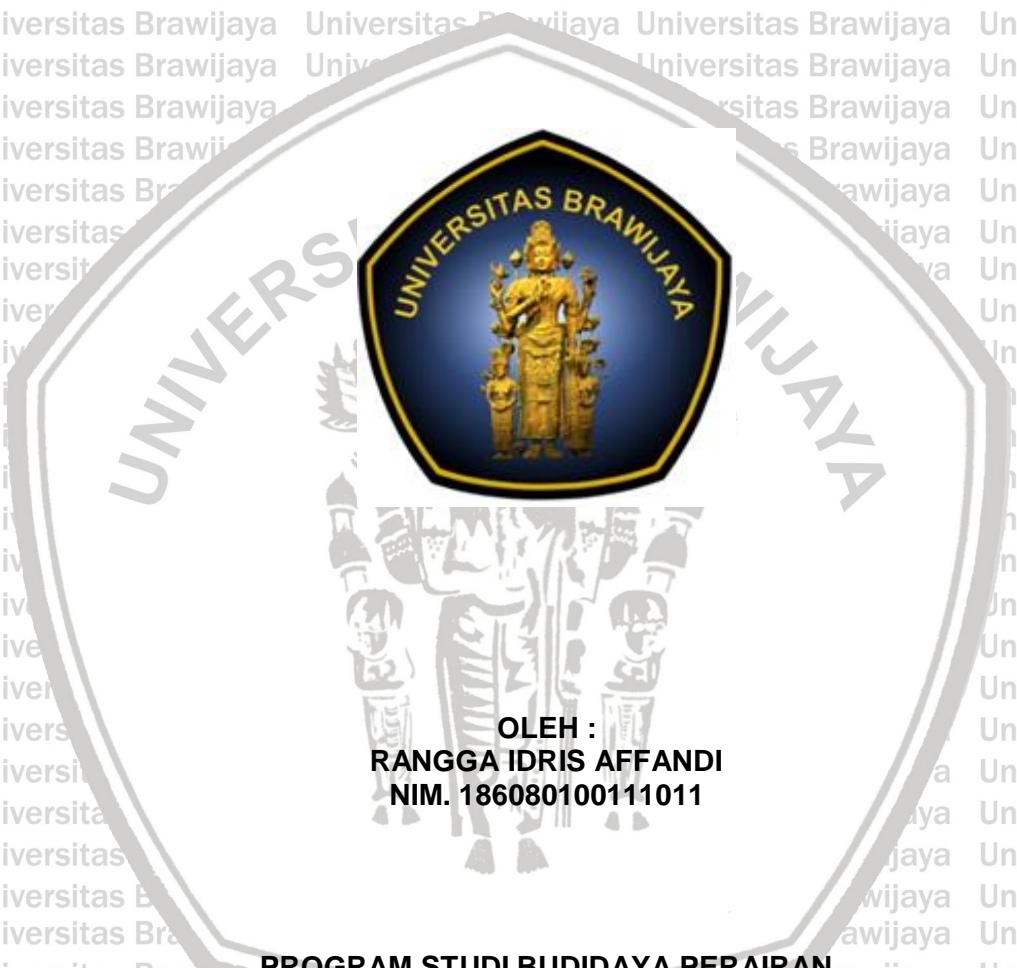


**POTENSI BUBUK EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo sp.*) SEBAGAI  
IMUNOSTIMULAN UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) UNTUK  
MELAWAN PENYAKIT INFECTIOUS MYONECROSIS VIRUS (IMNV)**

**TESIS**



**OLEH :  
RANGGA IDRIS AFFANDI  
NIM. 186080100111011**

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
MINAT PENYAKIT DAN PENGELOLAAN KESEHATAN IKAN**

**MAGISTER BUDIDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG  
2020**

**POTENSI BUBUK EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo sp.*) SEBAGAI  
IMUNOSTIMULAN UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) UNTUK  
MELAWAN PENYAKIT INFECTIOUS MYONECROSIS VIRUS (IMNV)**

**TESIS**

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

**OLEH :  
RANGGA IDRIS AFFANDI  
NIM. 186080100111011**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
MINAT PENYAKIT DAN PENGELOLAAN KESEHATAN IKAN**

