt). Binatang ini aktif pada malam hari, sementara pada siang hari lebih suka membenamkan diri di tempat teduh atau lumpur. Di habitatnya,

makanan udang bermacam-macam (*omnivorus*), seperti jenis *crustacea* rendah, siput kecil, cacing, larva serangga, maupun sisa-sisa bahan organik, baik tumbuhan maupun hewan. Udang juga bersifat kanibal, yang menjadi sasaran terutama udang yang sedang berganti kulit (Murtidjo, 2003).

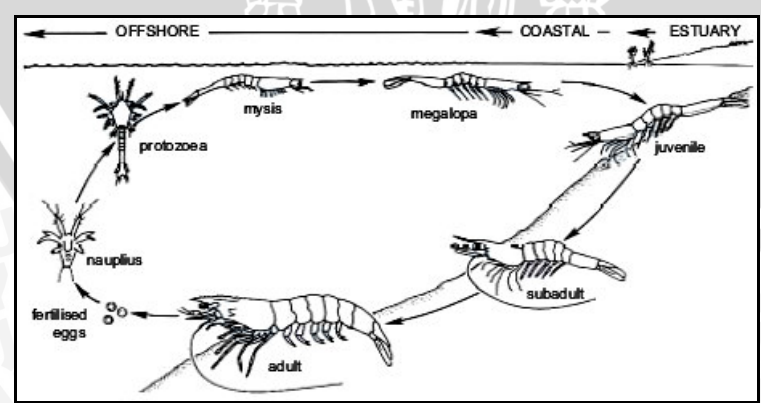
Amri (2003) menyatakan bahwa habitat udang berbeda-beda tergantung dari jenis dari persyaratan hidup dari tingkatan-tingkatan dalam daur hidupnya. Udang windu bersifat *euryhaline* yakni bisa hidup di laut yang berkadar garam tinggi hingga perairan payau yang berkadar garam rendah. Udang windu juga bersifat *benthik*, hidup pada permukaan dasar laut yang lumer (*soft*) terdiri dari campuran lumpur dan pasir terutama perairan berbentuk teluk dengan aliran sungai yang besar dan pada stadium *post larva* ditemukan di sepanjang pantai dimana pasang terendah dan tertinggi berfluktuasi sekitar 2 meter dengan aliran sungai kecil, dasarnya berpasir atau pasir lumpur.

Habitat udang windu adalah laut dan dikenal sebagai penghuni dasar laut. Namun, hanya udang windu dewasa saja yang mencari tempat yang dalam di tengah laut. Ketika masih muda, udang windu berada di perairan yang dangkal di tepi pantai, bahkan ada yang memasuki muara sungai dan tambak berair payau. Udang windu dapat hidup pada salinitas 3 – 35 ppt (Kordi, 2009).

2.1.3 Siklus Hidup dan Perkembangbiakan

Udang windu daur hidupnya mempunyai beberapa tahap. Tahap pertama dimulai sejak udang tumbuh menjadi dewasa dan matang gonad dan bergerak ke laut dalam. Di sini 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. Di sini udang sampai dewasa dan bergerak ke tengah laut untuk memijah lagi (Toro dan Sugiarto, 1979). Siklus hidup udang windu bisa dilihat pada Gambar 3.

Habitat udang windu muda adalah air payau, misalnya muara sungai dan pantai. Semakin dewasa, udang semakin menyukai hidup di dasar laut. Udang windu yang sudah dewasa kelamin mulai hijrah ke laut yang dalam. Mereka biasanya hidup berkelompok. Perkawinan berlangsung setelah udang betina berganti kulit. Dalam perkawinan, udang jantan memasukkan sperma dengan menggunakan *petasma* ke dalam *thelicum* udang betina. Untuk beberapa saat lamanya, sperma akan tetap berada dalam *thelicum*, sampai tiba saatnya untuk dikeluarkan bersama sel telur betina ke dalam air sehingga dapat saling membuahi. Telur-telur yang berhasil disebarkan selanjutnya akan terayun-ayun di dasar laut yang dalam. Setelah 15 jam telur akan menetas menjadi larva dan mulai memiliki sifat petualang, yakni bergerak mendekati permukaan laut. Selama berada di permukaan laut, larva hanya akan mengalami beberapa tahap perubahan bentuk. Larva *nauplius* berganti kulit enam kali menjadi *zoea*. *Zoea* berganti kulit tiga kali menjadi *mysis*. *Mysis* berganti kulit tiga kali menjadi *post larva*. *Post larva* masih membutuhkan pergantian kulit sampai 20 kali (PL 20). Mereka yang berhasil mengakhiri substadium *post larva* akan mencapai bentuk sempurna yang disebut *juvenile* atau udang muda. Selama perkembangan dari udang muda menjadi dewasa, udang juga mengalami pergantian kulit. Pada usia 1,5 tahun di habitatnya, udang windu sudah dewasa kelamin (Murtidjo, 2003).



Gambar 3. Siklus hidup udang windu (Sumber: Van de Braak, 2002)

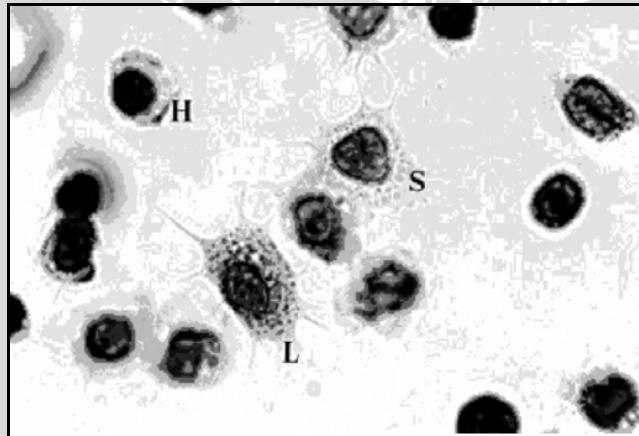
Menurut Kordi (2009), telur-telur udang yang telah dibuahi akan mengalami masa inkubasi selama kurang lebih 12 jam dan akan menetas menjadi *nauplius* selama kurang lebih 2 hari. Selanjutnya, akan mengalami perubahan bentuk menjadi *zoea* selama kurang lebih 6 hari. Pada fase ini udang mulai muncul ke permukaan perairan dan secara perlahan-lahan bergerak ke perairan pantai yang dibantu oleh angin, arus dan gelombang. Tingkat *mysis* akan dialami oleh udang selama kurang lebih 4 hari, dan seterusnya mencapai fase *pasca larva* yang biasanya telah mencapai perairan pantai dengan salinitas lebih rendah. Larva akan tumbuh menjadi *juwana* atau udang muda yang pada gilirannya akan beruaya lagi ke perairan yang lebih dalam di laut lepas.

2.1.4 Sistem Imun Udang Windu (*P. monodon* Fabricius)

Sistem pertahanan tubuh udang windu (*P. monodon* Fabricius) 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 immunity*) dalam membasmi patogen yang masuk ke dalam tubuhnya (Sritunyalucksana, 2001).

Eksoskeleton adalah pertahanan pertama tubuh udang dalam mencegah infeksi penyakit melalui lendir yang dihasilkan oleh sel-sel epitel terluar. Apabila eksoskeleton ini gagal menangkal masuknya patogen ke dalam tubuh maka selanjutnya mengandalkan pertahanan internal dalam merespon infeksi tersebut melalui respon seluler dan humoral (Supamattaya *et al.*, 2000). Hal ini sejalan dengan pernyataan Van de Braak (2002), pada saat terjadinya serangan patogen yang pertama kali berperan dalam sistem pertahanan tubuh udang adalah kutikula yang memiliki kemampuan antimikroba melalui lendir yang dihasilkan. Pertahanan selanjutnya adalah hemosit yang memiliki peranan yang sangat penting dalam pertahanan internal udang (*innate immunity*).

Udang memiliki sel darah putih yang berfungsi sebagai makrofag, granulosit dan pemberantas benda asing. Sel ini disebut hemosit, yang bisa ditemukan di sekitar organ pencernaan serta darah udang. Hemosit menghasilkan produk anti mikrobial yang sangat penting untuk pertahanan tubuh serta memberantas benda asing yang berbahaya dari dalam tubuh udang. Ada 3 tipe hemosit pada udang, yaitu sel hyalin, sel semi granular dan sel granular (Gambar 4). Sel hyalin berperan dalam proses fagositosis dan aktivitas seperti halnya makrofage pada ikan dan binatang berdarah panas lainnya. Sel semi granula dikarakteristikan dengan terdapatnya granula pada sitoplasma. Sel ini mampu merespon polisakarida dari dinding sel bakteri atau β -glukan yang berasal dari jamur. Sel semi granula ini dapat melakukan proses enkapsulasi dan sedikit berperan dalam proses fagositosis. Sel granular tidak memiliki aktivitas *fagositosis* dan kemampuannya untuk enkapsulasi partikel asing terbatas. Fungsi utama dari sel granular adalah untuk menyimpan enzim prophenoloxidase yang merupakan kunci dari sistem pertahanan tubuh udang (Raa, 2000).



Gambar 4. Sel darah udang windu (*P. monodon* Fabricius), H = hyaline hemocyte, S = semi granular hemocyte, L = large granular hemocyte (Sumber: Sritunyalucksana, 2001)

Supamattaya *et al.* (2000) menyatakan bahwa pada udang windu sehat total hemositnya mencapai 10^4 hingga 10^5 sel/mm³. Namun apabila terjadi

penurunan kualitas air (misalnya DO rendah) atau adanya infeksi bakteri maupun virus maka total hemositnya akan menurun.

Fagositosis merupakan proses yang biasa terjadi pada semua organisme, yaitu pengenalan benda asing, menelan dan penghancuran. Enkapsulasi yaitu suatu proses dimana lapisan sel mengelilingi benda asing, yang terjadi ketika parasit berukuran terlalu besar untuk dicerna oleh fagositosis. Nodulasi, yang terlihat seperti pembentukan kapsul, terjadi ketika jumlah invasi bakteri tinggi (Holmblad and Soderhall, 1999).

Menurut Johansson dan Soderhall (1989) dalam Sudianto (2010), PO terdapat dalam hemolim sebagai inaktif pro enzim yang disebut proPO. proPO adalah *non self recognition* sistem yang terdapat pada *arthropoda* dan invertebrata lain. Transformasi proPO menjadi PO melibatkan beberapa reaksi yang dikenal sebagai proPO aktivating sistem. Prophenoloksidase (proPO) dan phenoloksidase dilibatkan dalam enkapsulasi, melanisasi dan berfungsi sebagai sistem *non self recognition*. proPO diaktifkan oleh prophenoloksidase aktivating enzim (PPA). Sedangkan PPA ini bisa diaktifkan oleh lipopolisakarida seperti β -1,3 glukun, lipopolisakarida atau peptidoglikan dari mikroorganisme melalui pola pengenalan protein. PPA merupakan protein yang berlokasi di granulosit. Akibat pengaktifan proPO menjadi PO maka dihasilkan protein faktor opsonin yang merangsang fagositosis hialosit.

2.2 *V. harveyi*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Vibrio adalah suatu jenis bakteri gram negatif yang mempunyai suatu tangkai yang bentuknya bengkok dan secara khas ditemukan pada air laut. *Vibrio* bersifat fakultatif anaerob positif test untuk oxidase dan tidak membentuk spora. Semua anggota jenis ini adalah *motil* (bergerak) dan mempunyai kutub *flagella*

dengan sarung pelindung. Sejarah evolusi suatu ras terbaru telah dibangun didasarkan pada suatu deretan gen (analisa urutan *multi-locus*) (Fahri, 2009). Menurut Umar (2009), bakteri dari genus *Vibrio* bersifat gram negatif, sel tunggal, berbentuk batang pendek yang bengkok (koma) atau lurus, berukuran panjang 1,4 – 5 μm dan lebar 0,3 – 1,3 μm , *motil* dan mempunyai *flagella* polar (Gambar 5).

Menurut Bergey's (1962) dalam Dwidjoseputro (1998), klasifikasi dari *V. harveyi* adalah sebagai berikut:

Phylum : Protophyta
Klass : Schizomycetes
Ordo : Pseudomodidae
Famili : Spirilliceae
Genus : *Vibrio*
Spesies : *Vibrio harveyi*



Gambar 5. *V. harveyi* (Sumber: Bowe, 2009)

2.2.2 Aktivitas dan Pertumbuhan

Aktivitas dan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh faktor abiotik, meliputi faktor fisik seperti temperatur, cahaya, tekanan osmose dan radiasi. Selain itu juga faktor kimia seperti pH, salinitas, bahan organik dan zat-zat kimia lain yang bersifat bakteriosidal maupun bakteriostatik (Prajitno, 2007).

Menurut Feliatra (1999), bakteri *Vibrio* yang patogen dapat hidup di bagian tubuh organisme lain baik di luar tubuh dengan jalan menempel maupun pada organ tubuh bagian dalam seperti hati, usus dan sebagainya.

Vibrio merupakan jenis bakteri yang hidupnya saprofit di air, air laut dan tanah. Bakteri ini juga dapat hidup di salinitas yang relatif tinggi. Sebagian besar juga bersifat halofil dan tumbuh optimal pada air laut bersalinitas 20 - 40 ppt (Violy, 2010). Lebih lanjut dijelaskan Bauman *et al.*, (1984) dalam Prajitno (2007), bahwa bakteri ini dapat tumbuh baik pada kondisi alkali yaitu pH optimum berkisar antara 7,5 – 8,5.

Bakteri *Vibrio* sp. adalah jenis bakteri yang dapat hidup pada salinitas yang relatif tinggi. Sebagian besar bakteri berpendar bersifat halofil yang tumbuh optimal pada air laut bersalinitas 20 – 40 ppt. Bakteri *Vibrio* berpendar termasuk bakteri *anaerobic fakultatif*, yaitu dapat hidup baik dengan atau tanpa oksigen. Bakteri *Vibrio* tumbuh pada pH 4 – 9 dan tumbuh optimal pada pH 6,5 – 8,5 atau kondisi alkali dengan pH 9 (Rahmat, 2009).

