

**PENGARUH KETINGGIAN MEDIA AIR LAUT TERHADAP THC
(Total Haemocyte Count) DAN DHC (Differential Haemocyte Count)
HEMOSIT TIRAM *Crassostrea cucullata* PADA BAK – BAK PERCOBAAN**

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

Oleh:

**MUFARIKA
NIM.115080113111007**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

**PENGARUH KETINGGIAN MEDIA AIR LAUT TERHADAP THC
(Total Haemocyte Count) DAN DHC (Differential Haemocyte Count)
HEMOSIT TIRAM *Crassostrea cucullata* PADA BAK – BAK PERCOBAAN**

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

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

Oleh:

**MUFARIKA
NIM.115080113111007**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

SKRIPSI

PENGARUH KETINGGIAN MEDIA AIR LAUT TERHADAP THC
(*Total Haemocyte Count*) DAN DHC (*Differential Haemocyte Count*)
HEMOSIT TIRAM *Crassostrea cucullata* PADA BAK – BAK PERCOBAAN

Oleh:
MUFARIKA
NIM.115080113111007

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal 23 Juni 2015
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I

Dr. Ir. Mohammad Mahmudi, MS
NIP. 19600505 198601 1 004

Tanggal:

Dosen Peguji II

Nanik Retno Buwono, S.Pi., MP
NIP. 19840420 201404 2 002

Tanggal:

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS
NIP. 19591230 198503 2 002

Tanggal:

Dosen Pembimbing II

Dr. Yuni Kilawati, S.Pi., M.Si
NIP. 19730702 200501 2 001

Tanggal:

Mengetahui,
Ketua Jurusan

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

Tanggal:

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi dengan judul “**Pengaruh Ketinggian Media Air Laut Terhadap THC (*Total Haemocyte Count*) dan DHC (*Differential Haemocyte Count*) Hemosit Tiram *Crassostrea cucullata* Pada Bak – Bak Percobaan**” yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Malang, 23 Juni 2015

Mahasiswa

MUFARIKA

NIM. 115080113111007

RINGKASAN

MUFARIKA. Skripsi tentang Pengaruh Ketinggian Media Air Laut Terhadap THC (*Total Haemocyte Count*) dan DHC (*Differential Haemocyte Count*) Hemosit Tiram (*Crassostrea cucullata*) Pada Bak – Bak Percobaan (dibawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS dan Dr. Yuni Kilawati, S.Pi., M.Si)

Tiram merupakan hewan intertidal yang banyak mengalami paparan bahan pencemar dari wilayah pasang surut. Hemosit banyak digunakan sebagai indikator stres lingkungan dan status kesehatan bivalvia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan hemosit yang terjadi pada tiram *C. cucullata* pada skala laboratorium, dilaksanakan pada bulan Januari 2015. Sampel tiram yang berukuran ± 6 cm diambil dari Perairan Dalegan, Gresik. Ketinggian air pasang dan surut pada habitat alami tiram dengan pasang tertinggi 70cm dan surut terendah 0cm. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental disusun dalam rancangan percobaan RAL. 3 sampel tiram diberi 3 perlakuan ketinggian (0cm, 35cm dan 70cm) masing-masing 3 kali ulangan. Parameter pendukung yang diukur yakni suhu, salinitas, pH, DO dan TOM sebelum dan sesudah perlakuan. THC tiram *C. cucullata* yang diambil dari Perairan Dalegan $153 \pm 5,7 \times 10^4$ sel/ml. THC tiram setelah diberi perlakuan perendaman 0cm $80 \pm 2,84 \times 10^4$ sel/ml, 35cm $13,27 \pm 0,23 \times 10^4$ sel/ml dan 70cm $12,40 \pm 1,51 \times 10^4$ sel/ml. Tiram yang diberi ketinggian di 35cm terbanyak memproduksi THC. Pemberian ketiga perlakuan tersebut dapat menurunkan THC tiram dari perairan Dalegan karena pada perlakuan tersebut dilakukan perendaman dengan menggunakan air laut steril. Pengamatan DHC diidentifikasi ada dua jenis sel yakni hyalinosit dan granulosit. Sel hyalinosit yang diambil dari perairan Dalegan sebesar $31,85 \pm 8,98\%$ menunjukkan jumlah lebih sedikit daripada saat diberi perlakuan perendaman ketinggian 0cm, 35cm dan 70 cm yang hasilnya berturut-turut $61,57 \pm 5,61\%$; $62,63 \pm 7,00\%$; $66,39 \pm 3,76\%$. Pada ketinggian 0cm terbanyak memproduksi hyalinosit karena tiram berada pada udara terbuka dan tidak mendapatkan tekanan dari media air laut. Sel granulosit yang diambil dari Perairan Dalegan $64,4 \pm 3,8\%$ menunjukkan hasil lebih banyak pada saat diberi perlakuan perendaman ketinggian 0cm, 35cm dan 70cm berturut-turut sebesar $33,61 \pm 3,76\%$; $37,37 \pm 7,00\%$; $38,43 \pm 5,61\%$, tiram pada ketinggian 35cm terbanyak memproduksi granulosit karena tiram masih terbiasa dengan habitat alamnya yang berada pada lingkungan yang tercemar ketika proses pasang surut sehingga diperlukan granulosit yang lebih banyak untuk pertahanan tubuh melalui fagositosis. Pada penelitian ini H_0 diterima dan H_1 ditolak yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan pengaruh antara ketinggian media air laut dengan THC dan DHC tiram *C. cucullata* baik hyalinosit maupun granulosit. Pada ketiga perlakuan tersebut menunjukkan tiram hanya mengenali material asing yang masuk ke tubuhnya, yang dilihat dari persentase hyalinosit yang lebih banyak daripada granulosit. Sebaliknya ketika tiram berada pada perairan Dalegan lebih banyak memproduksi sel granulosit yang digunakan untuk proses fagositosis dalam mempertahankan tubuh dari material asing yang masuk ke tubuhnya, agar tiram dapat bertahan pada kondisi yang tidak menguntungkan tersebut. Hasil pengukuran kualitas air suhu berkisar $25-31^\circ\text{C}$, salinitas 34-36 ppt, pH 8-8,5, DO 5,40-7,84 mg/l, dan TOM 18,33-48,03 mg/l. Jumlah hemosit tiram yang tinggi pada penelitian ini menunjukkan bahwa pada perairan tersebut dalam kondisi tercemar, oleh karena itu perlu dilakukan pengawasan dan pengendalian lebih lanjut terhadap pencemaran di perairan Dalegan, Gresik agar pada saat pasang beban pencemar dapat berkurang.

KATA PENGANTAR

السَّلَامُ عَلَيْكُمْ وَرَحْمَةُ اللَّهِ وَبَرَكَاتُهُ

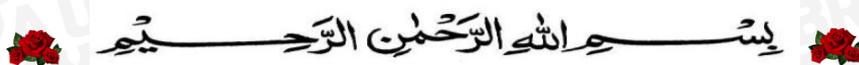
Syukur alhamdulillah kami panjatkan kehadiran Allah SWT, Tuhan Semesta Alam yang telah melimpahkan Rahmat-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan Laporan Skripsi dengan judul “**Pengaruh Ketinggian Media Air Laut Terhadap THC (*Total Haemocyte Count*) dan DHC (*Differential Haemocyte Count*) Pada Hemosit Tiram (*Crassostrea cucullata*) Pada Bak – Bak Percobaan**” ini tanpa hambatan yang berarti. Di dalam tulisan ini disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi ketinggian air media yang berbeda pada pemeliharaan tiram, pemantauan kesehatan tiram yang dapat dilihat dari hemositnya dengan cara pengamatan THC (*Total Haemocyte Count*) dan DHC (*Differential Haemocyte Count*).

Akhir kata, penulis tak luput dari kesalahan dan kekhilafan, hasil karya penulis tidak sempurna hasil ciptaan Sang Khalik, Allah SWT, demikian pula dengan skripsi ini, keterbatasan pengetahuan yang ada pada penulis membuat skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penuh harapan semoga skripsi ini di ridhoi Allah SWT dan dapat memberi manfaat bagi kita semua. Amin.

Malang, 23 Juni 2015

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

*Alhamdulillahirabbil 'alamin...*

Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang telah sudi membantu, sejak persiapan, pelaksanaan hingga pembuatan skripsi setelah penelitian selesai. Dengan segala kerendahan hati penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS dan Ibu Yuni Kilawati, S.Pi., M.Si. selaku dosen pembimbing, yang telah ikhlas meluangkan waktunya dan bersusah payah memberikan nasehat, petunjuk dan bimbingan kepada penulis sejak dari awal penelitian hingga selesainya skripsi ini.
2. Bapak Dr. Ir. Mohammad Mahmudi, MS dan Ibu Nanik Retno Buwono, S.Pi., MP. selaku Penguji yang telah meluangkan waktu dan banyak memberikan saran-saran demi kesempurnaan penelitian ini.
3. Universitas Brawijaya, sebagai wahana yang telah memberi kesempatan dan fasilitas dalam proses penulis mengais ilmu-Nya.
4. Bapak dan Ibu Dosen serta seluruh staff di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, yang telah banyak memberikan bantuan, langsung maupun tak langsung selama penulis melakukan penelitian dari awal hingga selesainya skripsi ini.
5. Sujud dan terima kasih yang dalam saya persembahkan kepada keluarga kecilku, Ibundaku tersayang "Emi", kakakku tercinta "Hana" yang tak henti-hentinya mendengar curahan hati dan keluh kesah penulis, kasih sayang, dorongan dan pengorbanan yang tak terhingga serta limpahan doa yang tak putus-putusnya telah meringankan langkah penulis untuk menghadapi segala kesulitan yang menghadang. Untuk itu, skripsi ini penulis persembahkan untuk kalian dan Almarhum Ayahku tersayang "Dhohir". Serta terkhusus kepada "Jainul Arifin" yang selalu menemani penulis disaat suka maupun duka sejak awal penelitian hingga selesainya skripsi ini.
6. Teman-teman seperjuangan penelitian ini "Bivalve Team" (Mbak Nuriyani, Via, Aziza, Aya, Ihin dan Zheta) serta Mas Attabik atas segala do'a, saran, motivasi dan dari awal penelitian sampai penyelesaian tugas akhir.

7. Sahabat seperjuangan @MSP11 (Ramli, Lilis, Dian, Hadi, Lita, Irma, Kunti, Dewi dan yang lainnya ☺) dan Keluarga kecil di HUMANERA atas do'a, motivasi dan semangat yang diberikan dalam menapaki terjalnya kisah ini.
8. Kakak-kakak dan adik-adik tingkat, serta seluruh teman-teman di program studi/jurusan/fakultas lain. *Thank's for all memories in here.*
9. Teman - teman yang telah memberikan bantuan dan ikut berperan dalam memperlancar penelitian dan penulisan laporan skripsi ini,
10. Masyarakat Desa Dalegan, Gresik atas segala bentuk dukungan dan bantuannya selama proses penelitian di lapang.
11. Semua pihak yang telah membantu penulis mulai dari tahap persiapan hingga dalam penyusunan skripsi ini yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Hanya Allah yang dapat memberikan balasan atas muara setiap amal kita dan semoga keikhlasan serta pengorbanan yang telah diberikan diganti-Nya dengan yang jauh lebih baik. Amiin.



Malang, 23 Juni 2015

Penulis

DAFTAR ISI

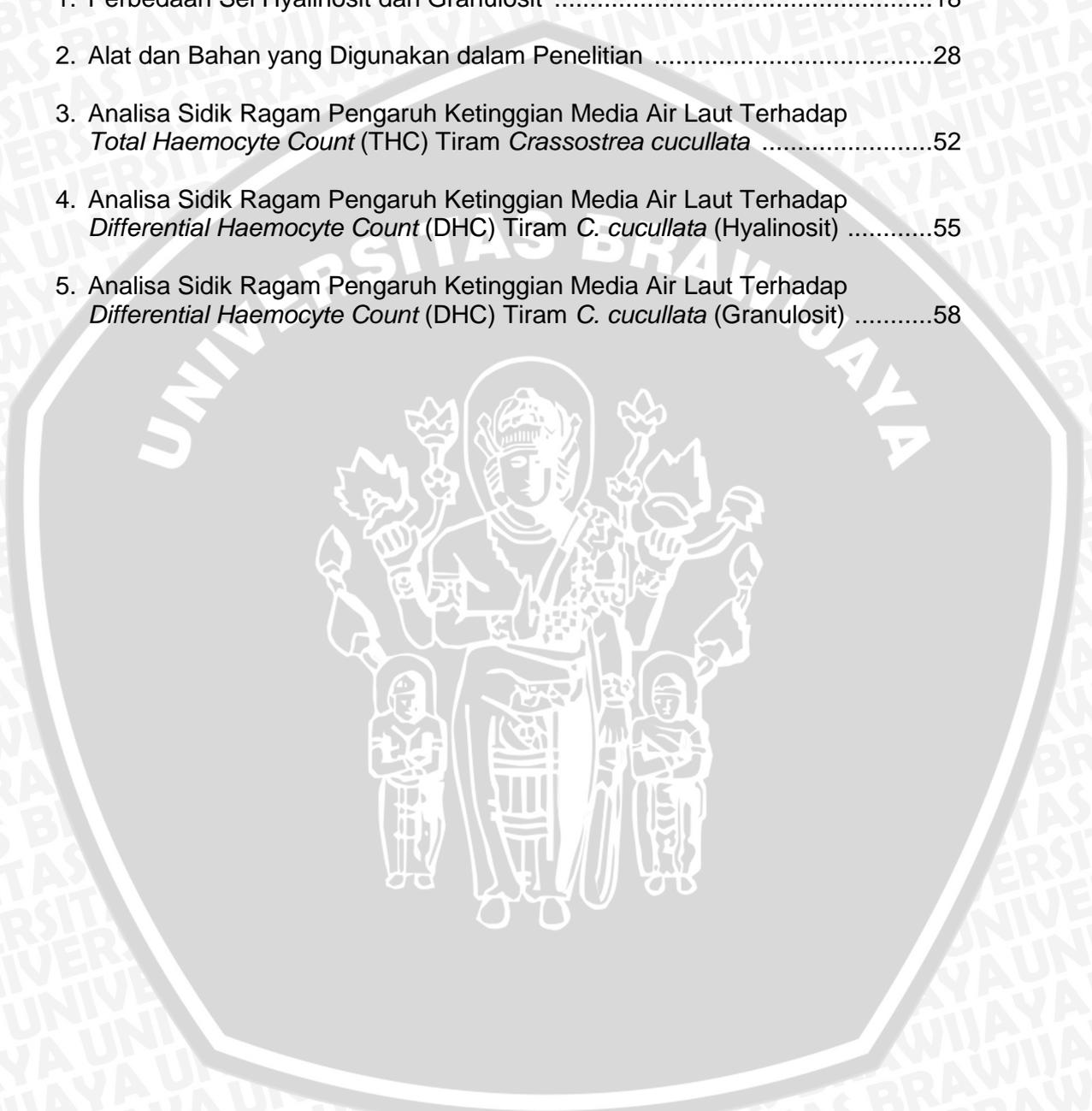
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
RINGKASAN	iv
KATA PENGANTAR	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis	5
1.5 Kegunaan Penelitian	5
1.6 Waktu dan Tempat	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Klasifikasi dan Morfologi Tiram	6
2.2 Anatomi Tiram	8
2.3 Makanan dan Kebiasaan Makan	9
2.4 Habitat Tiram	9
2.5 Respon Tiram Terhadap Bahan Pencemar	10
2.6 Hemosit	16
2.7 Hubungan Sistem Imun dengan Hemosit	18
2.8 Pengaruh Ketinggian Air Terhadap Tiram	20
2.9 Kondisi Fisika dan Kimia Air	22
2.9.1 Suhu	22
2.9.2 Pasang surut	24
2.9.3 Derajat Keasaman	25
2.9.4 Salinitas	25
2.9.5 Oksigen Terlarut (<i>Dissolved Oxygen</i>)	26
2.9.6 Total Bahan Organik	27
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	29
3.1 Materi Penelitian	29



3.1.1	Alat dan Bahan	29
3.1.2	Hewan Uji	31
3.1.3	Media Percobaan	31
3.2	Penelitian Pendahuluan	33
3.3	Penelitian Utama	34
3.3.1	Rancangan Penelitian	34
3.3.2	Variabel Penelitian	34
3.3.3	Perlakuan	35
3.4	Prosedur Penelitian	36
3.4.1	Pengambilan Tiram	36
3.4.2	Preparasi Bak Pemeliharaan	36
3.4.3	Pemeliharaan Tiram	37
3.4.4	Pengambilan Sampel Darah Tiram	37
3.4.5	Pengamatan THC dan DHC	38
3.4.6	Metode Analisa Kualitas Air	39
3.5	Analisis Data	42
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	44
4.1	Kondisi Umum Lokasi Penelitian	44
4.2	Karakteristik Hemosit Tiram <i>Crassostrea cucullata</i>	45
4.3	Penelitian Pendahuluan	45
4.3.1	<i>Total Haemocyte Count</i> (THC) Kontrol	46
4.3.2	<i>Differential Haemocyte Count</i> (DHC) Kontrol	47
4.4	Penelitian Utama	51
4.4.1	<i>Total Haemocyte Count</i> (THC)	51
4.4.2	<i>Differential Haemocyte Count</i> (DHC)	54
4.5	Analisa Kualitas Air	59
4.5.1	Suhu	59
4.5.2	Salinitas	60
4.5.3	Derajat Keasaman	61
4.5.4	Oksigen Terlarut	62
4.5.5	Total Bahan organik	63
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	64
5.1	Kesimpulan	64
5.2	Saran	64
	DAFTAR PUSTAKA	65
	LAMPIRAN	75

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perbedaan Sel Hyalinosit dan Granulosit	18
2. Alat dan Bahan yang Digunakan dalam Penelitian	28
3. Analisa Sidik Ragam Pengaruh Ketinggian Media Air Laut Terhadap <i>Total Haemocyte Count</i> (THC) Tiram <i>Crassostrea cucullata</i>	52
4. Analisa Sidik Ragam Pengaruh Ketinggian Media Air Laut Terhadap <i>Differential Haemocyte Count</i> (DHC) Tiram <i>C. cucullata</i> (Hyalinosit)	55
5. Analisa Sidik Ragam Pengaruh Ketinggian Media Air Laut Terhadap <i>Differential Haemocyte Count</i> (DHC) Tiram <i>C. cucullata</i> (Granulosit)	58



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar	
1. Bagan Alir Rumusan Masalah	4
2. Morfologi <i>Crassostrea cucullata</i>	6
3. Anatomi Tiram	8
4. Mekanisme Bahan Pencemar Masuk Ke Dalam Tubuh Organisme, Tiram, yang Diterima Oleh Hemosit	15
5. Tipe hemosit pada <i>Crassostrea gigas</i>	16
6. Perbedaan Perbedaan Basophilic, Neutrophil dan Eosinophilic	17
7. Persiapan Media Percobaan dengan Pipa Paralon dan Air Laut Steril	32
8. Denah Rancangan Penelitian	36
9. Pengamatan THC Hemosit Tiram <i>C. cucullata</i>	46
10. Limbah Pada Perairan Dalegan Akibat Aktivitas Manusia	47
11. Pengamatan DHC Hemosit Tiram <i>C. cucullata</i>	48
12. Pengamatan DHC <i>Crassostrea rhizophorae</i>	48
13. Grafik Perhitungan THC Tiram <i>Crassostrea cucullata</i>	51
14. Grafik Perhitungan Hyalinosit Tiram <i>Crassostrea cucullata</i>	55
15. Grafik Perhitungan Granulosit Tiram <i>Crassostrea cucullata</i>	57

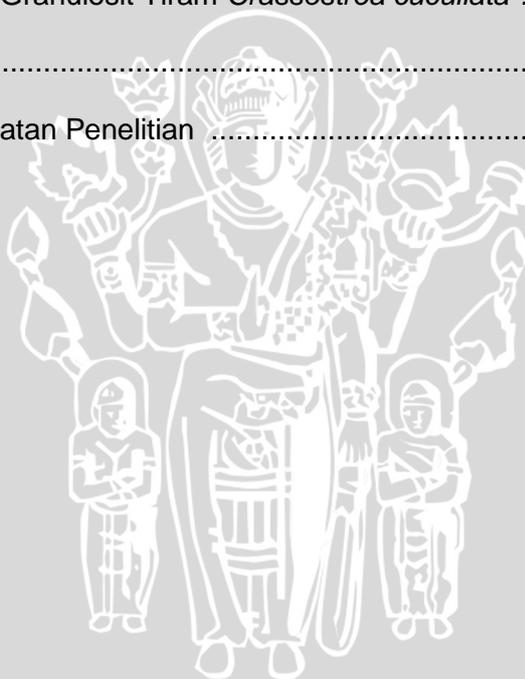


DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran

1. Data Pasang Surut PPN Brondong Januari 2015	75
2. Perhitungan Analisa Ragam Rancangan Acak Lengkap	76
3. Peta Lokasi Penelitian	78
4. Lokasi Pengambilan Sampel	79
5. Perhitungan THC Tiram <i>Crassostrea cucullata</i>	80
6. Perhitungan DHC Hyalinosit Tiram <i>Crassostrea cucullata</i>	83
7. Perhitungan DHC Granulosit Tiram <i>Crassostrea cucullata</i>	84
8. Data Kualitas Air	87
9. Dokumentasi Kegiatan Penelitian	88



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kelompok bivalvia secara umum banyak dijumpai di perairan laut terutama daerah pesisir pantai atau daerah intertidal. Jenis bivalvia yang hidup di perairan Indonesia diperkirakan terdapat sekitar 1000 jenis. Kerang-kerangan banyak bermanfaat dalam kehidupan manusia sejak masa purba. Dagingnya dapat dimanfaatkan sebagai olahan makanan. Cangkangnya dimanfaatkan sebagai perhiasan, bahan kerajinan tangan, serta alat pembayaran pada masa lampau. Selain itu beberapa jenis tiram dapat menghasilkan mutiara. Pemanfaatan modern juga menjadikan kerang-kerangan sebagai biofilter terhadap polutan. Beberapa jenis kerang-kerangan yang dimanfaatkan oleh manusia diantaranya adalah *Anadara granosa* (Kerang Darah), *Anadara antiquate* (Kerang Bulu), *Mytilus viridis* (Kerang Hijau), *Crassostrea cuculata* (Tiram Bakau) dan lain sebagainya (Nontji, 2002). Pada Perairan Dalegan Kecamatan Panceng Kabupaten Gresik terdapat beberapa jenis tiram diantaranya adalah tiram *Crassostrea cuculata*, *Crassostrea glomerata* dan *Crassostrea iredalei*.

Wilayah intertidal secara periodik akan mengalami perubahan mendasar sebagai sebuah ekosistem peralihan yakni sebagai ekosistem daratan dan juga lautan. Aktivitas pasang air laut yang terjadi pada siang yang terik menyebabkan intertidal menjadi wilayah daratan yang terbuka dan panas atau sebaliknya aktivitas pasang yang terjadi pada saat turun hujan deras menyebabkan intertidal menjadi wilayah laut dengan kadar salinitas yang rendah karena bercampurnya air hujan. Tekanan-tekanan fisik seperti yang dijelaskan di atas secara langsung akan menyebabkan perubahan pada daerah intertidal, khususnya kualitas air dan hanya organisme dengan adaptasi tertentu yang mampu hidup di daerah intertidal ini (Satino *et al.*, 2003).

Tiram merupakan hewan intertidal yang sudah teradaptasi dengan lingkungan pasang surut. Dalam satu hari tiram akan mengalami fase tertekan (saat pasang) dan mengalami fase ringan (saat surut). Pada saat fase tertekan (saat pasang) tiram akan mendapatkan tekanan dari kolom air yang naik sampai menggenangi substrat yang ditempelinya. Hal tersebut akan mengakibatkan tiram mendapatkan makanan yang melimpah akibat adanya material atau bahan organik yang terbawa pada saat pasang. Berbeda dengan pada saat tiram berada pada fase ringan (saat surut), tiram tidak dapat membuka cangkang dan akan bersentuhan dengan udara terbuka serta akan mengalami kekeringan dibagian cangkangnya. Hal tersebut akan mengakibatkan tiram tidak dapat memperoleh makanan bahkan mungkin terjadinya kematian.

Darah merupakan cairan terpenting dalam tubuh makhluk hidup. Darah merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk melihat kelainan yang terjadi pada organisme tersebut, baik yang terjadi karena penyakit ataupun karena keadaan lingkungan. Sehingga dengan mengetahui gambaran darah dapat mengetahui kondisi kesehatan suatu organisme (Delman and Brown, 1989 dalam Prasetyo *et al.*, 2008).

Darah tiram tidak mengandung haemoglobin, sehingga darahnya tidak berwarna merah, tetapi tiram hanya mempunyai sel darah putih atau yang biasa disebut dengan hemosit. Hemosit pada tiram di bedakan menjadi dua jenis yakni sel hyalinosit dan sel granulosit. Hemosit merupakan faktor pertahanan seluler dan humoral yang penting sebagai pertahanan tubuh melawan serangan organisme patogen yang dimiliki tiram. Biasanya sel hemosit memiliki hubungan yang erat dengan lingkungan, dimana jika tiram hidup didaerah yang buruk maka aktivitas hemositnya akan meningkat dan sebaliknya, jika tiram hidup pada kondisi lingkungan yang normal maka aktivitas hemositnya akan normal juga.

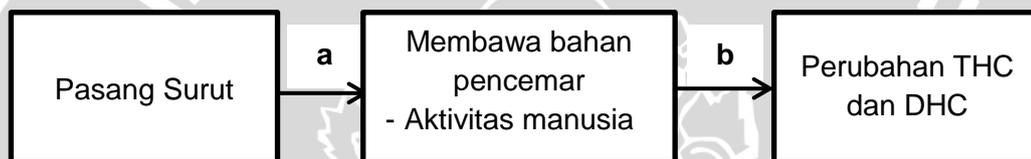
Bivalvia memiliki sistem peredaran darah terbuka dan organ internal yang memiliki hemolymph yang berlimpah. Hemosit terdapat dalam hemolymph yang dapat beredar keseluruh organ dan dikenal untuk memainkan peran yang menentukan pertahanan internal melalui fagositosis dan enkapsulasi dengan proses antar dan intraseluler dalam transportasi dan juga dalam diapapedesis. Dengan demikian, setiap perubahan dalam metabolisme pada bivalvia akan dicerminkan lewat gambaran darah (Ramanathan, 1993 dalam Kurniawan, 2012).

Pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Naf'an (2009), menggunakan paparan udara (0 cm / suhu kamar) dan paparan salinitas untuk mengetahui imunology tiram yang dilihat melalui THC, persentase granulosit, persentase fagositosis, indeks fagositosis dan superoksida generasi anion yang dilakukan selama 6 hari percobaan. Dalam penelitian tersebut menunjukkan bahwa semua parameter imunologi (THC, persentase granulosit, persentase fagositosis, indeks fagositosis dan superoksida generasi anion) menurun secara signifikan setelah 3 hari dari paparan udara (suhu kamar, $25 \pm 1,6$ °C) dan terus menurun secara signifikan sampai hari ke 6 percobaan.

Penelitian tentang ketinggian air yang kemungkinan akan menyebabkan penurunan respon imun pada tiram sebagai instrumen awal dalam perubahan lingkungan di perairan tersebut belum dilakukan. Untuk mengetahui perubahan respon imun dapat dipelajari melalui kondisi hemosit tiram, sebab hemosit merupakan sel darah pada bivalvia yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh yang dapat menjelaskan status kesehatan bivalvia. Berdasarkan penjelasan di atas, maka perlu dilakukan uji pengaruh ketinggian media air laut terhadap hemosit tiram *C. cucullata* untuk mengetahui perubahan hemosit yang terjadi pada tiram *C. cucullata* pada skala laboratorium.