**MAGISTER BUDIDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2020**



TESIS

**POTENSI BUBUK EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo sp.*) SEBAGAI  
IMUNOSTIMULAN UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) UNTUK  
MELAWAN PENYAKIT INFECTIOUS MYONECROSIS VIRUS (IMNV)**

**OLEH :  
RANGGA IDRIS AFFANDI  
NIM. 186080100111011**

Telah dipertahankan di depan penguji  
Pada tanggal 13 Maret 2020  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,  
Komisi Pembimbing

Ketua

**Dr. Ir. Mohamad Fadjar, M.Sc.**  
**NIP. 19621014 198701 1 001**

Tanggal: 7/15/2020

Anggota

**Dr. Ir. Arning W. Ekawati, M.S.**  
**NIP. 19620805 198603 2 001**

Tanggal: 7/16/2020

Mengetahui,



**Dekan  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan**

**Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, M.S.**  
**NIP. 19600322 198601 1 001**

Tanggal: 7/27/2020

**Ketua  
Program Magister**

**Prof. Dr. Ir. Maftuch, M.Si.**  
**NIP. 19660825 199203 1 001**

Tanggal: 7/24/2020

JUDUL TESIS

**POTENSI BUBUK EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo sp.*) SEBAGAI  
IMUNOSTIMULAN UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) UNTUK  
MELAWAN PENYAKIT INFECTIOUS MYONECROSIS VIRUS (IMNV)**

**Nama Mahasiswa** : Rangga Idris Affandi

**NIM** : 186080100111011

**Program Studi** : Budidaya Perairan

**Minat Ilmu Studi** : Penyakit dan Pengelolaan Kesehatan Ikan

**Komisi Pembimbing**

**Ketua** : Dr. Ir. Mohamad Fadjar, M.Sc.

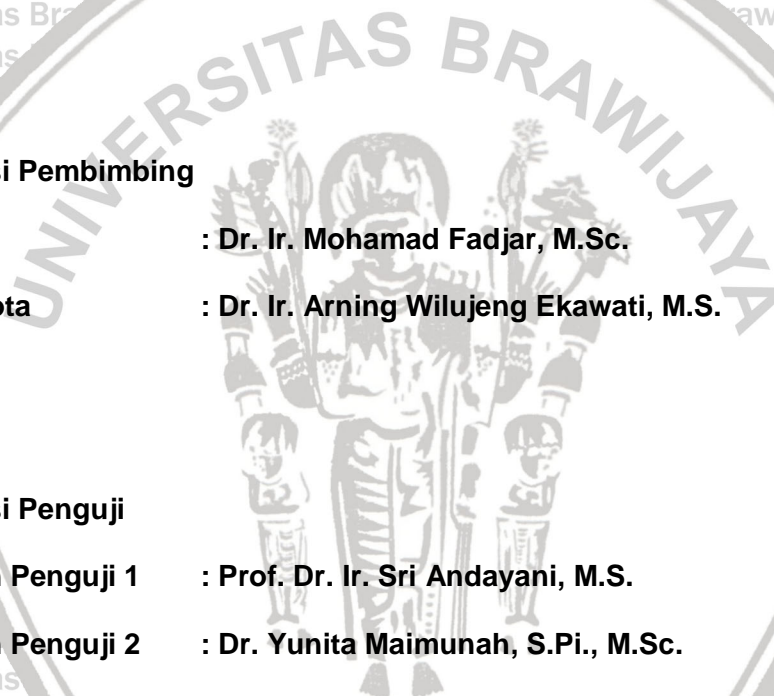
**Anggota** : Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, M.S.