2.2.3 Patogenitas

Tingkat patogenesis bakteri ditentukan oleh suatu mekanisme dalam proses pertumbuhan. Suatu mekanisme yang umum untuk mengontrol kepadatan populasi bakteri gram negatif adalah dengan menghambat komunikasi antar sel. Kemampuan komunikasi satu sama lain terjadi setelah mencapai *quorum sensing* yang terjadi karena adanya suatu senyawa *acylhomoserine lactone*. Sifat virulensi *V. harveyi* berkaitan erat dengan fenomena *bioluminescence* yang dikontrol oleh sistem *quorum sensing* (Rahmat, 2009).

Genus *Vibrio* adalah penyebab penyakit *vibriosis* yang menyerang hewan laut seperti ikan, udang dan kerang-kerangan. Spesies *Vibrio* umumnya menyerang larva udang dan penyakitnya disebut penyakit udang berpendar.

Vibrio menyerang larva udang secara sekunder yaitu pada saat dalam keadaan stress dan lemah. Oleh karena itu sering dikatakan bahwa bakteri ini termasuk jenis *opportunistic pathogen* yang dalam keadaan normal ada dalam lingkungan pemeliharaan, kemudian berkembang dari sifat yang saprofitik menjadi patogenik jika kondisi lingkungannya memungkinkan (Violy, 2010). *V. harveyi* merupakan bakteri penyebab penyakit pada udang yang mampu menyerang bagian-bagian tubuh udang baik di luar maupun di dalam tubuh. Udag yang terserang di bagian luar oleh bakteri tersebut pada umumnya kulit menjadi keropos atau lunak. Kulit udang sebagian besar mengandung *chitin* yang bersifat keras dan tidak larut dalam air. Kemampuan *Vibrio* spp merusak kulit udang kemungkinan besar juga mampu memecah *chitin* yang terkandung pada kulit udang tersebut (Martutik, 2005).

Bakteri *Vibrio* spp. bersifat patogen oportunistik pada budidaya air payau dan laut, karena dapat bertindak sebagai patogen primer maupun sekunder. Sebagai patogen primer bakteri masuk ke dalam tubuh udang melalui kontak langsung, sedangkan sebagai patogen sekunder bakteri menginfeksi udang yang telah terserang penyakit lain misalnya parasit (Fiegel, 1992 dalam Prajitno, 2007).

Vibriosis ditandai oleh perubahan warna kulit (*melanosis*), munculnya luka nekrotik hemoragik pada jaringan otot abdominal, dan eritema (*erythema*, bercak berdarah) pada pangkal sirip, celah insang dan mulut, sedangkan intestinum dan rektum mungkin membesar dan berisi cairan bening, mungkin pula terjadi *eksoptalmia* (Austin dan Austin, 1999 dalam Irianto, 2003). Bagian utama tubuh udang windu yang terserang bakteri *V. harveyi* adalah organ dalam. Pada tingkat awal, hepatopankreas terlihat mengalami perubahan warna menjadi kecoklat-coklatan. Pada tingkat serangan yang parah, hepatopankreas menjadi berwarna coklat kehitaman. Pada organ ini akan banyak ditemukan bakteri *V. harveyi* yang

bergerak secara aktif. Kondisi hepatopankreas yang sudah mengalami penyusutan dan penghancuran tidak bisa berfungsi secara normal. Hal ini akan mengakibatkan larva menjadi lemah dan akhirnya mati (Shariff dan Subasinghe, 1998 dalam Sudianto, 2010).

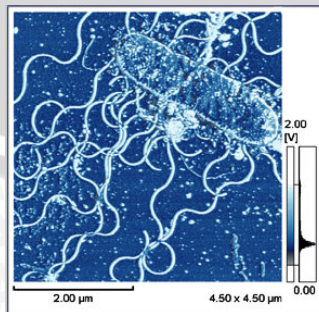
Sedangkan menurut Prajitno (2007), morfologi udang yang telah diinfeksi bakteri *V. harveyi* 10^6 sel/ml dengan cara perendaman selama 6 jam ditemukan bercak-bercak kemerahan di tubuh udang, susunan kaki jalan dan kaki renang tidak lengkap yaitu ada beberapa kaki yang patah, pada ekornya terlihat mengalami kerusakan serta warna karapaksnya menjadi keruh atau tidak jernih seperti sebelum perlakuan.

2.3 *V. alginolyticus*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *V. alginolyticus* menurut Fahri (2009) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Vibrionales
Family	: Vibrionaceae
Genus	: Vibrio
Species	: <i>Vibrio alginolyticus</i>



Gambar 6. *V. alginolyticus* (Anonymous, 2011°)

V. alginolyticus mempunyai ciri-ciri berwarna kuning dan berdiameter 3 - 5 mm. Karakteristik biokimianya adalah mempunyai sifat fermentatif, katalase, oksidase, methyl red dan H₂S, glukosa, laktosa dan manitol positif. Sedangkan sellobiosa, fruktosa galaktosa negatif (Violy, 2010). Menurut Feliatra (1999), *V. alginolyticus* mempunyai ciri-ciri berwarna kuning dengan diameter 3 - 5 mm (Gambar 6). Karakteristik fisika-biokimianya adalah pewarnaan gram negatif dan mempunyai sifat fermentatif, katalase, oksidase, methyl red dan H₂S glukosa, laktosa, dan manitol positif. Sedangkan sellobiosa, fruktosa dan galaktosa negatif.

V. alginolyticus dicirikan dengan pertumbuhannya yang bersifat *swarm* pada media padat non selektif. Ciri lain adalah gram negatif, motil, bentuk batang, fermentasi glukosa, laktosa, sukrosa dan maltosa serta membentuk kolom berukuran 0,8 – 1,2 cm yang berwarna kuning pada media TCBS.

2.3.2 Aktivitas dan Pertumbuhan

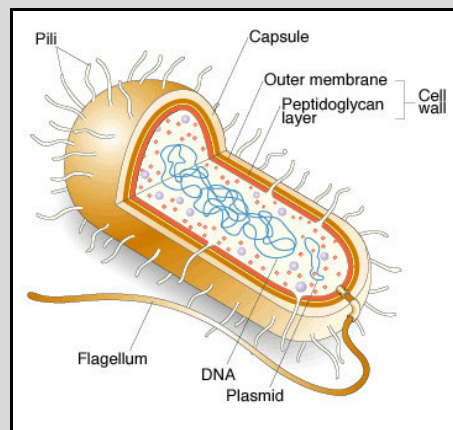
Bakteri merupakan salah satu penyebab penyakit infeksi pada udang windu. Bakteri *V. alginolyticus* merupakan bakteri patogen pada udang windu. Udag windu yang diserang biasanya berada pada stadium larva dan *pasca larva*. Gejala-gejala udang windu yang terinfeksi oleh bakteri *V. alginolyticus* adalah tubuhnya tampak menyala pada malam hari, tubuh menjadi lemah, tidak aktif berenang, nafsu makan berkurang dan terdapat bercak merah di setiap bagian tubuhnya (Mubasyir, 2007).

Bakteri ini merupakan jenis bakteri yang paling patogen pada ikan kerapu tikus dibandingkan jenis bakteri lainnya. Nilai konsentrasi letal median (LC50) adalah sebesar 106,6 pada ikan dengan berat antara 5 - 10 gram. Kematian massal pada benih diduga disebabkan oleh infeksi bakteri *V. alginolyticus*. Pengendalian penyakit dapat dilakukan dengan penggunaan berbagai jenis antibiotika seperti *Chloramfenikol*, *eritromisina* dan *oksitetrasiklin*. Sifat lain yang

tidak kalah penting adalah sifat *proteolitik* yang berkaitan dengan mekanisme infeksi bakteri (Fahri, 2009).

2.3.3 Pili

Pili adalah struktur tambahan yang melekat pada permukaan dinding sel tetapi lebih pendek dari flagella serta lebih halus (lihat Gambar 7). Tersusun atas protein yang disebut pilin dan biasanya dimiliki oleh bakteri gram negatif. Fungsinya untuk menempelkan diri pada sel inang (*colonizing factor*) serta berperan dalam pemindahan materi genetik dari satu bakteri ke bakteri yang lain (*sex pili*) (Masyifah, 2010).



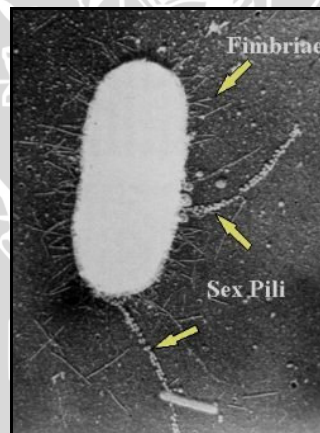
Gambar 7. Struktur sel bakteri gram negatif (Sumber: Anonymous, 2011^d)

Pili berukuran lebih kecil dan lebih pendek dari flagella. Pili hanya dapat dilihat dengan mikroskop elektron. Dijumpai pada bakteri yang bergerak maupun yang tidak bergerak. Pada permukaan sel bakteri gram negatif sering terdapat banyak alat seperti benang-benang pendek yang disebut pili (tunggal: pilus/fibria). Panjang pilus mencapai 3 mikrometer dengan diameter sekitar 5 mikrometer. Pili digunakan sebagai alat lekat pada bakteri lain atau dengan bahan-bahan padat yang merupakan makanan. Salah satu pili disebut *sex pilus* (pilus kelamin) fungsinya sebagai penghubung dalam perpindahan materi genetik

(DNA) ketika suatu bakteri berkonjugasi. Umumnya, setiap sel bakteri hanya memiliki 1 atau 2 pilus kelamin (Blusher, 2010).

Menurut Maulana (2010), struktur pili dibentuk oleh satu sub unit protein pilin. Struktur pili ini lebih pendek dan kaku daripada flagella dan muncul dari “*basal body*”. Morfologi pili sangat bervariasi dan jumlahnya berkisar antara satu sampai beberapa ribu per sel. Pada saat infeksi, pili membantu bakteri patogen menempel pada sel-sel yang terdapat pada saluran pernafasan dan pencernaan. Pili dapat dibedakan menjadi 2 macam berdasarkan fungsinya seperti tampak pada Gambar 8, yaitu:

- Pili sex: terlibat pada reproduksi seksual bakteri
- Pili biasa: berfungsi untuk adhesi seluler ke permukaan atau sel inang.



Gambar 8. Pili bakteri (Sumber: Anonymous, 2011^e)

Fimbria atau pili hanya dapat diamati dengan mikroskop elektron. Fimbria merupakan mikrofibril serupa rambut berukuran 0,004 – 0,008 μm , lebih lurus, lebih tipis dan lebih pendek dibandingkan dengan flagella. Fimbria berfungsi untuk faktor infeksi, konjugasi sel berupa pili seks, membantu bakteri untuk bertahan hidup dan berinteraksi dengan inang serta memiliki aktivitas fungsional seperti adhesin, lektin, evasin dan agresin. Pada permukaan sel tersebar sekitar

100 – 200 fimbria dan 1- 4 pili seks ditemukan pada daerah tertentu (Kusnadi, 2010).

Berdasarkan penelitian Guterres (2010), pada protein Pili *V. alginolyticus* terdapat zat antibakteri yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* dan bisa digunakan untuk mempertinggi respon imun inang dimana semakin tinggi konsentrasi protein Pili *V. alginolyticus* maka diameter daerah hambatan yang diperoleh juga semakin besar. Menurut Pelczar dan Chan (2009), mekanisme kerja zat antibakteri yang bersifat bakterisidal akan mempengaruhi bakteri dengan merusak dinding selnya sehingga akan pecah dan bakteri tidak dapat bertahan terhadap pengaruh luar atau mengganggu keutuhan membran sel bakteri sehingga pertukaran zat aktif atau metabolit ke dalam dan ke luar sel akan terganggu.

2.4 Enzim Superoksida Dismutase

Superoksida Dismutase (SOD) merupakan enzim yang diproduksi secara alami oleh organisme yang mengkonsumsi oksigen (Pitayu, 2007). Yun dan Lee (2002) menjelaskan superoksida dismutase adalah enzim yang paling diperlukan untuk melindungi sel-sel dari toksisitas spesies oksigen reaktif yang dihasilkan selama respirasi aerobik untuk produksi energi. Yang termasuk *Reactive Oxygen Species* (ROS) yaitu anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal hidroksil (OH) (Holmblad dan Soderhall, 1999).

Kelompok *reactive oxygen* ini dihasilkan di vakuola fagositosis dan ketika dikeluarkan tidak menutup kemungkinan dapat merusak sel host. Untuk mencegah kerusakan tersebut, sel maupun organisme menggunakan tiga strategi pertahanan. Yang pertama adalah dengan melibatkan antioksidan dengan berat molekul rendah antara lain ascorbate, α -tocopherol dan glutathione yang langsung berinteraksi dengan ROS untuk menetralkan. Dua pertahanan

yang lain adalah melibatkan enzim yang berperan dalam metabolis ROS (superoksida dismutase, catalase dan glutathione peroxidase) atau memperbaiki kerusakan makromolekular menjadi asam nukleat, protein dan lemak (enzim perbaikan DNA, protease dan lipase) yang disebabkan oleh ROS (Holmblad and Soderhall, 1999).