1.2 Rumusan Masalah

Tiram hidup menempel pada substrat seperti batu atau kayu yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Pada saat pasang maka air laut akan membawa bahan pencemar yang banyak disumbang oleh limbah dari aktivitas manusia. Sebaliknya pada saat surut maka air laut akan menjauhi tepi pantai dan bahan pencemar yang terbawa oleh pasang akan kembali menuju ke tengah laut. Proses pasang surut tersebut diduga akan menyebabkan perubahan terhadap THC (*Total Haemocyte Count*) dan DHC (*Differential Haemocyte Count*) tiram *Crassostrea cucullata*. Dari uraian tersebut digambarkan melalui bagan alir perumusan masalah sebagai berikut (Gambar 1).



Gambar 1. Bagan Alir Rumusan Masalah

Penjelasan mengenai bagan alir perumusan masalah diatas adalah:

- Proses pasang surut air laut akan membawa bahan pencemar yang berbeda-beda yang berasal dari aktivitas manusia.
- Bahan pencemar tersebut diduga berpengaruh terhadap perubahan THC (*Total Haemocyte Count*) dan DHC (*Differential Haemocyte Count*) hemosit tiram *Crassostrea cucullata*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perubahan yang terjadi pada hemosit tiram *Crassostrea cucullata* yang dilihat dari THC (*Total Haemocyte Count*) dan DHC (*Differential Haemocyte Count*) akibat dari ketinggian air yang berbeda pada skala laboratorium.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

H_0 : Pemberian ketinggian media air laut yang berbeda diduga tidak memberikan pengaruh terhadap THC (*Total Haemocyte Count*) dan DHC (*Differential Haemocyte Count*) hemosit tiram *Crassostrea cucullata*.

H_1 : Pemberian ketinggian media air laut yang berbeda diduga memberikan pengaruh terhadap THC (*Total Haemocyte Count*) dan DHC (*Differential Haemocyte Count*) hemosit tiram *Crassostrea cucullata*.

1.5 Kegunaan Penelitian

Adapun kegunaan penelitian ini adalah untuk memberikan informasi keilmuan terkait pengaruh ketinggian air terhadap THC (*Total Haemocyte Count*) dan DHC (*Differential Haemocyte Count*) hemosit tiram *Crassostrea cucullata* sehingga dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan dalam mengelola perairan serta dapat dijadikan sebagai referensi pembandingan dalam melakukan penelitian selanjutnya.

1.6 Waktu dan Tempat

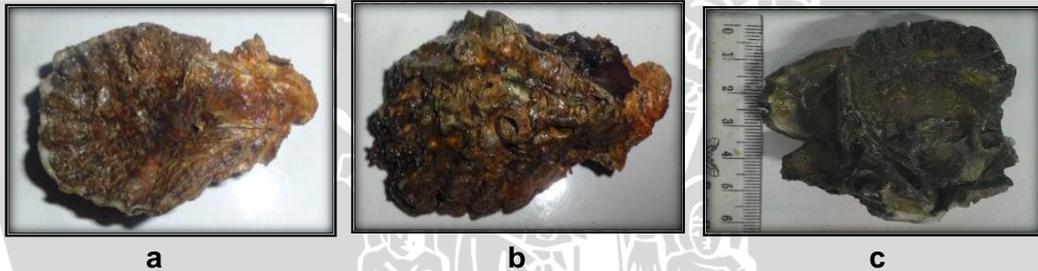
Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2015. Pengambilan sampel tiram *Crassostrea cucullata* dilakukan di perairan Dalegan Desa Campurejo Kecamatan Panceng Kabupaten Gresik. Pengamatan kualitas air dan pemberian perlakuan ketinggian air dilakukan di Laboratorium Sumberdaya Ikan, FPIK-UB dan Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, FPIK-UB. Pengamatan THC (*Total Haemocyte Count*) dan DHC (*Differential Haemocyte Count*) hemosit tiram *Crassostrea cucullata* dilakukan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan FPIK-UB.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi dan Morfologi Tiram

Klasifikasi tiram *Crassostrea cucullata* menurut Zipcodezoo.com (2014), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Phylum	: <i>Mollusca</i>
Class	: <i>Bivalvia</i>
Order	: <i>Pteriomorpha</i>
Family	: <i>Ostreidae</i>
Genus	: <i>Crassostrea</i>
Spesies	: <i>Crassostrea cucullata</i>



Gambar 2. (a dan b) *Crassostrea cucullata* tampak ventral dan tampak dorsal (Asriyanti, 2012).
(c) Tiram *Crassostrea cucullata* yang diambil dari Perairan Dalegan, Kabupaten Gresik (Dokumen Pribadi)

Tiram tergolong dalam *pelecypoda* (kerang-kerangan) dan biasa disebut oyster. Ciri umum dari tiram adalah memiliki cangkang standar serta mempunyai insang yang relatif besar sebagai alat untuk bernafas dan menyerap makanan. Cangkang tiram terdiri dari dua bagian yaitu bagian bawah dan bagian atas. Bagian bawah berbentuk seperti mangkuk yang digunakan untuk menempel pada substrat. Bagian atas merupakan penutup umumnya berbentuk relatif datar. Bentuk dari cangkang tiram dipengaruhi oleh tempat hidupnya. Tiram yang hidup pada substrat yang lunak dan berlumpur cenderung mempunyai cangkang yang

ramping atau langsing dengan hiasan garis-garis tubuh yang jarang. Sedangkan tiram yang hidup pada perairan dengan arus agak kuat bentuk cangkangnya lebih cenderung berbentuk bulat (radial) (Galtsoff, 1964).

Menurut Prawirohartono (2003) dalam Banjarnahor (2010), secara umum cangkang kerang tersusun atas zat kapur dan terdiri dari 3 (tiga) lapisan yaitu periostrakum, prismatic dan nakreas. Berikut adalah uraian dari lapisan tersebut:

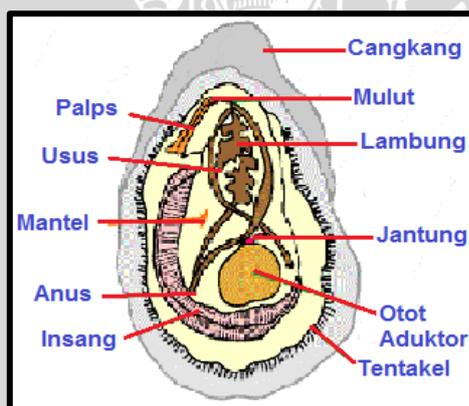
- a) Periostrakum, merupakan lapisan terluar, tipis, gelap dan tersusun atas zat tanduk.
- b) Prismatic, merupakan lapisan tengah yang tebal, tersusun atas kristal-kristal CaCO_3 berbentuk prisma.
- c) Nakreas, merupakan lapisan terdalam disebut juga lapisan mutiara, tersusun atas kristal CaCO_3 yang halus dan berbeda dengan kristal-kristal pada lapisan prismatic.

Tiram hidup menempel pada substrat yang keras seperti kayu, batu; karang yang sudah mati atau materi keras lainnya yang ada di sekitar pantai. Sebagian tiram hidup menetap di dasar pantai, ada yang membenamkan diri pada substrat pasir atau lumpur bahkan ada pula yang membenamkan pada kerangka karang-karang batu (Bardach *et al.*, 1972). Bivalvia menempel pada substrat dengan menggunakan byssus atau semennya (Widiastuti, 1998).

Crassostrea cucullata mempunyai cangkang yang kecil hingga mencapai panjang 40 mm dan lebar 30 mm berbentuk oval dengan garis triangular, tergantung pada lapisan bawah dan ruang yang tersedia. Garis hinge lurus dan pendek serta mempunyai ligamen yang pendek juga. Permukaan luar dari kedua katup kiri dan kanan berwarna putih ke ungu-unguan dengan warna ungu gelap di batas cangkang. Garis-garis putih nampak pada katup kanan pada beberapa spesies (Lam dan Brian, 2004). Morfologi *Crassostrea cucullata* dapat dilihat pada Gambar 2.

2.2 Anatomi Tiram

Tubuh tiram terdiri atas tiga bagian yakni kaki, mantel dan kumpulan organ bagian dalam. Kaki tiram bersifat elastis, terdiri atas susunan jaringan otot yang dapat meregang. Tiram termasuk *monomary*, yaitu hewan yang memiliki otot tunggal berfungsi untuk membuka dan menutup cangkang. Cangkang tiram dibentuk oleh mantel dengan cara mengeluarkan sel-sel yang dapat membentuk struktur cangkang dengan warna yang berbeda-beda tergantung pada faktor lingkungan dan genetik. Mantel berfungsi membungkus organ bagian dalam dan menyeleksi unsur-unsur yang terhisap ke dalam tubuh. Jika dalam tubuh terdapat kotoran maka mantel akan menyemburkan kotoran itu keluar (Syazili, 2011). Anatomi tiram secara umum yang dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Anatomi Tiram (Google Image.com, 2015)

Tiram mempunyai permukaan insang yang luas, permukaan tersebut dibentuk oleh ribuan benang filamen. Insang dapat mempertahankan kestabilan air yang masuk di dalam tubuhnya karena gerakan silia. Mantel juga memberi kontribusi pada proses respirasi dan regulasi air. Insang tiram terdiri dari empat lembaran insang dan pada masing-masing lembaran terdiri dari benang-benang dan dilengkapi dengan silia. Tiram memiliki insang yang mempunyai rambut-rambut getar dan menimbulkan arus air yang mengalir masuk ke dalam mantelnya, sekaligus menyaring makanannya dan memperoleh oksigen untuk respirasi (Nontji, 2002).

2.3 Makanan dan Kebiasaan Makan

Tiram tergolong *filter feeder* yaitu jenis hewan yang mendapatkan makanan dengan jalan menyaring air yang masuk ke dalam tubuhnya. Volume air yang dapat disaring oleh tiram adalah 2,5 liter per individu dewasa per jam. Makanan yang masuk bersama air tadi digerakkan, diperas, lalu dicerna dengan bantuan cilia (rambut getar pada tubuhnya). Cilia mampu bergerak 2 – 20 kali per detik (Ricomarsen, 2010).

Tiram dalam hidupnya menetap pada substrat sehingga untuk mendapatkan makanannya tiram menggunakan insang yang dilengkapi oleh silia, dimana alat ini berfungsi untuk menarik bahan terlarut dalam air bersamaan dengan masuknya air ke dalam mulutnya (Nontji, 2002). Makanan tiram berasal dari semua bahan yang tersuspensi di dalam air sehingga sumber makanannya tidak hanya dari jenis fitoplankton, tapi juga dari bakteri, jamur, dan zat organik terlarut. Penyerapan tiram terhadap makanannya terjadi setiap saat dan berlangsung sepanjang hari (Parenrengi *et al.*, 1998).

Pada saat pasang, debit air laut bertambah yang menyebabkan banyaknya tersedia sumber makanan bagi tiram yang dibawah oleh aliran air laut, baik berupa plankton maupun berbagai zat yang tersuspensi, sehingga ketersediaan makanan pada saat air pasang cukup tinggi. Sebaliknya saat surut sumber makanan menjadi sedikit akibat dari debit air yang kecil (Eddy, 2013).

2.4 Habitat Tiram

Tiram merupakan moluska yang tinggal menetap pada substrat dan dipengaruhi oleh kualitas air yang terkait dengan faktor ekologiinya serta relatif lebih banyak mengakumulasi logam berat. Tiram ini umumnya ditemui hidup menempel pada batu, tiang-tiang pelabuhan, karamba, dan pada akar-akar pohon didaerah yang terkena pengaruh pasang surut air laut (Irianto *et al.*, 1994).

Daerah distribusi tiram meliputi perairan Indo-Pasifik mulai dari Laut Merah dan Afrika Timur hingga Australia dan Jepang (Duangdee dan Yoosukh 1999 dalam Asriyanti, 2012). Distribusi tiram *Crassostrea cucullata* mendominasi pada zona eulittoral untuk berlindung pada pantai berbatu dan mangrove. Bentuk dari zona tiram terlihat jelas dibatasi oleh *Mean High Water Neap Tides* (MHWNT) (Lam dan Brian, 2004).

Pada daerah intertidal, kehidupan *Pelecypoda* dipengaruhi oleh pasang surut. Adanya pasang surut menyebabkan daerah intertidal menjadi kering dan *Pelecypoda* akan terkena udara terbuka secara periodik. Bersentuhan dengan udara terbuka dalam waktu lama merupakan hal yang penting, karena *Pelecypoda* berada pada kisaran suhu terbesar akan memperkecil kesempatan memperoleh makanan dan akan mengalami kekeringan yang dapat memperbesar kemungkinan terjadinya kematian. *Pelecypoda* memerlukan adaptasi untuk bertahan hidup dan harus menunggu pasang naik (Satino *et al.*, 2003).

Pada saat surut organisme, seperti bivalvia, memiliki keterbatasan dalam pergerakan hal ini disebabkan karena kolom air pada saat surut lebih kecil dibandingkan pada saat pasang. Selain itu, pada saat surut kecepatan arus lebih kecil dibandingkan pada saat pasang (Fadli *et al.*, 2012).

2.5 Respon Tiram Terhadap Bahan Pencemar

Polusi atau pencemaran lingkungan adalah masuknya atau dimasukkannya makhluk hidup, zat energi dan atau komponen lain ke dalam lingkungan, atau berubahnya tatanan lingkungan oleh kegiatan manusia atau proses alam sehingga kualitas lingkungan turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan lingkungan menjadi kurang atau tidak dapat berfungsi lagi sesuai dengan peruntukannya (Chamid *et al.*, 2010).

Sumber pencemaran perairan pesisir biasa terdiri dari limbah industri, limbah cair pemukiman (*sewage*), limbah cair perkotaan (*urban stormwater*), pelayaran (*shipping*), pertanian, dan perikanan budidaya. Bahan pencemar utama yang terkandung dalam buangan limbah tersebut berupa sedimen, unsur hara (*nutriens*), logam beracun (*toxic metals*), pestisida, organisme eksotik, organisme patogen, sampah, dan *oxygen depleting substances* (bahan-bahan yang menyebabkan oksigen yang terlarut dalam air laut berkurang) (Santosa, 2013). Apabila suatu limbah yang berupa bahan pencemar masuk ke suatu lokasi maka akan terjadi perubahan padanya. Perubahan dapat terjadi pada organisme yang hidup di lokasi itu serta perubahan lingkungan yang berupa faktor fisika dan kimianya (ekosistem) (Suin, 1994 dalam Chahaya, 2003).

Pada saat proses pasang surut banyak membawa bahan pencemar yang dapat mengganggu kehidupan tiram. Pada saat tiram berada pada kondisi yang tercemar tersebut tiram akan memproduksi hemosit dalam jumlah yang banyak untuk pertahanan diri terhadap serangan bahan pencemar tersebut. Hal tersebut dilakukan oleh tiram agar masih bisa hidup pada kondisi perairan yang tercemar, namun apabila tiram sudah tidak mampu lagi untuk memproduksi hemosit dalam rangka mempertahankan diri dari serangan bahan pencemar maka tiram dapat mengalami kematian. Delaporte *et al.* (2003) mengatakan bahwa bivalvia yang sehat lalu diinfeksi patogen, akan mengalami peningkatan nilai THC karena dibutuhkan pertahanan tubuh untuk mengalahkan patogen. Sel hemosit memiliki hubungan yang erat dengan lingkungan, dimana jika tiram hidup didaerah yang buruk maka aktivitas hemositnya akan meningkat dan sebaliknya, jika tiram hidup pada kondisi lingkungan yang normal maka aktivitas hemositnya akan normal juga (Sabban, 2014).

Bahan pencemar dapat masuk kedalam tubuh melalui uptake pasif dan uptake aktif. Uptake pasif dapat melalui adsorpsi (penjerapan), absorpsi (penyerapan) dan biosorpsi (bioakumulasi), sedangkan uptake aktif dapat melalui rantai makanan. Adsorpsi merupakan suatu proses dimana partikel tertangkap ke dalam struktur media dan seolah-olah menjadi bagian dari keseluruhan media tersebut (Muhardi *et al.*, 2006). Absorpsi merupakan proses perpindahan racun dari tempat absorpsinya ke dalam sirkulasi darah (Santosa, 2013). Penyerapan logam secara aktif terjadi dalam sel melalui bioakumulasi atau menetap dalam sel yang hidup dan sel-sel mati. Mekanisme pasif ini disebut "biosorpsi" (Murtini *et al.*, 2008).

Di dalam tubuh hewan, bahan pencemar diabsorpsi darah, berikatan dengan protein darah yang kemudian didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh. Bahan pencemar (racun) masuk ke tubuh organisme atau tiram melalui proses absorpsi. Absorpsi, distribusi dan ekskresi bahan pencemar tidak dapat terjadi tanpa transpor melintasi membran. Proses transportasi dapat berlangsung dengan 2 cara yaitu transpor pasif (melalui proses difusi) dan transpor aktif (dengan sistem transpor khusus, dalam hal ini zat lazimnya terikat pada molekul pengemban). Bahan pencemar dapat masuk ke dalam tubuh organisme melalui tiga cara yaitu melalui rantai makanan, insang dan difusi permukaan kulit (Santosa, 2013).

Hemosit memainkan peranan penting pada pertahanan tubuh invertebrata yaitu dapat menghilangkan partikel asing yang masuk ke tubuh organisme, seperti tiram, meliputi beberapa tahapan yaitu tahap pengenalan, enkapsulasi melanisasi dan fagositosis (Johansson *et al.*, 2000). Enzim *phenoloksidase* (PO) mendukung hidrosilasi phenol dan oksidasi 0-phenol menjadi quinones yang diperlukan untuk proses melanisasi sebagai respon terhadap penyerang asing dan selama proses penyembuhan. Quinone selanjutnya diubah melalui suatu

reaksi non-enzimatik menjadi melanin dan sering disebut deposit pada benda yang dienkapsulasi dalam nodule hemosit dan pada daerah kulit yang terinfeksi jamur (Sritunyalucksana *et al.*, 2001).

Mekanisme benda asing masuk ke dalam tubuh organisme, khususnya tiram, dapat melalui beberapa tahap diantaranya adalah tahap pengenalan, tahan enkapsulasi dan tahap fagositosis. Mekanisme benda asing masuk ke dalam tubuh organisme, khususnya pada tiram, dapat dilihat pada Gambar 4. Berikut adalah penjelasan dari mekanisme tersebut.

1. Tahap Pengenalan

Proses imun pertama pada krustase adalah pengenalan mikroorganisme penyerang yang dimediasi oleh hemosit dan plasma protein (Bachere, 2000). Pada tahap pengenalan sel hyalinosit banyak berperan, karena sel hyalinosit mempunyai inti sel (nukleus) yang lebih besar dari pada sel granul. Pada inti sel terdapat enzim "lektin" yang digunakan organisme untuk mengenali benda asing yang masuk ke dalam tubuh organisme. Aglutinin/Lektin adalah protein yang biasanya tanpa aktivasi katalitik yang mempunyai kemampuan mengikat spesifik karbohidrat yang terdapat pada permukaan sel serta melakukan aglutinasi (pembekuan) berbagai tipe sel seperti sel bakteri dan sel patogen lainnya. Lektin adalah bivalent (molekul yang mempunyai paling sedikit dua spesifik binding site), sehingga dapat mengikat sel dan reaksi aglutinasi terjadi. Lektin terdapat pada hampir semua organisme hidup. Secara normal aglutinin tidak meningkatkan aglutinasi haemosit, tetapi jika agglutinin bereaksi dengan Lipopolisakarida (LPS) yang mengandung partikel, protein ini mampu bereaksi dengan permukaan hemosit dan meningkatkan aktifitas proPO sistem (Marques dan Barracco, 2000).

2. Tahap Enkapsulasi

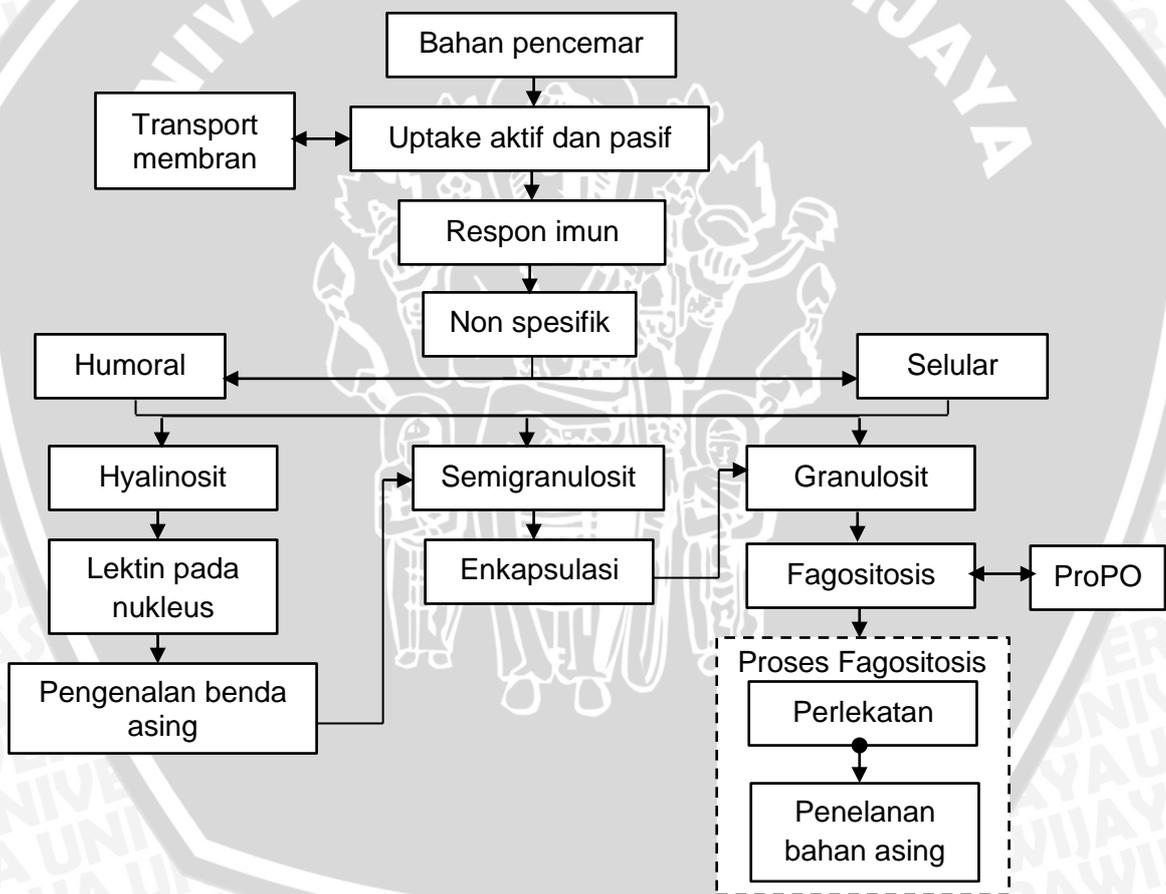
Hemosit berfungsi dalam enkapsulasi yang dilakukan oleh sel semigranulosit. Pada saat sel hemosit mengelilingi tubuh benda asing, bagian sel terluar dari hemosit tetap berbentuk oval atau bulat sedangkan bagian tengah sel menjadi datar dan pada fase berikutnya dilisis membentuk kapsul tebal berwarna coklat dan keras. Kapsul tersebut tidak diserap kembali dan tetap sebagai tanda enkapsulasi meskipun sudah tidak ada hemosit yang dikenal disitu (Manoppo *et al.*, 2014). Pada proses sel menyelubungi (mengelilingi) benda asing, apabila sel tidak mampu melawan benda asing tersebut maka selanjutnya sel akan melakukan tahap fagositosis.

3. Tahap Fagositosis

Fagositosis merupakan reaksi yang paling umum dalam pertahanan selular bivalvia, khususnya tiram. Proses fagositosis ini terjadi akibat adanya enzim ProPO yang diubah menjadi PO (Johansson and Soderhall 1989 dalam Syahailatua, 2009). Enzim phenoloxidase (PO) terdapat dalam hemolimf sebagai *inactive pro-enzyme* yang disebut proPO. Transformasi proPO menjadi PO melibatkan beberapa reaksi dikenal sebagai *proPO activating system* (sistem aktivasi proPO). Sistem ini (*proPO activating system*) terutama diaktifkan oleh beta glukam, dinding sel bakteri dan LPS. *proPO activating system* merupakan protein yang berlokasi di granulosit. Sistem proPO dapat digunakan sebagai marker kesehatan organisme dan lingkungan karena perubahan sistem proPO berkorelasi dengan tahap infeksi dan variasi lingkungan (Manoppo *et al.*, 2014).

Proses fagositosis dimulai dengan perlekatan (*attachment*) dan penelanan (*ingestion*) partikel mikroba ke dalam sel fagosit. Sel fagosit kemudian membentuk vacuola pencernaan (*digestive vacuola*) yang disebut fagosom (Rodriquez dan Le Moullac, 2000). Lisosom (granula dalam

sitoplasma fagosit) kemudian menyatu dengan fagosom membentuk fagolisosom. Mikroorganisme selanjutnya dihancurkan dan debris mikroba dikeluarkan dari dalam sel melalui proses *egestion*. Pemusnahan partikel mikroba yang difagosit melibatkan pelepasan enzim ke dalam fagosom dan produksi ROI (*reactive oxygen intermediate*) yang kini disebut *respiratory burst*. ROI pertama kali dihasilkan oleh superoxide anion (O_2^-) (Munoz *et al.*, 2000). Pada proses fagostosis ini, apabila sel tidak mampu menelan/ menghancurkan bakteri (bakteri lebih dominan) maka sel akan mengalami kematian.

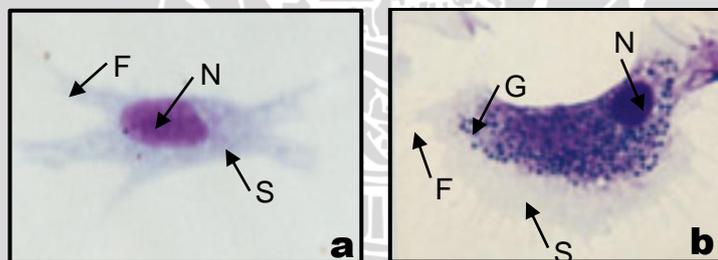


Gambar 4. Mekanisme Bahan Pencemar Masuk Ke Dalam Tubuh Organisme, Tiram, yang Diterima oleh Hemosit (Muhardi *et al.*, 2006; Santosa, 2013; Murtini *et al.*, 2008; Johansson *et al.*, 2000; Sritunyalucksana *et al.*, 2001; Bachere, 2000; Marques dan Barracco, 2000; Manoppo *et al.*, 2014; Johansson and Soderhall 1989 dalam Syahailatua, 2009; Rodriguez dan Le Moullac, 2000; Munoz *et al.*, 2000).

2.6 Hemosit

Hemosit merupakan sel yang berperan dalam sistem kekebalan dari invertebrata, selain itu hemosit berpengaruh dalam fungsi fisiologis penting lainnya, seperti pencernaan, transportasi nutrisi, mineralisasi cangkang, penyembuhan luka dan ekskresi (Aladaileh *et al.*, 2007). Mengingat fungsi fisiologis penting, hemosit telah digunakan dalam berbagai penelitian seperti sebagai indikator stres lingkungan. Stress dapat dihubungkan dengan efek pada hemosit antara fluktuasi musiman suhu, pH dan salinitas, perubahan kandungan oksigen terlarut dan polusi (Aladaileh *et al.*, 2008).