**Komisi Penguji**

**Dosen Penguji 1** : Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, M.S.

**Dosen Penguji 2** : Dr. Yunita Maimunah, S.Pi., M.Sc.

**Tanggal Ujian Tesis** : 13 Maret 2020





**PERNYATAAN ORISINALITAS**

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa dalam naskah tesis yang saya tulis ini merupakan hasil karya saya sendiri di bawah payung penelitian

Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc yang dibiayai oleh Hibah Lektor Kepala, Universitas Brawijaya. Dalam naskah tesis ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur jiplakan, saya bersedia menerima sanksi sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 13 Maret 2020



Penulis

## DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Saya adalah salah satu putra Indonesia yang sangat beruntung karena dapat mengenyam dunia pendidikan setinggi-tingginya. Saya anak kedua dari dua bersaudara yang lahir pada tanggal 29 Juli 1995 dari sebuah keluarga yang sangat sederhana, Agus Arwoko adalah bapak saya dan ibu saya bernama Suharmi. Mereka memberi nama saya "Rangga Idris Affandi" yang merupakan sebuah nama indah dan menjadi harapan untuk menjadi orang yang sukses bagi diri sendiri dan orang disekitarnya. Saya bersekolah dasar di SDN 1 Renon Denpasar pada tahun 2002-2005 lalu pindah ke SDN Wonoayu II Sidoarjo pada tahun 2005-2008, kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 3 Sidoarjo dan lulus pada tahun 2011, lalu SMA Negeri 2 Sidoarjo menjadi pilihan saya untuk melanjutkan sekolah dan dinyatakan lulus pada tahun 2014. Saya diterima di Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya pada tahun 2014. Lulus pada tanggal 31 Mei 2018, saya berkesempatan untuk melanjutkan program magister di Universitas Brawijaya (Program Studi S2 Budidaya Perairan) pada tahun 2018. Saya percaya bahwa jangan takut untuk memiliki impian yang tinggi. Ketika impian itu telah ditulis, diikrarkan dalam doa, dan diusahakan dengan cara yang baik maka Tuhan dan alam semesta akan mendukung dan mengarahkanmu pada impian itu.

*"Hiduplah dalam mimpi dan angan-angan karena dengan adanya mimpi dan angan-angan kita mampu merencanakan masa depan kita."*



**KATA PENGANTAR**

Penelitian dengan judul "**Potensi Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (*Loligo* sp.) sebagai Immunostimulan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) untuk Melawan Penyakit Infectious Myonecrosis Virus (IMNV)**" ini dilakukan untuk menambah pengetahuan baru tentang pengaruh dari bubuk ekstrak tinta cumi-cumi selain digunakan untuk melawan penyakit yang disebabkan oleh bakteri tetapi juga dapat digunakan untuk melawan penyakit yang disebabkan oleh virus pada biota perairan khususnya udang.

Penulis menyadari bahwa penulisan laporan tesis ini masih belum sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan laporan ini. Penulis berharap semoga laporan tesis ini dapat bermanfaat, memberikan informasi, dan menambah wawasan serta meningkatkan IPTEK.

Malang, 13 Maret 2020

Penulis

**UCAPAN TERIMA KASIH**

Puji syukur atas ke hadirat Allah atas berkah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tesis ini. Penulis menyadari bahwa penyusunan laporan tesis ini tidak terlepas dari dukungan moril dan materil dari semua pihak. Melalui kesempatan ini, dengan kerendahan hati perkenankan penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT karena atas berkah dan limpahan rahmat-Nya laporan ini dapat terselesaikan dengan tepat waktu
2. Orang tua penulis, Agus Arwoko dan Suharmi yang senantiasa terus memberikan doa, motivasi, dan dukungannya selama ini. Renny Feravati, S.Pd., M.Pd., Dedy Widyaji, S.T., dan Salsabil Hafizah Widyaji Putri sebagai saudara yang telah memberikan doa, motivasi dan dukungan terhadap penulis
3. Bapak Dr. Ir. Mohamad Fadjar, M.Sc. dan Ibu Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, M.S. selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan dan nasehat bagi penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tesis ini dengan baik
4. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, M.S. dan Ibu Dr. Yunita Maimunah, S.Pi., M.Sc. selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan kritik dan saran selama penyusunan laporan tesis ini
5. Ibu Rozika Hawa Ekayanti, S.P dan Ibu Titin Yuniastutik, S.TP yang telah banyak membantu selama penelitian
6. Jefri Anjaini, S.Pi., M.P., Dewi Wulandari, S.Pi., M.P., dan Endar Riyani, S.Pi., M.P. yang telah banyak membantu selama penelitian
7. Tim penelitian yaitu Aldi, Ofud Windy, Cindy, Rino, Ana, Adel, Rizky, Rifqi, dan Galih yang telah bekerja sama dengan baik dalam melakukan penelitian dan penyusunan laporan