Anti oksidan primer bekerja untuk mencegah pembentuk senyawa radikal bebas baru. Ia mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya, sebelum radikal bebas ini sempat bereaksi. Contoh anti oksidan ini adalah enzim superoksida dismutase yang berfungsi sebagai pelindung hancurnya sel-sel dalam tubuh serta mencegah proses peradangan karena radikal bebas. Enzim superoksida dismutase sebenarnya sudah ada dalam tubuh. Namun bekerjanya membutuhkan bantuan zat-zat gizi mineral seperti mangan, seng dan tembaga. Selenium (Se) juga berperan sebagai anti oksidan (Karyadi, 2009). Anti oksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan cara menerima atau mendonorkan satu elektron untuk menghilangkan kondisi elektron yang tidak berpasangan (Astuti, 2009). Menurut Sofia (2005), radikal bebas adalah spesi kimia yang memiliki pasangan elektron bebas di kulit terluar sehingga sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan protein, lipid, karbohidrat atau DNA. Reaksi antara radikal bebas dan molekul itu berujung pada timbulnya suatu penyakit.

Menurut Lefrina (2009), pembentukan radikal bebas dalam keadaan normal akan diikuti oleh pembentukan antioksidan dalam tubuh sehingga terjadi keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Namun bila dihasilkan melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan seluler, maka dia akan menyerang sel itu sendiri. Adanya infeksi bakteri menyebabkan radikal bebas dalam tubuh meningkat tetapi antioksidan yang ada belum mencukupi.

Radikal bebas sangat diperlukan bagi kelangsungan beberapa proses fisiologis dalam tubuh, terutama untuk transportasi elektron. Namun, radikal bebas yang berlebihan dapat membahayakan tubuh karena dapat merusak makromolekul dalam sel seperti karbohidrat, protein, DNA dan sebagainya. Kerusakan makromolekul selanjutnya dapat mengakibatkan kematian sel (Halliwell and Gutteridge, 1989 dalam Sudianto, 2010).

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



Peningkatan jumlah hemosit pada udang akan diikuti pula dengan peningkatan jumlah anion superoksida dan hidrogen peroksida yang pada akhirnya akan meningkatkan kekebalan udang pada penyakit (Citarasu *et al.*, 2006).

Superoksida dismutase merupakan enzim yang berada dalam cairan intraseluler yang berpartisipasi pada proses degradasi senyawa radikal bebas intraseluler. Enzim ini mempunyai sebuah atom oligo elemen pada sisi aktifnya. Superoksida dismutase mengkatalisis dismutasi O_2^- menjadi H_2O_2 . Enzim ini menghambat kehadiran simultan dari O_2^- dan H_2O_2 yang berasal dari pembentukan radikal hidroksi (Holmblad and Soderhall, 1999).

2.5 Imunostimulan

Imunostimulasi merupakan strategi alternatif untuk menyiapkan sistem kekebalan (sistem imun) udang sehingga meningkatkan resistensi melawan patogen. Sistem imun udang meliputi reaksi seluler dan humoral yang terkait

dengan hemolim udang. Beberapa parameter imun yang berhubungan dengan hemolim seperti perhitungan total hemosit (THC), differensial hemosit count (DHC), aktivitas fagositosis (AP) dan aktivitas phenoloksidase (PO) telah digunakan untuk evaluasi pengaruh imunostimulator dari probiotik pada udang. Kerentanan udang terhadap infeksi patogenik dan oportunistik dipengaruhi kuat oleh kemampuan imunostimulasinya (Syahailatua dan Diana, 2009).

Penanganan penyakit menggunakan desinfektan atau senyawa antibiotik memiliki keterbatasan dalam pencegahan dan pengobatan penyakit. Terlebih lagi dengan meningkatnya perhatian masyarakat terhadap penggunaan dan terutama penyalahgunaan antibiotik. Penggunaan senyawa antibiotik yang berlebihan untuk pengendalian penyakit dan memacu pertumbuhan telah menyebabkan timbulnya resistensi di antara beragam bakteri. Penekanan pengendalian penyakit hendaknya pada pencegahan yang tampaknya lebih efektif dibanding pengobatan (Irianto, 2003). Menurut Rozi (2008), penggunaan antibiotik dan bahan kimia tidak efektif lagi karena tidak memberikan hasil yang memuaskan, yaitu pada dosis tertentu justru berdampak negatif karena meningkatkan resistensi bakteri-bakteri patogen terhadap dosis antibiotik. Sementara di lain pihak antibiotik bersifat persisten di alam dan bahkan menjadi bumerang terhadap ekspor udang Indonesia. Oleh karena itu, sebagai alternatif penanggulangan penyakit diperlukan adanya imunostimulan yang berfungsi untuk meningkatkan daya tahan udang terhadap serangan bakteri patogen.

Menurut Raa (2000), imunostimulan merupakan senyawa kimia yang dapat mengaktifkan sel darah dan karena itu dapat membuat hewan mampu lebih resisten oleh infeksi virus, bakteri, fungi dan parasit. Salah satu kemampuan imunostimulan adalah dapat meningkatkan ketahanan tubuh non spesifik yaitu dengan meningkatnya sel-sel fagositosis. Sedangkan menurut Sakai (1999) dalam Anonymous (2010), imunostimulan adalah zat-zat yang dapat

meningkatkan daya tahan tubuh terhadap infeksi penyakit. Bukan meningkatkan respon imun spesifik (*acquired immune respon*), tetapi meningkatkan respon imun non spesifik baik melalui mekanisme pertahanan humoral maupun pertahanan seluler.

Sistem pertahanan tubuh pada invertebrata (termasuk udang) yang berperan adalah mekanisme pertahanan tubuh oleh hemosit, dimana penyebaran dan peningkatan jumlah hemosit diasumsikan sebagai bentuk dari respon imun seluler pada tubuh udang (Itami, 1994 dan Van de Braak, 2002 dalam Mahasri, 2008). Untuk melakukan aktivitas fagositosis, enkapsulasi, nodulasi, pengaktifan sistem prophenoloksidase, anti mikroba maupun senyawa toksik, diperlukan pelepasan beberapa protein untuk mengatasi benda asing atau agen yang masuk tersebut (Söderhall dan Cerenius, 1992 dalam Mahasri, 2008).

Substansi imunostimulan dapat dikelompokkan dalam: (a) struktur elemen bakteri (lipopolysaccarides / LPSs, peptidoglycans / PGs, lipopeptides, capsular glycoprotein dan muramyl peptides); (b) variasi β -1,3 glukukan dari dinding sel fungi; (c) β 1,3 /1,6-glukan dari dinding sel baker's yeast; (d) struktur karbohidrat (glycans) dari rumput laut; (e) peptides dalam ekstrak termasuk hewan atau enzim hidrolisis protein ikan; (f) nukleotides; (g) produk sintetis (Danwattananusorn, 2009 dalam Sudianto, 2010).

Mekanisme kerja dari imunostimulan adalah mengikuti mekanisme kerja imunisasi secara umum dan berbeda dengan vaksinasi. Vaksinasi akan memicu timbulnya respon imun berupa antibodi untuk melawan serangan penyakit tertentu, sesuai dengan antigen yang masuk ke dalam tubuhnya. Sedangkan dalam imunostimulan, respon kekebalan tidak harus sama dengan antigen yang masuk (Austin, 2004 dalam Sumisdiyanto, 2009).

3 MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini (Lampiran 1) adalah:

- Bak perlakuan kapasitas 40 liter
- *Hi-blow*
- Sesar
- Waring
- Penjepit
- Pompa
- Refraktometer
- DO meter
- Termometer
- pH pen
- Senter
- Timbangan digital
- Mikropipet
- S spuit 1 ml
- Tabung eppendorf
- Vortex
- Gelas ukur
- Tabung reaksi
- Rak tabung reaksi
- Inkubator
- Sentrifuse
- Spektrofotometer dan cuvet

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini (Lampiran 2) adalah:

- Udang windu (*P. monodon* Fabricius) dengan bobot rata-rata $20 \pm 0,81$ gram/ekor
- Air laut
- Pellet
- Pili bakteri *V. alginolyticus*
- *Adjuvant complete* dan *adjuvant incomplete*
- Na fisiologis
- Bakteri *V. harveyi*

- Hemolim
- Anti koagulan (Na sitrat)
- Bahan-bahan kimia untuk analisis laboratorium (EDTA, NBT, xantine, xantine oksidase dan buffer fosfat)

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yaitu observasi di bawah kondisi buatan (*artificial condition*) dimana kondisi tersebut dibuat dan diatur oleh si peneliti. Dengan kata lain penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian serta adanya kontrol (Nazir, 2005).

Pengumpulan data dalam penelitian ini meliputi:

a. Data primer

Data yang diperoleh langsung dari pengamatan dan pencatatan di laboratorium adalah aktivitas enzim superoksida dismutase.

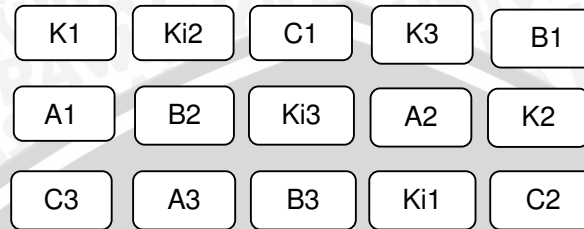
b. Data sekunder

Data yang diperoleh dari jurnal dan kepustakaan lain yang menunjang penelitian ini.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variabel bebas yaitu perlakuan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 10, 20 dan 30 µg/ekor. Selain itu juga digunakan kontrol normal yaitu tanpa pemberian imunostimulan serta tanpa infeksi bakteri *V. harveyi* dan kontrol infeksi yaitu tanpa pemberian imunostimulan serta dilakukan infeksi bakteri *V. harveyi*. Untuk setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan, sehingga jumlah sampel yang diamati

sebanyak 15 buah. Sedangkan variabel terikat yang diamati adalah aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (*P. monodon* Fabricius). Untuk lebih jelasnya bisa dilihat denah penelitian pada Gambar 9.



Gambar 9 . Denah penelitian

Keterangan:

K_n : Kontrol normal (tanpa pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* serta tanpa infeksi bakteri *V. harveyi*) pada ulangan ke-n.

Ki_n : Kontrol infeksi (tanpa pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* serta pemberian infeksi bakteri *V. harveyi*) pada ulangan ke-n.

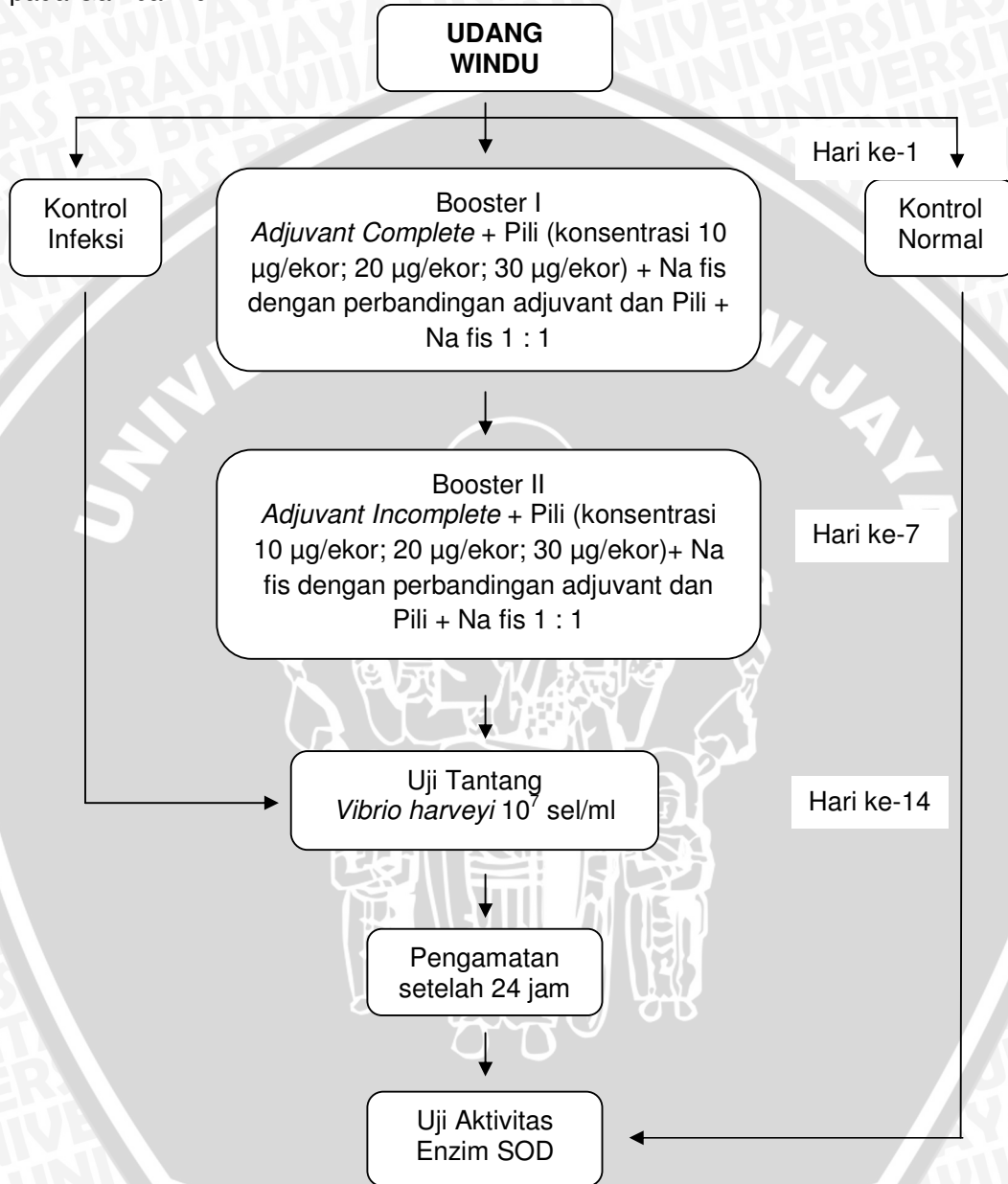
A_n : Perlakuan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 10 $\mu\text{g/ekor}$ pada ulangan ke-n.

B_n : Perlakuan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 20 $\mu\text{g/ekor}$ pada ulangan ke-n.

C_n : Perlakuan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 30 $\mu\text{g/ekor}$ pada ulangan ke-n.