Hemosit dapat diklasifikasikan berdasarkan morfologi dan fungsinya. Hemosit juga dicirikan dengan aliran sitometri, antibody monoclonal yang bereaksi dengan protein pada permukaan hemosit. Hemosit pada bivalvia sebagian besar dibagi menjadi dua jenis yakni hyalinosit dan granulosit (Gambar 5), yang keduanya merupakan fagositosis (Aladaileh *et al.*, 2007).



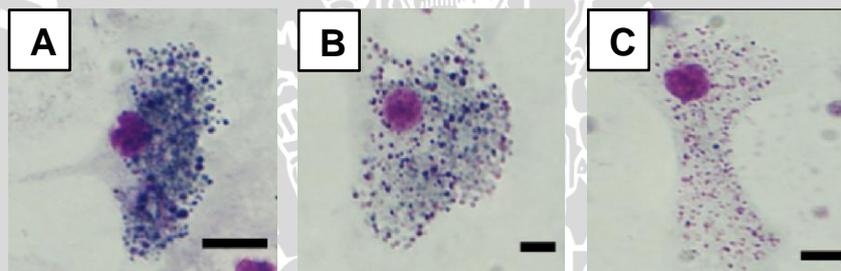
Gambar 5. Tipe hemosit pada *Crassostrea gigas* yang diamati dengan mikroskop cahaya (Chang *et al.*, 2005)

a) Sel Hyalinosit; b) Sel Granulosit

F: filopodia; N: Nukleus; S: Sitoplasma; G: Granula

Hyalinosit merupakan sel-sel berbentuk gelendong, dimana fase inti dalam bentuk bundar atau buak telur dan sitoplasma dapat dibedakan dalam kondisi bernoda. Penampilan semigranulosit berbentuk bulat besar ditengah inti dengan pinggiran tipis sitoplasma yang mengelilingi inti. Sedangkan granulosit berbentuk bulat dengan inti besar dan sitoplasma yang berulang-ulang dengan butiran-butiran bulat (Saha *et al.*, 2010).

Hyalinosit mempunyai inti sel dan sitoplasma yang lebih kecil dari granulosit. Hyalinosit ada dua jenis yakni hyalinosit kecil, yang mempunyai inti besar dan sitoplasma sedikit, serta hyalinosit besar yang mempunyai inti yang lebih kecil dari rasio sitoplasma. Sedangkan granulosit dapat dibagi menjadi tiga macam yakni eosinophilic, basophilic dan neutrophilic (Gambar 6) (Aladaileh *et al.*, 2007). Pada penelitian yang dilakuakn Chang (2005), mengemukakan bahwa granulosit basophilic merupakan sel yang paling matang diantara sel eosinophilic dan neupthophilic yang dapat dilihat pada sitoplasmanya terdapat sitoplasma paling banyak. sel granulosit neutrophilic merupakan sel pematangan dari sel eosinophilic, sedangkan sel eosinophilic merupakan sel paling muda pada sel granulosit karena memiliki butiran granul paling sedikit pada sitoplasmanya.



Gambar 6. Perbedaan Sel Granulosit Basophilic (A), Neutrophil (B) dan Eosinophilic (C) (Aladaileh *et al.*, 2007)

Hyalinosit dan granulosit memiliki kemampuan untuk menfagositosis mikroba patogen, hanya saja berbeda besar kecilnya kapasitas dalam memfagosit. Hyalinosit lemah atau bahkan tidak bisa dalam memfagosit, karena pada sel hyalinosit tidak atau mempunyai granul (butiran – bitiran kecil) pada sitoplasmanya. Granul inilah yang bekerja pada saat tiram melakukan aktivitas fagositosis. Fagosit pada granulosit lebih aktif daripada hyalinosit (Aladaileh *et al.*, 2007). Perbedaan antara sel hyalinosit dan granulosit secara ringkas dapat dilihat pada Tabel 1 dibawah ini:

Tabel 1. Perbedaan Sel Hyalinosit Dengan Sel Granulosit

Kategori	Hyalinosit	Granulosit	Sumber
Tipe sel	Tipe sel kecil	Tipe sel besar	Manoppo <i>et al.</i> , (2014)
Bentuk	Tidak beraturan, amoeboid dengan filopodia*)	Tidak beraturan, amoeboid dengan filopodia panjang	Aladaileh <i>et al.</i> , (2007)
Ukuran sel	7,1±1,0 µm	9,3±0,3 µm	Aladaileh <i>et al.</i> , (2007)
Nukleus (Inti)	Ditepi, oval dan besar	Ditepi dan oval	Aladaileh <i>et al.</i> , (2007)
Sitoplasma	Lebih besat dari inti	Lebih kecil dari inti	Johansson <i>et al.</i> , (2000)
Granula	Sedikit atau tidak bergranula	Berisi granula	Ramu dan Zacharia, (2000)
Fungsi	Pengenalan patogen dan Fagositosis	Fagositosis lebih aktif dari hyalinosit dan menyimpan serta melepaskan sistem prophenoloksidase (proPO)	Aladaileh <i>et al.</i> , (2007); Ekawati <i>et al.</i> , (2013); Johansson <i>et al.</i> , (2000)

Keterangan: *) filopodia adalah kaki berbentuk filamen (Gambar 5.)

2.7 Hubungan Sistem Imun dengan Hemosit

Imunitas adalah suatu reaksi yang dilakukan oleh individu terhadap substansi asing misalnya mikroorganisme (bakteri, virus, parasit) dan molekul substrak misalnya protein maupun polisakarida. Reaksi yang terjadi meliputi reaksi seluler dan molekul. Gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi disebut sistem imun. Reaksi yang dikoordinasi oleh sel ataupun molekul terhadap mikroba dan bahan lainnya disebut respon imun (Baratawidjaja, 2006 *dalam* Ningtiyas, 2014).

Sistem imun pada setiap organisme digunakan untuk berbagai hal sesuai dengan kondisi yang dialami oleh masing-masing organisme tersebut. Sistem imun ini diproduksi agar dapat mempertahankan diri dalam kondisi lingkungan yang kurang mendukung kondisi tubuhnya. Menurut Anthony *et al.* (2007) *dalam* Ningtiyas (2014), fungsi sistem imun adalah sebagai berikut:

1. Melindungi tubuh dari invasi penyebab penyakit; menghancurkan dan menghilangkan mikroorganisme atau substansi asing (bakteri, parasit, jamur, dan virus, serta tumor) yang masuk ke dalam tubuh .
2. Menghilangkan jaringan atau sel yg mati atau rusak (debris sel) untuk perbaikan jaringan.
3. Mengenali dan menghilangkan sel yang abnormal.

Mori (1990) dalam Alifuddin (2002) mengemukakan bahwa, respon imunitas pada hewan merupakan upaya proteksi terhadap infeksi maupun preservasi fisiologik homeostasi. Respon imunitas hewan akuatik terdapat 2 jenis yakni terdiri dari respon imun alamiah atau non spesifik (*innate immunity*) dan respon imun adaptif atau spesifik (*acquired immunity*). Karenanya, memori, spesifitas dan pengenalan zat asing merupakan dasar mekanisme respon imunitas pada hewan akuatik.

Respon imun non spesifik yaitu respon yang mampu dengan cepat dan efisien mengenal dan menghancurkan material asing, termasuk patogen yang masuk ke dalam tubuh organisme. Respon imun non spesifik mempunyai memori yang sangat lemah atau bahkan tidak memiliki sel memori untuk mengingat material asing yang masuk dalam tubuh organisme tersebut (Ramu dan Zacharia, 2000), sehingga membutuhkan waktu yang lama untuk mengenali dan menghancurkan material asing yang sama masuk ke dalam tubuh untuk yang kedua kalinya. Respon imun non spesifik terdiri atas respon selular dan respon humoral (Manoppo *et al.*, 2014). Sistem pertahanan selular meliputi sel-sel fagosit sel-sel dan enkapsulasi. Sistem pertahanan humoral mencakup *phenoloksidase* (PO), *prophenoloksidase* (proPO), lektin, dan aglutinin. Kedua sistem ini bekerja sama memberikan perlindungan tubuh terhadap infeksi organisme patogen dari lingkungan (Itami, 1994).

Sistem imun spesifik yaitu sistem imun yang mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya, termasuk patogen. Benda asing yang pertama kali masuk ke dalam tubuh segera dikenal oleh sistem imun spesifik. Masuknya benda asing tersebut menimbulkan sensitifitasi, sehingga antigen yang sama dan masuk tubuh untuk kedua kali akan dikenal lebih cepat dan kemudian dihancurkan. Oleh karena itu, sistem tersebut disebut spesifik (Baratawidjaja dan Rengganis, 2010 *dalam* Ningtiyas, 2014).

Tiram merupakan hewan yang mempunyai sistem imun canggih, dimana sistem imun yang dimiliki tiram dapat menggabungkan antara komponen humoral dan komponen seluler. Sistem imun tersebut dapat menghilangkan patogen dalam dirinya baik yang disebabkan karena polutan ataupun bakteri. Hemosit memperantarai komponen seluler untuk respon imun dengan cara melakukan pengenalan patogen, fagositosis, pembentukan nodul, enkapsulasi, koagulasi dan juga produksi zat pada oksigen reaktif (Aladaileh *et al.*, 2008).

2.8 Pengaruh Ketinggian Air Terhadap Tiram

Daerah intertidal merupakan suatu daerah yang selalu terkena hempasan gelombang dan pasang surut tiap saat.. Menurut Nybakken (1992), zona intertidal merupakan daerah yang paling sempit diantara zona laut yang lainnya. Zona intertidal dimulai dari pasang tertinggi sampai pada surut terendah. Zona ini hanya terdapat pada daerah pulau atau daratan yang luas dengan pantai yang landai. Semakin landai pantainya, maka zona intertidalnya semakin luas, sebaliknya semakin terjal pantainya maka akan semakin sempit.

Ketinggian air pada zona intertidal salah satunya dipengaruhi oleh pasang surut. Yuniarti (2012), mengemukakan bahwa pasang surut berhubungan dengan adanya genangan air laut yang menggenangi kehidupan atau substrat pada bivalvia. Saat air pasang substrat bivalvia terendam dalam air laut, namun

sebaliknya pada saat terjadi air surut substrat bivalvia dapat mengalami kekurangan air atau bahkan akan mengalami kekeringan. Hal tersebut mempengaruhi tekanan pada tubuh bivalvia. Pada saat pasang tiram akan berada pada fase tertekan karena tergenangi oleh air laut sebaliknya pada saat surut tiram akan berada pada fase ringan karena tidak ada air laut yang menggenangi substratnya.

Tekanan yang diterima oleh tiram dapat berupa tekanan ekologis yang terjadi disebabkan oleh dua faktor, yaitu berasal dari alam dan kegiatan manusia. Tekanan ekologis yang berasal dari alam berupa adanya gelombang laut, arus ataupun pasang surut. Sedangkan tekanan ekologis yang berasal dari kegiatan manusia berupa kegiatan penangkapan ikan menggunakan racun, pembuatan kapal dan pembuangan limbah limbah lainnya (Suryanti *et al.*, 2011). Tekanan – tekanan tersebut akan terbawa oleh air laut melalui proses pasang surut menuju daerah pantai dan akan mengenai habitat tiram sehingga dapat mempengaruhi atau bahkan merusak kehidupan tiram. Semakin tinggi air mengenai habitat tiram maka akan semakin banyak pula bahan pencemar akibat tekanan tersebut khususnya tekanan ekologis yang berasal dari aktivitas manusia.

Hubungan ketinggian atau kedalaman air berbanding lurus dengan tekanan yang diterima oleh tubuh organisme, termasuk bivalvia (Dharmastiti dan Dhirga, 2010). Semakin bertambah ketinggian atau kedalaman air maka semakin bertambah pula tekanan pada tubuh organisme. Menurut Idris (2006), tekanan yang tinggi akan mengurangi efisiensi insang dan sifon untuk menyaring makanan dan selanjutnya dapat memperlambat pertumbuhan organisme. Pada kondisi tersebut tiram akan sulit untuk mendapatkan makanan karena adanya tekanan yang diterima oleh tubuhnya, seperti tekanan arus. Pergerakan arus yang berlawanan dengan bukaan sifon dalam menyaring makanan akan menyebabkan makanan yang diterima tiram sulit masuk ke dalam insang

sehingga makanan banyak yang terbawa oleh arus. Menurut Idris (2006), kecepatan arus yang tinggi akan menyebabkan terjadinya peningkatan tekanan pada insang dan juga bukaan sifon sehingga akan menyebabkan organisme *filter feeder*, seperti tiram akan mengalami pertumbuhan yang lambat atau bahkan akan mengalami kematian,

Kedalaman yang berbeda pada habitat organisme memiliki pengaruh terhadap frekuensi kehadiran tiram. Tiram dapat hidup pada kedalaman 80 cm hingga 200 cm. Pada kedalaman tersebut, tiram hidup secara berkoloni (Asriyanti, 2012). Selanjutnya ditambahkan oleh Islami (2012) yang mengemukakan bahwa, pertumbuhan tiram jenis *Crassostrea virginica* dapat dipengaruhi oleh tinggi pasang surut dan level substrat. Pada kedalaman 90 cm, tiram tersebut memiliki kecepatan pertumbuhan yang lebih besar dibandingkan pada permukaan dan ketinggian air 25 cm. Secara umum, konsentrasi hemosit akan lebih tinggi di lokasi yang mengalami tekanan parasit (material asing) yang tinggi dibandingkan dengan lokasi yang mengalami tekanan parasit lebih rendah. Kehadiran sejumlah besar hemosit tersebut merupakan kebutuhan utama untuk respon kekebalan tubuh tiram (Dittmer *et al.*, 2012).

2.9 Kondisi Fisika dan Kimia Air

2.9.1 Suhu

Suhu berperan penting bagi kehidupan dan perkembangan biota laut, peningkatan suhu dapat menurunkan kadar oksigen terlarut sehingga mempengaruhi metabolisme seperti laju pernafasan dan konsumsi oksigen serta meningkatnya konsentrasi karbondioksida (Affan, 2012). Suhu juga berperan pada proses kehidupan dan penyebaran organisme dan perkembangan atau faktor reproduksi dari organisme-organisme (Nybakken, 1992).

Pada waktu air laut pasang maka wilayah intertidal akan terendam air, maka suhu di daerah ini akan sama dengan suhu perairan. Pada saat air laut surut maksimal dan terjadi pada siang hari, daerah ini akan terbuka terhadap sinar matahari dan suhu menjadi tinggi dan sebaliknya apabila surut maksimal terjadi pada malam hari maka suhu akan menjadi rendah. Fluktuasi suhu harian seperti ini membutuhkan daya adaptasi yang baik pada semua organisme di daerah intertidal. Sebenarnya bivalvia memiliki kemampuan adaptasi yang baik terhadap kondisi ini dengan cara membuka dan menutup cangkangnya. Pada kondisi suhu ideal bivalvia akan membuka cangkangnya dan melakukan aktivitas hidup, namun pada saat suhu naik atau turun drastis bivalvia akan menutup katup cangkang dan menyimpan air dalam cangkangnya sehingga suhu tubuhnya relatif stabil. Pada stadium larva dimana valve atau cangkang belum terbentuk maka kondisi perubahan suhu yang drastis secara periodik akan menjadi pembatas yang mematikan (Satino *et al.*, 2003).

Crassostrea mampu hidup dalam kisaran suhu 5-35 °C dengan kisaran optimum 11-34 °C dan masih bertahan pada suhu -5 °C (Nehring, 2006 dalam Octavina *et al.*, 2014). Suhu air yang tinggi akan menghambat penyebaran dan pergerakan hemosit menuju benda asing dalam tubuh tiram. Selain itu, parasit virulensi dapat meningkat atau resistensi tiram dapat menurun pada suhu tinggi (Gagnaire *et al.*, 2006).

Suhu dapat mempengaruhi hemosit pada bivalvia. Pada beberapa penelitian menyebutkan bahwa suhu yang tinggi dapat menyebabkan kematian pada hemosit, salah satunya oleh Gagnaire *et al.* (2006), pada percobaan in vitro, menunjukkan bahwa ketika suhu tinggi akan menyebabkan kematian hemosit, hemosit dapat mentolerir suhu 35 °C tanpa diikuti oleh kematian apapun. Sebaliknya, 4 jam dalam masa inkubasi in vivo pada 40 °C, 50 °C dan 60 °C terjadi peningkatan kematian sel hemosit tiram.

2.9.2 Pasang Surut

Pasang surut (pasut) merupakan salah satu gejala yang tampak nyata di laut, yakni suatu gerakan vertikal (naik turunnya air laut secara teratur dan berulang-ulang) dari seluruh partikel massa air laut dari permukaan sampai bagian terdalam dari dasar laut. Gerakan tersebut disebabkan oleh pengaruh gravitasi (gaya tarik-menarik) antara bumi dan matahari atau bumi dengan bulan dan matahari. Pasang-surut (pasut) di berbagai lokasi mempunyai ciri yang berbeda karena di pengaruhi oleh topografi dasar laut, lebar selat, bentuk teluk dan sebagainya. Di beberapa tempat, terdapat beda antara pasang tertinggi dan surut terendah (rentang pasut) (Surinati, 2007).

Pertumbuhan biota laut di daerah pasang surut sangat tinggi, disebabkan karena daerah ini merupakan tempat hidup, tempat berlindung, dan tempat mencari makan. Selain itu, kondisi lingkungan pada daerah ini sangat menguntungkan bagi pertumbuhan biota laut karena adanya dukungan dari faktor fisika, kimia, dan biologis laut (Rumahlatu *et al.*, 2008).

Peranan penting dalam gerakan pasang surut yaitu dapat membuang limbah dan membawa makanan sehingga organisme dapat mempertahankan eksistensi menetapnya yang tidak memerlukan banyak energi untuk mengeluarkan kotoran dalam tubuhnya dan mengumpulkan makanan. Tinggi rendahnya suatu pencemaran dalam perairan pantai dimungkinkan karena proses pengenceran oleh faktor pasang surut (Rochyatun, 2006).

Pada saat pasang daerah intertidal akan mendapatkan masukan air laut yang lebih banyak dari pada saat surut (Purwanti *et al.*, 2011), air pasang tersebut banyak membawa bahan masukan berupa limbah dari aktivitas manusia yang dapat menggenangi habitat tiram, sehingga tiram berada dalam keadaan tercemar (Sutiknowati, 2014). Pada daerah yang tercemar tiram akan memproduksi hemosit yang banyak untuk pertahanan diri dari serangan

pencemar tersebut. Delaporte *et al.* (2003), mengatakan bahwa bivalvia yang sehat lalu diinfeksi pathogen (bahan pencemar), akan mengalami peningkatan nilai THC karena dibutuhkan pertahanan tubuh untuk mengalahkan pathogen (bahan pencemar). Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin banyak bahan pencemar yang terbawa pada saat proses pasang surut maka THC tiram *C. cucullata* akan semakin meningkat.

2.9.3 Derajat Keasaman (*potential Hydrogen, pH*)

pH air laut permukaan Indonesia pada umumnya bervariasi dari lokasi ke lokasi antara 6,0-8,5. Sebagian besar biota akuatik sensitif terhadap perubahan pH dan menyukai pH sekitar 7-8,0 (Romimohtarto dan Juwana, 2001). Dalam jaringan insang tiram, pada kondisi CO₂ tinggi dan pH rendah secara signifikan akan menurunkan pengambilan oksigen. pH rendah dapat mengurangi metabolisme aerob dan lebih lanjut mengakibatkan peralihan menjadi metabolisme anaerob (Willson dan Louis, 2000). Diederich (2006), mengatakan bahwa tiram daging mampu hidup dalam perairan dengan pH antara 6,8-9,25. Namun apabila kurang atau lebih dari kisaran pH tersebut maka tiram daging akan mati atau menjadi abnormal.

2.9.4 Salinitas

Salinitas mempunyai peranan penting dalam kehidupan organisme, misalnya distribusi biota akuatik sangat erat hubungannya dengan salinitas karena salinitas ditentukan oleh adanya pencampuran massa air (Supriyadi, 2002). Perubahan salinitas sangat berpengaruh terhadap kehidupan *Pelecypoda*, ketika kering oleh pasang surut dan kemudian digenangi air atau aliran hujan maka salinitas akan mengalami penurunan. Kondisi yang seperti ini dapat melewati batas toleransi tubuh organisme terhadap salinitas dan bahkan dapat menyebabkan kematian (Nybakken, 1992).

Pertahanan beberapa organisme dengan perubahan salinitas yang besar (euryhaline) dan ada pula yang hidup pada kisaran salinitas yang rendah atau sempit (stenohaline) (Supriyadi, 2002). Pada kelas Polychaeta termasuk golongan biota yang mampu hidup pada kisaran salinitas yang luas (euryhaline) (Junardi, 2001). Mann *et al.* (2009) mengatakan bahwa, tiram daging dapat mentoleransi kisaran salinitas 10-30‰ (optimum 20-30‰).

Pada habitat alami tiram, salinitas berfluktuasi akibat pengaruh siklus pasang surut, curah hujan dan drainase dari tempat yang berdekatan dengan daerah terestrial. Peningkatan salinitas dapat mengurangi pergerakan hemosit menuju partikel sasaran, menimbulkan stres tambahan dan juga membuat tiram lebih rentan terhadap parasit (Gagnaire *et al.*, 2006).

Pada hasil penelitian yang dilakukan oleh Santoso (2010), pada perlakuan kejut salinitas dengan penurunan salinitas secara mendadak memberikan respon pemijahan tiram yang lebih tinggi bila dibandingkan perlakuan kejut salinitas dengan peningkatan salinitas secara mendadak. Pada penelitian yang dilakukan oleh Naf'an (2009), dikatakan bahwa salinitas sangat berpengaruh terhadap *Total Haemocyte Count* (THC) tiram *Saccostrea cucullata*. Pada salinitas 0 ppt THC menurun secara signifikan setelah 3 dan 6 hari perlakuan. Sementara itu, pada 40 ppt salinitas tidak terpengaruh terhadap THC tiram *S. cucullata*.

2.9.5 Oksigen Terlarut (DO, *Dissolved Oxygen*)

Oksigen terlarut dibutuhkan oleh semua organisme untuk pernafasan serta oksidasi bahan-bahan organik dan anorganik dalam proses aerobik (Rahman, 2011). Sumber utama dari oksigen terlarut yang ada didalam air adalah penyerapan oksigen yang berasal dari udara melalui permukaan air dan dari proses fotosintesis (Barus, 2002).

Konsentrasi DO berkurang seiring meningkatnya suhu pada kedalaman yang semakin bertambah pula. Penurunan DO dengan bertambahnya kedalaman perairan terkait faktor cahaya yang mempengaruhi aktifitas fitoplankton diperairan (Rahman, 2011). Kelarutan maksimal oksigen dalam air pada temperatur 0°C yaitu sebesar 14,16 mg/l O₂ (Effendi, 2003). Tiram daging masih mampu bertahan hidup selama 5 hari dalam perairan yang mengandung >1 mg/l oksigen terlarut (Sparks *et al.*, 1958 dalam Octavina *et al.*, 2014).

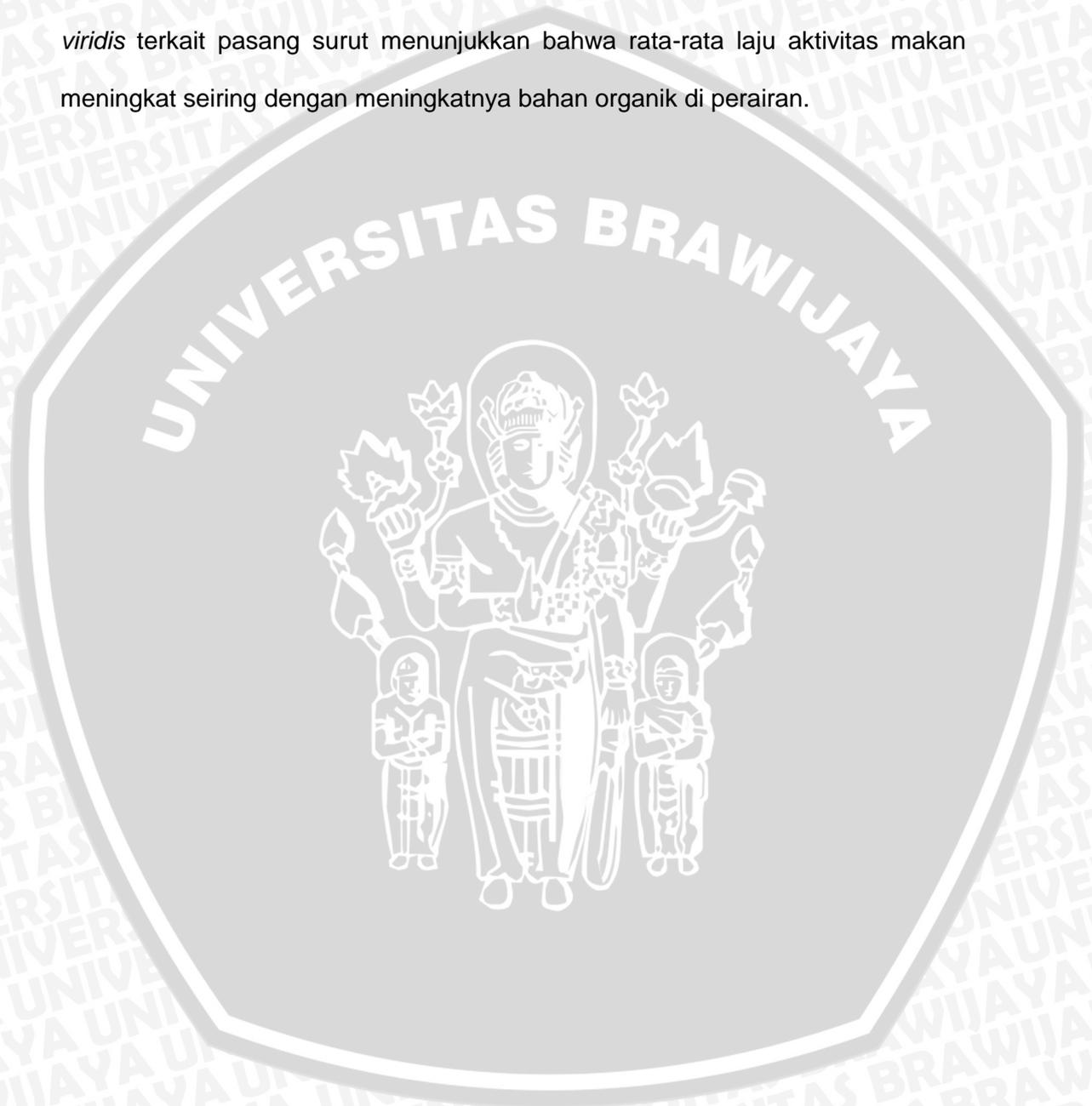
Kekurangan oksigen (hipoksia), dapat menyebabkan penurunan jumlah THC (*Total Haemocyte Count*). Pada penelitian yang dilakukan oleh Le moullac *et al.* (1998), pada spesies udang *Penaeus stylirostris* menunjukkan bahwa kondisi hipoksia menyebabkan stress dan rentan terhadap infeksi *Vibrio alginolyticus*. Penurunan jumlah THC terjadi pada pemeliharaan dengan oksigen terlarut terendah sebesar 1 mg/L selama 24 jam.