8. Teman-teman pascasarjana FPIK UB angkatan 2018 ganjil yang selalu memberi semangat dan motivasi mulai dari awal menuntut ilmu di pascasarjana FPIK UB hingga penyusunan laporan ini selesai

9. Sahabat tercinta yaitu Belinda, Aris, Ardi, Rizal, Irham, Hasbi, Ilham, Ferdi, Putra, Laras, Ayu, Eryana, Callista, Mia, Watik, Rifqi, Eka, Erlin, dan Ali yang selalu memberikan doa, motivasi dan dukungan untuk menyelesaikan laporan tesis ini

10. Semua pihak yang telah memberi dorongan dan membantu dalam menyelesaikan laporan tesis ini yang tidak dapat disebutkan satu per-satu.



Malang, 13 Maret 2020

Penulis





## RINGKASAN

**RANGGA IDRIS AFFANDI. "POTENSI BUBUK EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo* sp.) SEBAGAI IMUNOSTIMULAN UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) UNTUK MELAWAN PENYAKIT INFECTIOUS MYONECROSIS VIRUS (IMNV)". DIBIMBING OLEH Dr. Ir. MOHAMAD FADJAR, M.Sc. DAN Dr. Ir. ARNING WILUJENG EKAWATI, M.S.**

Udang vaname (*L. vannamei*) merupakan udang alternatif selain udang windu (*Penaeus monodon*) yang dapat dibudidayakan secara intensif yang memiliki keunggulan dapat tumbuh secepat udang windu (3 g/minggu). Masalah yang muncul pada komoditas budidaya udang vaname adalah serangan penyakit udang. Kendala pada pembudidaya udang saat ini adanya penyakit IMNV di pertambakan. *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV) merupakan salah satu virus yang menyerang udang vaname pada bagian otot dan hepatopankreas yang mengancam budidaya udang di Indonesia bahkan dunia. Dalam manajemen kesehatan budidaya udang, strategi pencegahan penyakit dapat dilakukan melalui berbagai cara, salah satunya yaitu imunostimulan. Salah satu alternatif imunostimulan yang dapat digunakan untuk meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang adalah bubuk ekstrak tinta cumi-cumi. Ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) diketahui selain dapat digunakan untuk menangani penyakit oleh bakteri juga dapat untuk melawan penyakit oleh virus karena diduga memiliki kandungan senyawa alkaloid. Oleh karena itu pada penelitian ini membahas tentang pengaruh respon imun non spesifik udang vaname (*L. vannamei*) yang telah diberi perlakuan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) untuk melawan penyakit IMNV.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Tahap-tahap yang dilakukan untuk pelaksanaan penelitian antara lain ekstraksi tinta cumi-cumi hingga menjadi bubuk, identifikasi senyawa aktif bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dengan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS), uji *Polymerase Chain Reaction* (PCR) udang sampel IMNV, persiapan wadah dan hewan uji, pembuatan inokulum IMNV, uji *Lethal Dose 50* (LD<sub>50</sub>) dan *Lethal Concentration 50* (LC<sub>50</sub>), suplementasi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada pakan, pemberian perlakuan pakan, uji tantang IMNV pada udang vaname, dan pemeliharaan. Selama pemeliharaan dilakukan uji parameter imun dan parameter kualitas air. Parameter imun pada udang yang diamati meliputi *Total Haemocyte Count* (THC), *Respiratory Burst* (RB), *Superoxide Dismutase* (SOD), *Survival Rate*. Pengukuran parameter kualitas air yang diamati meliputi suhu, derajat keasaman (pH), oksigen terlarut (DO), salinitas, nitrat, nitrit, amonia, *Total Organic Matter* (TOM), dan alkalinitas.