3.4 Prosedur Penelitian

Tahapan-tahapan yang dilakukan pada penelitian ini sebagaimana terlihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Kerangka operasional penelitian

3.4.1 Pembuatan Biakan Murni Bakteri *V. harveyi*

a. Prosedur Kultur *V. harveyi*

1. Ose lengkung disterilisasi dengan pemanasan di atas bunsen hingga pijar.
2. Setelah ose dipastikan dingin, bakteri *Vibrio* strain lokal yang didapat dari Situbondo diambil dari stok dengan cara menyentuhkan ujung ose pada stok.
3. Ose digoreskan di permukaan media TCBSA dengan metode streaking kuadran untuk mendapatkan koloni terpisah.
4. Koloni diinkubasikan pada media dengan 30 °C selama 24 jam.
5. Koloni murni yang tumbuh diidentifikasi ulang dengan pewarnaan gram untuk memastikan spesies bakteri.
6. Setelah terbukti spesies *V. harveyi*, dilakukan kultur pengayaan untuk memproduksi dalam jumlah yang besar.

b. Prosedur Kultur Pengayaan *V. harveyi*

1. Koloni murni diambil dengan ose steril, lalu dimasukkan ke dalam erlemeyer yang berisi media cair TSB.
2. Erlemeyer ditutup kembali dengan kapas steril dan dimasukkan ke dalam shaker waterbath.
3. Koloni murni diinkubasikan pada suhu 30 °C dengan kecepatan getaran 100 rpm selama 2 x 24 jam.
4. Hasil kultur diamati dan pastikan tidak ada kontaminasi dengan pewarnaan gram, kemudian dilihat di bawah mikroskop.
5. Kepadatan bakteri kultur dibaca dengan menggunakan spektrofotometer.
6. Dari hasil pengukuran OD (*Optical Dencity*) dilakukan pengenceran sesuai dengan kepadatan bakteri yang diinginkan.

3.4.2 Penentuan Konsentrasi Infeksi Bakteri *V. harveyi*

Penelitian pendahuluan untuk menentukan konsentrasi infeksi bakteri *V. harveyi* dilakukan pada hewan uji udang windu (*P. monodon* Fabricius) dengan bobot rata-rata $20 \pm 0,81$ gram sebanyak 45 ekor. Penelitian ini dilakukan dengan 3 perlakuan dan 3 ulangan yaitu kontrol (tanpa infeksi bakteri *V. harveyi*), infeksi bakteri *V. harveyi* 10^6 sel/ml dan infeksi bakteri *V. harveyi* 10^7 sel/ml. Infeksi dilakukan dengan cara perendaman selama 24 jam dan kemudian dilakukan penghitungan *Survival Rate* (SR). Selain itu, selama 24 jam dilakukan pengamatan setiap 2 jam sekali dan pemberian pakan 3x pada pukul 07.00 WIB, 15.00 WIB dan 21.00 WIB secara *ad libitum* yaitu dengan pemberian pakan awal sebanyak 1,5 % dari total biomass.

3.4.3 Persiapan Udang Uji

Udang uji yang diamati adalah udang windu (*P. monodon* Fabricius) dengan bobot rata-rata $20 \pm 0,81$ gram/ekor. Udang windu diperoleh dari tambak di sekitar lokasi UPT-PBAP Bangil, kabupaten Pasuruan dengan umur rata-rata 3 bulan. Udang yang digunakan sebanyak 75 ekor dan tiap bak perlakuan diisi 5 ekor udang. Bak perlakuan yang digunakan berkapasitas 40 liter. Sebelum digunakan untuk penelitian, udang terlebih dahulu diadaptasikan selama 3 hari pada bak perlakuan yang sudah diisi 30 liter air agar udang beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang baru. Selama masa pemeliharaan diberikan pakan komersil berupa pellet dengan pemberian 3x per hari pada pukul 07.00 WIB, 15.00 WIB dan 21.00 WIB secara *ad libitum* yaitu dengan pemberian pakan awal sebanyak 1,5 % dari total biomass. Selain itu selama masa pemeliharaan juga dilakukan penggantian air dan pengukuran kualitas air. Penggantian air dilakukan setiap pagi hari hingga sisa pakan dan feses tidak tersisa dan kemudian ditambahkan air laut. Pengukuran kualitas air yang meliputi suhu dan salinitas

dilakukan setiap hari serta DO dan pH dilakukan setiap 2 hari sekali. Pengukuran kualitas air dilakukan pada pukul 14.00 WIB.

3.4.4 Pemberian Imunostimulan pada Udang Windu

Setelah diadaptasikan, udang diinjeksi dengan sistem booster (pemberian bertahap). Pemberian imunostimulan dilakukan dengan cara injeksi bagian *ventral* udang pada *abdomen* kedua. Bakteri *V. alginolyticus* yang digunakan diperoleh dari BPAP Jepara. Sebelum injeksi, dilakukan pencampuran bahan-bahan yaitu pili dengan konsentrasi sesuai perlakuan, adjuvant dan Na fisiologis dengan perbandingan adjuvant dan pili + Na fis yaitu 1 : 1. Untuk mendapatkan pili dengan konsentrasi sesuai perlakuan maka dilakukan penghitungan (Lampiran 3) dan didapatkan hasil untuk perlakuan 10 µg/ekor yaitu 0,38889 µl larutan Pili + 24,61111 µl Na fisiologis + 25 µl adjuvant. Sedangkan untuk perlakuan 20 µg/ekor yaitu 0,77778 µl larutan Pili + 24,2222 µl Na fisiologis + 25 µl adjuvant dan perlakuan 30 µg/ekor yaitu 1,16667 µl larutan Pili + 23,3333 µl Na fisiologis + 25 µl adjuvant. Injeksi ke- 1 dilakukan pada hari pertama dengan mengimunisasi udang windu dengan konsentrasi Pili 10 µg/ekor, 20 µg/ekor dan 30 µg/ekor yang dicampur dengan Na fisiologis dan *adjuvant complete* dengan volume penyuntikan sebanyak 50 µl per ekor, kemudian diadaptasikan kembali selama 7 hari. Selanjutnya injeksi ke- 2 dilakukan pada hari ke- 7 dengan menginjeksi kembali udang windu dengan konsentrasi Pili 10 µg/ekor, 20 µg/ekor, dan 30 µg/ekor menggunakan *adjuvant incomplete* dan diadaptasikan kembali hingga hari ke- 14.

Adjuvant adalah agen imunologi farmasetical yang berfungsi untuk mengurangi pengaruh dari agen lain, seperti penggunaan vaksin obat untuk mempertinggi respon imun. *Adjuvant complete* mengandung bakteri mycobacteria inaktif (pada umumnya *M. tuberculosis*), sedangkan *adjuvant incomplete* tidak mengandung bakteri mycobacteria (Anonymous, 2011^f).

3.4.5 Uji Tantang *V. harveyi*

Uji tantang dilakukan dengan cara perendaman udang windu pada hari ke-15 dengan bakteri *V. harveyi*. *V. harveyi* direndamkan pada air laut media perlakuan dengan kepadatan 10^7 sel/ml dalam 15 liter air selama 24 jam. *V.harveyi* yang digunakan memiliki kepadatan awal 10^9 sel/ml dan dilakukan pengenceran hingga mencapai kepadatan 10^7 sel/ml pada bak perlakuan dengan penghitungan sebagai berikut:

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

$$V_1 \times 10^9 = 15 \text{ liter} \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{15 \text{ liter} \times 10^7}{10^9}$$

$$V_1 = 0,15 \text{ l} = 150 \text{ ml}$$

Sehingga dibutuhkan 150 ml *V. harveyi* dari kepadatan 10^9 sel/ml yang ditambahkan dengan 14.850 ml air laut untuk didapatkan media perlakuan dengan kepadatan *V. harveyi* 10^7 sel/ml dalam 15 l air laut. Konsentrasi infeksi bakteri *V. harveyi* diperoleh dari hasil penelitian pendahuluan.

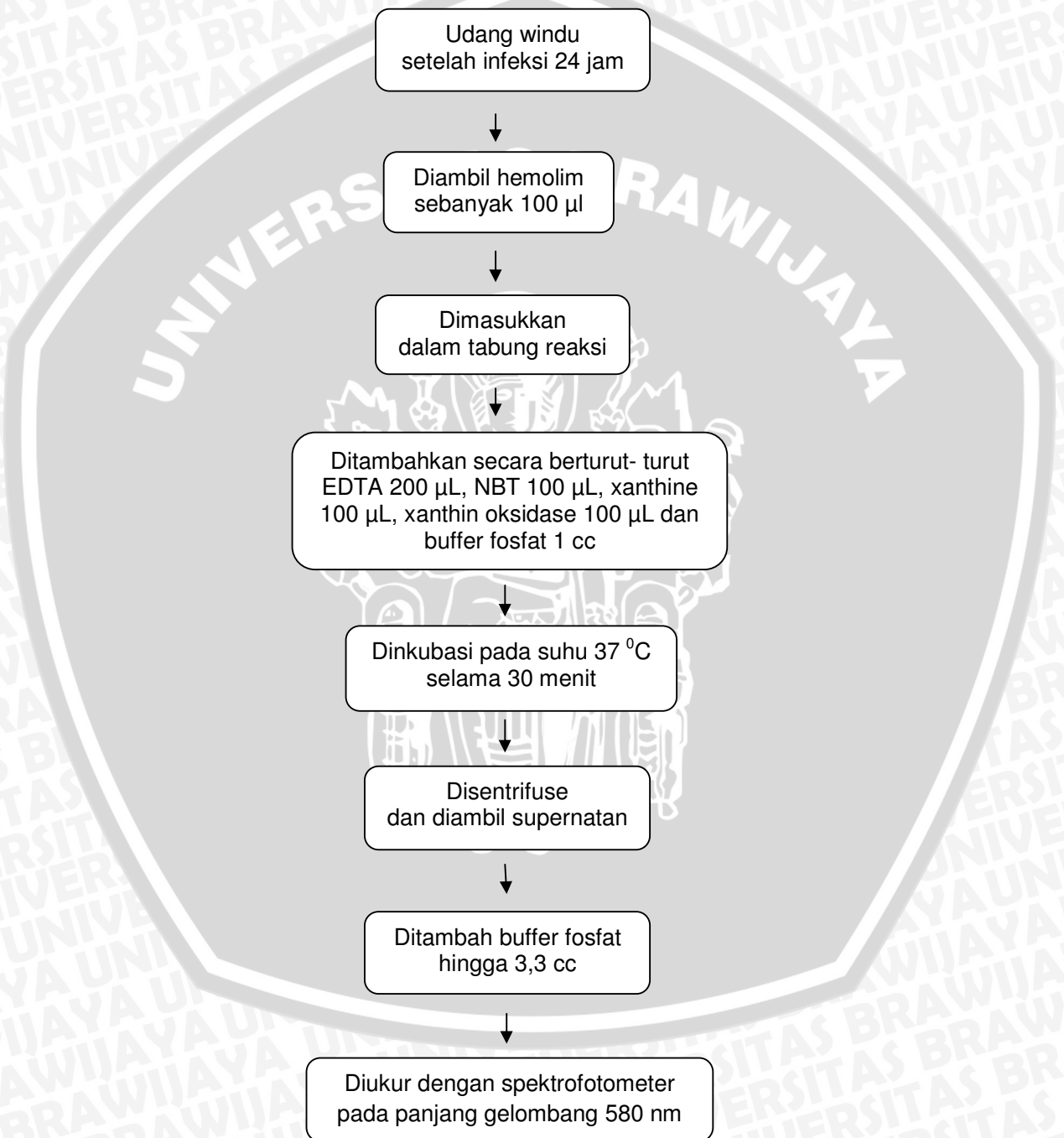
3.3.6 Pengambilan Hemolim

Pengambilan hemolim untuk keperluan uji aktivitas enzim superoksida dismutase diambil dari kaki jalan 2, 3 dan 4 secara bergantian. Hemolim yang diambil sebanyak 50 μ l menggunakan spuit 1 ml yang sudah diisi 50 μ l Na Citrat (perbandingan 1 : 1). Hemolim kemudian dimasukkan ke dalam eppendorf dan disimpan pada suhu rendah (-40 °C) hingga dilakukannya pengamatan.

3.4.7 Uji Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase

Uji aktivitas enzim SOD seperti tampak pada Gambar 11 dan Lampiran 3 dilakukan menggunakan metode Rukmini *et al.*, (2004), diambil 100 μ l hemolim dari tubuh udang dimasukkan ke dalam tabung. Kemudian ditambahkan secara berturut-turut EDTA 200 μ L, NBT 100 μ L, xanthine 100 μ L dan xanthin oksidase

100 μ L dan buffer fosfat 1 cc. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 $^{\circ}$ C selama 30 menit, disentrifuse dan diambil supernatan. Ditambahkan buffer fosfat hingga 3,3 cc dan sampel siap diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm. Aktivitas enzim ditentukan dalam unit per ml sampel.



Gambar 11. Prosedur uji aktivitas enzim superoksida dismutase

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama dalam penelitian ini adalah aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (*P. monodon* Fabricius) 24 jam setelah infeksi *V. harveyi* (pasca pemberian immunostimulan Pili *V. alginolyticus*).

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah kualitas air yang meliputi suhu, salinitas, oksigen terlarut (DO) dan pH. Suhu air diukur dengan termometer, salinitas diukur dengan refraktometer, oksigen terlarut (DO) diukur dengan DO meter dan pH diukur dengan pH pen.

3.6 Analisis Data

Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi immunostimulan yang diberikan terhadap respon parameter yang diukur, maka digunakan analisis keragaman satu arah (*One Way ANOVA*) atau uji F.

Analisis ragam atau *Analysis of Variance* (ANOVA) adalah suatu metode untuk menguraikan keragaman total data menjadi komponen-komponen yang mengukur berbagai sumber keragaman. Secara aplikatif, ANOVA digunakan untuk menguji rata-rata lebih dari dua sampel berbeda secara signifikan atau tidak (Rosy dan Mulyani, 2008).