2.9.6 Bahan Organik Total (*Total Organic Matter*, TOM)

Bahan organik merupakan bahan makanan bagi biota air, khususnya moluska yang terbawa dari atau berasal dari substrat dalam perairan. Luruhan daun mangrove merupakan bahan organik penting pada rantai makanan di lingkungan perairan. Bahan organik terlarut dalam sedimen mempengaruhi pertumbuhan, kehadiran dan kepadatan organisme (Nontji, 2002).

Susana (2009), menjelaskan bahwa tingginya bahan organik dapat menyebabkan konsentrasi oksigen terlarut dalam perairan menjadi rendah. Hal ini dikarenakan tingginya persentase bahan organik menunjukkan terjadinya proses oksidasi yang dalam reaksinya menggunakan sejumlah besar oksigen dan menghasilkan nitrogen ammonia, sehingga mengurangi kadar oksigen terlarut di dalam perairan.

Menurut Islami (2012), keseimbangan nutrisi dipengaruhi oleh siklus pasang surut yang diindikasikan dengan perubahan konsentrasi nutrisi dan rasio individu pada suatu kawasan, serta pengaruh faktor fisik kimia lainnya. Wong dan Cheung (2001) dalam studinya mengenai aktivitas makan pada kerang *Perna viridis* terkait pasang surut menunjukkan bahwa rata-rata laju aktivitas makan meningkat seiring dengan meningkatnya bahan organik di perairan.



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah hemosit tiram *Crassostrea cululata* yang diambil dari perairan Dalegan Kecamatan Panceng Kabupaten Gresik. Parameter kualitas air pendukung yang meliputi suhu, derajat keasaman, salinitas, oksigen terlarut dan total bahan organik.

3.1.1 Alat dan Bahan

Alat maupun bahan sangat dibutuhkan dalam suatu penelitian agar dapat mempermudah kita dalam melakukan suatu pekerjaan/penelitian. Daftar alat-alat dan bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Alat dan Bahan yang Digunakan pada Penelitian

No.	Tujuan	Alat	Bahan
1.	Pengambilan sampel tiram	- <i>Battle</i> kecil - Palu - <i>Cool box</i> - Kamera	- Tiram <i>C. cuculata</i> - Kertas label - Tissue
2.	Pengambilan sampel darah tiram	- Syringe 1mL - Eppendorf - Nampan	- Tiram <i>C. cuculata</i> - Tissue - Kertas label - Metil alkohol
3.	<i>Total Haemocyte Count</i> (THC)	- Syringe 1 mL - Eppendorf - Cover glass - Haemocytometer - Mikroskop - <i>Washing bottle</i>	- Hemosit tiram - Na-sitrat - <i>Thripanblue</i> - Tissue - Aquades
4.	<i>Differential Haemocyte Count</i> (DHC)	- Preparat hemosit - Mikroskop - <i>Washing bottle</i>	- Metil alkohol - Larutan giemsa - Tissue - Aquades

Lanjutan Tabel 2.

No.	Tujuan	Alat	Bahan
5.	Strerilisasi Air Laut	<ul style="list-style-type: none"> - Aquarium - Timbangan digital - Beaker glass - Aerator 	<ul style="list-style-type: none"> - Air laut 150 L - Kaporit 20 gr - Akuades 1000 ml - Na-thiosulfat 10 gr - <i>Chlorine test</i>
6.	Perlakuan Ketinggian	<ul style="list-style-type: none"> - Aerator - Batu aerasi - Selang aerator - Bak 	<ul style="list-style-type: none"> - Tiram <i>C. cuculata</i> - Air laut steril - Kertas label
7.	Pengukuran suhu	<ul style="list-style-type: none"> - Thermometer Hg - Stopwatch 	<ul style="list-style-type: none"> - Tali - Tissue
8.	Pengukuran Pasut	<ul style="list-style-type: none"> - Tide staff 	<ul style="list-style-type: none"> - Air laut
9.	Pengukuran pH	<ul style="list-style-type: none"> - Kotak standart pH - Stopwatch 	<ul style="list-style-type: none"> - Air laut - pH paper
10.	Pengukuran salinitas	<ul style="list-style-type: none"> - Refraktometer - Pipet tetes - <i>Washing bottle</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Air laut - Tissue - Aquades
11.	Pengukuran DO	<ul style="list-style-type: none"> - Botol DO - Pipet tetes - Buret - Statif - Corong - DO meter - <i>Washing bottle</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Air laut - MnSO₄ - NaOH + KI - H₂SO₄ - Amylum - Na₂S₂O₃ 0,025 N - Aquades - Kertas label
12.	Pengukuran TOM	<ul style="list-style-type: none"> - Buret - Statif - Botol plastik - Erlenmeyer (50 ml) - Gelas ukur (50 ml) - Thermometer Hg - Hot plate - Pipet volum (10 ml) - Pipet tetes 	<ul style="list-style-type: none"> - Air laut - KMnO₄ (28.5 ml) - H₄SO₄ (30 ml) - Na-Oxalate (0.01 N) - Aquadest - Kertas label - Tissue

3.1.2 Hewan Uji

Tiram *Crassostrea cucullata* yang digunakan yaitu berukuran ± 6 cm dengan pemberian sebanyak 3 individu/bak. Ukuran tiram tersebut dipilih untuk mempermudah dalam pengambilan hemositnya. Tiram di ambil dari perairan Dalegan Desa Campurejo, Gresik. Pada penelitian ini digunakan tiram karena tiram merupakan salah satu hewan intertidal (bagian pantai yang terendam air di bawah batas pasang tertinggi) yang kehidupannya dipengaruhi oleh pasang surut air laut, selain itu berdasarkan hasil survei tiram yang paling mendominasi di Perairan Dalegan yaitu tiram *Crassostrea cucullata*.

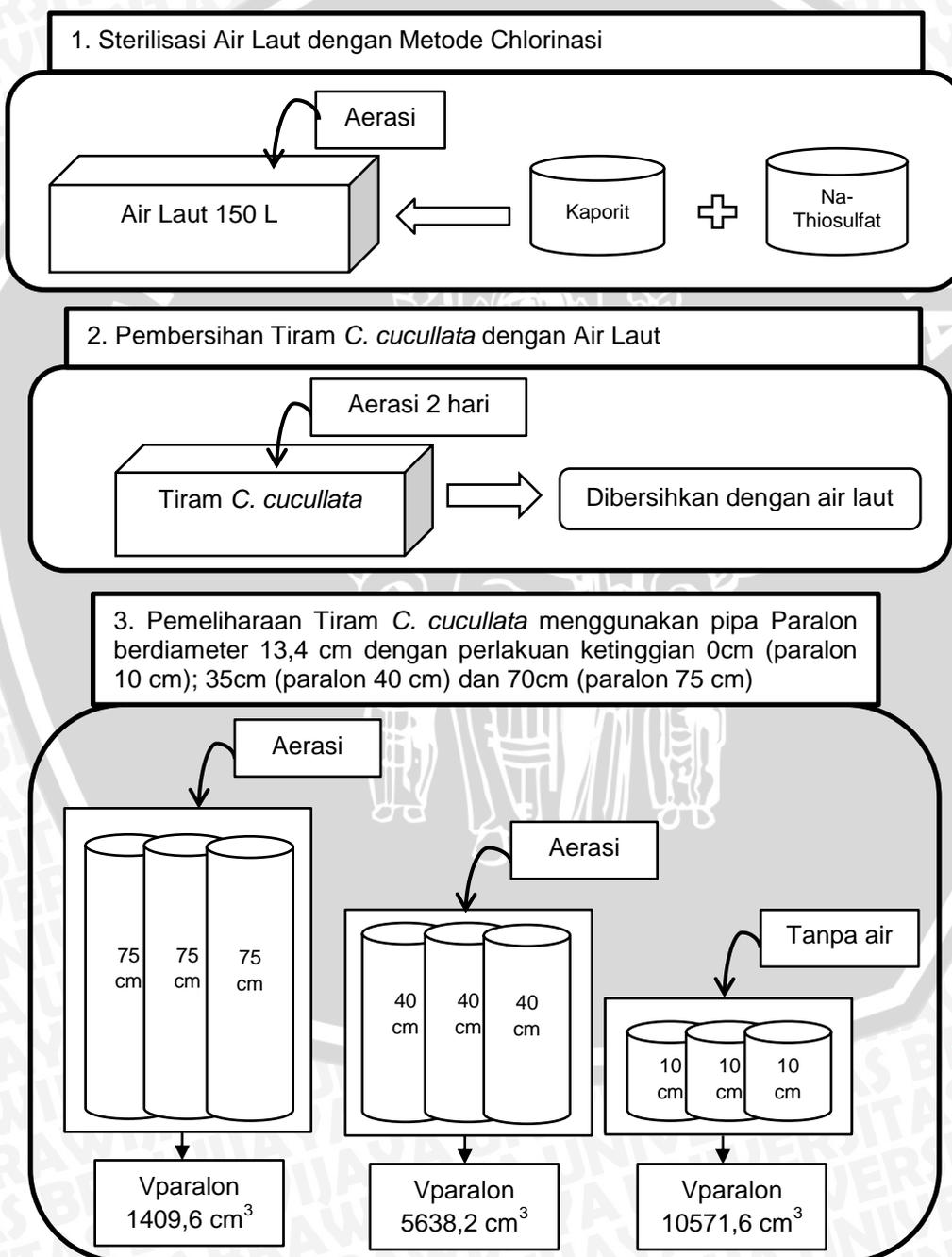
3.1.3 Media Percobaan

Bak percobaan yang digunakan berbentuk tabung mempunyai tinggi 75 cm, 40 cm dan 10 cm berdiameter 13,4 cm yang masing-masing berjumlah 3 buah. Volume setiap bak pada perlakuan 0 cm adalah $1.409,546 \text{ cm}^3$ tanpa menggunakan air dan pemberian pakan. Volume setiap bak yang perlakuan 35 cm adalah $5638,184 \text{ cm}^3$ dan volume airnya 4,93 liter dan pemberian pakan sebanyak 0,09 liter/bak. Volume setiap bak pada perlakuan 70 cm adalah $10.571,595 \text{ cm}^3$ dan volume airnya 9,86 liter dan pemberian pakan sebanyak 0,19 liter/bak. Air yang digunakan sebagai media hidup tiram selama penelitian adalah air laut yang dibeli dari penjual di Kota Malang. Air laut tersebut dilakukan proses dengan metode *Chlorinasi* yang bersih dari patogen (bakteri). Prosedur sterilisasi air laut yang mengacu pada Laboratorium Hidrobiologi sebagai berikut:

- Siapkan air laut 150 L
- Dilarutkan kaporit 20 gr dalam akuades 1000 ml
- Diambil larutan kaporit 150 ml dan dimasukkan ke dalam 150 L air laut
- Diamkan selama ± 24 jam dan diaerasi
- Ditimbang Na-thiosulfat 10 gr dan dilarutkan dalam 1000 ml akuades

- Diambil 150 ml larutan Na-thiosulfat dan dimasukkan ke dalam 150 L air laut
- Didiamkan selama ± 15 menit
- Diperiksa menggunakan *chlorine test*

Berikut adalah bagan persiapan media percobaan yang menggunakan pipa paralon sebagai bak percobaan dan air laut steril sebagai media hidup tiram *C. cucullata* (Gambar 7).



Gambar 7. Persiapan Media Percobaan dengan Pipa Paralon dan Air Laut Steril

3.2 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan dengan metode survei terhadap ada tidaknya tiram di perairan pantai Panceng Gresik serta ketinggian pasang surut pada habitat alami tiram. Survei dilakukan untuk mengetahui jenis tiram yang dominan pada pantai Dalegan sehingga bahan penelitian akan lebih mudah didapat dan jumlahnya memenuhi. Menurut Sudjana (1996) dalam Soedarsono *et al.* (2013), metode survei yaitu suatu metode penelitian yang dilakukan dengan pengamatan dan pencatatan mengenai kejadian – kejadian yang sedang diselidiki dalam suatu penelitian dan hasilnya diharapkan dapat menggambarkan sifat populasi dari obyek penelitian dengan tujuan menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan. Data primer diperoleh dari pengamatan dan pengukuran langsung ke lapangan.

Hasil survei yang didapatkan pada penelitian pendahuluan adalah pasang yang terjadi pada habitat alami tiram *Crassostrea cuculata* di wilayah pelabuhan perikanan Desa Campurejo Kecamatan Panceng Kabupaten Gresik terjadi antara pukul 17.00 - 04.00 WIB (12 jam). Pasang tertinggi hingga mencapai ketinggian ± 70 cm terjadi pada pukul 23.00 WIB. Surut terjadi antara pukul 04.00 – 17.00 WIB (12 jam), sedangkan surut hingga mencapai 0 cm terjadi pada pukul 10.00 WIB. Tinggi rendahnya pasang surut tidak selalu sama tergantung pada periode pasang surut yang ada di daerah masing-masing. Menurut Nontji (2002), pasang surut (pasut) di berbagai lokasi mempunyai ciri yang berbeda-beda karena dipengaruhi oleh topografi dasar laut, lebar selat, bentuk teluk dan sebagainya. Di beberapa tempat, terdapat beda antara pasang tertinggi dan surut terendah (rentang pasut).

Pada hasil survei pasang surut tersebut dapat dikatakan bahwa pasang surut yang terjadi di wilayah pelabuhan perikanan Desa Campurejo Kecamatan Panceng Kabupaten Gresik termasuk dalam tipe pasang surut harian tunggal

(*diurnal type*) karena dalam waktu 24 jam terdapat 1 kali pasang dan 1 kali surut. Menurut Christon *et al.* (2012), pasang-surut tipe harian tunggal (*diurnal type*) yakni bila dalam waktu 24 jam terdapat 1 kali pasang dan 1 kali surut. Data pasang surut berdasarkan Puslitbang Sumberdaya Laut dan Pesisir yang dilakukan di PPN Brondong pada Januari 2015 sebagai data sekunder dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3 Penelitian Utama

3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental di dalam laboratorium. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Menurut Walpole (1997) dalam Juwitanti *et al.* (2012), rancangan acak lengkap ini dicirikan dengan diberikannya perlakuan secara acak pada seluruh bahan percobaan. RAL digunakan hanya bila perlakuannya sedikit dan bahan percobaannya homogen. Perlakuan yang digunakan yaitu ketinggian air yang berbeda (0 cm; 35 cm dan 70 cm). Setelah perlakuan selama 1 hari akan diamati hemosit tiram *Crassostrea cuculata* sebagai obyek penelitian. Pengukuran parameter kualitas air dilakukan pada awal dan akhir penelitian untuk mengetahui suhu, derajat keasaman, salinitas, oksigen terlarut dan bahan organik total. Penelitian ini berlangsung selama 1 bulan.

3.3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian adalah variabel bebas (independen) dan variabel terikat (dependent). Menurut Sangadji dan Sopiha (2010), variabel bebas adalah variabel yang menjelaskan atau mempengaruhi variabel lain, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang dijelaskan atau dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel bebas serta variabel terikat dalam penelitian adalah sebagai berikut:

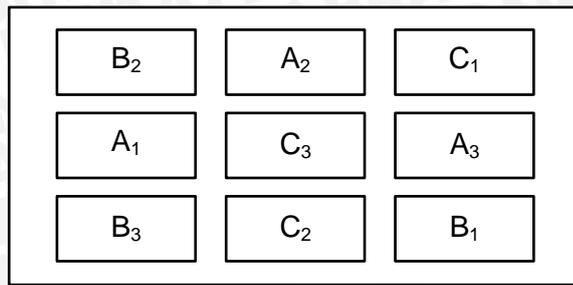
- a) Variabel bebas : Variasi perbedaan ketinggian air (0 cm; 35 cm dan 70 cm).
- b) Variabel terikat : *Total Haemocyte Count* dan *Differential Haemocyte Count*
- c) Data pendukung : Kualitas air (suhu, salinitas, pH, DO dan TOM).

3.3.3 Perlakuan

Pada penelitian ini dilakukan ulangan sebanyak 3 kali dengan memberikan perlakuan ketinggian media air laut dalam bak yang berbeda yakni ketinggian air media 0 cm (saat surut terendah); ketinggian air media 35 cm (nilai tengah antara surut dan pasang dan tiram paling lama terendam air pasang) dan ketinggian air media 70 cm (saat pasang tertinggi). Ketinggian tersebut digunakan karena kehidupan tiram di habitat alaminya selalu mengalami perubahan ketinggian air akibat pasang surut. Menurut Islami (2012), saat surut terjadi minimnya air bahkan pengeringan terutama pada bagian intertidal atas (ketinggian air 0 cm). Sedangkan saat pasang ketinggian air bisa mencapai 25 cm, 30 cm, 90 cm, bahkan 3 meter.

Ketinggian tersebut digunakan juga berdasarkan hasil survei yang dilakukan pada penelitian pendahuluan, yakni pasang yang terjadi pada habitat alami tiram *C. cuculata* di wilayah Pelabuhan Pendaratan Ikan Desa Camporejo, Panceng, Gresik mencapai ketinggian ± 70 cm, sedangkan surut mencapai 0 cm. (Lampiran 1) Sedangkan untuk kontrol digunakan tiram tanpa perendaman yang langsung diamati hemositnya setelah diambil dari perairan Dalegan Desa Camporejo, Panceng, Gresik.

Rancangan denah penelitian didapat berdasarkan tabel random pada statistika. Berikut adalah bentuk rancangan denah penelitian yang akan digunakan dapat dilihat pada gambar dibawah ini (Gambar 8):



Gambar 8. Denah Rancangan Penelitian

Keterangan:

- A : Memberikan ketinggian air media sebesar 0 cm selama 12 jam.
- B : Memberikan ketinggian air media sebesar 35 cm selama 12 jam.
- C : Memberikan ketinggian air media sebesar 70 cm selama 12 jam.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Tiram

Tiram yang menempel pada substrat batu ataupun kayu diambil dengan cara melepas tiram tersebut dengan alat betel kecil dan palu, pelepasan tiram harus dilakukan dengan hati-hati agar tiram yang diambil masih dalam keadaan hidup. Sampel tiram yang telah diperoleh dimasukkan ke dalam *cool box* yang telah berisi air laut yang diambil dari lokasi pengambilan sampel. Hal ini dilakukan untuk mempermudah dalam membawa tiram dan juga agar tiram tidak mati saat dibawa ke laboratorium, mengingat jarak yang ditempuh cukup jauh. Setelah sampai di laboratorium, tiram dicuci dengan menggunakan air laut untuk menghilangkan pasir, lumpur atau sisa batu yang masih menempel pada cangkang tiram agar kotoran yang menempel pada tiram tidak mengotori air laut steril pada saat diberi perlakuan pada skala laboratorium.

3.4.2 Preparasi Bak Pemeliharaan

Bak percobaan sebelum digunakan, terlebih dahulu dicuci dengan sabun lalu dibilas dengan air bersih dan dikeringkan selama 1 hari. Kemudian bak percobaan sebanyak 9 buah di atur sesuai dengan denah penelitian (Gambar 8). Setelah itu masing-masing bak percobaan diisi dengan air laut steril sampai

ketinggian 0 cm sebanyak 3 buah bak, sampai ketinggian 35 cm (di butuhkan 14,79 liter) sebanyak 3 buah bak dan 3 buah bak yang tersisa diisi sampai ketinggian 70 cm (dibutuhkan 29,58 liter). Pada setiap bak percobaan dipasang aerator, kemudian dimasukkan tiram *Crassostrea cuculata* sebanyak 3 ekor/bak.

3.4.3 Pemeliharaan Tiram

Tiram *Crassostrea cuculata* dipelihara dalam bak percobaan sesuai dengan perlakuan masing-masing. Masa pemeliharaan dilakukan selama 1 hari. Hal ini karena frekuensi kehadiran pasang surut pada habitat alami tiram setiap harinya berbeda-beda tergantung pada periode pasang harian. Periode pasang surut pada Perairan Dalegan berlangsung selama 24 jam, yakni 12 jam pasang dan 12 jam surut. Menurut Nontji (2002), pasang surut (pasut) di berbagai lokasi mempunyai ciri yang berbeda-beda karena dipengaruhi oleh topografi dasar laut, lebar selat, bentuk teluk dan sebagainya. Di beberapa tempat, terdapat beda antara pasang tertinggi dan surut terendah (rentang pasut). Pemeliharaan tiram selama penelitian dilakukan dengan pemberian aerasi dalam bak percobaan untuk menyuplai oksigen pada tiram dan diberi pakan berupa *Chaetoceros* sp dengan perbandingan 1:50 (1 liter *Chaetoceros* sp : 50 liter air laut) (Prasetyo, 2009).

3.4.4 Pengambilan Sampel Darah Tiram

Sampel hemosit tiram kontrol diambil langsung setelah dibawa dari lokasi pengambilan sampel, sedangkan sampel hemosit tiram yang dilakukan perlakuan diambil setelah 1 hari pemberian perlakuan ketinggian media air laut. Pengambilan hemosit dilakukan menggunakan jarum berukuran 25-G lalu hemosit disimpan pada eppendorf sebelum dilakukan pengamatan *Total Haemocyte Count* (THC) dan *Differential Haemocyte Count* (DHC).

3.4.5 Pengamatan THC dan DHC

a) *Total Haemocyte Count* (THC)

Total hemosit atau *Total Haemocyte Count* (THC) dilakukan dengan mengacu pada metode Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (2010), hemosit diambil menggunakan *syringe* plastik berukuran 1mL dan jarum berukuran 25-G. Hemosit diambil pada bagian otot aduktor tiram karena bagian tersebut banyak terdapat hemosit. Perbandingan yang digunakan pada sampel THC adalah 1:1:1 (100 μ L Na sitrat : 100 μ L Hemosit : 100 μ L *Triphan blue*). Sebelum digunakan untuk mengambil hemosit tiram *syringe* plastik 1 mL terlebih dahulu diisi dengan Na sitrat 10% sebanyak 100 μ L sebagai antikoagulan agar tidak terjadi penggumpalan hemosit. Hemosit yang sudah diambil kemudian dipindahkan ke eppendorf yang sudah diisi dengan 100 μ L *triphan blue* sebagai larutan pewarna lalu dikocok searah secara perlahan dan didiamkan selama 5 menit. Sampel hemosit yang sudah tercampur diberi label sesuai dengan masing-masing perlakuan agar tidak tertukar dengan sampel yang lain. Setelah 5 menit berlalu diambil sedikitnya 20 μ L kemudian ditetaskan pada slide *haemocytometer* dan diamati di bawah mikroskop. Kemudian dihitung THC dengan rumus (Ekawati *et al.*, 2012):

$$\text{THC} = \frac{\text{Jumlah Sel yang Dihitung}}{\text{Jumlah Bidang Pandang}} \times 10^4 \times \text{Faktor Pengenceran}$$

b) *Differential Haemocyte Count*

Diferensiasi hemosit atau *Differential Haemocyte Count* (DHC) dilakukan dengan metode pewarnaan giemsa yang mengacu pada Martin dan Graves (1995) dalam Tampangallo *et al.*, (2012). Haemocyte diambil $\pm 100 \mu$ L dengan menggunakan *syringe* plastik berukuran 1mL dan jarum berukuran 25-G dengan perbandingan 1:1 (100 μ L hemosit : 100 μ L Na-Sitrat) kemudian ditetaskan pada

obyek glass sedikitnya 20 μL dan dibuat ulasan tipis, lalu dikeringkan di udara. Selanjutnya preparat difiksasi dengan metanol selama 2 – 5 menit sampai preparat tertutup seluruhnya kemudian dikeringkan di udara kembali. Preparat ditetesi dengan larutan pewarna giemsa yang sudah diencerkan dengan larutan penyangga (1 ml giemsa : 9 ml larutan penyangga) sampai merata kemudian dikeringkan di udara lagi. Preparat dicuci dengan air mengalir dan dibiarkan kering. Diferensiasi hemosit kemudian dihitung dengan mengelompokkan sel hemosit kedalam 2 tipe sel (granulosit dan hyalinosit) di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali. Persentase tiap jenis sel dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Presentase Jenis Sel Hemosit} = \frac{\text{Jumlah tiap jenis sel hemosit}}{\text{Total hemosit}} \times 100\%$$

3.4.6 Metode Analisa Kualitas Air

a. Suhu

Alat yang digunakan dalam pengukuran suhu air adalah thermometer air raksa. Menurut Rahayu *et al.* (2009), langkah dalam pengukuran suhu dengan menggunakan thermometer standart (air raksa) adalah sebagai berikut:

- Masukkan termometer ke dalam air selama 1-2 menit
- Baca suhu saat termometer masih di dalam air, atau secepatnya setelah dikeluarkan dari dalam air.

b. Pasang Surut

Menurut Khasanah (2013), pengukuran pasang surut dilakukan dengan menggunakan tiang skala (*tide staff*). Pengamatan tersebut dilakukan untuk mengetahui tipe kisaran pasang surut, juga untuk mengetahui ketinggian pasang surut pada habitat alami tiram *C. cucullata* di lokasi penelitian. Berikut adalah langkah-langkah pengukuran pasang surut:

- Menancapkan tide staff didasar perairan dengan surut rendah.
- Mengukur ketinggian awal permukaan laut dan dicatat
- Mendinginkan selama kurang lebih 4 jam
- Mencatat ketinggian permukaan laut setelah 4 jam kemudian dihitung nilai pasang surutnya dengan rumus:

$$\text{Pasang Surut} = \frac{t_1 - t_0}{t}$$

Keterangan :

- t_1 = skala akhir pada tide staff
- t_0 = skala awal pada tide staff
- t = selang waktu pengukuran

c. Salinitas

Menurut Hariyadi *et al.* (1992), salinitas dapat diukur menggunakan Refraktometer dengan prosedur sebagai berikut:

- Membuka penutup kaca prisma.
- Mengkalibrasi dengan aquades.
- Membersihkan dengan tissue secara searah.
- Meneteskan 1-2 tetes air yang akan diukur salinitasnya.
- Menutup kembali dengan hati-hati agar tidak terjadi gelembung udara di permukaan kaca prisma.
- Mengarahkan ke sumber cahaya.
- Melihat nilai salinitasnya dari air yang melalui kaca pengintai.

d. Derajat Keasaman (*potential Hydrogen, pH*)

Menurut Rovita *et al.* (2012), pH air diukur menggunakan pH *paper* dengan cara sebagai berikut:

- Mencilupkan pH *paper* pada sampel air
- Cocokan dengan skala warna pH

e. Oksigen Terlarut (*Dissolved Oxygen, DO*)

Prosedur pengukuran oksigen terlarut dilakukan dengan metode Winkler. Menurut Suprpto (2011), metode pengukuran DO dengan metode Winkler adalah sebagai berikut:

- Mengukur dan mencatat volume botol DO yang digunakan $\pm 250 - 300$ mL.
- Memasukkan botol DO ke dalam air yang akan diukur oksigennya secara perlahan-lahan dengan posisi miring dan diusahakan jangan sampai ada gelembung udara.
- Menutup botol DO di dalam air dan dipastikan tidak ada gelembung udara.
- Menambahkan $MnSO_4$ 2 ml, $NaOH + KI$ 2 ml lalu bolak-balikkan botolnya sampai homogen.
- Mengendapkan dan didiamkan selama kurang lebih 30 menit sampai terjadi endapan coklat.
- Membuang air yang bening di atas endapan, dan menambahkan 1-2 ml H_2SO_4 dan mengocok sampai endapan larut.
- Menambahkan 3-4 tetes amylum, diaduk dan dititrasi dengan Na -thiosulfat 0,025 N sampai jernih.
- Mencatat volume titran.
- Mengukur kadar oksigen yang terlarut dengan rumus sebagai berikut :

$$DO \text{ (mg/lt)} = \frac{v(\text{titran}) \times N(\text{titran}) \times 8 \times 1000}{V \text{ botol DO} - 4}$$

Keterangan:

- v : ml larutan Natrium Thiosulfat untuk titrasi
- N : Normalitas larutan Natrium thiosulfat
- 8 : Molaritas O_2
- 1000 : konversi dari ml ke liter
- V : Volume botol DO
- 4 : Volume air yang keluar dari botol DO akibat penambahan $MnSO_4$ 2 ml dan $NaOH + KI$ 2 ml pada saat penutupan botol.

f. Bahan Organik Total (*Total Organic Matter*, TOM)

Menurut Hariyadi *et al.* (1992), prosedur pengukuran TOM dengan menggunakan metode titrasi adalah sebagai berikut:

- Air sampel diambil sebanyak 50 ml lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer.
- KMnO_4 ditambahkan sebanyak 9,5 ml.
- H_2SO_4 (1:4) ditambahkan sebanyak 10 ml dan dihomogenkan.
- Sampel dipanaskan menggunakan hot plate sampai suhu 70-80 °C lalu diangkat dan ditunggu hingga suhu turun menjadi 60-70 °C.
- Na-oxalat 0,01 N ditambahkan perlahan sampai tidak berwarna pertama kali.
- Sampel dititrasi dengan KMnO_4 0,01 N sampai terbentuk warna merah muda pertama kali dan dicatat sebagai ml titran (x ml).
- Dilakukan prosedur di atas untuk sampel aquadest dan dicatat titran yang digunakan (y ml).
- Kadar TOM dihitung dengan rumus:

$$\text{TOM (mg/L)} = \frac{(x - y) \times 31,6 \times 0,01 \times 1000}{\text{mL air sampel}}$$

Keterangan:

- X = ml titran untuk air sampel
- Y = ml titran untuk aquadest
- 31,6 = 1/5 dari BM KMnO_4 (1 mol KMnO_4 melepas 5 O_2 pada reaksi ini)
- 0,01 = Molaritas KMnO_4
- 1000 = konversi dari ml ke liter

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian, dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis sidik keragaman (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yakni Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut distribusi F, sehingga disebut juga sebagai Uji F. Perlakuan berbeda nyata jika H_0 ditolak dan H_1 diterima ($F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}} 5\%$) dan perlakuan tidak berbeda nyata jika H_0 diterima

dan H_1 ditolak ($F_{hitung} < F_{tabel} 5\%$). Menurut Sungkawa (2000), metode yang digunakan dalam pengujian hipotesis, diantaranya adalah analisis ragam, dengan menggunakan sebaran F atau dikenal dengan uji-F, yaitu analisis ragam yang dapat digunakan untuk menguji kesamaan rata-rata atau nilai tengah dari dua atau lebih kelompok/populasi. Sedangkan uji-T yaitu pengujian kesamaan nilai tengah untuk dua kelompok cukup digunakan sebaran T.