Hasil yang didapat dari penelitian ini adalah pemberian imunostimulan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi mampu meningkatkan aktivitas respon imun non spesifik udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) untuk melawan penyakit IMNV. Peningkatan aktivitas imun tersebut ditandai dengan peningkatan nilai *Total Haemocyte Count* (THC) tertinggi 59,7 x 10<sup>5</sup> sel/ml, *Respiratory Burst* (RB) tertinggi 1,13, dan *Superoxide Dismutase* (SOD) tertinggi 0,98 unit/ml. Hasil ini juga didukung dengan *Survival Rate* (SR) yang tinggi sebesar 83,33%. Hasil penelitian yang didapatkan setelah infeksi IMNV menunjukkan dosis yang paling optimal untuk udang vaname yaitu 500 mg/kg.



## SUMMARY

**RANGGA IDRIS AFFANDI. "POTENTIAL OF SQUID (*Loligo* sp.) INK EXTRACT POWDER AS WHITE SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) IMMUNOSTIMULANT AGAINST INFECTIOUS MYONECROSIS VIRUS (IMNV)" GUIDED BY Dr. Ir. MOHAMAD FADJAR, M.Sc. AND Dr. Ir. ARNING WILUJENG EKAWATI, M.S.**

White shrimp (*L. vannamei*) is an alternative shrimp besides tiger shrimp (*Penaeus monodon*) can be cultivated intensively has the advantage of being able to grow as fast as tiger shrimp (3 g/week). The problem that arises in the commodity of white shrimp is shrimp disease attacks. Constraints on shrimp farmers are IMNV disease in pond. Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) is a virus that attacks white shrimp in the muscles and hepatopancreas that threatens shrimp culture in Indonesia and even the world. In shrimp aquaculture health management, disease prevention strategies can be done in various ways, including immunostimulant. One alternative immunostimulant that can be used to improve the shrimp immune defense system is squid ink extract powder. Squid (*Loligo* sp.) ink extract is known in addition to being used to treat diseases by bacteria it can also be used to fight disease by viruses because it is thought to contain an alkaloid compound. Therefore this research discuss the effect of non-specific immune response of white shrimp (*L. vannamei*) which has been treated with squid (*Loligo* sp.) ink extract powder to against IMNV.

The method used in this research is experimental method. Steps undertaken for conducting research include extracting squid ink into powder, identification of squid ink extract active compounds with Fourier Transform Infrared (FTIR) and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS), Polymerase Chain Reaction (PCR) test of shrimp infected IMNV, preparation of containers and test animals, manufacture of IMNV inoculums, Lethal Dose 50 (LD<sub>50</sub>) and Lethal Concentration 50 (LC<sub>50</sub>) test, supplementation of squid ink extract powder in feed, feeding treatment, IMNV challenge test in white shrimp, and rearing. During maintenance, the immune parameters and water quality parameters were tested. Shrimp immune parameters observed include Total Haemocyte Count (THC), Respiratory Burst (RB), Superoxide Dismutase (SOD), Survival Rate. Measurement of water quality parameters observed include temperature, degree of acidity (pH), dissolved oxygen (DO), salinity, nitrate, nitrite, ammonia, Total Organic Matter (TOM), and alkalinity.

The results obtained from this study are the administration of immunostimulant squid ink extract powder can increase the activity of non-specific immune response of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to fight IMNV. The increase in immune activity was marked by an increase in the highest Total Haemocyte Count (THC) of  $59.7 \times 10^5$  cells/ml, the highest Respiratory Burst (RB) of 1.13, and the highest Superoxide Dismutase (SOD) of 0.98 units/ml. The results is supported by a high Survival Rate (SR) of 83.33%. Research results obtained after IMNV infection showed the most optimal dose for white shrimp is 500 mg/kg.