Jika hasil dari analisis keragaman satu arah (*One Way ANOVA*) atau uji F menunjukkan perbedaan nyata atau sangat nyata ($F_{hitung} > F_{tabel}$) maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk membandingkan nilai antar perlakuan. Kemudian dari uji ini dilanjutkan dengan analisa regresi untuk mengetahui uji respon.

4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase

Pengukuran aktivitas enzim superoksida dismutase pada hemolim udang windu (*P. monodon* Fabricius) dilakukan 24 jam setelah infeksi bakteri *V. harveyi* (pasca pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus*) diperoleh hasil penghitungan seperti terlihat pada Tabel 1 berikut:

Tabel 1. Data aktivitas enzim superoksida dismutase pada hemolim udang windu (*P. monodon* Fabricius) 24 jam setelah diinfeksi bakteri *V. harveyi*

Perlakuan	Rata-rata (unit/ml)
Kontrol normal	59,55 ± 9,325
Kontrol infeksi	34,973 ± 8,172
10 µg/ekor	53,523 ± 4,205
20 µg/ekor	63,927 ± 2,398
30 µg/ekor	47,43 ± 3,500

Nilai rerata aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu pasca pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dan diuji tantang dengan *V. harveyi* berkisar antara 34,973 – 63,927 unit/ml. Data aktivitas enzim tersebut (Tabel 1) dianalisis menggunakan minitab dan hasilnya menunjukkan data menyebar normal (Lampiran 5). Pengaruh perlakuan terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase setelah diinfeksi bakteri *V. harveyi* yang penghitungannya pada Lampiran 6, hasilnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sidik ragam aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (*P. monodon* Fabricius) yang diinfeksi bakteri *V. harveyi*

Sumber keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1316,298	438,766	17,129**	4,07	7,59
Acak	8	204,926	25,616			
Total	11	1521,225				

Keterangan: ** = Berbeda sangat nyata

Hasil sidik ragam pada Tabel 2, menunjukkan bahwa pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (*P. monodon* Fabricius), dimana F hitung lebih besar dari F tabel 5 % dan 1 %. Hasil uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk membandingkan nilai antar perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Uji BNT aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (*P. monodon* Fabricius) yang diinfeksi bakteri *V. harveyi*

Rerata Perlakuan	Ki = 34,973	C = 47,430	A = 53,523	B = 63,927	Notasi
Ki = 34,973	-	-	-	-	a
C = 47,430	12,457*	-	-	-	b
A = 53,523	18,550**	6,093 ^{ns}	-	-	b
B = 63,927	28,953**	16,497**	10,403*	-	c

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

(*) = Berbeda nyata

(**) = Berbeda sangat nyata

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 20 µg/ekor berbeda sangat nyata dengan perlakuan kontrol infeksi, pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 30 µg/ekor dan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 10 µg/ekor. Antara perlakuan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 10 µg/ekor dan perlakuan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 30 µg/ekor diperoleh hasil yang tidak berbeda nyata.

Pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* ternyata memperlihatkan aktivitas enzim superoksida dismutase udang windu yang mengalami peningkatan dibandingkan dengan kontrol (tanpa pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus*). Hal ini sesuai dengan pendapat Raa (2000) bahwa imunostimulan merupakan senyawa kimia yang dapat mengaktifkan sel darah

dan karena itu dapat membuat hewan mampu lebih resisten oleh infeksi virus, bakteri, fungi dan parasit. Boonyaratpalin (1999) dalam Sumisdiyanto (2009) melaporkan bahwa sejumlah substansi seperti β -1,3 glukukan, Lipopolisakarida (LPS), peptidoglikan dan endotoxin atau bakteri yang dimatikan (bakterin) dapat meningkatkan respon imun krustasea.

Nilai aktivitas enzim superoksida dismutase antara perlakuan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 10 μ g/ekor dan perlakuan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 20 μ g/ekor mengalami peningkatan. Adanya peningkatan konsentrasi imunostimulan tersebut diduga akan meningkatkan sistem imunnya. Hal ini sejalan dengan penelitian Guterres (2010), pada protein Pili *V. alginolyticus* terdapat zat antibakteri yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* dan bisa digunakan untuk mempertinggi respon imun inang dimana semakin tinggi konsentrasi protein Pili *V. alginolyticus* maka diameter daerah hambatan yang diperoleh juga semakin besar. Dalam penelitian Poeloengan *et. al.*, (2007) juga dijelaskan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak anti bakteri makin besar pula daya hambatan yang ditimbulkan. Pada konsentrasi yang lebih besar makin banyak zat aktif yang terdapat di dalam ekstrak.

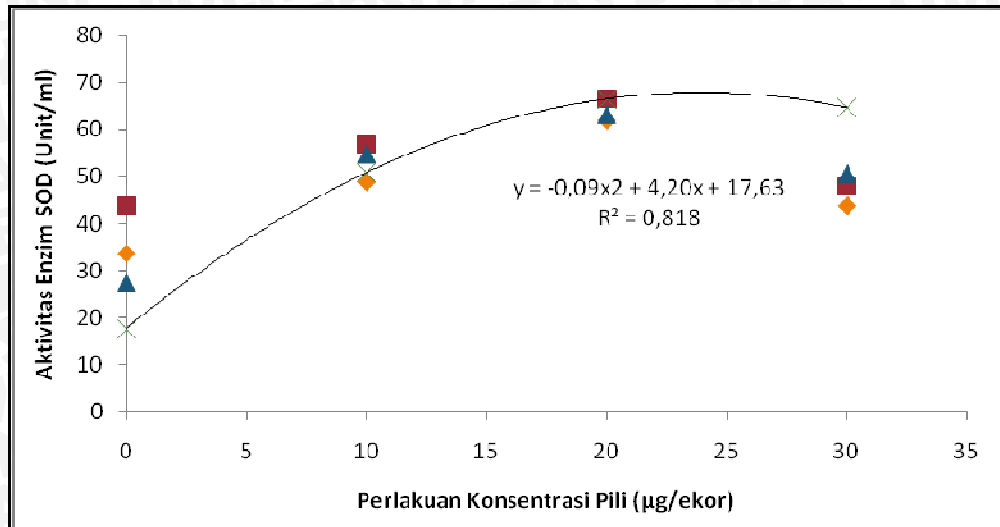
Akan tetapi, antara perlakuan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 20 μ g/ekor dan perlakuan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 30 μ g/ekor mengalami penurunan nilai aktivitas enzim superoksida dismutase. Hal ini diduga bahwa dengan peningkatan konsentrasi pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* akan meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase pada Udang Windu (*P. monodon* Fabricius). Namun, pada tingkatan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* pada konsentrasi yang tinggi akan menurunkan aktivitas enzim superoksida dismutase. Hal ini sejalan dengan pernyataan Agun (2008), bahwa

setiap bahan anti bakteri mempunyai kemampuan menghambat bakteri dalam konsentrasi tertentu.

Perlakuan kontrol infeksi memperoleh hasil aktivitas enzim superoksida dismutase yang paling rendah. Hal ini dikarenakan pada perlakuan kontrol infeksi tidak dilakukan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* namun diinfeksi bakteri *V. harveyi* sehingga udang windu (*P. monodon* Fabricius) mengalami kondisi stress oksidatif. Stress oksidatif dapat disebabkan oleh kandungan oksigen yang rendah, adanya pencemaran air, ketidakseimbangan kondisi kimia perairan serta serangan penyakit (Neves *et al.*, 2000).

Hubungan antara perlakuan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (*P. monodon* Fabricius) menunjukkan persamaan polinomial ortogonal yaitu $y = -0,09x^2 + 4,20x + 17,63$ dengan nilai $R^2 = 0,818$ (Gambar 12). Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0,818, hasil ini menunjukkan bahwa 81,8 % peningkatan aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (*P. monodon* Fabricius) ditentukan oleh variabel pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus*, sedangkan 18,2 % dipengaruhi oleh variabel lain.

Pola perubahan antara perlakuan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase udang windu (*P. monodon* Fabricius) dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Hubungan antara perlakuan pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan aktivitas enzim superoksida dismutase udang windu (*P. monodon* Fabricius) setelah diinfeksi bakteri *V. harveyi*

Keterangan:

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

Persamaan polinomial ortogonal menunjukkan nilai maksimum pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase pada konsentrasi 23,33 µg/ekor dengan nilai aktivitas enzim superoksida dismutase sebesar 61,61 unit/ml. Dari hasil tersebut, pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 23,33 µg/ekor mampu memberikan peningkatan aktivitas enzim superoksida dismutase sebesar 3,36 % jika dibandingkan dengan kontrol normal dan 76,16 % jika dibandingkan dengan kontrol infeksi. Sehingga bisa dikatakan bahwa pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* memberikan pengaruh yang baik terhadap daya tahan tubuh udang windu (*P. monodon* Fabricius) jika ditinjau dari peningkatan aktivitas enzim superoksida dismutase. Hal ini sangat penting bagi daya tahan tubuh udang windu (*P. monodon* Fabricius) karena enzim superoksida dismutase berperan

dalam menjaga sel-sel hidup dari kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yun dan Lee (2002) bahwa superoksida dismutase adalah enzim yang paling diperlukan untuk melindungi sel-sel dari toksisitas spesies oksigen reaktif yang dihasilkan selama respirasi aerobik untuk produksi energi. Menurut Holmblad dan Soderhall (1999), yang termasuk *Reactive Oxygen Species* (ROS) yaitu anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal hidroksil (OH).

Radikal bebas sangat diperlukan bagi kelangsungan beberapa proses fisiologis dalam tubuh, terutama untuk transportasi elektron. Namun, radikal bebas yang berlebihan dapat membahayakan tubuh karena dapat merusak makromolekul dalam sel seperti karbohidrat, protein, DNA dan sebagainya. Kerusakan makromolekul selanjutnya dapat mengakibatkan kematian sel (Halliwell and Gutteridge, 1989 dalam Sudioanto, 2010).

Produksi radikal bebas akan meningkat saat terjadi infeksi bakteri sehingga menyebabkan udang mengalami kondisi stres, dimana produksi radikal bebas yang berlebihan akan merusak sel-sel hidup. Menurut Wresdiyanti, (2003), kondisi stres dapat meningkatkan jumlah radikal bebas dalam tubuh, sehingga aktivitas enzim superoksida dismutase sebagai anti oksidan mengalami penurunan. Hal ini dikarenakan kerja enzim yang semakin berat yang disebabkan bertambahnya intensitas terbentuknya radikal bebas sebagai akibat stres oksidatif. Arief (2008) menyatakan bahwa pada keadaan normal sumber utama radikal bebas adalah kebocoran elektron yang terjadi dari rantai transpor elektron, misalnya yang ada dalam mitokondria dan retikulum endoplasma serta molekul oksigen yang menghasilkan superoksida. Dalam kondisi yang tidak lazim seperti radiasi ion, sinar ultraviolet dan paparan energi tinggi lainnya, dihasilkan radikal bebas yang sangat berlebihan.

Menurut Lefrina (2009), pembentukan radikal bebas dalam keadaan normal akan diikuti oleh pembentukan anti oksidan dalam tubuh sehingga terjadi keseimbangan antara radikal bebas dan anti oksidan. Namun bila radikal bebas yang dihasilkan melebihi batas kemampuan proteksi anti oksidan seluler, maka dia akan menyerang sel itu sendiri. Adanya infeksi bakteri menyebabkan radikal bebas dalam tubuh meningkat tetapi anti oksidan yang ada belum mencukupi.

Penurunan sistem pertahanan tubuh oleh anti oksidan menyebabkan penurunan kekebalan tubuh. Peningkatan aktivitas superoksida dismutase merupakan suatu respon adaptif dari enzim ini untuk meningkatkan produksi oksigen yang dibutuhkan untuk proses dekomposisi oksidatif. Perubahan aktivitas enzim anti oksidan merupakan petunjuk adanya mekanisme radikal bebas yang abnormal (Rukmini *et al.*, 2004). Dalam penelitian Kurutas *et al.*, (2005) dikemukakan bahwa pada media terinfeksi terjadi peningkatan level radikal O_2^- dengan aktivitas superoksida dismutase yang rendah.

4.2 Kualitas Air

Pengamatan kualitas air dilakukan sebagai data penunjang dalam penelitian. Menurut Haliman dan Adijaya (2006), kualitas air berkaitan erat dengan kondisi kesehatan udang. Hal itu berhubungan dengan faktor stres udang akibat perubahan parameter kualitas air. Parameter kualitas air sebagai penunjang yang diukur pada penelitian ini meliputi DO, pH, suhu dan salinitas. Parameter-parameter tersebut akan mempengaruhi proses metabolisme tubuh udang seperti keaktifan mencari pakan, proses pencernaan dan pertumbuhan udang. Hasil pengukuran parameter kualitas air selama penelitian tersaji pada Lampiran 7 untuk pengukuran DO dan pH dan Lampiran 8 untuk pengukuran parameter suhu dan salinitas. Kisaran hasil pengukuran kualitas air media

pemeliharaan udang windu (*P. monodon* Fabricius) selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Data kisaran hasil pengukuran kualitas air media pemeliharaan udang windu (*P. monodon* Fabricius) selama penelitian

Parameter Kualitas Air	Kisaran
DO (ppm)	4,00 - 4,85
pH	7,512 - 8,048
Suhu (°C)	27 - 31
Salinitas saat infeksi (ppt)	26

4.3.1 Oksigen Terlarut (DO)

Fluktuasi oksigen harian dapat mempengaruhi parameter kimia yang lain. Terutama pada saat kondisi tanpa oksigen yang dapat mengakibatkan perubahan sifat kelarutan beberapa unsur kimia di perairan (Jeffries dan Mills, 1996 dalam Effendi, 2003).