Data analisis sidik keragaman yang didapat apabila diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata atau berbeda sangat nyata, maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Perhitungan analisa ragam Rancangan Acak Lengkap terlampir dalam Lampiran 2.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kondisi Lokasi Penelitian

Menurut Pemkab Gresik (2014), Kabupaten Gresik merupakan salah satu Kabupaten di Provinsi Jawa Timur yang terletak antara 7° LS sampai 8° LS dan 112° BT sampai 113° BT (Lampiran 3.), dengan luas wilayah sebesar 104.525,15 Ha. Wilayahnya merupakan dataran rendah dengan ketinggian 2 - 25 meter di atas permukaan air laut (kecuali Kecamatan Panceng mempunyai ketinggian lebih dari 25 meter di atas permukaan air laut). Adapun batas-batas wilayah meliputi, sebelah utara (Laut Jawa), sebelah selatan (Kota Surabaya, Kabupaten Sidoarjo, Kabupaten Mojokerto), sebelah barat (Kabupaten Lamongan) dan sebelah timur (Selat Madura). Hampir sepertiga bagian dari wilayah Kabupaten Gresik merupakan daerah pesisir pantai, yaitu sepanjang Kecamatan Kebomas, sebagian Kecamatan Gresik, Kecamatan Manyar, Kecamatan Bungah, Kecamatan Ujungpangkah, Sidayu dan Panceng serta Kecamatan Tambak dan Kecamatan Sangkapura yang berada di Pulau Bawean. Struktur ekonomi Kabupaten Gresik didominasi oleh sektor industri.

Lokasi pengambilan sampel dilakukan di Kecamatan Panceng yang berada di utara Kabupaten Gresik tepatnya di Desa Dalegan. Di lokasi tersebut terdapat beragam aktivitas antropogenik seperti pertambangan batu bata, industri pupuk, perikanan tangkap, peternakan, pemukiman dan pariwisata. Kondisi perairan tersebut kotor akibat sampah sisa aktivitas pelelangan ikan dan sampah-sampah dari pengunjung dermaga yang dibuang langsung ke perairan. Untuk kondisi dasar pantai didominasi oleh batuan karang. Berdasarkan banyaknya aktivitas tersebut maka pengambilan sampel secara acak (Lampiran 4) dilakukan pada daerah yang dekat dengan pemukiman warga (ulangan 1), pendaratan kapal nelayan (ulangan 2) dan pelabuhan pelelangan ikan (ulangan 3).

4.2 Karakteristik Hemosit Tiram *Crassostrea cucullata*

Karakteristik hemosit dipengaruhi oleh status fisiologis tiram, terutama selama siklus reproduksi serta pada kuantitas dan kualitas sumber daya trofik (Delaporte *et al.*, 2003; Hégaret *et al.*, 2004). Pada penelitian yang dilakukan oleh Lambert *et al.* (2007), menunjukkan bahwa karakteristik hemosit dari tiram *Crassostrea gigas* dipengaruhi oleh keseimbangan yang kompleks pada warisan genetik dan faktor yang berhubungan dengan lingkungan.

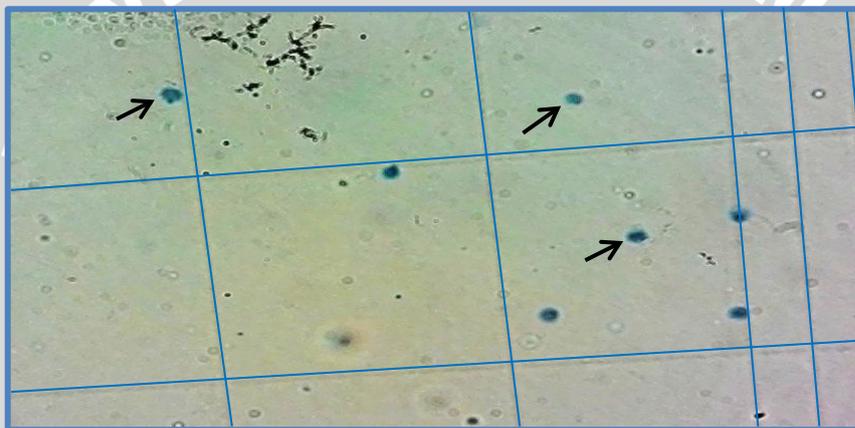
Berdasarkan morfologinya sel hemosit pada bivalvia dibedakan menjadi dua jenis sel yakni sel hyalinosit dan sel granulosit yang keduanya merupakan fagosit (Aladaileh *et al.*, 2007). Sel hyalin secara morfologi mudah dibedakan dari sel granulosit. Kriteria umum yang menjadi karakteristik utama yang mempertimbangkan adalah ada atau tidaknya butiran hemosit (butiran – butiran kecil pada sitoplasma) (Hose *et al.*, 1990).

4.3 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kondisi tiram pada habitat alaminya yakni pada Perairan Dalegan sebelum dilakukan perlakuan ketinggian media air laut yang berbeda pada skala laboratorium. Hasil tersebut digunakan sebagai data kontrol, dimana data yang diambil adalah *Total Haemocyte Count* (THC) dan *Differential Haemocyte Count* (DHC) baik hyalinosit maupun granulosit dari tiram *Crassostrea cucullata*. Menurut Jaedun (2011), variabel kontrol (pengendali) adalah variabel yang berpengaruh terhadap variabel terikat, tetapi pengaruhnya ditiadakan/dikendalikan dengan cara dikontrol (diisolasi) pengaruhnya dengan cara pengembangan disain penelitiannya (kondisinya dibuat sama) atau secara statistik tertentu. Pada penelitian ini variabel kontrol digunakan untuk mengetahui bahwa tiram *Crassostrea cucullata* yang diambil pada Perairan Dalegan dalam kondisi tercemar.

4.3.1 Total Haemocyte Count (THC) Kontrol

Perhitungan total hemosit banyak dilakukan untuk memeriksa status fisiologis spesies (Taylor dan Landman, 2009) termasuk juga pada organisme akuatik salah satunya adalah tiram *Crassostrea cucullata*. Selain itu total jumlah hemosit atau *Total Haemocyte Count* (THC) dapat menjadi indikator stress dalam beberapa spesies (Lorenzon *et al.*, 2001). Pengamatan *Total Haemocyte Count* (THC) yang dilakukan dengan menggunakan kamar hitung *Haemocytometer* dapat dilihat pada Gambar 9. Sel hemosit yang dihitung adalah seperti yang ditunjuk oleh anak panah.



Gambar 9. Pengamatan Hemosit Tiram *C. cucullata* dalam kamar hitung *Haemocytometer* menggunakan pewarnaan *Trianblue*

Total Haemocyte Count (THC) hemosit *Crassostrea cucullata* yang diambil pada Perairan Dalegan sebagai kontrol negatif, setelah dilakukan pengamatan pada kamar hitung *haemocytometer* diperoleh hasil sebesar $153 \pm 5,7 \times 10^4$ sel/ml. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kondisi tiram dalam keadaan tidak sehat atau dalam kondisi tercemar. Menurut Delaporte *et al.* (2003), nilai THC pada bivalvia adalah $6,4 \pm 2,2 \times 10^5$ sel/ml (64×10^4 sel/ml). Nilai THC yang berada di atas kisaran nilai tersebut diduga sedang memproduksi pertahanan tubuh dalam jumlah banyak akibat paparan material asing seperti patogen. Sementara yang berada tidak jauh di bawah kisaran itu dianggap normal. Bivalvia yang sehat lalu diinfeksi

patogen, akan mengalami peningkatan nilai THC karena dibutuhkan pertahanan tubuh untuk mengalahkan material asing seperti patogen. Pencemaran yang ada pada Perairan Dalegan diakibatkan oleh banyaknya aktivitas manusia di sekitar perairan Dalegan yang membuang limbahnya langsung ke laut sehingga akan menyebabkan pencemaran pada daerah intertidal akibat penumpukan sampah pada tepi pantai (daerah intertidal). Limbah dari aktivitas manusia (Gambar 10) tersebut diantaranya adalah limbah rumah tangga, limbah pengolahan perikanan, limbah pembuatan kapal dan limbah yang dihasilkan nelayan (sisa makanan dan solar).

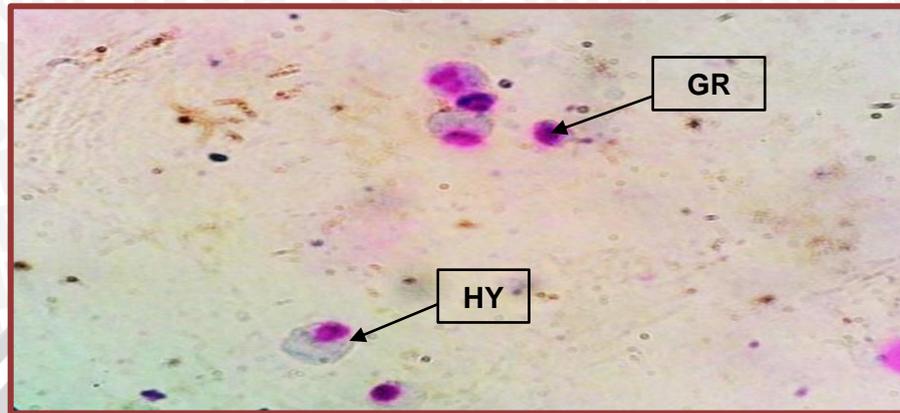


Gambar 10. Limbah pada Perairan Dalegan Akibat Aktivitas Manusia

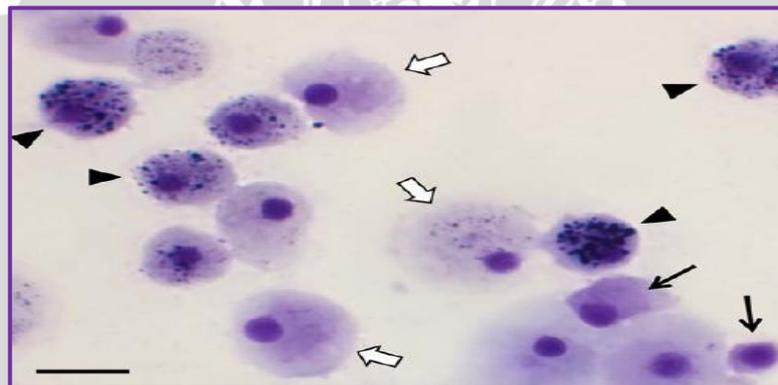
4.3.2 *Differential Haemocyte Count (DHC) Kontrol*

Pada perlakuan ketinggian media air laut yang berbeda pada hemosit tiram *C. cucullata* diidentifikasi adanya dua jenis sel hemosit yang diamati melalui mikroskop cahaya yang meliputi hyalinosit dan granulosit. Pada pengamatan sel hyalinosit berbentuk bulat ataupun oval, memiliki nukleus yang relatif kecil dan mempunyai sitoplasma tidak memiliki granula (butiran-butiran kecil). Sedangkan sel granulosit menunjukkan karakteristik bentuk bulat ataupun tidak beraturan dan memiliki sitoplasma yang banyak mengandung granula (butiran-butiran kecil). Hasil pengamatan *Differential Haemocyte Count (DHC)* di bawah mikroskop cahaya dapat dilihat pada Gambar 11. Pada penelitian yang dilakukan oleh Rebelo *et al.* (2013), melakukan pengamatan sel hemosit *Crassostrea*

rhizophorae di bawah mikroskop cahaya dengan menggunakan pewarnaan giemsa. Pada pengamatan tersebut sel hemosit yang didapat berupa hemoblast-like, hyalinosit dan granulosit (Gambar 12).



Gambar 11. Pengamatan DHC *Crassostrea cucullata* yang meliputi Sel Hyalinosit (HY) dan Granulosit (GR) dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x, pewarnaan Giemsa.



Gambar 12. Pengamatan DHC *Crassostrea rhizophorae* di bawah mikroskop cahaya dengan pewarnaan Giemsa perbesaran 10 µm. Keterangan: ⇨ = hyalinosit; → = hemoblast-like; ► = granulosit (Rebelo *et al.*, 2013)

Nilai DHC ditentukan oleh dua jenis sel hemosit yaitu sel hyalinosit dan sel granulosit. Sel hyalinosit yakni sel dengan perbandingan inti sel lebih rendah dari sitoplasma dan memiliki sedikit granul. Sel hyalinosit berfungsi untuk mengenali material asing yang masuk ke dalam tubuhnya. Sel granulosit yaitu sel yang memiliki perbandingan inti sel lebih tinggi daripada sitoplasma. Sel granulosit berfungsi dalam menyimpan dan melepaskan sistem proPO dalam proses fagositosis (Johansson *et al.*, 2000).

Pengamatan *Differential Haemocyte Count* (DHC) tiram *C. cucullata* untuk hyalinosit yang diambil dari Perairan Dalegan dan dilakukan di bawah mikroskop cahaya didapat hasil sel hyalinosit sebesar $31,85 \pm 8,98\%$. Menurut Galtsoff (1964) bahwa, persentase tersebut dapat dikatakan bahwa kondisi tiram dalam keadaan tidak sehat atau sudah tercemar. Pada tiram dengan kondisi yang sehat, kisaran sel hyalinosit bervariasi antara 25 – 64% dari jumlah hemosit, namun perbedaan tersebut tidak konsisten dan sepertinya tidak dipengaruhi oleh asal tiram atau bagian tubuh dari pengambilan sampel (Galtsoff, 1964). Sedangkan menurut Choi *et al.* (2011), tiram *Crassostrea gigas* yang sesuai dengan *Healthy Appearing Oysters* (HAO) atau keadaan tiram sehat sel hyalinosit berada pada jumlah $81,8 \pm 5,5\%$ sedangkan hyalinosit yang terinfeksi patogen *Marteilioides chungmuensis* berkisar antara $73,0 \pm 7,3\%$. Standart baku atau kisaran normal untuk persentase hyalinosit pada tiram atau bivalvia sehat yang berbeda pada kedua referensi tersebut menandakan bahwa belum terdapatnya baku mutu yang pasti untuk persentase hyalinosit yang normal/sehat, karena pada kedua penelitian tersebut menggunakan organisme dan pada lingkungan yang berbeda-beda.

Hasil pengamatan *Differential Haemocyte Count* (DHC) tiram *C. cucullata* untuk granulosit kontrol yang diambil dari Perairan Dalegan didapat persentase sebesar $64,4 \pm 3,8\%$. Menurut Seiler & Morse (1988) dalam Giamberini *et al.* (1996) bahwa, persentase granulosit tersebut dapat dikatakan bahwa kondisi tiram dalam keadaan tidak sehat atau sudah tercemar. Persentase granulosit pada bivalvia dikatakan tidak tercemar apabila mempunyai kisaran sebesar 34%, untuk dikatakan tercemar apabila mempunyai kisaran sebesar 52% (Seiler & Morse, 1988 dalam Giamberini *et al.*, 1996). Sedangkan menurut Choi *et al.* (2011), tiram *C. gigas* yang sesuai dengan *Healthy Appearing Oysters* (HAO) atau keadaan tiram sehat sel granulosit berada pada jumlah $6,9 \pm 5,5\%$

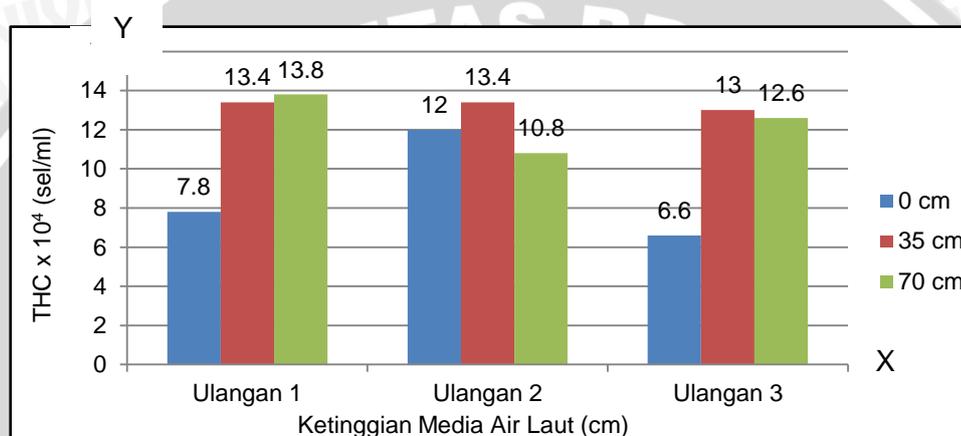
sedangkan granulosit yang terinfeksi patogen *Marteilioides chungmuensis* berkisar antara $25,2 \pm 7,2\%$. Standart baku atau kisaran normal untuk persentase granulosit pada tiram atau bivalvia yang sehat berbeda pada kedua referensi tersebut menandakan bahwa belum terdapatnya baku mutu yang pasti untuk persentase granulosit yang sehat, karena pada kedua penelitian tersebut menggunakan organisme dan lingkungan yang berbeda-beda.

Pada tiram *C. cucullata* kontrol yang diambil dari Perairan Dalegan sudah mengalami pencemaran dikarenakan banyaknya limbah yang masuk pada tubuh tiram, limbah tersebut diantaranya adalah limbah yang dihasilkan oleh aktivitas manusia disekitar Perairan Dalegan seperti pembuatan dan perbaikan kapal, pengolahan ikan, limbah rumah tangga, serta limbah yang dihasilkan dari pelabuhan pelelangan ikan yang sering dibuang langsung ke laut sehingga laut dalam keadaan tercemar. Apabila tiram sudah dalam kondisi tercemar sedang atau berat maka sel hemosit yang bekerja adalah sel granulosit karena sifat dari sel granulosit adalah sebagai fagositosis (penghancuran material asing yang masuk ke dalam tubuh), sedangkan apabila tiram tersebut berada pada kondisi yang tercemar ringan maka sel hemosit yang bekerja adalah sel hyalinosit karena sifat dari sel hyalinosit yakni hanya mengenali material asing yang masuk ke dalam tubuhnya. Menurut da Silva *et al.* (2008) mengatakan bahwa, persentase granulosit yang tinggi dan persentase hyalinosit yang rendah akan meningkatkan kemampuan kekebalan tiram sehingga akan memberikan kontribusi dalam mengurangi keterentanan terhadap penyakit yang menyerang tubuh tiram. Ditambahkan pula oleh Pipe *et al.* (1997), salah satu bentuk respon pertahanan organisme terhadap kondisi tubuh yang tidak mendukung dengan peningkatan sel-sel fagositosis yang berperan dalam meningkatkan respon imun yakni dengan meningkatkan kemampuan sel hemosit untuk proses fagositosis.

4.4 Penelitian Utama

4.4.1 Total Haemocyte Count (THC)

Hasil perhitungan *Total Haemocyte Count* (THC) tiram *C. cucullata* selama perlakuan perendaman pada ketinggian media air laut yang dapat dilihat pada Gambar 13, yang menunjukkan bahwa nilai THC terbanyak secara berturut-turut pada perlakuan ketinggian air media 35 cm selanjutnya 70 cm kemudian 0 cm.



Gambar 13. Grafik Perhitungan THC (*Total Haemocyte Count*) Tiram *Crassostrea cucullata*

Pada grafik diatas menunjukkan bahwa, pada ketinggian 0 cm didapat *Total Haemocyte Count* (THC) (Lampiran 5) dengan rata-rata $8,80 \pm 2,84 \times 10^4$ sel/ml. Ketinggian 35 cm didapat THC dengan rata-rata $13,27 \pm 0,23 \times 10^4$ sel/ml, sedangkan pada ketinggian 70 cm didapat THC dengan rata-rata $12,40 \pm 1,51 \times 10^4$ sel/ml, namun dari hasil THC ketiga perlakuan tersebut sangatlah jauh berbeda dengan hasil yang didapat pada THC tiram yang diambil dari perairan Dalegan. Pada perlakuan tersebut tiram sudah tidak lagi dalam kondisi tercemar, karena THC yang dihasilkan berada dibawah kisaran THC bivalvia normal (sehat).

Tiram *C. cucullata* yang diambil dari perairan Dalegan memproduksi lebih banyak sel hemosit dibandingkan pada saat diberi perlakuan. Hemosit tersebut digunakan untuk mempertahankan dan melindungi tubuh dari material asing atau

bahan toksik karena salah satu fungsi hemosit adalah sebagai sistem pertahanan diri pada tiram. Hal ini diduga dikarenakan media yang digunakan pada saat perlakuan lebih bersih (menggunakan air laut steril) dibandingkan dengan saat pengambilan sampel kontrol yang langsung diambil dari perairan umum yang diduga pada perairan tersebut mengandung bahan pencemar seperti logam berat ataupun limbah yang dihasilkan oleh aktivitas manusia. Menurut Dang *et al.* (2012), pada penelitiannya yang dilakukan menggunakan tiram dengan genus yang sama yakni *Crassostrea* bahwa, didapat jumlah hemosit atau THC sebesar 6599,2 sel/ml atau sama dengan $0,659 \times 10^4$ sel/ml. Pada jumlah hemosit tersebut masih tergolong normal bagi tubuh tiram.

Sel hemosit berperan sebagai sel darah yang merupakan efektor imun utama yang melakukan fungsi imunologi termasuk fagositosis, generasi molekul sitotoksik dibawah paparan racun, berperan dalam pemeliharaan homeostatis serta bertanggung jawab dalam mekanisme perlindungan (Vijayavel *et al.*, 2009). THC diyakini memiliki kemampuan untuk mempengaruhi kemampuan organisme untuk bereaksi melawan bahan asing serta berbagai respon terhadap infeksi (Takahashi dan Mori, 2000).

Tabel 3. Analisa Sidik Ragam (ANOVA) Pengaruh Ketinggian Media Air Laut Terhadap *Total Haemocyte Count* (THC) Tiram *Crassostrea cucullata*

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel 5%}
Perlakuan	2	0,064	0,032	4,588 ^{TN}	5,140
Galat	6	0,042	0,007		
Total	8	0,106			

Berdasarkan hasil pada analisa ragam (ANOVA) (Tabel 3) dari perhitungan rancangan acak lengkap (Lampiran 5), menunjukkan bahwa pada perlakuan ketinggian media air laut berbeda yakni perlakuan ketinggian 0 cm, perlakuan ketinggian 35 cm dan perlakuan ketinggian 70 cm tidak terdapat pengaruh yang nyata ($F_{hitung} < F_{tabel 5\%}$) terhadap *Total Haemocyte Count* (THC) tiram

Crassostrea cucullata. Meskipun secara statistik dikatakan tidak ada perbedaan diantara ketiganya, namun dapat dilihat dari hasil yang diperoleh bahwa, pada perlakuan tersebut yang paling dominan memproduksi hemosit adalah tiram yang direndam pada ketinggian 35 cm.

Ketinggian atau kedalaman air berbanding lurus dengan tekanan yang diterima oleh tubuh organisme, termasuk bivalvia. Semakin besar nilai massa jenis maka semakin besar tekanannya, begitu juga jika kedalamannya semakin besar, maka nilai tekanan akan semakin besar (Resnick, 1991 dalam Ongga *et al.*, 2009). Pada saat pasang daerah intertidal akan mendapatkan masukan air laut yang lebih banyak dari pada saat surut (Purwanti *et al.*, 2011), air pasang tersebut banyak membawa bahan masukan berupa limbah dari aktivitas manusia yang dapat menggenangi habitat tiram, sehingga tiram berada dalam keadaan tercemar (Sutiknowati, 2014).

Semakin tinggi tekanan yang diterima oleh tubuh tiram, maka produksi sel hemosit akan meningkat pula. Hemosit yang diproduksi oleh organisme, khususnya tiram, salah satunya dibutuhkan untuk menghindari dari perubahan lingkungan (tekanan ekologis), agar dapat tetap bertahan hidup dalam kondisi yang kurang menguntungkan bagi tiram tersebut. Dapat dilihat bahwa, pada penelitian ini perlakuan dengan ketinggian media air laut 0 cm didapat hasil THC tiram *C. cucullata* yang lebih rendah dibandingkan dengan ketinggian media air laut 70 cm. Namun, pada hasil THC tiram *C. cucullata* dengan perlakuan ketinggian media air laut 35 cm didapat hasil THC paling banyak diantara kedua perlakuan ketinggian media air laut tersebut. Hal ini diduga tiram dengan perlakuan ketinggian media air laut 35 cm masih atau sudah terbiasa dengan habitat alaminya. Dimana, pada substrat yang menjadi tempat hidup tiram yang terletak di peralihan antara pasang tertinggi dan surut terendah lebih lama terendam air laut, karena pada saat proses pasang surut air laut dari pasang

tertinggi untuk menuju surut terendah membutuhkan waktu yang cukup lama untuk mencapai surut atau sebaliknya pada saat air laut surut menuju air laut pasang sehingga daerah peralihan tersebut menjadi tempat yang sering dan lama terendam air.