DAFTAR ISI

<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Biologi Udang Vaname ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) .....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi .....	6
2.1.2 Habitat dan Penyebaran .....	7
2.1.3 Kebiasaan Makan .....	8
2.2 Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi ( <i>Loligo</i> sp.) .....	9
2.2.1 Kandungan Senyawa Aktif pada Ekstrak Tinta Cumi-Cumi ( <i>Loligo</i> sp.) .....	10
2.2.2 Ekstraksi Tinta Cumi-Cumi ( <i>Loligo</i> sp.) .....	11
2.2.3 Pembubukan Ekstrak Kasar .....	11
2.2.4 Suplementasi Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi pada Pakan .....	12
2.3 Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) .....	13
2.3.1 Biologi Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) .....	13
2.3.2 Habitat dan Penyebaran .....	14
2.3.3 Cara Infeksi .....	15
2.3.4 Virulensi .....	16
2.3.5 Gejala Klinis Udang Vaname yang Terinfeksi IMNV .....	17
2.4 Sistem Pertahanan Tubuh Udang Vaname ( <i>L. vannamei</i> ) .....	19
2.5 Imunostimulan .....	22
2.6 Mekanisme Masuknya Imunostimulan pada Udang Vaname .....	22
2.7 <i>Total Haemocyte Count</i> (THC) .....	23
2.8 <i>Respiratory Burst</i> (RB) .....	24
2.9 <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) .....	25
<b>3. KERANGKA KONSEP PENELITIAN</b> .....	27
3.1 Landasan Teori .....	27
3.2 Kerangka Konsep Penelitian .....	28
3.3 Kerangka Operasional Penelitian .....	29
3.4 Kebaruan Penelitian .....	30
3.5 Hipotesis .....	32
3.6 Strategi Publikasi .....	32