Selama penelitian ini, nilai DO pada semua perlakuan maupun kontrol berkisar antara 4,00 - 4,85 ppm. Kadar oksigen pada air tambak selalu berubah-ubah. Bila tambak telah dipergunakan, kadar oksigen dalam air dapat dipertahankan agar tetap tinggi (minimum 4 ppm dan maksimum 8 ppm) dengan pemasangan aerator atau kincir (Suyanto dan Mudjiman, 2006). Sedangkan menurut Suyanto dan Takarina (2009), kandungan oksigen terlarut pada petak pembesaran udang windu dipertahankan tidak kurang dari 3 ppm. Dari pernyataan tersebut berarti bahwa nilai DO selama penelitian ini berada pada kisaran yang baik untuk kelangsungan hidup udang windu.

4.3.2 pH

pH mempengaruhi toksisitas suatu senyawa kimia. Senyawa amonium yang dapat terionisasi banyak ditemukan pada perairan yang memiliki pH rendah. Amonium tidak bersifat toksik (*innocuous*). Namun pada suasana alkalis (pH tinggi) lebih banyak ditemukan amonia yang tak terionisasi (*unionized*) dan bersifat toksik. Amonia tak terionisasi ini lebih mudah terserap ke dalam tubuh

organisme akuatik dibandingkan dengan amonium (Tebbut, 1992 *dalam* Effendi, 2003).

Perubahan pH di dalam perairan terutama dipengaruhi oleh karbondioksida dan ion-ion yang berada dalam keseimbangan dengannya sehingga pH akan sangat dipengaruhi oleh fluktuasi karbondioksida di perairan. Meskipun pH sangat dipengaruhi karbondioksida, namun karbondioksida tersebut tidak membuat air lebih rendah dari pH 4,5 (Boyd, 1982).

Nilai pH selama penelitian ini pada masing-masing perlakuan berkisar antara 7,512 sampai dengan 8,048. Standar minimal pH pagi hari tidak kurang dari 7,5 dan sore hari tidak lebih dari 8,5. Fluktuasi harian kurang dari 0,5 (Shigeno, 1975 *dalam* Suyanto dan Takarina, 2009). Sedangkan menurut Effendi (2003), sebagian besar biota akuatik sensitif terhadap perubahan pH dan menyukai nilai pH sekitar 7,5 – 8,5. Nilai pH sangat mempengaruhi proses biokimiawi perairan, misalnya proses nitrifikasi akan berakhir jika pH rendah. Hal ini berarti bahwa nilai pH selama penelitian ini masih berada pada batas normal untuk kelangsungan hidup udang windu.

4.3.3 Suhu

Peningkatan suhu menyebabkan peningkatan kecepatan metabolisme dan respirasi organisme air yang selanjutnya mengakibatkan peningkatan konsumsi oksigen. Peningkatan suhu perairan sebesar 10 °C menyebabkan terjadinya peningkatan konsumsi oksigen oleh organisme akuatik sebesar 2 – 3 kali lipat. Namun peningkatan suhu ini disertai dengan penurunan kadar oksigen terlarut sehingga keberadaan oksigen seringkali tidak mampu memenuhi kebutuhan oksigen bagi organisme akuatik untuk melakukan proses metabolisme dan respirasi. Peningkatan suhu juga menyebabkan terjadinya peningkatan dekomposisi bahan organik oleh mikroba (Effendi, 2003).

Suhu ideal untuk udang windu adalah 27 – 30 °C. Bila suhu turun hingga 26 °C, nafsu makan udang akan turun sampai 50 % (Supito *et al.*, 2005 dalam Suyanto dan Takarina, 2009). Nilai suhu pada penelitian ini berkisar antara 27 sampai dengan 31 °C.

Lebih lanjut dijelaskan oleh Kordi (2009), selain bersifat *euryhaline* (dapat menoleransi kisaran salinitas yang luas), udang windu juga bersifat *eurythermal*, yaitu hewan yang dapat menoleransi perubahan suhu yang luas. Guncangan suhu yang besar di media budidaya, terutama di tambak pada musim kemarau, yaitu pada siang hari suhu mencapai 32 °C dan pada malam hari suhu menurun menjadi 22 °C masih dapat ditoleransi oleh udang walaupun pada kondisi demikian udang sensitif terhadap serangan penyakit. Hal ini berarti bahwa kisaran suhu selama penelitian ini masih dapat ditoleransi oleh udang windu yang dipelihara.

4.3.4 Salinitas

Nilai salinitas pada semua perlakuan saat infeksi yaitu 26 ppt. Menurut Kordi (2009), ketika masih muda udang windu berada di perairan yang dangkal di tepi pantai, bahkan ada yang memasuki muara sungai dan tambak berair payau. Karena itu udang tergolong hewan *euryhaline*, yaitu hewan yang mampu menoleransi kisaran salinitas yang luas. Udang windu dapat hidup pada salinitas 3 – 35 ppt.

Udang windu (*P. monodon* Fabricius) tumbuh paling baik pada kadar garam antara 15 ppt sampai 22 ppt. Namun demikian bukan berarti udang windu tidak dapat dipelihara pada air yang berkadar garam lebih kecil dari 15 ppt dan lebih tinggi dari 22 ppt. Pengalaman para petambak di Indonesia membuktikan bahwa banyak tambak yang dekat dengan laut dan kadar garamnya selalu mendekati 30 ppt udang windu dapat tumbuh dengan baik, asalkan pergantian air sering dilakukan. Pada kadar garam lebih rendah dari 15 ppt bahkan sampai 5

ppt udang windu juga dapat tumbuh dengan kecepatan cukup baik asalkan perubahan kadar garam itu tidak terjadi secara mendadak (Suyanto dan Mudjiman, 2006). Hal ini berarti bahwa nilai salinitas selama penelitian ini masih berada pada batas yang bisa ditoleransi oleh udang windu.



5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang analisis enzim superoksida dismutase pada udang windu (*P. monodon* Fabricius) yang diinfeksi bakteri *V. harveyi* pasca pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus*, dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* ternyata meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (*P. monodon* Fabricius).
- Pemberian imunostimulan Pili *V. alginolyticus* yang optimal untuk meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (*P. monodon* Fabricius) adalah dengan konsentrasi 23,33 µg/ekor.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian disarankan agar diberikan imunostimulan Pili *V. alginolyticus* dengan konsentrasi 23,33 µg/ekor untuk meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase serta mencegah adanya serangan penyakit pada udang windu (*P. monodon* Fabricius).

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2010. **Ekstrak Jinten Hitam (*Nigella sativa*) sebagai Imunostimulan Ikan Lele Dumbo yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila***. <http://www.perikanan-budidaya.dkp.go.id>. Diakses tanggal 7 Desember 2010 pukul 19.00 WIB.
- _____. 2011^a. **KKP Targetkan Produksi Udang Windu 130.000 Ton**. <http://www.kkp.go.id>. Diakses tanggal 20 April 2011 pukul 11.00 WIB.
- _____. 2011^b. **Udang Windu**. <http://tambakblog.blogspot.com>. Diakses tanggal 25 Mei 2011 pukul 14.30 WIB.
- _____. 2011^c. ***Vibrio alginolyticus***. <http://www.shimadzu.com>. Diakses tanggal 25 Mei 2011 pukul 14.30 WIB.
- _____. 2011^d. **Bakteri**. <http://163.16.28.248/bio/activelearner>. Diakses tanggal 25 Mei 2011 pukul 14.30 WIB.
- _____. 2011^e. **Fimbriae**. <http://www.biologyjunction.com>. Diakses tanggal 25 Mei 2011 pukul 14.30 WIB.
- _____. 2011^f. **Adjuvant**. <http://en.wikipedia.org/wiki/Adjuvant>. Diakses tanggal 23 Februari 2011 pukul 11.30 WIB.
- Agun. 2008. **Daya Antimikroba Berbagai Konsentrasi Yogurt terhadap Bakteri *Salmonella typhi* secara *In vitro***. <http://one.indoskripsi.com>. Diakses tanggal 14 Mei 2011 pukul 15.00 WIB.
- Amri, K. 2003. **Budidaya Udang Windu Secara Intensif**. Agromedia Pustaka. Jakarta. 98 hal.
- Arief, S. 2008. **Radikal Bebas**. <http://www.ruteplanen.dk/query?wrel&search=mengenal-radikalbebas.html>. Diakses tanggal 20 April 2011 pukul 11.00 WIB.
- Astuti, S. 2009. **Profil Antioksidan Copper, Zinc-Superoxide Dismutase (Cu, Zn-SOD) pada Tubulu Seminiferi Testis Tikus yang Diberi Tepung Kedelai Kaya Isoflavon, Seng (Zn) dan Vitamin E**. Seminar Hasil Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat. Unila. Lampung.
- Blusher, M. 2010. **Bakteri**. <http://marthinbluser.wordpress.com>. Diakses tanggal 22 Februari 2011 pukul 11.30 WIB.
- Bowe, C. 2009. ***Vibrio harveyi***. http://web.mst.edu/~microbio/BIO221_2009/V_harveyi.html. Diakses tanggal 25 Mei 2011 pukul 14.30 WIB.
- Boyd, C. E. 1982. **Water Quality Management for Fish Pond Culture**. Birmingham Publishing Co. Alabama. 481 hal.

- Budiardi, T. 2010. **Budidaya Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) Berwawasan Lingkungan**. <http://singkil.webs.com>. Diakses tanggal 22 Februari 2011 pukul 12.00 WIB.
- Citarasu, T. V. S, I. Grasian, R. Namita and M. Vadivel. 2006. **Influence of Selected Indian Immunostimulant Herbs Against White Spot Syndrome Virus (WSSV) Infection in Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon* With Reference to Haematological, Biochemical and Immunological Changes**. *Fish&Shellfish Immunology* 21: 372-384.
- Dwidjoseputro, D. 1998. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. Penerbit Djambatan. Jakarta. 214 hal.
- Effendi, H. 2003. **Telaah Kualitas Air**. Kanisius. Yogyakarta. 255 hal.
- Fahri, M. 2009. **Bakteri Pathogen pada Budidaya Perikanan *Vibrio alginolyticus***. <http://elfahrybima.blogspot.com>. Diakses tanggal 7 Desember 2010 pukul 19.00 WIB.
- Feliatra. 2009. **Identifikasi Bakteri Patogen (*Vibrio* sp.) di Perairan Nongsa Batam Propinsi Riau**. *Jurnal Natur Indonesia* 11 (1): 28 - 33. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau.
- Guterres, H. A. D. S. 2010. **Potensi Antagonistik Protein Pili *Vibrio alginolyticus* terhadap *Vibrio harveyi* secara In Vitro**. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Haliman, R. B. dan D. Adijaya. 2006. **Udang Vannamei**. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Holmblad, T. and K. Soderhall. 1999. **Cell Adhesion Molecules and Antioxidative Enzymes in a Crustacean, Possible Role in Immunity**. *Aquaculture* 172: 111 – 123.
- Irianto, A. 2003. **Probiotik Akuakultur**. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 125 hal.
- Karyadi, E. 2009. **Seminar Enzim SOD**. <http://detokshop.blogspot.com>. Diakses tanggal 5 Desember 2010 pukul 19.00 WIB.
- Kordi, M. G. H. 2009. **Budidaya Perairan**. Buku Kedua. PT Citra Aditya Bakti. Bandung. hal 445 – 964.
- Kurutas, E. B, O. Arican dan S. Sasmaz. 2005. **Superoxide Dismutase and Myeloperoxidase Activities in Polymorphonuclear Leukocytes in *Acne vulgaris***. *Acta Dermatoven APA* Vol 14, No 2.
- Kusnadi. 2010. **Struktur Sel Bakteri**. <http://file.upi.edu>. Diakses tanggal 22 Februari 2011 pukul 12.00 WIB.
- Lefrina, Y. 2009. **Tangkal Radikal Bebas Dengan Antioksidan**. <http://www.pikiranrakyat.com/prprint.php?mib=beritadetail&id=30087>. Diakses tanggal 22 Februari 2011 pukul 12.00 WIB.

- Mahasri, G. 2008. **Respon Imun Udang Windu (*Penaeus Monodon* Fabricius) Yang Diimunisasi Dengan Protein Membran Immunogenik MP 38 dari *Zoothamnium Penaei***. Program Studi Budidaya Perairan, FKH-Unair. Surabaya.
- Martutik. 2005. **Studi Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio alginolyticus* pada Media TSA dengan Penambahan Chitin**. Undergraduate Theses from JIPTUMMPP.
- Masyifah. 2010. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. www.fkunissula.ac.id. Diakses tanggal 22 Februari 2011 pukul 19.00 WIB.
- Maulana, S. 2010. **Struktur Sel Bakteri**. http://sayedmaulana.wordpress.com. Diakses tanggal 22 Februari 2011 pukul 11.30 WIB.
- Mubasyir, A. 2007. **Pengaruh Ekstrak Daun Widuri (*Calotropis gigantea*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio alginolyticus* dan *Aeromonas hydrophilla***. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Murjani, M., Y. I. Nur'aini dan G. Triastutik. 2003. **Hama Penyakit Ikan dan Udang Pada Usaha Pembenihan**. Departemen Kelautan dan Perikanan. Direktorat Jendral Perikanan Budidaya Balai Budidaya Air Payau Situbondo. Situbondo. 13 hal.
- Murtidjo, B. A. 2003. **Benih Udang Windu Skala Kecil**. Kanisius. Yogyakarta. 75 hal.
- Nazir. 2005. **Metode Penelitian**. Ghalia Indonesia. Jakarta. 212 hal.
- Neves, C. A., E. A. Santos dan A. C. D. Bairy. 2000. **Reduced Superoxide Dismutase Activity in *Palaemonetes argentinus* (Decapoda, Palaemonidae) Infected by *Probopyrus ringueleti* (Isopoda, Bopyridae)**. Disease of Aquatic Organisms. Vol. 39: 155 - 158, 2000.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 2009. **Dasar-dasar Mikrobiologi 2**. Alih bahasa: R. S. Hadioetomo, T. Imas, S. S. Tjitrosomo, S. L. Angka. UI Press.
- Pitayu, L. A. 2007. **Penapisan Aktivitas Superoksida Dismutase dan Identifikasi Spesies dengan Metode 16S rDNA dari Bakteri asal Indonesia**. http://digilib.itb.ac.id. Diakses tanggal 5 Desember 2010 pukul 19.00 WIB.
- Poeloengan, M., Andriani, Susan, M. N., I. Komala dan M. Hasnita. 2007. **Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Bungur (*Largerstoremia speciosa* Pers) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *In Vitro***. Seminar Teknologi Peternakan dan Veteriner 2007.
- Prajitno, A. 2007. **Penyakit Ikan – Udang: Bakteri**. UM Press. Malang. 115 hal.