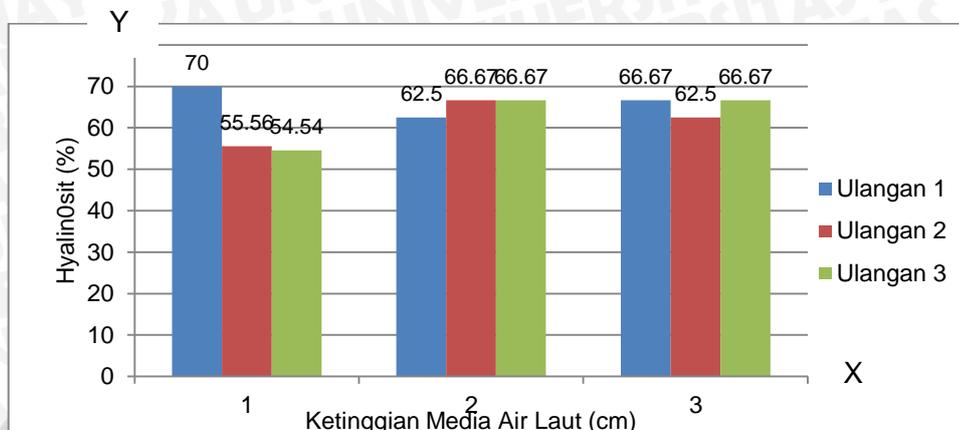
Kapasitas atau kemampuan setiap organisme dalam memproduksi hemosit tidak sama antara organisme satu dengan organisme yang lain tergantung pada kebutuhan pada masing – masing tubuh organisme, hal tersebut diduga merupakan penyebab lain terjadinya THC tiram *Crassostrea cucullata* pada ketinggian 35cm paling banyak diproduksi. Hal ini dinyatakan oleh Bellanti (1989) dalam Ridlo dan Rini (2009), kemampuan organisme untuk mempertahankan tubuhnya terhadap bahan pencemar dipengaruhi oleh faktor genetik dan factor lingkungan, sehingga terdapat tingkatan yang berbeda-beda tergantung strain, lingkungan pemeliharaan, spesies maupun famili.

Kelimpahan hemosit yang beredar atau THC yang dihasilkan oleh masing – masing organisme pada dasarnya dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah jenis sistem peredaran darah, jenis kelamin, molting, status reproduksi dan nutrisi, ukuran serta berat badan (Cheng dan Chen, 2001). Faktor-faktor ekstrinsik yang juga dapat mempengaruhi peningkatan dan penurunan jumlah hemosit yang beredar pada beberapa spesies antara lain adalah suhu, salinitas dan oksigen terlarut (Le Moullac *et al.*, 1998).

4.4.2 Differential Haemocyte Count (DHC)

Hasil perhitungan persentase jumlah tiap jenis sel hemosit atau *Differential Haemocyte Count* (DHC) secara keseluruhan menunjukkan bahwa sel hyalinosit pada tiap perlakuan ketinggian 0 cm, 35 cm dan 70 cm (Lampiran 6) memiliki persentase jumlah yang lebih banyak bila dibandingkan dengan sel granulosit. Pada grafik di bawah ini (Gambar 14) menunjukkan bahwa jumlah sel hyalinosit

terbanyak secara berturut-turut pada perlakuan ketinggian media air laut adalah 0 cm; 70 cm dan 35 cm.



Gambar 14. Grafik Perhitungan DHC (*Differential Haemocyte Count*) Hyalinosit Tiram *Crassostrea cucullata*

Pada perlakuan ketinggian 0 cm didapat sel hyalinosit dengan rata-rata $66,39 \pm 3,76\%$. Sel hyalinosit pada ketinggian 35 cm lebih sedikit daripada ketinggian 0 cm dan 70 cm yakni dengan rata-rata $61,57 \pm 5,61\%$, sedangkan pada ketinggian 70 cm diperoleh sel hyalinosit dengan rata-rata $62,63 \pm 7,00\%$. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa pada ketinggian 0 cm paling banyak terdapat sel hyalinosit dan pada ketinggian 35 cm paling sedikit terdapat sel hyalinosit.

Tabel 4. Analisa Sidik Ragam (ANOVA) Pengaruh Ketinggian Media Air Laut Terhadap *Differential Haemocyte Count* (DHC) Tiram *Crassostrea cucullata* (Hyalinosit)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel 5%}
Perlakuan	2	38,447	19,223	0,610 ^{TN}	5,140
Galat	6	189,204	31,534		
Total	8	227,651	28,456		

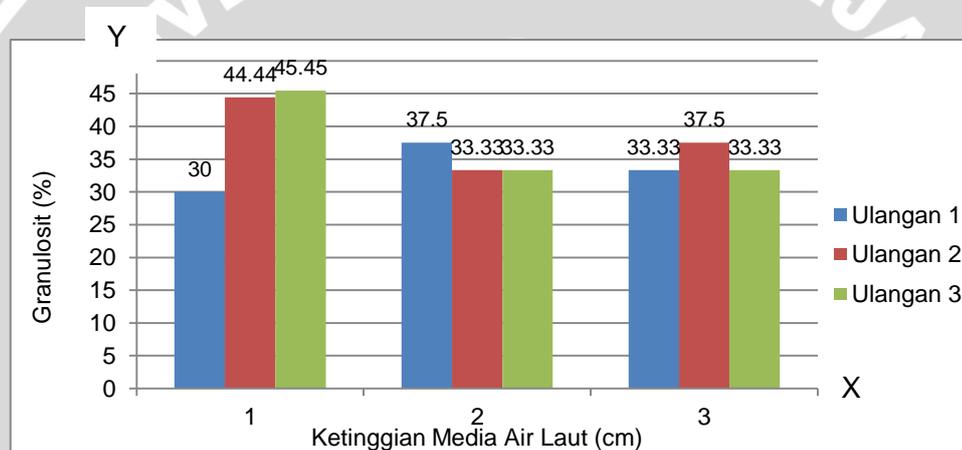
Berdasarkan hasil pada analisa ragam (ANOVA) (Tabel 4) dari perhitungan rancangan acak lengkap (Lampiran 6), menunjukkan bahwa pada hemosit tiram perlakuan ketinggian media air laut berbeda yakni perlakuan ketinggian 0 cm; 35

cm dan 70 cm tidak terdapat pengaruh yang nyata ($F_{hitung} < F_{tabel} 5\%$) terhadap DHC hyalinosit tiram *C. cucullata*. Meskipun secara statistik dikatakan tidak ada perbedaan diantara ketiganya, namun dapat dilihat dari hasil yang diperoleh bahwa, pada perlakuan tersebut yang paling dominan memproduksi sel hyalinosit adalah tiram yang direndam pada ketinggian 0 cm.

Tingginya persentase sel hyalinosit tiram *Crassostrea. cucullata* pada ketinggian 0 cm, diduga karena tiram sedang melakukan pengenalan terhadap material asing yang masuk ke dalam tubuhnya. Hal ini sesuai dengan fungsinya, bahwa sel hyalinosit adalah yang paling pertama aktif ketika terjadi serangan patogen (Braak, 2002 dalam Ekawati *et al.*, 2012). Pada saat sel hyalinosit melakukan pengenalan terhadap material asing yang masuk ke dalam tubuhnya maka inti sel (nukleus) akan mengeluarkan enzim yang disebut dengan enzim lektin, yakni enzim yang akan bereaksi dengan permukaan sel dan meningkatkan PPA (*prophenoloksidase activating enzim*). PPA ini dipertimbangkan sebagai bagian dari sistem imun yang mungkin bertanggung jawab terhadap proses pengenalan benda asing dalam sistem pertahanan organisme seperti bivalvia, krustasea dan insekta (Manoppo *et al.*, 2014).

Pada perlakuan ketinggian 0 cm tiram paling banyak memproduksi sel hyalinosit, hal ini diduga karena tiram berada pada udara terbuka dan tidak mendapatkan tekanan dari media air laut sehingga serangan bahan pencemar hanya berasal dari sisa pencemar yang masih menempel pada tubuhnya. Keadaan tersebut membuat tiram hanya memproduksi hyalinosit karena tiram tidak melakukan aktivitas fagositosis terhadap bahan pencemar yang masuk ke dalam tubuhnya. Menurut Fountain *et al.* (1974) dalam Syahailatua (2009), bahwa meningkatnya pertahanan tubuh dapat diketahui dengan meningkatnya aktifitas sel-sel fagosit dari hemosit. Sel-sel fagosit ini berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh inang.

Semakin sedikit tiram memproduksi sel hyalinosit maka tiram dapat dikatakan mengalami penurunan dalam kemampuan mengenali bahan asing dan membunuh bakteri. Pada kondisi tersebut tiram banyak melakukan fagositosis untuk membunuh bahan asing yang masuk ke dalam tubuhnya yang dilakuakn oleh granulosit, sehingga tiram banyak memproduksi pertahanan tubuh berupa sistem imun sel-sel fagosit. da Silva *et al.* (2008) mengatakan bahwa, persentase granulosit yang tinggi dan persentase hyalinosit yang rendah akan meningkatkan kemampuan kekebalan tiram sehingga akan memberikan kontribusi dalam mengurangi keterentanan terhadap penyakit yang menyerang tubuh tiram.



Gambar 15. Grafik Perhitungan DHC (*Differential Haemocyte Count*) Granulosit Tiram *Crassostrea cucullata*

Hasil perhitungan persentase *Differential Haemocyte Count* (DHC) secara keseluruhan (Lampiran 7) menunjukkan bahwa sel granulosit pada tiap perlakuan yakni ketinggian 0 cm, 35 cm dan 70 cm memiliki persentase yang lebih rendah (sedikit) bila dibandingkan dengan sel hyalinosit. Grafik perhitungan sel granulosit tiram *C. cucullata* selama perlakuan ketinggian air media (Gambar 15) menunjukkan bahwa jumlah sel granulosit terbanyak secara berturut-turut pada perlakuan ketinggian air media 35 cm selanjunya 70 cm kemudian 0 cm.

Pada perlakuan ketinggian 0 cm didapat sel granulosit dengan rata-rata $33,61 \pm 3,76\%$. Ketinggian 35 cm lebih banyak daripada ketinggian 0 cm dan 70 cm yakni didapat sel granulosit dengan rata-rata $38,43 \pm 5,61\%$. Sedangkan pada ketinggian 70 cm diperoleh sel granulosit yakni dengan rata-rata $37,37 \pm 7,00\%$. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa pada ketinggian 35 cm paling banyak terdapat sel granulosit dan ketinggian 0 cm paling sedikit terdapat granulosit.

Pada perlakuan ketinggian media air laut sel hyalinosit lebih banyak diproduksi daripada sel granulosit yang menandakan bahwa yang banyak berperan lebih dominan adalah sel hyalinosit dibandingkan sel granulosit. Pada hemosit granular bivalvia melaksanakan fungsi seperti fagositosis, dan diketahui memiliki beberapa lisosom dan enzim antioksidan, serta faktor antimikroba lokal dalam butiran sitoplasma (da Silva, *et al.*, 2008). Granulosit aktif melakukan fungsi fagositosis lebih aktif daripada hyalinosit (Aladaileh, *et al.*, 2007).

Tabel 5. Analisa Sidik Ragam (ANOVA) Pengaruh Ketinggian Media Air Laut Terhadap *Differential Haemocyte Count* (DHC) Tiram *Crassostrea cucullata* (Granulosit)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel 5%}
Perlakuan	2	38,447	19,223	0,610	5,140
Galat	6	189,204	31,534		
Total	8	227,651	28,456		

Berdasarkan hasil pada analisa ragam (ANOVA) (Tabel 5) dari perhitungan Rancangan Acak Lengkap (Lampiran 7), menunjukkan bahwa perlakuan ketinggian media air laut berbeda yakni perlakuan ketinggian 0 cm, perlakuan ketinggian 35 cm dan perlakuan ketinggian 70 cm tidak terdapat pengaruh yang nyata ($F_{hitung} < F_{tabel 5\%}$) terhadap *Differential Haemocyte Count* (DHC) granulosit tiram *Crassostrea cucullata*. Meskipun secara statistik dikatakan tidak ada perbedaan diantara ketiganya, namun dapat dilihat dari hasil yang diperoleh

bahwa, pada perlakuan tersebut yang paling dominan memproduksi sel granulosit adalah tiram yang direndam pada ketinggian 35 cm

Dominasi sel granulosit tiram *C. cucullata* pada perlakuan ketinggian 35 cm menunjukkan bahwa mereka cenderung lebih mampu bereaksi terhadap pertahanan aktif. Dominasi tersebut sangat berperan terhadap ketahanan dalam berbagai habitat yang luas, hubungan erat dengan berbagai makro dan mikroorganisme, dan toleransi dari kondisi yang merugikan dalam zona intertidal atau di lingkungan yang tercemar (da Silva *et al.*, 2008).

Saat terjadinya serangan patogen, sel hemosit akan melakukan proses degranulasi, *cytotoxicity* dan lisis terhadap material tersebut. Dengan demikian jumlah sel hemosit yang beredar dalam hemolim akan terlihat menurun. Hasil proses degranulasi adalah pelepasan *peroxinectin* yang akan memicu munculnya fagositosis. Lectin atau agglutinin adalah protein pada hemolim yang memiliki peranan penting saat terdapatnya antigen yang masuk ke dalam tubuh. Komponen ini akan berikatan dengan karbohidrat yang terdapat pada dinding sel patogen atau benda asing yang disebut sebagai *aglutinasi*. Reaksi akan diikuti dengan eliminasi benda asing tersebut melalui proses fagositosis, melanisasi oleh enzim phenoloksidase dan lonjakan respirasi (Effendy *et al.*, 2004).

4.5 Analisa Kualitas Air

Parameter kualitas air pendukung terhadap kehidupan tiram *C. cucullata* (Lampiran 8) yang diukur pada penelitian ini meliputi suhu, derajat keasaman, salinitas, oksigen terlarut dan bahan organik total.

4.5.1 Suhu

Perubahan suhu dapat mempengaruhi kehidupan organisme akuatik baik secara langsung maupun tidak langsung, namun perubahan suhu tersebut masih dapat diatasi oleh biota akuatik, dimana suhu akan mempengaruhi laju

metabolisme, seiring dengan peningkatan suhu maka laju metabolisme akan meningkat (Widiastuti, 1998).

Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh nilai suhu pada lapang (kontrol) yang diamati pada Perairan Dalegan sebesar 31 °C. Pada perlakuan di laboratorium ketinggian 0 cm tidak dilakukan pengukuran suhu sebab perlakuan tersebut tidak menggunakan air sebagai media hidupnya, pada ketinggian 35 cm sebesar 25 °C dan ketinggian 70 cm sebesar 26 °C. Suhu di lapang lebih besar dari pada suhu di laboratorium, hal ini dikarenakan pada lapang perairan dalam kondisi terbuka sehingga perairan mendapatkan sinar matahari langsung secara langsung, berbeda dengan di laboratorium yang dalam kondisi tertutup (di dalam ruangan) sehingga media hidup tiram tidak mendapatkan sinar matahari secara langsung. Suhu air laut di suatu perairan dipengaruhi oleh kondisi atmosfer, dan intensitas penyinaran matahari yang masuk ke laut (Simanjuntak, 2009).

Suhu yang didapat pada saat penelitian baik pada lapang maupun pada laboratorium masih tergolong baik untuk mendukung kehidupan tiram *Crassostrea cucullata*. Hal ini sesuai dengan pendapat Winanto (2004) dalam Asriyanti (2012), bahwa suhu yang baik untuk kelangsungan hidup tiram berkisar 25-30 °C. Suhu air pada kisaran 27-31 °C juga dianggap cukup layak untuk kehidupan tiram. Suryanto dan Utojo (2002), menyatakan bahwa kisaran suhu yang optimum untuk mendukung kehidupan bivalvia berkisar antara 28-32 °C.

4.5.2 Salinitas

Salinitas merupakan salah satu faktor lingkungan yang sangat diperlukan untuk tiram yang dapat berpengaruh terhadap aktivitas fisiologis sel dimana peningkatan salinitas akan diikuti dengan peningkatan pengeluaran energi yang digunakan untuk proses osmoregulasi (Supriyadi, 2002).

Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh nilai salinitas pada lapang (kontrol) yang diamati pada perairan Dalegan sebesar 36 ppt. Pada perlakuan di laboratorium 0 cm tidak dilakukan pengukuran salinitas sebab perlakuan tersebut tidak menggunakan air sebagai media hidupnya. Pada ketinggian 35 cm sebesar 34 ppt dan pada ketinggian 70 cm juga sebesar 34 ppt. Salinitas air laut rata-rata adalah 35 ppt, namun biasanya bervariasi mulai 32 sampai 36 ppt tergantung laju evaporasi maupun besar kecilnya masukan air tawar dari muara terdekat (Tillery, 2002). Tinggi rendahnya nilai salinitas yang terdapat dalam perairan pantai tidak selalu memiliki nilai konsentrasi yang sama. Pada setiap pantai memiliki bahan masukan yang berbeda seperti massa air tawar dari sungai, penguapan, curah hujan, evaporasi atau musim serta sirkulasi massa air dari pantai tersebut (Supriyadi, 2002).

Salinitas yang didapat pada saat penelitian masih tergolong baik untuk mendukung kehidupan tiram *Crassostrea cucullata*. Hal ini sesuai dengan pendapat Setyobudiandi (1995) dalam Faisal (2001), bahwa kisaran salinitas optimal bagi gastropoda di perairan berkisar antara 26 hingga 32 ppt, sedangkan untuk bivalvia dapat hidup pada salinitas antara 20 hingga 36 ppt.

4.5.3 Derajat Keasaman (*potential Hydrogen, pH*)

pH merupakan salah satu faktor pembatas bagi kehidupan kehidupan biota akuatik, salah satunya adalah bivalvia. Masing-masing jenis organisme mempunyai toleransi yang berbeda tergantung pada tingkat kejenuhan oksigen terlarut, konsentrasi ion-ion alkalinitas dan jenis serta stadia organisme (Jones, 1964 dalam Ruswahyuni, 2010). Kondisi perairan yang bersifat asam ataupun basa akan membahayakan kelangsungan hidup organisme karena akan mengakibatkan terjadinya gangguan metabolisme dan respirasi (Barus, 2002).

Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh nilai pH pada lapang (kontrol) yang diamati pada perairan dalegan sebesar 8,5. Pada pengamatan di laboratorium ketinggian 0 cm tidak dilakukan pengukuran pH sebab perlakuan tersebut tidak menggunakan air sebagai media hidupnya sedangkan ketinggian 35 cm sebesar 8 dan juga ketinggian 70 cm juga sebesar 8. Nilai pH yang didapat pada saat penelitian masih tergolong bersifat basa namun baik untuk mendukung kehidupan tiram *Crassostrea cucullata*. Asriyanti (2012), mengatakan bahwa nilai pH berkisar dari 0 (sangat asam) sampai dengan 14 (sangat basa/alkalin). Nilai pH < 7 menunjukkan lingkungan yang asam, nilai > 7 menunjukkan lingkungan yang basa (alkalin), dan pH 7 disebut netral. Winanto (2004) dalam Asriyanti (2012), bahwa derajat keasaman (pH) air yang layak untuk kehidupan tiram berkisar 7,8-8,6. Suwondo *et al.* (2012), menyatakan bahwa kisaran pH air yang mendukung kehidupan bivalvia berkisar antara 6-9.

4.5.4 Oksigen Terlarut (*Dissolved Oksigen, DO*)

Oksigen terlarut atau DO (*dissolved oxygen*) kebutuhan dasar bagi organisme akuatik termasuk bivalvia yang digunakan untuk respirasi (Michael 1994) dalam Asriyanti (2012). Menurut Sastrawijaya (1991) dalam Sitorus (2008), kehidupan di air dapat bertahan jika ada oksigen terlarut minimum sebanyak 4 mg/L, selebihnya tergantung kepada ketahanan organisme, derajat keaktifan, kehadiran pencemar, temperatur air dan sebagainya.

Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh nilai DO pada lapang (kontrol) yang diamati pada perairan Dalegan sebesar 6,35 mg/L. Pada pengukuran DO di laboratorium ketinggian 0 cm tidak dilakukan pengukuran DO sebab perlakuan tersebut tidak menggunakan air sebagai media hidupnya, ketinggian 35 cm berkisar antara 7,16 mg/L – 7,84 mg/L dan ketinggian 70 cm berkisar antara 5,40 mg/L – 7,70 mg/L. Nilai DO yang didapat pada saat penelitian masih tergolong

baik untuk mendukung kehidupan tiram *Crassostrea cucullata* baik di Perairan Dalegan ataupun di dalam Laboratorium. Menurut Edward (2008), bahwa kandungan oksigen terlarut yang baik untuk biota laut adalah $> 5,0$ mg/L.

4.5.5 Total Bahan Organik (*Total Organic Matter, TOM*)

Bahan organik dapat dijadikan sebagai cadangan makanan bagi organisme perairan terutama bagi organisme yang hidup di dasar perairan, salah satunya bivalvia (Zahidin, 2008). Bahan organik diperairan tersusun dari partikel organik yang terlarut maupun dalam bentuk agregat partikel organik, selain itu juga termasuk yang hidup maupun tak hidup (Wetzel dan Likens, 1975). Pada pengukuran TOM pada Perairan Dalegan, bahan organik banyak disumbang oleh limbah yang dihasilkan oleh aktivitas manusia, limbah tersebut banyak yang langsung dibuang pada perairan Dalegan sehingga membuat bahan organiknya semakin meningkat.

Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh nilai TOM pada lapang (kontrol) yang diamati pada perairan Dalegan sebesar 48,03 mg/L. Pada pengukuran TOM di laboratorium untuk ketinggian 0 cm tidak dilakukan pengukuran TOM sebab perlakuan tersebut tidak menggunakan air sebagai media hidupnya, ketinggian 35 cm berkisar antara 21,07 mg/L – 29,49 mg/L dan ketinggian 70 cm berkisar antara 18,33 mg/L – 22,33 mg/L. Nilai TOM yang didapat pada saat penelitian ini masih tergolong baik untuk mendukung kehidupan tiram *C. cucullata*. Menurut Komala *et al* (2011), bahwa kisaran total bahan organik (TOM) diperairan untuk bivalvia yaitu 38,85 mg/l – 78,44 mg/l. sedangkan menurut Effendi (2003), bahwa kandungan total bahan organik di perairan >20 mg/l.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pemberian perlakuan perendaman air laut steril dengan ketinggian 0cm; 35cm dan 70cm, secara statistik (ANOVA) tidak memberikan pengaruh atau perubahan terhadap THC (*Total Haemocyte Count*) ataupun DHC (*Differential Haemocyte Count*) baik hyalinosit maupun granulosit pada hemosit tiram *Crassostrea cucullata* sehingga H_0 diterima dan H_1 ditolak, namun berdasarkan hasil yang sudah didapat dapat dilihat bahwa pada ketinggian 35cm tiram lebih banyak memproduksi hemosit dan granulosit, sedangkan pada ketinggian 0cm paling banyak memproduksi hyalinosit.

5.2 Saran

Banyaknya jumlah hemosit tiram pada Perairan Dalegan menandakan bahwa pada perairan tersebut dalam kondisi tercemar, oleh karena itu perlu dilakukan pengawasan dan pengendalian lebih lanjut terhadap pencemaran di perairan Dalegan, Kabupaten Gresik agar pada saat pasang bahan pencemar dapat berkurang serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai sistem imun tiram yang nantinya dapat dimanfaatkan sebagai indikator pencemaran.

DAFTAR PUSTAKA

- Affan, Junaidi M. 2012. **Identifikasi Lokasi Untuk Pengembangan Budidaya Keramba Jaring Apung (KJA) Berdasarkan Faktor Lingkungan Dan Kualitas Air Di Perairan Pantai Timur Bangka Tengah.** *Depik*,1(1):78–85
- Aladaileh S., Nair S.V., Birch D. And Raftos D.A., 2007. **Sidney rock oyster (*Saccostrea glomerata*) hemocytes: Morphology and function.** *Journal of Invertebrate Pathology.* 96: 48-63.
- Aladaileh, S., Mohammad G. M., Belinda F., Sham V. N., David A. R. 2008. **In vitro effects of noradrenaline on Sydney rock oyster (*Saccostrea glomerata*) hemocytes.** *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 151 (1) : 691–697
- Alifuddin, M. 2002. **Imunostimulasi pada Hewan Akuatik.** *Jurnal Akuakultur Indonesia.* 1 (2) : 87 – 92
- Arrignon, J. 2003. **Management of Freshwater Fisheries.** Science Publishers, Inc. United States of America.
- Asriyanti, D. 2012. **Kepadatan Tiram (*Crassostrea cucullata* Born 1778) Pada Habitat Mangrove Di Perairan Pantai Mayangan, Jawa Barat.** *Skripsi.* Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Bachere E. 2000. **Shrimp immunity and disease control.** *Aquaculture*,191 (1) : 3-11
- Banjarnahor, L. 2010. **Keanekaragaman Dan Distribusi Bivalvia Serta Kaitannya Dengan Faktor Fisik Dan Kimia Air di Muara Sungai Asahan.** *Thesis.* Universitas Sumatera Utara : Medan
- Bardach, J. E. Ryther, J. H and McLearney W. O. 1972. **Aquaculture : The Farming and Husbandry of Freshwater and Marine Organism.** Willey Interscience vision of Jhon Willey and Sons, Inc. New York.
- Barus, T., A. 2002. **Pengantar Limnologi.** Medan
- Chahaya I. S. 2003. **Ikan Sebagai Alat Monitor Pencemaran :** Universitas Sumatera Utara
- Chamid, C., Neni Y., dan Puti R., 2010. **Kajian Tingkat Konsentrasi Merkuri (Hg) Pada Rambut Masyarakat Kota Bandung.** *Prosiding SNaPP*
- Chang, S., Su-Min T., dan Hsin-Yiu C. 2005. **Morphological Characterization via Light and Electron Microscopy of the Hemocytes of two Cultured Bivalves: A Comparison Study between the Hard Clam (*Meretrix lusoria*) and Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*).** *Zoological Studies*, 44 (1): 144-153

- Cheng, W., dan J. C. Chen. 2001. **Effects of intrinsic and extrinsic factors on the haemocyte profile of the prawn *Macrobranchium rosenbergii***. *Journal Fish and Shellfish Immunology*. 11 (1) : 53 - 63
- Choi, H. J., Jee Y. H., Dong L. C., Min D. H., Yuong B. H., Nam-Sil L., Jung S. S., Mun G. K., Hye-Sung C., dan Myoung A. P. 2011. **Non-specific Defensive Factors of the Pacific Oyster *Crassostrea gigas* against Infection with *Marteilioides chungmuensis*: A Flow-Cytometric Study**. *Korean J Parasitol*, 49 (3) : 229-234
- Christon, O. S. Djunaedi dan N. P. Unpad. 2012. **Pengaruh Tinggi Pasang Surut Terhadap Pertumbuhan dan Biomassa Daun Lamun *Enhalus acoroides* di Pulau Pari Kepulauan Seribu Jakarta**. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3 (3) : 287 - 294
- da Silva P, M., Pilar C., Jose F., Antonio V. 2008. **Variability of haemocyte and haemolymph parameters in European flat oyster *Ostrea edulis* families obtained from brood stocks of different geographical origins and relation with infection by the protozoan *Bonamia ostreae***. *Fish & Shellfish Immunology*, 24 (1) : 551 – 563
- Dang, C., T. Tan, D. Moffit, J. D. Deboutteville, dan A. C. Barnes. 2012. **Gender differences in hemocyte immune parameters of bivalves: The Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata* and the pearl oyster *Pinctada fucata***. *Fish & Shellfish Immunology*, 33 (1) : 138 – 142
- Delaporte M, Soudant P, Moal J, Lambert C, Queré C, Miner P. 2003. **Effect of a mono-specific algal diet on immune functions in two bivalve species *Crassostrea gigas* and *Ruditapes philippinarum***. *Journal Experimental Biology*, 206 (1) : 64 - 3053
- Dharmastiti, R. dan Dhirga H. 2010. **Pengaruh kedalaman air terhadap *short term memory* dan konsumsi energi pada penyelam**. *Jurnal Teknik Industri Universitas Diponegoro*. 5 (2): 135 – 142.
- Diederich, S. 2006. **High survival and growth rates of introduced pacific oysters may cause restrictions on habitat use by native mussels in the Wadden Sea**. *Journal of Experimental marine Biology and Ecology*, 328 (2) : 211-227.
- Dittmer, J., A.V. Koehler, F.J. Richard, R. Poulin, M. Sicard. 2012. **Variation of parasite load and immune parameters in two species of New Zealand shore crabs**. *Parasitol Res*. 109 (1): 759 – 767.
- Eddy, S. 2013. **Inventarisasi dan Identifikasi Jenis-Jenis Ikan Saat Pasang Surut Di Perairan Sungai Musi Kota Palembang**. Seminar Nasional Sains & Teknologi V. Lembaga Penelitian Universitas Lampung
- Edward. 2008. **Pengamatan Kadar Merkuri di Perairan Teluk KAO (Halmahera) dan Perairan Anggai (Pulau Obi) Maluku Utara**.
- Effendi H. 2003. **Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya Lingkungan Perairan**. Kanisius. Yogyakarta