- Prasetio, E. 2010. Peran Imunostimulan OMP *Vibrio alginolyticus* dan Uji Tantang *Vibrio harveyi* terhadap Proliferasi Sel Hemosit Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius). Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya. Malang.
- Raa, J. 2000. **The Use of Immune-Stimulants in Fish and Shellfish Feeds.** Avances en Nutricion Acuicola V. memoras del V Simposium Internacional de Nutricion Acuicola. 19 - 22 Nopember 2000. Merida, Yucatan. Mexico.
- Rahmat. 2009. **Patogenesis Bakteri Vibrio pada Udang Windu.** <http://www.rahmatsoft.web.ugm.ac.id>. Diakses tanggal 25 Mei 2011 pukul 14.30 WIB.
- Rosy, T. dan S. Mulyani. 2008. **One Way ANOVA.** <http://aa.wrs.yahoo.com>. Diakses tanggal 26 April 2011 pukul 20.15 WIB.
- Rozi, F. A. 2008. **Budidaya Udang Windu Ramah Lingkungan.** <http://singkil.webs.com>. Diakses tanggal 20 April 2011 pukul 11.00 WIB.
- Rukmini, M. S., B. D'Souza dan V. D'Souza. 2004. **Superoxide Dismutase and Catalase Activities and Their Correlation with Malondialdehyde in Schizophrenic Patients.** Indian Journal of Clinical Biochemistry, 2004, 19 (2) 114 - 118.
- Sahana. 2010. **Produksi Udang Turun Akibat Serangan Virus.** <http://news.okezone.com>. Diakses tanggal 20 April 2011 pukul 11.00 WIB.
- Sofia, D. 2005. **Antioksidan dan Radikal Bebas.** http://www.chemistry.org/artikel_kimia. Diakses tanggal 18 April 2011 pukul 19.30 WIB.
- Sritunyalucksana, K. 2001. **Characteristic of Some Immune Genes in the Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*.** Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from The Faculty of Science and Technology. Uppsala University.Sweden. ISBN 91-554-5087-3.
- Sudianto, A. 2010. **Analisa Enzim Superoksida Dismutase dan Protease pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricius) yang Diinfeksi *Vibrio harveyi* Pasca Pemberian Imunostimulan OMP *Vibrio alginolyticus*.** Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya. Malang.
- Sumeru, S. U. dan S. Anna 1992. **Pakan Udang Windu (*Penaeus monodon*).** Kanisius. Yogyakarta. 94 hal.
- Sumisdianto. 2009. **Pengaruh Imunostimulan Bakterin *Vibrio alginolyticus* terhadap Respon Imin Seluler Udang Windu (*Penaeus monodon*) yang Dipapar Bakteri *Vibrio alginolyticus*.** Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Supamattaya, K., N. Chittiwan and M. Boonyaratpalin. 2000. **Immunological Factors in Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*. Fabricius.** <http://aquafeed.com/docs/ns/Supamattayaetal.pdf>. Diakses tanggal 7 Desember 2010 pukul 19.00 WIB.

- Suryahman, A. 2009. **Optimasi Penggunaan Bakteri Probiotik sebagai Imunostimulan untuk Meningkatkan Respon Imun Seluler pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)**. Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya. Malang.
- Suyanto, S. R. dan A. Mudjiman. 2006. **Budidaya Udang Windu**. Penebar Swadaya. Jakarta. 213 hal.
- Suyanto, S. R. dan E. P. Takarina. 2009. **Panduan Budidaya Udang Windu**. Penebar Swadaya. Jakarta. 212 hal.
- Syahailatua dan Y. Diana. 2009. **Seleksi Bakteri Probiotik sebagai Stimulator Sistem Imun pada Udang Vaname *Litopenaeus vannamei***. <http://repository.ipb.ac.id>. Diakses tanggal 25 Mei 2011 pukul 14.30 WIB.
- Toro, V. dan Soegiarto, 1979. **Biologi Udang Windu**. Proyek Penelitian Sumberdaya Ekonomi. Lembaga Oceanologi LIPI. Jakarta. 144 hal.
- Umar, H. R. 2009. **Potensi Isolat *Bacillus* sp. Lts 40 Menghambat Pertumbuhan *Vibrio harveyi* Penyebab Vibriosis dan Meningkatkan Sintasan Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.)**. Tesis. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Van de Braak, K. 2002. **Haemocytic Defence in Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*)**. PhD Thesis. Wageningen University. Netherland.
- Violy, A. 2010. **Vibrio**. <http://nonagetha.blogspot.com>. Diakses tanggal 22 Februari 2011 pukul 12.00 WIB.
- Wresdiyati T. 2003. **Imunohistochemical Study of Oxygen-Free Radical Scavenger-Copper, Zinc-Superoxide Dismutase (Cu,Zn-SOD) in The Rats Liver Under Stress Condition**. Biota 8: 107 – 112.
- Yun, Y. S. and Lee, Y. N. 2002. **Production of Superoxide Dismutase by *Deinococcus radiophilus***. Journal of Biochemistry and Molecular Biology, Vol. 36, No. 3, May 2003, pp. 282-287.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Peralatan yang Digunakan



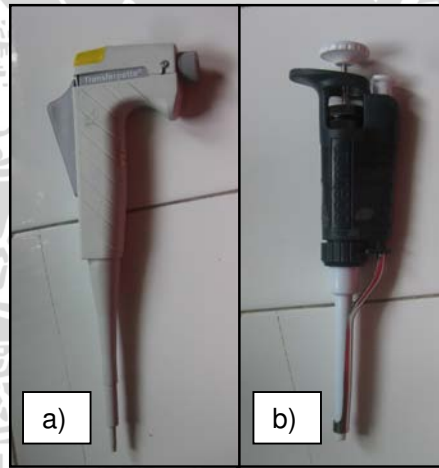
Bak perlakuan



Hi-blow



Pompa



Mikropipet. a) 10-100 µl dan b) 200 – 1000 µl



Eppendorf



Sprit 1 ml

Lampiran 1 (Lanjutan)



Vortex



DO meter



pH pen



Refraktometer

Lampiran 2. Bahan-bahan yang Digunakan



Udang windu (*P. monodon* Fabricius)



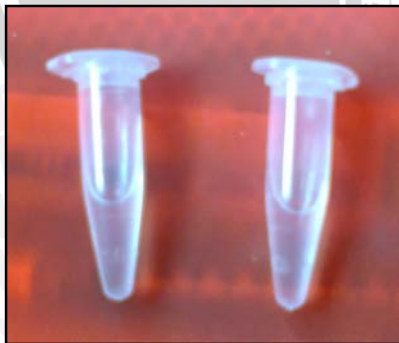
Pellet



Na fisiologis



Adjuvant



Pili



Pili+Na fisiologis+Adjuvant

Lampiran 2 (Lanjutan)



V. harveyi



Na sitrat 3,8 %



Lampiran 3. Penghitungan Konsentrasi Pili

Larutan stok murni Pili: 25,714 mg/ml = 25714 µg/1000 µl

a. Konsentrasi 10 µg/ekor

$$\frac{N_1}{V_1} = \frac{N_2}{V_2}$$

$$\frac{10}{V_1} = \frac{25714}{1000}$$

$$V_1 = 0,38889 \mu\text{l}$$

Jadi, dari volume 50 µl yang akan disuntikkan terdiri dari 0,38889 µl larutan Pili + 24,61111 µl Na fisiologis + 25 µl adjuvant. Kemudian larutan divortex dan siap untuk diinjeksikan ke udang.

b. Konsentrasi 20 µg/ekor

Dengan perhitungan yang sama seperti konsentrasi 10 µg/ekor di atas, maka diperoleh larutan yang akan diinjeksikan yaitu 0,77778 µl larutan Pili + 24,2222 µl Na fisiologis + 25 µl adjuvant.

c. Konsentrasi 30 µg/ekor

Dengan perhitungan yang sama seperti konsentrasi 10 µg/ekor di atas, maka diperoleh larutan yang akan diinjeksikan yaitu 1,16667 µl larutan Pili + 23,3333 µl Na fisiologis + 25 µl adjuvant.

Lampiran 4. Pengukuran Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase



Pengambilan hemolimf



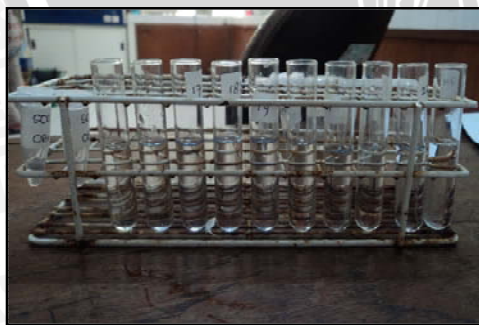
Pengambilan sampel uji



Bahan-bahan yang digunakan



Sentrifuse



Sampel yang akan di spektrofotometer

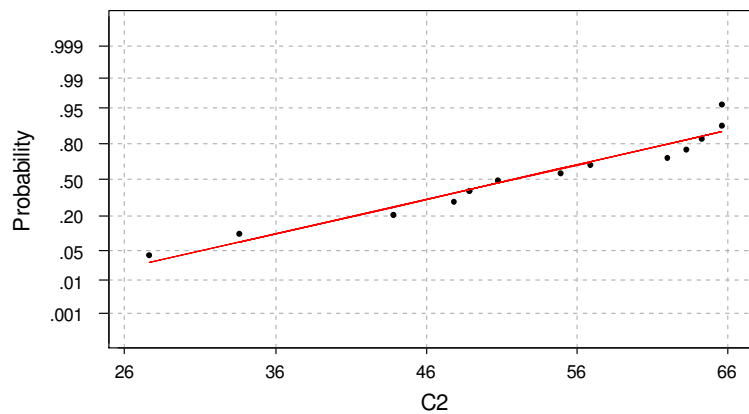


Spektrofotometer

Lampiran 5. Uji Normalitas Data Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase

Perlakuan	Aktivitas enzim SOD (unit/ml)		
	1	2	3
Kn	65,58	64,26	48,81
Ki	33,56	43,76	27,6
A	48,81	56,89	54,87
B	61,94	66,59	63,25
C	43,76	47,8	50,73

Normal Probability Plot



Average: 51.814
StDev: 11.6103
N: 15

Kolmogorov-Smirnov Normality Test
D=: 0.118 D-: 0.142 D+: 0.142
Approximate P-Value > 0.15



Lampiran 6. Analisis Statistik Data Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase

Perlakuan	Ulangan			Total	r	Rata-rata	Standart deviasi
	1	2	3				
Ki	33,56	43,76	27,6	104,92	3	34,973	8,172
A	48,81	56,89	54,87	160,57	3	53,523	4,205
B	61,94	66,59	63,25	191,78	3	63,927	2,398
C	43,76	47,8	50,73	142,29	3	47,430	3,500
Total				599,56	12		

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{G^2}{r} = \frac{599,56^2}{12}$$

$$= 29956,016$$

$$\text{JK Total} = (33,56^2 + 43,76^2 + 27,6^2 + 43,76^2 + 47,8^2 + 50,73^2 + 61,94^2 + 66,59^2 + 63,25^2 + 48,81^2 + 48,81^2 + 48,81^2) - \text{FK}$$

$$= 31477,241 - 29956,016$$

$$= 1521,225$$

$$\text{JK Perlakuan} = \frac{(104,92)^2 + (142,29)^2 + (191,78)^2 + (160,57)^2}{3} - \text{FK}$$

$$= \frac{93816,944}{3} - 29956,016$$

$$= 1316,298$$

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

$$= 1521,225 - 1316,298$$

$$= 204,926$$

Lampiran 6 (Lanjutan)

Tabel Sidik Ragam

Sumber keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1316,298	438,766	17,129**	4,07	7,59
Acak	8	204,926	25,616			
Total	11	1521,225				

Keterangan: ** = Berbeda sangat nyata

Karena F hitung > F tabel 1% dan F tabel 5%, maka dapat dikatakan pemberian Pili bakteri *V. alginolyticus* memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase pada udang windu (*P. monodon* Fabricius). Maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

Uji BNT Untuk 5% dan 1%

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \sqrt{\frac{2KT \text{ Acak}}{\text{Ulangan}}} \\
 &= \sqrt{\frac{2(25,616)}{3}} \\
 &= 4,132
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ 5\%} \times \text{SED} \\
 &= 2,31 \times 4,132 \\
 &= 9,546
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ 1\%} \times \text{SED} \\
 &= 3,36 \times 4,132 \\
 &= 13,885
 \end{aligned}$$

Lampiran 6 (Lanjutan)

Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rerata Perlakuan	Ki = 34,973	C = 47,430	A = 53,523	B = 63,927	Notasi
Ki = 34,973	-	-	-	-	A
C = 47,430	12,457*	-	-	-	B
A = 53,523	18,550**	6,093 ^{ns}	-	-	B
B = 63,927	28,953**	16,497**	10,403*	-	C

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

Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding		
		Linier	Kuadratik	Kubik
Ki	104,92	-3	1	-1
A	160,57	-1	-1	3
B	191,78	1	-1	-3
C	142,29	3	1	1
Q = $\sum (Ci Ti)$		143,32	-105,14	-56,26
Kr = $\sum (Ci^2)r$		60	12	60
JK Reg. = Q ² /Kr		342,344	921,202	52,753

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3					
Linear	1	342,344	342,344	13,365**	5,32	11,26
Kuadratik	1	921,202	921,202	35,962**		
Kubik	1	52,753	52,753	2,059 ^{ns}		
Acak	8	204,926	25,616			
Total	11					

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

Lampiran 6 (Lanjutan)

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

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

$$= 0,626$$

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

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

$$= 0,818$$

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

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

$$= 0,205$$

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

Uj	-1,50	-0,50	0,50	1,50	Rerata
Perlakuan	0,00	10,00	20,00	30,00	15
X rata-rata	15,00				
Perlakuan	0	10	20	30	Total
n= 12	33,56	48,81	61,94	43,76	
	43,76	56,89	66,59	47,8	
	27,6	54,87	63,25	50,73	
Yij	104,92	160,57	191,78	142,29	599,56
Uj	-4,93	-1,64	1,64	4,93	0,00
Uj ²	2,25	0,25	0,25	2,25	5,00
Uj ⁴	5,06	0,06	0,06	5,06	10,25
ΣUjYij	-517,70	-264,10	315,43	702,09	235,72
ΣUj ² Yij	236,07	40,14	47,95	320,15	644,31

Lampiran 6 (Lanjutan)

$$y = bo + b1 xj + b2 xj^2$$

untuk mencari koefisien bo, b1 dan b2 digunakan persamaan normal:

$$\sum \sum Uj Yij = b1 r \sum Uj^2$$

$$\sum \sum Yij = bo n + b2 r \sum Uj^2$$

$$\sum \sum Uj^2 Yij = bo r \sum Uj^2 + b2 r \sum Uj^4$$

Keterangan:

Yij : nilai pengamatan

Xj : nilai taraf dari pada faktor

n : banyaknya pengamatan

$$y = - 0,09x^2 + 4,20x + 17,63$$

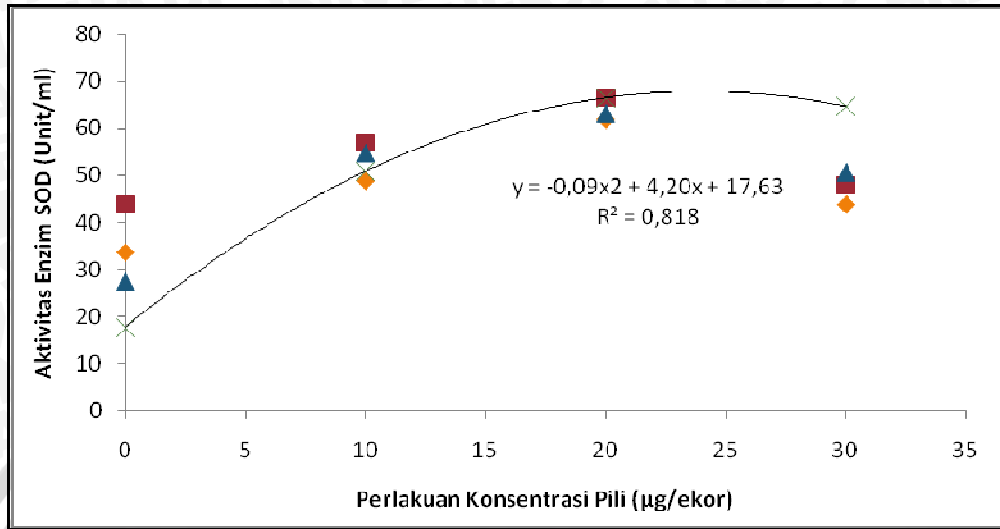
X	Y
0	17.63
10	50.87
20	66.58
30	64.77

Untuk Membuat Grafik Trend line berdasar seri X dari Y

Sumbu x	Sumbu y			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Hasil Aktivitas Enzim SOD dari Persamaan
0	33,56	43,76	27,6	17.63
10	48,81	56,89	54,87	50.87
20	61,94	66,59	63,25	66.58
30	43,76	47,8	50,73	64.77



Lampiran 6 (Lanjutan)



Keterangan:

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

Untuk mendapatkan nilai maksimum dari persamaan polinomial ortogonal maka persamaan diturunkan:

$$y = 17,63 + 4,20x - 0,09x^2$$

$$y' = 4,20 - 0,18x \rightarrow y' = 0 \text{ maka, } 4,20 = 0,18x$$

$$x = \frac{4,20}{0,18}$$

$$x = 23,33$$

Lampiran 6 (Lanjutan)

nilai x dimasukkan dalam persamaan:

$$\begin{aligned}y &= 56,91 + 0,388x - 0,008x^2 \\ &= 56,91 + 0,388(23,33) - 0,008(23,33)^2 \\ &= 61,61\end{aligned}$$

Sehingga didapatkan nilai perlakuan pemberian Pili bakteri *V. alginolyticus* maksimal dari persamaan polynomial orthogonal adalah 23,33 µg/ekor dengan nilai aktivitas enzim superoksida dismutase sebesar 61,61 unit/ml.



Lampiran 7. Data Hasil Pengukuran DO (ppm) dan pH

Tanggal	Kn ₁		Kn ₂		Kn ₃		Ki ₁		Ki ₂		Ki ₃		A ₁		A ₂	
	DO	pH	DO	pH	DO	pH	DO	pH	DO	pH	DO	pH	DO	pH	DO	pH
16 Maret 2011	4,01	7,923	4,19	7,976	4,31	8,043	4,12	7,894	4,81	7,953	4,45	7,941	4,07	7,849	4,80	7,976
18 Maret 2011	4,17	7,954	4,31	8,009	4,39	7,815	4,04	7,967	4,25	7,512	4,16	7,967	4,11	8,012	4,36	7,926
21 Maret 2011	4,31	7,904	4,67	7,912	4,56	7,958	4,26	7,914	4,12	7,856	4,21	7,854	4,71	8,023	4,18	7,985
23 Maret 2011	4,00	7,893	4,21	8,010	4,15	7,917	4,05	7,862	4,33	7,953	4,07	8,011	4,27	7,903	4,14	7,891
25 Maret 2011	4,04	8,024	4,16	7,972	4,14	7,936	4,33	7,849	4,29	8,013	4,17	7,829	4,25	7,981	4,06	8,017
28 Maret 2011	4,32	7,892	4,46	8,018	4,2	7,965	4,15	8,021	4,31	7,897	4,26	7,869	4,14	7,952	4,21	7,943
30 Maret 2011	4,11	7,875	4,12	7,968	4,16	7,852	4,48	7,908	4,58	7,896	4,32	7,853	4,02	7,867	4,85	7,835

Lampiran 7 (Lanjutan)

Tanggal	A ₃		B ₁		B ₂		B ₃		C ₁		C ₂		C ₃	
	DO	pH	DO	pH	DO	pH	DO	pH	DO	pH	DO	pH	DO	pH
16 Maret 2011	4,13	7,882	4,57	8,015	4,08	7,957	4,32	7,967	4,2	7,891	4,26	7,908	4,32	7,873
18 Maret 2011	4,17	7,999	4,42	7,983	4,43	7,867	4,15	7,895	4,02	7,897	4,14	8,020	4,46	8,048
21 Maret 2011	4,37	7,967	4,16	7,861	4,26	8,031	4,26	7,964	4,4	7,932	4,15	7,961	4,26	8,026
23 Maret 2011	4,05	7,869	4,81	7,927	4,13	7,983	4,21	7,895	4,07	8,021	4,23	7,879	4,32	7,888
25 Maret 2011	4,31	7,968	4,41	7,934	4,41	7,896	4,46	7,894	4,16	7,981	4,35	7,989	4,12	7,896
28 Maret 2011	4,25	8,014	4,18	7,976	4,32	7,894	4,27	7,971	4,13	7,941	4,45	7,957	4,34	7,923
30 Maret 2011	4,21	8,018	4,42	7,878	4,16	7,961	4,28	7,983	4,02	7,856	4,27	8,017	4,67	7,891

Lampiran 8. Data Hasil Pengukuran Suhu dan Salinitas

Tanggal	Pukul	Kn ₁		Kn ₂		Kn ₃		Ki ₁		Ki ₂		Ki ₃		A ₁		A ₂	
		Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)
16/03/2011	07.00	28	5	28	5	28	5	28	5	28	5	28	5	28	5	28	5
	15.00	30		30		30		30		30		30		30			
	21.00	30		30		30		30		30		30		30			
17/03/2011	07.00	28	8	28	8	28	8	28	8	28	8	28	8	28	8	28	8
	15.00	30		30		30		30		30		30		30			
	21.00	29		29		29		29		29		29		29			
18/03/2011	07.00	27,5	11	27,5	11	27,5	11	27,5	11	27,5	11	27,5	11	27,5	11	27,5	11
	15.00	30		30		30		30		30		30		30			
	21.00	30		30		30		30		30		30		30			
19/03/2011	07.00	29	15	29	15	29	15	29	15	29	15	29	15	29	15	29	15
	15.00	30		30		30		30		30		30		30			
	21.00	31		31		31		31		31		31		31			
20/03/2011	07.00	29	19	29	19	19	19	29	18	29	18	29	18	29	19	29	19
	15.00	30		30		30		30		30		30		30			
	21.00	29		29		29		29		29		29		29			
21/03/2011	07.00	29	22	29	22	29	22	29	22	29	22	29	22	29	22	29	22
	15.00	30		30		30		30		30		30		30			
	21.00	29		29		29		29		29		29		29			
22/03/2011	07.00	28,5	25	28,5	25	28,5	25	28,5	25	28,5	25	28,5	25	28,5	26	28,5	26
	15.00	29		29		29		29		29		29		29			
	21.00	29		29		29		29		29		29		29			

Lampiran 8 (Lanjutan)

Tanggal	Pukul	Kn ₁		Kn ₂		Kn ₃		Ki ₁		Ki ₂		Ki ₃		A ₁		A ₂	
		Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Sal. (ppt)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)
23/03/2011	07.00	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25
	15.00	30		30		30		30		30		30		30			
	21.00	29		29		29		29		29		29		29			
24/03/2011	07.00	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25
	15.00	30		30		30		30		30		30		30			
	21.00	30		30		30		30		30		30		30			
25/03/2011	07.00	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25
	15.00	30		30		30		30		30		30		30			
	21.00	29		29		29		29		29		29		29			
26/03/2011	07.00	27,5	26	27,5	26	27,5	26	27,5	26	27,5	26	27,5	26	27,5	26	27,5	26
	15.00	30		30		30		30		30		30		30			
	21.00	29		29		29		29		29		29		29			
27/03/2011	07.00	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26
	15.00	30		30		30		30		30		30		30			
	21.00	29		29		29		29		29		29		29			
28/03/2011	07.00	27	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27	26
	15.00	30		30		30		30		30		30		30			
	21.00	29		29		29		29		29		29		29			
29/03/2011	07.00	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26
	15.00	30		30		30		30		30		30		30			
	21.00	30		30		30		30		30		30		30			
30/03/2011	07.00	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26

Lampiran 8 (Lanjutan)

Tanggal	Pukul	A ₃		B ₁		B ₂		B ₃		C ₁		C ₂		C ₃	
		Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)
16/03/2011	07.00	28	5	28	5	28	5	28	5	28	5	28	5	28	5
	15.00	30		30		30		30		30		30		30	
	21.00	30		30		30		30		30		30		30	
17/03/2011	07.00	28	8	28	8	28	8	28	8	28	8	28	8	28	8
	15.00	30		30		30		30		30		30		30	
	21.00	29		29		29		29		29		29		29	
18/03/2011	07.00	27,5	11	27,5	12	27,5	12	27,5	12	27,5	12	27,5	12	27,5	12
	15.00	30		30		30		30		30		30		30	
	21.00	30		30		30		30		30		30		30	
19/03/2011	07.00	29	15	29	15	29	15	29	15	29	15	29	15	29	15
	15.00	30		30		30		30		30		30		30	
	21.00	31		31		31		31		31		31		31	
20/03/2011	07.00	29	19	29	19	29	19	29	19	29	19	29	19	29	19
	15.00	30		30		30		30		30		30		30	
	21.00	29		29		29		29		29		29		29	
21/03/2011	07.00	29	22	29	22	29	22	29	22	29	22	29	22	29	22
	15.00	30		30		30		30		30		30		30	
	21.00	29		29		29		29		29		29		29	
22/03/2011	07.00	28,5	26	28,5	26	28,5	26	28,5	26	28,5	26	28,5	26	28,5	26
	15.00	29		29		29		29		29		29		29	
	21.00	29		29		29		29		29		29		29	

Lampiran 8 (Lanjutan)

Tanggal	Pukul	A ₃		B ₁		B ₂		B ₃		C ₁		C ₂		C ₃	
		Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)	Suhu (°C)	Sal. (ppt)
23/03/2011	07.00	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25
	15.00	29		29		29		29		29		29			
	21.00	30		30		30		30		30		30			
24/03/2011	07.00	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25
	15.00	30		30		30		30		30		30			
	21.00	30		30		30		30		30		30			
25/03/2011	07.00	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25	28	25
	15.00	30		30		30		30		30		30			
	21.00	29		29		29		29		29		29			
26/03/2011	07.00	27,5	26	27,5	26	27,5	26	27,5	26	27,5	26	27,5	26	27,5	26
	15.00	30		30		30		30		30		30			
	21.00	29		29		29		29		29		29			
27/03/2011	07.00	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26
	15.00	30		30		30		30		30		30			
	21.00	29		29		29		29		29		29			
28/03/2011	07.00	27	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27	26	27	26
	15.00	30		30		30		30		30		30			
	21.00	29		29		29		29		29		29			
29/03/2011	07.00	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26
	15.00	30		30		30		30		30		30			
	21.00	30		30		30		30		30		30			
30/03/2011	07.00	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26	28	26