- Effendy S, Alexander R, dan Akbar T. 2004. **Peningkatan Haemosit Benur Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabricus) Pasca Perendaman Ekstrak Ragi Roti (*Saccharomyces cerevisiae*) pada Konsentrasi yang Berbeda.** *Jurnal Sains dan Teknologi*. 14 (2) : 46-53.
- Ekawati, A. W., Happy, N., Edi W. dan Marsoedi. 2012. **Diatomae *Chaetoceros ceratosporum* dalam Formula Pakan Meningkatkan Respon Imun Seluler Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.).** *Journal. Experimental Life Sciences*. 2 (1) : 1 - 9
- Fadli N., I. Setiawan, dan N. Fadhilah. 2012. **Keragaman makrozoobenthos di perairan Kuala Gigieng Kabupaten Aceh Besar “Diversity of macrozoobenthos in Kuala Gigieng estuary, Aceh Besar”.** *Depik*, 1(1) : 45-52
- Faisal, B. 2001. **Struktur Komunitas Makrozoobentos (Kelas : Bivalvia dan Gastropoda) Pada Saat Pasang dan Surut di Kawasan Suaka Margasatwa Muara Angke – Kapuk, Jakarta Utara.** *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor
- Gagnaire, B., H. Frouin, K. Moreau, H. Thomas-Guyon, T. Renault. 2006. **Effect of temperature and salinity on haemocyte activities of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg).** *Fish & Shellfish Immunology*. 20 (4): 536 – 547.
- Galtsoff, P. S. 1964. **The American Oyster (*Crassostrea virginica*).** *Fishery Bulletin of the Fish and Wildlife Service*. 64 : 489 P.
- Giamberini L., Michel Auffret and Jean-Claudie P. 1996. **Heemocytes the freshwater mussel, *Dreissena polymorpha* Pallas : cytology, cytochemistry and X-Ray microanalysis.** *Journal Mollusca Study*, 62 (1) : 367 – 379
- Google Image. 2015. **Gambar Anatomi Tiram.** <http://googleimage-gambar-anatomi-tiram.com>. Diakses pada tanggal 02 Mei 2015 pukul 20.50 WIB
- Google Image. 2015. **Gambar Peta Kabupaten Gresik.** <http://googleimage-gambar-peta-gresik.com>. Diakses pada tanggal 11 Mei 2015 pukul 13.20 WIB
- Google Map. 2015. **Peta Perairan Dalegan.** <http://googlemap-peta-perairan-dalegan.com>. Diakses pada tanggal 11 Mei 2015 pukul 13.20 WIB
- Hariyadi, S., I.N.N. Supriyadi P., dan B. Widigodo. 1992. **Limnologi.** Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Hégaret, H., Wikfors, H.G., Soudant, P., Delaporte, M., Alix, J.H., Smith, B.C., Dixon, M.S., Quéré, C., Le Coz, J.R., Paillard, C., Moal, J., Samain, J.F., 2004. **Immunological competence of eastern oysters, *Crassostrea virginica*, fed different microalgal diets and challenged with a temperature elevation.** *Aquaculture*, 234 (1) : 541–560.

- Hose J. E., Martin G.G. dan Alison S.G. 1990. **A decapod hemocyte classification scheme integrating morphology, cytochemistry, and function.** *The Biological Bulletin*. 178 (1) : 33 – 45
- Idris, Izwandy Bin. 2006. **Pengaruh Faktor-Faktor Persekitaran Terhadap Pertumbuhan dan Kemandirian Tiram Komersil, *Crassostrea iredalei* (Faustino) Di Kawasan Penternakan Tiram di KG. Telaga Nenas, Perak.** Tesis. Universiti Sains Malaysia.
- Irianto, A.D., Sipatuhar dan A. Sudrajat. 1994. **Observasi Tiram *Crassostrea spp.* Tanjung Pinang dan Perairan Bintan, Kepulauan Riau.** *Warta Balitdita*. (6:1) hal 19-21.
- Islami, M.M. 2012. **Beberapa aspek bio-ekologi moluska terkait kondisi pasang surut.** *Fauna Indonesia*. 11 (1): 37 – 43.
- Itami T. 1994. **Body defence system of Penaeid. Seminar on fish physiology and prevention of epizootic.** *Departemen of aquaculture and biologi. Shimonoseki University of Fisheries, Japan*. 7 (1) : 59-65.
- Johansson, M. W., K. Keyser., K. Sritunyalucksana and K. soederhall. 2000. **Crustacean haemocytes and hematopoiesis.** *Aquaculture*,191(1):45–52
- Junardi. 2001. **Keanekaragaman, Pola Penyebaran dan Ciri- ciri Substrat Polychaeta (Phylum : Annelida) di Perairan Pantai Timur Lampung Selatan.** Thesis. Program Pascasarjana IPB. Bogor
- Juwitanti, E., C. Ain dan P. Soedarsono. 2013. **Kandungan Nitrat Dan Fosfat Air Pada Proses Pembusukan Eceng Gondok (*Eichhornia sp.*) (Skala Laboratorium).** *Journal of Maquares*. 2 (4) : 46-52
- Kementerian Negara Lingkungan Hidup No. 51 tahun 2004 Tentang **Baku Mutu Air Laut.**
- Khasanah, U. 2013. **Analisis Kesesuaian Perairan Untuk Lokasi Budidaya Rumput Laut *Eucheuma cottonii* Di Perairan Kecamatan Sajoanging Kabupaten Wajo.** Skripsi. Universitas Hasanuddin: Makassar
- Komala, R., Fredinan Y., Djamar T.F L., dan Isdrajad S. 2011. **Indeks Kondisi Kerang Darah (*Anadara granosa*) Sebagai Indikator Kualitas Lingkungan Di Teluk Lada Perairan Selat Sunda.** *Bioma*, 9 (2) : 1 – 5
- Kurniawan, H. 2012. **Analisis Respon Imun Seluler Hemolymph Kijing Taiwan (*Anadonta woodiana* Lea) Terhadap Pestisida Karbaril Pada Uji Toksisitas (LD₅₀- 48h) Dengan Dosis yang Berbeda Secara Invivo.** Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Lam, K., dan Brian M. 2004. **The Oysters Of Hong Kong (Bivalvia: Ostreidae And Gryphaeidae).** *The Raffles Bulletin of Zoology*, 52 (1) : 11 – 28

- Lambert C, Soudant P, Jegaden M, Delaporte M, Labreuche Y, Moal J. 2007. **In vitro modulation of reactive oxygen and nitrogen intermediate (ROI/RNI) production in *Crassostrea gigas* hemocytes.** *Aquaculture*, 270 (1) : 21 – 413
- Le Moullac G., Soyez C., Saulnier D., Ansquer D., Avarre J.C., dan Levy P. 1998. **Effect of hypoxia stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris*.** *Fish Shellfish Immunology*. 8 (1) : 621 – 629
- Lorenzon, S., M. Francese, V. J. Smith and E. A. Ferrero. 2001. **Heavy metals affect the circulating haemocyte number in the shrimp *Palaemon elegans*.** *Journal Fish and Shellfish Immunology*, 11 (1) : 459 – 472
- Mann, R., J.M. Harding, M. Southworth. 2009. **Reconstructing precolonial oyster demographics in the Chesapeake Bay, USA.** *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 85 (1) : 217–222.
- Manoppo, H., Magdalena E.F., dan Kolopita. 2014. **Respon imun krustase (Crustacean immune response).** *Review Artikel. Budidaya Perairan*, 2 (2) : 22 – 26
- Marques M. R. F and M. A. Barracco. 2000. **Lectins, as non-self-recognition factors, in crustaceans.** *Aquaculture* 191 (1) : 23-44
- Muhardi, Suyitno, Pratama, L. 2006. **Timbal (Pb) Dalam Gas Buang Kendaraan Bermotot Bensin Dengan Karbon Aktif.** PKMP Teknik Otomotif, Fakultas Teknik. Universitas Negeri Yogyakarta : Yogyakarta
- Munoz M. *et al.* 2000. **Measurement of reactive oxygen intermediat production in haemocyte of penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*.** *Aquaculture* 191 (1) :89- 107.
- Murdhianah, N. A. 2014. **Hubungan Antara Kompetensi Dan Motivasi Kerja Dengan Kinerja Pegawai Di Kantor Kementerian Agama Kabupaten Pasuruan.** *Skripsi.* Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya
- Murtini, J. T., A. D. Kurniawan dan E. N. Dewi. 2008. **Pengaruh Waktu Perendaman dan Konsentrasi Karboksimetil Kitosan untuk Menurunkan Kandungan Logam Berat Hg, Cd, dan Pb Pada Kerang Hijau (*Perna viridis* Linn.).** *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 3 (1): 37-44.
- Naf'an, W. 2009. **Immunomodulation of rock oyster (*Saccrostrea cucullata*) hemocytes in relation to aerial exposure and salinity stress.** *Thesis.* Brawijaya University, Indonesia collaboration with Burapha University, Thailand.
- Ningtias, W. D. 2014. **Keragaman Gen MHC DRB3 exon 2 (Major Histocompatibility Complex) Pada Populasi Sapi Bali Dan Sapi Hasil Persilangan.** *Skripsi.* Universitas Hasanuddin : Makassar
- Nontji. 2002. **Laut Nusantara.** Cetakan Ketiga. *Djambatan* : Jakarta.

- Nybakken, J. W. 1992. **Biologi Laut Suatu Pendekatan Ekologis**. Alih Bahasa : Muhammad Eidman dkk. *PT Gramedia* : Jakarta
- Octavina, C., F. Yulianda, dan M. Krisanti. 2014. **Struktur komunitas tiram dagingdi perairan estuaria Kuala Gigieng, Kabupaten Aceh Besar, Provinsi Aceh (Population structure of oysters in estuary area of Kuala Gigieng, Aceh Besar District, Aceh Province)**. *Depik*, 3 (2) : 108-117
- Ongga, P., Yani S., Ferdy S. R., dan Wahyu H. K. 2009. **Konsepsi Mahasiswa Tentang Tekanan Hidrostatik**. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan, dan Penerapan MIPA*. Universitas Negeri Yogyakarta
- Parenrengi A., Syarifuddin T., Sri L. 1998. **Studi Jenis dan Kelimpahan Plankton pada Berbagai Kedalaman dan Hubungannya dengan Komposisi Makanan Tiram Mabe (*Pteria Pinguin*)**. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* (4:4). Balai Penelitian Perikanan Pantai Maros : Watampone
- Pemkab Gresik. 2014. **Monografi Kabupaten Gresik (satya bina kertaraharja.pdf)**. Pemerintah Kabupaten Gresik Jawa Timur.
- Pipe, R. K., S. R. Farley., J. A. Coles. 1997. **The separation and characterisation of haemocytes from the mussel *Mytilus edulis***. *Cell Tissue Respiration*. 289 (1) : 537 – 545
- Prasetyo, D. E. 2009. **Immunomodulation of the saddle tree oyster *Isogmono ehiphium* (Bivalvie : Isognomonidae) hemocytes in relation to aerial exposure and salinity stress**. *Thesis*. Brawijaya University, Indonesia collaboration with Burapha University, Thailand.
- Prasetyo AE, Dwi HY, Purwanto. 2008. **Efektifitas pengaruh pemberian ekstrak bawang putih untuk pengobatan ikan lele (*Clarias sp.*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila***. *PKM Penulisan Ilmiah* : Institut Pertanian Bogor.
- Puslitbang Sumberdaya Laut dan Pesisir. 2015. **Prediksi Elevasi Air Laut PPN Brondong Bulan Januari 2015**. Kementerian Kelautan dan Perikanan
- Rahayu, S., R. H. Widodo, M. Van Noordwijk, I. Suryadi, B. Verbist. 2009. **Monitoring Air Di Daerah Aliran Sungai**. *World Agroforestry Centre*: Bogor, Indonesia
- Rahman, A. 2011. **Distribusi Oksigen Terlarut Pada Lapisan Hipolimnion Pasca Aerasi Di Danau Lido, Bogor, Jawa Barat**. *Skripsi*. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Ramu K and S. Zakaria. 2000. **Defence mechanism in crustacean**. *Infofish International* 5 (1) : 30 – 32.
- Rebelo, M. de F., Eliane de S. F., Rafael M. M., Alberto N. B., dan Cintia. 2013. **New insights from the oyster *Crassostrea rhizophorae* on bivalve circulating hemocytes**. *Plos one*, 8 (2) : 1-6

- Ricomarsen. 2010. **Intoksikasi Logam Berat. Marsen's-Opinion and Science**. Diakses pada tanggal 14 Oktober 2014 pada pukul 17.00 WIB.
- Ridlo, A., dan Rini P. 2009. **Aplikasi Ekstrak Rumput Laut Sebagai Agen Immunostimulan Sistem Pertahanan Non Spesifik Pada Udang (*Litopennaeus vannamei*)**. *Ilmu Kelautan*. 14 (3): 133-137
- Rochyatun, E., M. Taufik Kaisupy dan A. Rozak. 2006. **Distribusi logam berat dalam air dan sedimen di perairan muara Sungai Cisadane**. *Jurnal Sains*. 10 (1) : 35-40
- Rodriguez JE and G. Le Moullac. 2000. **State of the art immunological tools and health control of penaeid shrimp**. *Aquaculture* 191 (1) :109-119
- Romimohtarto, K. dan Juwana, S. 2001. **Biologi Laut**. Djambatan : Jakarta.
- Rovita, G. D., P. W. Purnomo dan P. Soedarsono. 2012. **Stratifikasi Vertikal $\text{NO}_3\text{-N}$ Dan $\text{PO}_4\text{-P}$ Pada Perairan Di Sekitar Eceng Gondok (*Eichornia crassipes Solms*) Dengan Latar Belakang Penggunaan Lahan Berbeda Di Rawa Pening**. *Journal Of Management Of Aquatic Resources*. 1 (1): 1-7
- Rumahlatu, D., A. Gofur, dan H. Sutomo. 2008. **Hubungan Faktor Fisik-Kimia Lingkungan Dengan Keanekaragaman Echinodermata Pada Daerah Pasang Surut Pantai Kairatu**. *MIPA*, 37 (1) : 77-85
- Ruswahyuni. 2010. **Populasi dan Keanekaragaman Hewan Makrobenthos Pada Perairan Tertutup dan Terbuka di Teluk awur, Jepara**. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 2 (1) : 1 – 10
- Sabban, I. F. 2014. **Mekanisme Respon Imun Pada Udang**. *Paper. Pasca Biologi*, Institut Pertanian Bogor : Bogor
- Saha, S., M. Ray dan S. Ray. 2010. **Screening of phagocytosis and intrahemocytotoxicity in arsenic exposed crab as innate immune response**. *Asian Journal Experimental Biology Science*. 1 (1) : 47 – 54
- Sangadji, E.M. dan Sopiah. 2010. **Metodologi Penelitian Pendekatan Praktis dalam Penelitian**. *Yogyakarta* : Penerbit ANDI.
- Santosa, R. W. 2013. **Dampak Pencemaran Lingkungan Laut Oleh Perusahaan Pertambangan Terhadap Nelayan Tradisional**. *Lex Administratum*, 1 (2) : 1 – 14
- Santoso, P. 2010. **Pengaruh Kejut Salinitas Terhadap Pemijahan Tiram (*Crassostrea cucullata* Born)**. *Ilmu Kelautan*, 15 (3): 159-162
- Satino. 2003. **Struktur Komunitas Bivalvia Di Daerah Intertidal Pantai Krakal Yogyakarta**. Universitas Negeri Yogyakarta : Yogyakarta
- Simanjuntak, M. 2009. **Hubungan Faktor Lingkungan Kimia, Fisika terhadap Distribusi Plankton di Perairan Belitung Timur, Bangka Belitung**. *Journal Fish and Science*, 10 (1): 31-45

- Sitorus, M. 2008. **Hubungan Nilai Produktivitas Primer dengan Konsentrasi Klorofil a, dan Faktor Fisik Kimia di Perairan Danau Toba, Balige, Sumatera Utara.** Tesis. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Soedarsono, P., B. Sulardiono dan R. Bakhtiar. 2013. **Hubungan Kandungan Nitrat (No₃) & Fosfat (Po₄) Terhadap Pertumbuhan Biomassa Basah Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) Yang Berbeda Lokasi Di Perairan Rawa Pening Ambarawa, Kabupaten Semarang.** *Journal Of Management Of Aquatic Resources.* 2 (2): 66-72
- Sokolova, I. M., S. Evans and F. M. Hughes. 2004. **Cadmium-induced apoptosis in oyster hemocytes involves disturbance of cellular energy balance but no mitochondrial permeability transition.** *The Journal of Experimental Biology* 207 (1) : 3369-3380
- Sritunyalucksana K, K. Wongsuesantati, MW. Johansson and K. Soderhall. 2001. **Peroxinectin, acell adhesive protein associated with the proPO system from the black tiger shrimp, *Penaeus monodon*.** *Dev Comp Immunol* 25 : 353 – 63
- Suprpto. 2011. **Metode Analisis Parameter Kualitas Air untuk Budidaya Udang.** Shrimp Club Indonesia.
- Supriyadi, D., S. 2002. **Kondisi Perairan Muara Berdasarkan Parameter Fisika dan Kimia di Muara Bengawan Solo Ujung Pangkah, Kabupaten Gresik, Jawa Timur.** *Skripsi.* Institut Pertanian Bogor
- Surinati, D. 2007. **Pasang Surut dan Energinya.** *Oseana.* 32 (1) : 15-22
- Suryanti, Supriharyono, dan Yulia R. 2011. **Pengaruh Kedalaman Terhadap Morfologi Karang Di Pulau Cemara Kecil, Taman Nasional Karimunjawa (*The Depth Influence to the Morphology and Abundance of Corals at Cemara Kecil Island, Karimunjawa National Park*).** *Jurnal Saintek Perikanan,* 7 (1) : 63 – 69
- Suryanto dan Utojo. 2002. **Pertumbuhan Tiram pada Penyebaran yang Berbeda-beda.** *Jurnal Penelitian Budidaya Pantai.*
- Susana, T. 2009. **Tingkat Keasaman (pH) dan Oksigen Terlarut sebagai Indikator Kualitas Perairan Sekitar Muara Sungai Cisadane.** *Jurnal Teknologi Lingkungan.* 5 (2): 33-39
- Sutiknowati, L. I. 2014. **Kualitas Perairan Tambak Udang Berdasar Parameter Mikrobiologi (seawater quality for shrimp mariculture based on microbiology parameters).** *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis,* 6 (1) : 157-170
- Suwondo, Elya F. dan Nurida S.. 2012. **Kepadatan dan Distribusi Bivalvia Pada Mangrove Di Pantai Cermin Kabupaten Serdang Bedagai Provinsi Sumatra Utara.** *Jurnal Biogenesis.* 9 (1): 45-50

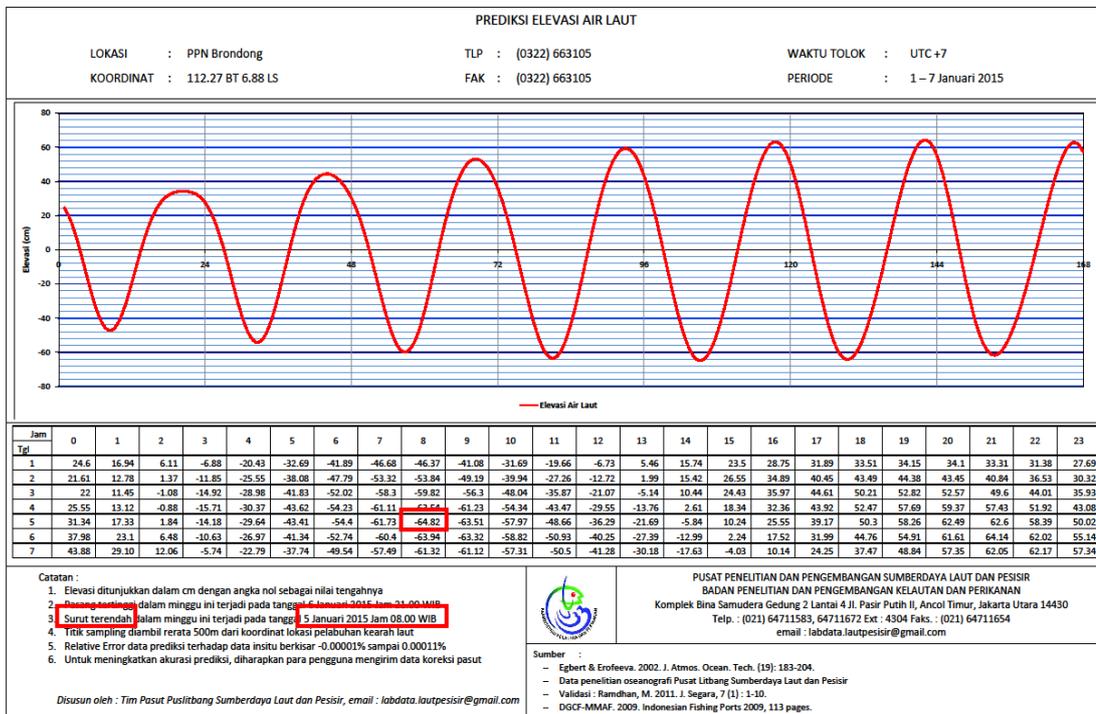
- Syahailatua, D. Y. 2009. **Seleksi Bakteri Probiotik Sebagai Stimulator Sistem Imun Pada Udang Vaname *Litopenaeus vannamei*. Skripsi.** Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor : Bogor
- Syazili, A. 2011. **Biologi Tiram.** <http://www.bumi-ilmu.htm.wordpress.com>
Diakses pada tanggal 10 Juni 2014 pada pukul 18.00 WIB.
- Takahashi, K. G and K. Mori. 2000. **Functional profiles of haemocytes in the bio-defenses process of the pacific oyster, *Crassostrea gigas*.** *Tohoku Journal Agriculture Respiration*, 51 (12) : 16 – 27
- Tampangallo, B. R., Chalvyn, S. P., Rantetondok, A. 2012. **Respon Imun Udang Windu (*Penaeus monodon*) yang Dipapar Bakteri *Vibrio harveyi*.** *Prosiding seminar perikanan nasional.* Sekolah Tinggi Perikanan. Jakarta.
- Taylor, S., and M. J. Landman. 2009. **Flow cytometric characterization of freshwater crayfish haemocytes for the examination of physiological status in wild and captive animal.** *Journal of Aquatic Animal Health*, 21 (1) : 195 – 203
- Tillery, B. W. 2002. **Physical Science *Fifth edition*.** McGraw-Hill Book Company. Arizona.
- Vijayavel, K., S. Gopalakrishnan., R. Thiagarajan dan H. Thilagam. 2009. **Immunotoxic effects of nikel in the mud crab *Scylla serrate*.** *Fish and Shellfish Immunology*, 26 (1) : 133-139
- Wetzel, R. G., dan Likenz G. E. 1975. **Limnological Analyses.** W. B. Saundres Company. Philadelphia.
- Widiastuti, E. 1998. **Distribusi dan Populasi Tiram (*Crassostrea cucullata*) di Tegakan Mangrove.** *Laporan Kegiatan.* Lembaga Penelitian. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Willson, Libby L. dan Louis E. Burnett. 2000. **Whole animal and gill tissue oxygen uptake in the Eastern oyster, *Crassostrea virginica*: Effects of hypoxia, hypercapnia, air exposure, and infection with the protozoan parasite *Perkinsus marinus*.** *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 246 (1): 223 – 240.
- Wong, W.H. dan S.G. Cheung. 2001. **Feeding rhythms of the green-lipped mussel, *Perna viridis* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia: Mytilidae) during spring and neap tidal cycles.** *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 257 (1):13 – 36.
- Yuniarti, N. 2012. **Keanekaragaman dan distribusi bivalvia dan gastropoda (moluska) di Pesisir Glayem Juntinyuat, Indramayu, Jawa Barat.** *Skripsi.* Institut Pertanian Bogor.
- Zahidin, M. 2008. **Kajian Kualitas Air di Muara Sungai Pekalongan Ditinjau dari Indeks Keanekaragaman Makrobenthos dan Indeks Saprobitas Plankton.** *Thesis.* Universitas Diponegoro: Semarang.

Zipcodezoo. 2014. **Klasifikasi** *Crassostrea cucullata*.
<http://www.zipcodezoo.org>. Diakses pada tanggal 30 Oktober 2014 pada
pukul 19.40 WIB



LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Pasang Surut PPN Brondong Januari 2015



Lampiran 2. Perhitungan Analisa Ragam Rancangan Acak Lengkap

Perlakuan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata
	1	2	3		
A	A ₁	A ₂	A ₃	∑A	R _A
B	B ₁	B ₂	B ₃	∑B	R _B
C	C ₁	C ₂	C ₃	∑C	R _C
Total	∑1	∑2	∑3	G	-

Rumus yang digunakan untuk menghitung Jumlah Kuadrat adalah:

$$1) FK = \frac{G^2}{r \times t}$$

$$2) JK_{\text{total}} = (A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + B_1^2 + B_2^2 + B_3^2 + C_1^2 + C_2^2 + C_3^2) - FK$$

$$3) JK_{\text{perlakuan}} = \frac{\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{r} - FK$$

$$4) JK_{\text{Galat}} = JK_{\text{total}} - JK_{\text{perlakuan}}$$

Analisa Sidik Ragam :

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel 5%}
Perlakuan	t - 1	JK _{Perlakuan}	JKP/dbP	KTG/KTP	
Galat	t (r - 1)	JK _{Galat}	JKP/dbG	-	-
Total	t x r - 1	JK _{Total}	-	-	-

Keterangan:

*) Bila F_{hitung} < F_{tabel 5%} (TN atau tidak berbeda nyata)

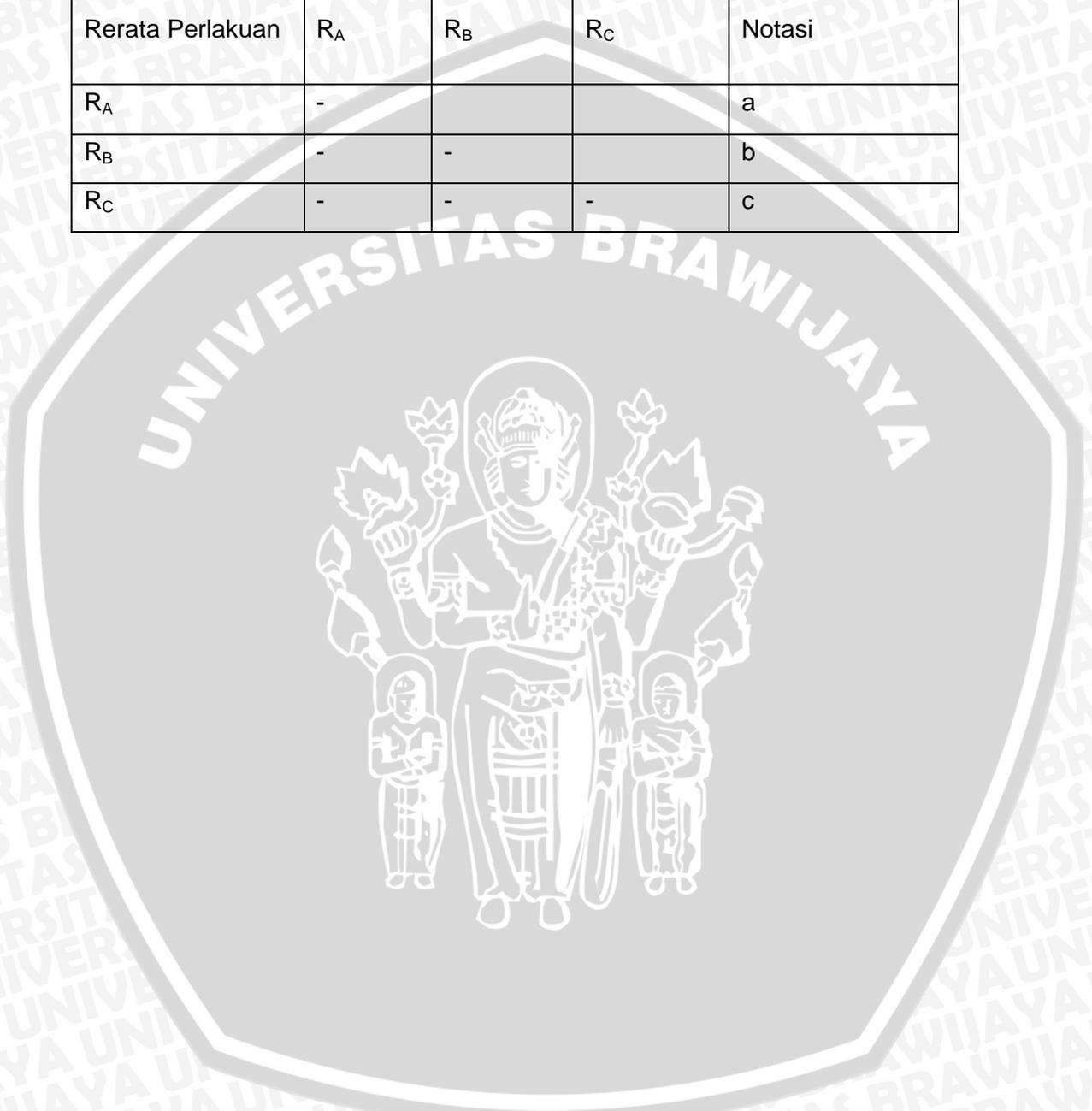
) Bila F_{hitung} > F_{tabel 5%} (atau berbeda nyata)

Jika hasilnya berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Uji beda nyata terkecil dilakukan untuk mengetahui perlakuan yang paling efektif pada penelitian ini, dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

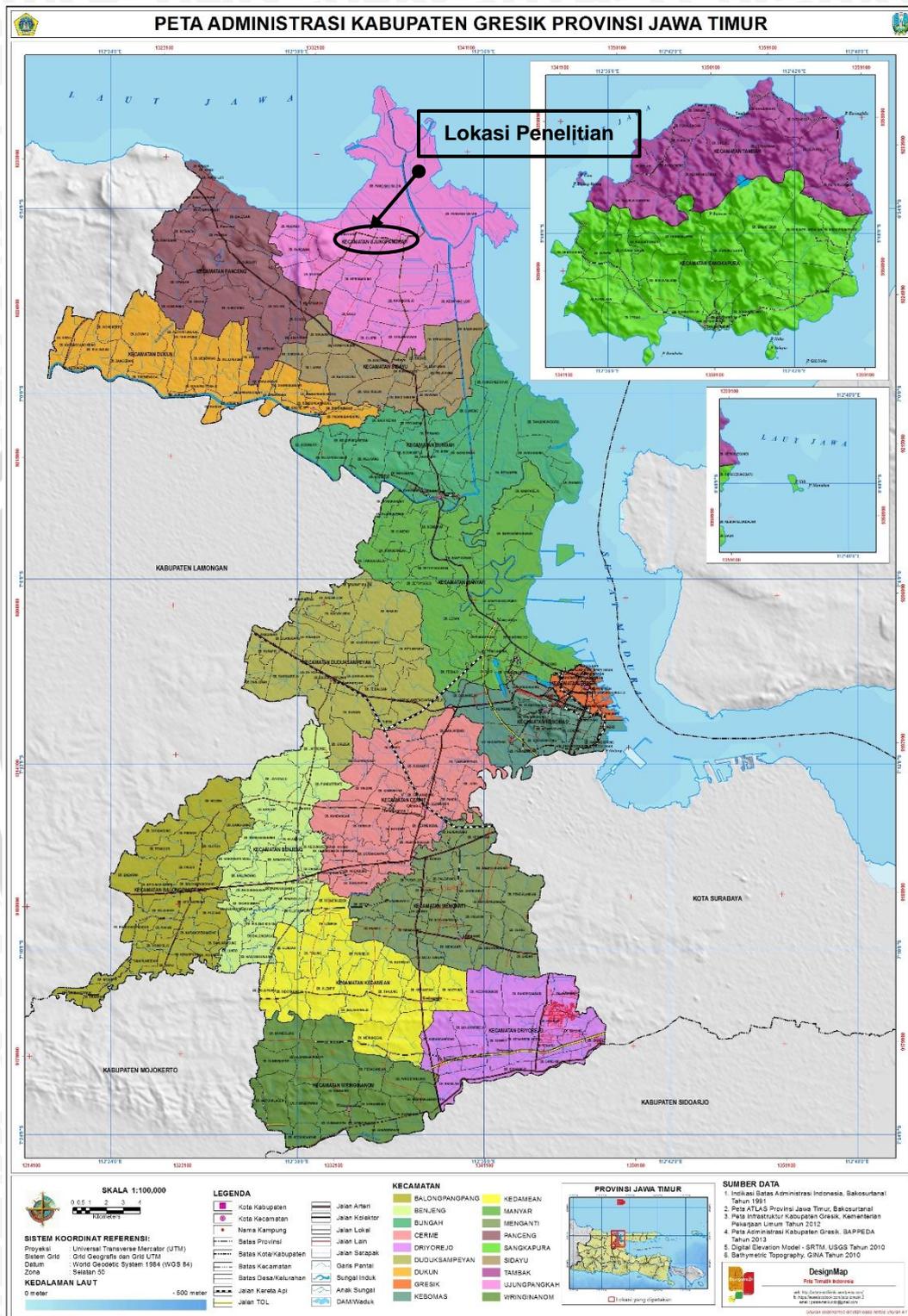
$$\text{BNT} = t_{\alpha/2} \sqrt{\frac{2 \text{KTGalat}}{r}}$$

Tabel uji BNT perlakuan :

Rerata Perlakuan	R _A	R _B	R _C	Notasi
R _A	-			a
R _B	-	-		b
R _C	-	-	-	c

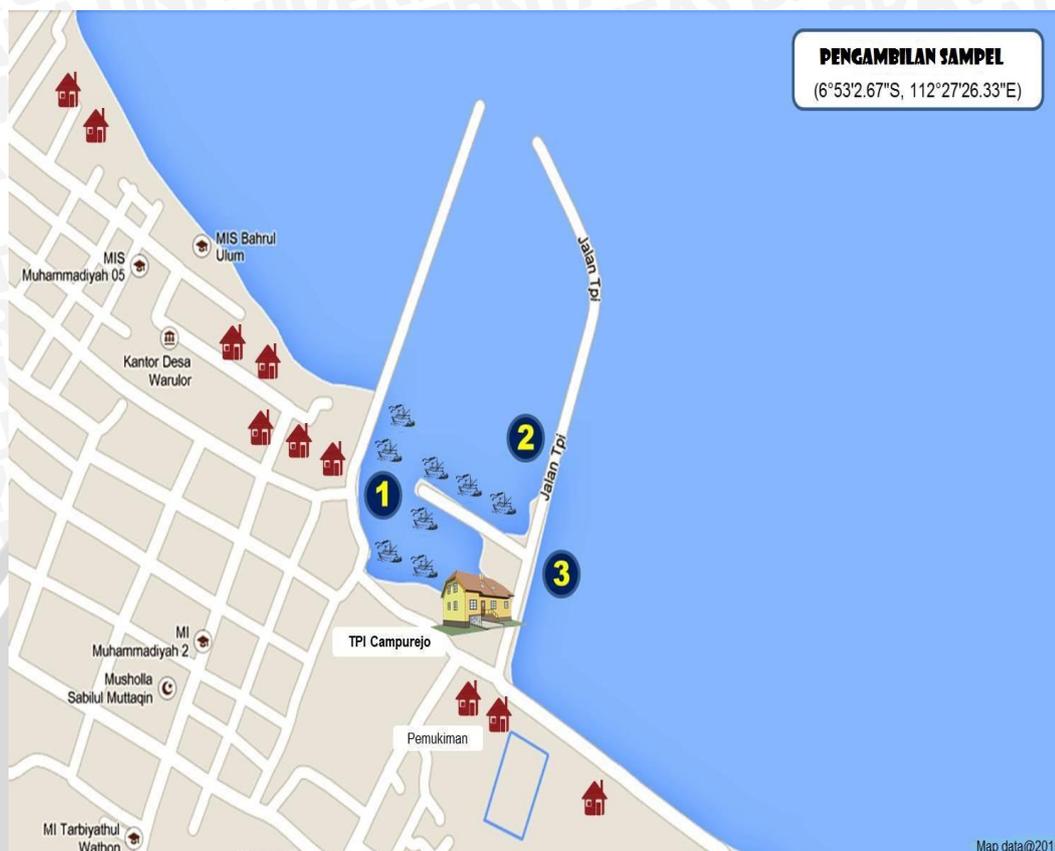


Lampiran 3. Peta Lokasi Penelitian



Sumber : Google Image (2015)

Lampiran 4. Lokasi Pengambilan Sampel



Peta Perairan Dalem

KETERANGAN:

1. Pengambilan Sampel Kontrol Ulangan 1 (Dekat Pemukiman Warga)
2. Pengambilan Sampel Kontrol Ulangan 2 (Pendaratan Kapal Nelayan)
3. Pengambilan Sampel Kontrol Ulangan 3 (Pelabuhan Pelelangan Ikan)

Sumber: Google Map (2015)

Lampiran 5. Perhitungan *Total Haemocyte Count* (THC) Tiram *Crassostrea cucullata*

$$\text{THC} = \frac{\text{Jumlah sel yang dihitung}}{\text{Jumlah bidang pandang}} \times 10^4 \times \text{faktor pengenceran}$$

Dimana :

THC = *Total Haemocyte Count*

BP = 5 kotak

10^4 = Volume *Haemocytometer* ($p = 1 \text{ mm}$; $l = 1 \text{ mm}$; $t = 0,1 \text{ mm}$)

FP = 3 (Digunakan 0,1 ml yang diencerkan dan 3 ml hasil pengenceran yakni 0,1 ml Na Sitrat 10%, 0,1 ml hemosit dan 0,1 ml *Triphan blue* sehingga digunakan 3 faktor pengencer)

THC Kontrol yang Diambil dari Perairan Dalegan			Rata-Rata
Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
$\text{THC} = \frac{248}{5} \times 10^4 \times 3$ $= 148,8 \times 10^4$	$\text{THC} = \frac{266}{5} \times 10^4 \times 3$ $= 159,6 \times 10^4$	$\text{THC} = \frac{251}{5} \times 10^4 \times 3$ $= 150,6 \times 10^4$	153,7 x 10 ⁴
THC Perlakuan Ketinggian			
Ketinggian 0 cm			
Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	8,80 x 10 ⁴
$\text{THC} = \frac{13}{5} \times 10^4 \times 3$ $= 7,8 \times 10^4$	$\text{THC} = \frac{20}{5} \times 10^4 \times 3$ $= 12 \times 10^4$	$\text{THC} = \frac{11}{5} \times 10^4 \times 3$ $= 6,6 \times 10^4$	
Ketinggian 35 cm			
Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	13,27 x 10 ⁴
$\text{THC} = \frac{22,3}{5} \times 10^4 \times 3$ $= 13,4 \times 10^4$	$\text{THC} = \frac{22,3}{5} \times 10^4 \times 3$ $= 13,4 \times 10^4$	$\text{THC} = \frac{21,6}{5} \times 10^4 \times 3$ $= 13 \times 10^4$	
Ketinggian 70 cm			
Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	12,40 x 10 ⁴
$\text{THC} = \frac{23}{5} \times 10^4 \times 3$ $= 13,8 \times 10^4$	$\text{THC} = \frac{18}{5} \times 10^4 \times 3$ $= 10,8 \times 10^4$	$\text{THC} = \frac{21}{5} \times 10^4 \times 3$ $= 12,6 \times 10^4$	

**Perhitungan Rancangan Acak Lengkap Ketinggian Air Terhadap Total
Haemocyte Count (THC) Tiram *Crassostrea cucullata***

Tabel Data Asli Perhitungan *Total Haemocyte Count* (THC) Tiram *Crassostrea cucullata* Pada Ketinggian Media Air yang Berbeda

Ketinggian	Ulangan (sel/ml)		
	1	2	3
0 cm	$7,8 \times 10^4$	$12,0 \times 10^4$	$6,6 \times 10^4$
35 cm	$13,4 \times 10^4$	$13,4 \times 10^4$	13×10^4
70 cm	$13,8 \times 10^4$	$10,8 \times 10^4$	$12,6 \times 10^4$

Tabel Data Perhitungan *Total Haemocyte Count* (THC) Tiram *Crassostrea cucullata* Pada Ketinggian yang Berbeda Setelah Dilakukan Perhitungan Menggunakan Logaritma

Ketinggian	Ulangan			Total	Rata-Rata
	A	B	C		
0 cm	4,892	5,079	4,820	14,791	4,930
35 cm	5,127	5,127	5,114	15,368	5,123
70 cm	5,140	5,033	5,100	15,274	5,091
Total	15,159	15,240	15,034	45,433	

➤ **Perhitungan Jumlah Kwadrat (JK)**

$$\begin{aligned}
 1. \text{ FK} &= \frac{G^2}{r \times t} \\
 &= \frac{45,433^2}{3 \times 3} \\
 &= \frac{2064,125}{9} \\
 &= 229,347
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ JKT} &= \sum_{ij} Y_{ij}^2 - \text{FK} \\
 &= 4,892^2 + 5,079^2 + 4,820^2 + 5,127^2 + 5,127^2 + 5,114^2 + 5,140^2 + \\
 &\quad 5,033^2 + 5,100^2 - 229,347 \\
 &= 23,933 + 25,798 + 23,228 + 26,287 + 26,287 + 26,152 + 26,418 + \\
 &\quad 25,335 + 26,014 - 229,347 \\
 &= 229,453 - 229,347 \\
 &= 0,106
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JKP} &= \frac{Y_1^2 + Y_2^2 + Y_3^2}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{14,791^2 + 15,368^2 + 15,274^2}{3} - 229,347 \\
 &= \frac{218,768 + 236,180 + 233,285}{3} - 229,347
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{688,234}{3} - 229,347 \\
 &= 229,411 - 229,347 \\
 &= 0,064
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 0,106 - 0,064 \\
 &= 0,042
 \end{aligned}$$

Tabel Analisa Sidik Ragam (ANOVA)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel 5%}
Perlakuan	2	0,064	0,032	4,588 ^{TN}	5,140
Galat	6	0,042	0,007		
Total	8	0,106			

Kesimpulan : Tidak ada pengaruh antara *Total Haemocyte Count* (THC) Tiram *Crassostrea cucullata* Pada Ketinggian media air laut yang berbeda yakni 0 cm, 35 cm dan 70 cm.

Keterangan:

Hasil pada perhitungan rancangan acak lengkap ketinggian air terhadap *Total Haemocyte Count* (THC) tiram *Crassostrea cucullata* didapatkan F_{hitung} sebesar 4,689 dan F_{tab 5%} sebesar 5,140 maka dapat dikatakan bahwa hasil tersebut **Tidak Berbeda Nyata** karena F_{hitung} < F_{tabel 5%} oleh karena itu tidak dilakukan uji lanjut BNT.

Lampiran 6. Perhitungan *Differential Haemocyte Count* (DHC) Tiram *Crassostrea cucullata* (Hyalinosit)

$$\text{Presentase Sel Hyalinosit} = \frac{\text{Jumlah sel hyalinosit yang ditemukan}}{\text{Jumlah total hemosit yang ditemukan}} \times 100\%$$

Hyalinosit Kontrol yang Diambil dari Perairan Dalegan			Rata-Rata
Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Hyalin = $\frac{2}{9} \times 100\%$ = 22,22%	Hyalin = $\frac{4}{10} \times 100\%$ = 40,00%	Hyalin = $\frac{3}{9} \times 100\%$ = 33,33%	31,85%
Hyalinosit Perlakuan Ketinggian			
Ketinggian 0 cm			
Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Hyalin = $\frac{7}{10} \times 100\%$ = 70,00%	Hyalin = $\frac{5}{8} \times 100\%$ = 62,50%	Hyalin = $\frac{6}{9} \times 100\%$ = 66,67%	66,39%
Ketinggian 35 cm			
Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Hyalin = $\frac{5}{9} \times 100\%$ = 55,56%	Hyalin = $\frac{6}{9} \times 100\%$ = 66,67%	Hyalin = $\frac{5}{8} \times 100\%$ = 62,50%	61,57%
Ketinggian 70 cm			
Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Hyalin = $\frac{6}{11} \times 100\%$ = 54,54%	Hyalin = $\frac{4}{6} \times 100\%$ = 66,67%	Hyalin = $\frac{6}{9} \times 100\%$ = 66,67%	62,63%

Perhitungan Rancangan Acak Lengkap Ketinggian Air Terhadap *Differential Haemocyte Count* (DHC) Tiram *Crassostrea cucullata* (Hyalinosit)

Tabel Data Perhitungan *Differential Haemocyte Count* (DHC) Tiram *Crassostrea cucullata* Pada Ketinggian Media Air yang Berbeda (Hyalinosit)

Ketinggian	Ulangan (%)			Total	Rata-Rata
	A	B	C		
0 cm	70,000	62,500	66,667	199,167	66,389
35 cm	55,556	66,667	62,500	184,722	61,574
70 cm	54,545	66,667	66,667	187,879	62,626
Total	202,321	235,834	229,164	667,319	

Keterangan : Transformasi Arcsin biasanya digunakan pada data proporsi atau persentase. Karena data asli memiliki nilai kisaran antara 30% - 70% maka tidak dilakukan transformasi arcsin untuk menghitung analisa ragam.

➤ Perhitungan Jumlah Kwadrat (JK)

$$\begin{aligned}
 1. \text{ FK} &= \frac{G^2}{r \times t} \\
 &= \frac{571,768^2}{3 \times 3} \\
 &= \frac{326918,276}{9} \\
 &= 36324,253
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ JKT} &= \sum_{ij} Y_{ij}^2 - \text{FK} \\
 &= 70,00^2 + 62,500^2 + 66,667^2 + 55,556^2 + 66,667^2 + 62,500^2 + \\
 &\quad 54,545^2 + 66,667^2 + 66,667^2 - 36324,253 \\
 &= 4900,000 + 3906,250 + 4444,444 + 3086,420 + 4444,444 + 3906,250 + \\
 &\quad 2975,207 + 4444,444 + 4444,444 - 36324,253 \\
 &= 36551,904 - 36324,253 \\
 &= 227,651
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JKP} &= \frac{Y_1^2 + Y_2^2 + Y_3^2}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{199,167^2 + 184,722^2 + 187,879^2}{3} - 36324,253 \\
 &= \frac{39667,361 + 34122,299 + 35298,439}{3} - 36324,253 \\
 &= \frac{109088,099}{3} - 36324,253 \\
 &= 36362,700 - 36324,253 \\
 &= 38,447
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 227,651 - 38,447 \\
 &= 189,204
 \end{aligned}$$

Tabel Analisa Sidik Ragam (ANOVA)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel 5%}
Perlakuan	2	38,447	19,223	0,610 ^{TN}	5,140
Galat	6	189,204	31,534		
Total	8	227,651	28,456		

Kesimpulan : Tidak ada perbedaan diantara *Differential Haemocyte Count* (DHC) untuk sel Hyalinosit tiram *Crassostrea cucullata* pada ketinggian media air laut yang berbeda yakni 0 cm, 35 cm dan 70 cm.

Keterangan:

Hasil pada perhitungan rancangan acak lengkap ketinggian air terhadap *Differential Haemocyte Count* (DHC) Hyalinosit tiram *Crassostrea cucullata* didapatkan F_{hitung} sebesar 1,589 dan F_{tab 5%} sebesar 5,140 maka dapat dikatakan bahwa hasil tersebut **Tidak Berbeda Nyata** karena F_{hitung} < F_{tabel 5%} oleh karena itu tidak dilakukan uji lanjut BNT.

Lampiran 6. Perhitungan *Differential Haemocyte Count* (DHC) Tiram *Crassostrea cucullata* (Granulosit)

$$\text{Presentase Sel Granulosit} = \frac{\text{Jumlah sel granulosit yang ditemukan}}{\text{Jumlah total hemosit yang ditemukan}} \times 100\%$$

Kontrol			Rata-Rata
Granulosit Kontrol yang Diambil dari Perairan Dalegan			
Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Granul = $\frac{7}{9} \times 100\%$ = 77,778%	Granul = $\frac{6}{10} \times 100\%$ = 60%	Granul = $\frac{6}{9} \times 100\%$ = 66,67%	64,40%
Perlakuan Ketinggian			
Ketinggian 0 cm	Ketinggian 35 cm	Ketinggian 70 cm	
Ulangan 1	Ulangan 1	Ulangan 1	
Granul = $\frac{3}{10} \times 100\%$ = 30%	Granul = $\frac{3}{8} \times 100\%$ = 37,50%	Granul = $\frac{3}{9} \times 100\%$ = 33,33%	33,61%
Ulangan 2	Ulangan 2	Ulangan 2	
Granul = $\frac{4}{9} \times 100\%$ = 44,44%	Granul = $\frac{3}{9} \times 100\%$ = 33,33%	Granul = $\frac{3}{8} \times 100\%$ = 37,50%	38,43%
Ulangan 3	Ulangan 3	Ulangan 3	
Granul = $\frac{5}{11} \times 100\%$ = 45,45%	Granul = $\frac{2}{6} \times 100\%$ = 33,33%	Granul = $\frac{3}{9} \times 100\%$ = 33,33%	37,37%

Perhitungan Rancangan Acak Lengkap Ketinggian Air Terhadap *Differential Haemocyte Count* (DHC) Tiram *Crassostrea cucullata* (Granulosit)

Tabel Data Perhitungan *Differential Haemocyte Count* (DHC) Tiram *Crassostrea cucullata* Pada Ketinggian Media Air yang Berbeda (Granulosit)

Ketinggian	Ulangan (%)			Total	Rata - Rata
	A	B	C		
Kontrol	77,780	60,000	66,670	204,450	68,150
0 cm	30,000	37,500	33,333	100,833	33,611
35 cm	44,444	33,333	37,500	115,278	38,426
70 cm	45,455	33,333	33,333	112,121	37,374
Total	197,679	164,166	170,836	532,681	

Keterangan : Transformasi Arcsin biasanya digunakan pada data proporsi atau persentase. Karena data asli memiliki nilai kisaran antara 30% - 70% maka tidak dilakukan transformasi arcsin untuk menghitung analisa ragam.

➤ **Perhitungan Jumlah Kwadrat (JK)**

$$\begin{aligned}
 1. \text{ FK} &= \frac{G^2}{r \times t} \\
 &= \frac{328,232^2}{3 \times 3} \\
 &= \frac{107736,458}{9} \\
 &= 11970,718
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ JKT} &= \sum_{ij} Y_{ij}^2 - \text{FK} \\
 &= 30,000^2 + 37,500^2 + 33,333^2 + 44,444^2 + 33,333^2 + 37,500^2 + \\
 &\quad 45,455^2 + 33,333^2 + 33,333^2 - 11970,718 \\
 &= 900,000 + 1406,250 + 1111,111 + 1975,309 + 1111,111 + 1406,250 + \\
 &\quad 2066,116 + 1111,111 + 1111,111 - 11970,718 \\
 &= 12198,369 - 11970,718 \\
 &= 227,651
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JKP} &= \frac{Y_1^2 + Y_2^2 + Y_3^2}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{100,833^2 + 115,278^2 + 112,121^2}{3} - 11970,718 \\
 &= \frac{10167,361 + 13288,966 + 12571,166}{3} - 11970,718 \\
 &= \frac{36027,493}{3} - 11970,718 \\
 &= 12009,164 - 11970,718 \\
 &= 38,447
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 227,651 - 38,447 \\
 &= 189,204
 \end{aligned}$$

Tabel Analisa Sidik Ragam (ANOVA)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel 5%}
Perlakuan	2	38,447	19,223	0,610	5,140
Galat	6	189,204	31,534		
Total	8	227,651	28,456		

Kesimpulan : Tidak ada perbedaan diantara *Differential Haemocyte Count* (DHC) sel Granulocytes tiram *Crassostrea cucullata* pada ketinggian media air laut yang berbeda yakni 0 cm, 35 cm dan 70 cm.

Keterangan:

Hasil pada perhitungan rancangan acak lengkap ketinggian air terhadap *Differential Haemocyte Count* (DHC) Granulosit tiram *Crassostrea cucullata* didapatkan F_{hitung} sebesar 1,589 dan F_{tab 5%} sebesar 5,140 maka dapat dikatakan bahwa hasil tersebut **Tidak Berbeda Nyata** karena F_{hitung} < F_{tabel 5%} oleh karena itu tidak dilakukan uji lanjut BNT.

Lampiran 7. Data Kualitas Air

Perlakuan	Ulangan	Parameter Kualitas Air				
		Suhu (°C)	DO (mg/L)	pH	Salinitas (ppt)	TOM (mg/L)
Kontrol		31	6,35	8,5	36	48,03
0 cm	A	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-
	C	-	-	-	-	-
35 cm	A	25	7,16	8	34	29,49
	B	25	7,84	8	34	21,07
	C	25	7,57	8	34	24,44
70 cm	A	26	6,62	8	34	22,33
	B	26	7,70	8	34	21,49
	C	26	5,40	8	34	18,33
Baku Mutu		30-38*	7-8,5*	≥5*	27-33*	≥20**

Keterangan:

** Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No 51 Tahun 2004

* Effendi (2003)

LAMPIRAN 8. Dokumentasi Kegiatan Penelitian



Preparasi Bak Percobaan



Sterilisasi Air Laut



Pengumpulan Tiram di Lapangan



Pengambilan Hemosit Tiram



Tiram yang Sudah Dibersihkan



Pengambilan Hemosit



Pengumpulan Hemosit Tiram



Pembuatan Preparat DHC (Smear)