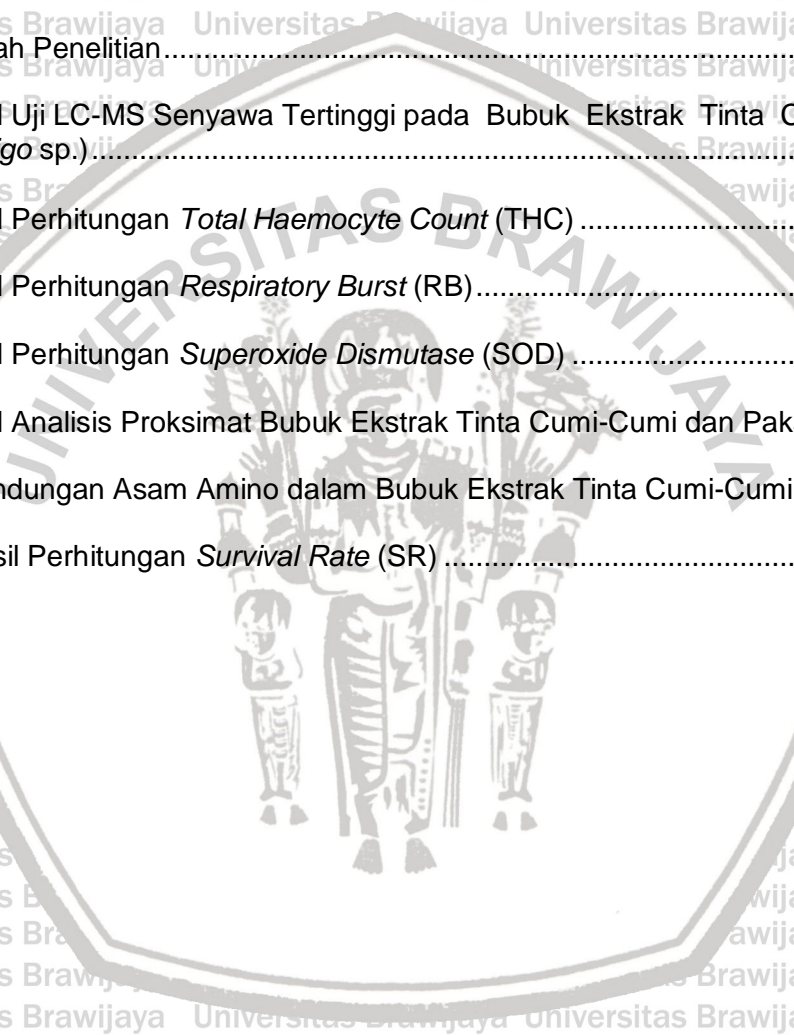




<b>4. MATERI DAN METODE PENELITIAN</b> .....	34
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	34
4.2 Materi.....	34
4.3 Alat dan Bahan Penelitian.....	35
4.3.1 Alat-Alat Penelitian.....	35
4.3.2 Bahan-Bahan Penelitian.....	35
4.4 Metode Penelitian.....	35
4.5 Rancangan Penelitian.....	35
4.6 Prosedur Penelitian.....	36
4.6.1 Pembuatan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi ( <i>Loligo sp.</i> ).....	37
4.6.2 Identifikasi Senyawa Aktif.....	39
4.6.3 Pemeliharaan Udang Vaname.....	40
4.6.4 Pengamatan Parameter Imun Udang Vaname.....	46
4.6.5 Uji Proksimat Pakan.....	48
4.6.6 <i>Survival Rate</i> (SR).....	49
4.6.7 Kualitas Air.....	49
4.7 Analisis Data.....	50
<b>5. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	51
5.1 Identifikasi Senyawa Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi ( <i>Loligo sp.</i> ).....	51
5.1.1 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR).....	51
5.1.2 <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i> (LC-MS).....	54
5.2 Hasil Uji LD <sub>50</sub> dan LC <sub>50</sub> .....	59
5.2.1 Uji <i>Lethal Dose</i> 50 (LD <sub>50</sub> ) IMNV pada Udang Vaname.....	59
5.2.2 Uji <i>Lethal Concentration</i> 50 (LC <sub>50</sub> ) Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi pada Udang Vaname.....	59
5.3 Konfirmasi Virus IMNV dengan PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ).....	60
5.4 Respon Imun Udang Vaname.....	62
5.4.1 <i>Total Haemocyte Count</i> (THC).....	62
5.4.2 <i>Respiratory Burst</i> (RB).....	67
5.4.3 <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD).....	72
5.5 Hasil Analisis Proksimat.....	76
5.6 <i>Survival Rate</i> .....	79
5.7 Kualitas Air.....	84
5.7.1 Suhu.....	84
5.7.2 Oksigen Terlarut (DO).....	84
5.7.3 Derajat Keasaman (pH).....	85
5.7.4 Salinitas.....	85
5.7.5 Amonia.....	85
5.7.6 Nitrit.....	86
5.7.7 Nitrat.....	86
5.7.8 TOM.....	86
5.7.9 Alkalinitas.....	87
<b>6. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	88
6.1 Kesimpulan.....	88
6.2 Saran.....	88
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	89
<b>LAMPIRAN</b> .....	103

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Penelitian Terdahulu.....	30
2. Strategi Publikasi .....	33
3. Rancangan Perlakuan .....	36
4. Denah Penelitian.....	36
5. Hasil Uji LC-MS Senyawa Tertinggi pada Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi ( <i>Loligo</i> sp.).....	54
6. Hasil Perhitungan <i>Total Haemocyte Count</i> (THC) .....	62
7. Hasil Perhitungan <i>Respiratory Burst</i> (RB).....	68
8. Hasil Perhitungan <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) .....	72
9. Hasil Analisis Proksimat Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi dan Pakan X .....	76
10. Kandungan Asam Amino dalam Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi.....	77
11. Hasil Perhitungan <i>Survival Rate</i> (SR) .....	79





DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Udang Vaname .....	7
2. Alat Spray Dryer .....	12
3. Morfologi IMNV .....	13
4. Distribusi Geografis Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) di Seluruh Dunia ..	15
5. Gejala Klinis Udang Vaname ( <i>L. vannamei</i> ) yang Terinfeksi Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) .....	18
6. Udang yang Menunjukkan Tanda Klinis IMNV .....	18
7. Sistem Imun pada Udang .....	20
8. Proses Pertahanan Sel .....	21
9. Proses Fagositosis Patogen Virus .....	21
10. Klasifikasi Hemosit .....	24
11. Klasifikasi Hemosit .....	24
12. Kerangka Konsep Penelitian .....	28
13. Kerangka Operasional Penelitian .....	29
14. Diagram Ekstraksi Tinta Cumi-Cumi .....	39
15. Hasil Uji FTIR Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi ( <i>Loligo sp.</i> ) .....	51
16. Kromatogram Tunggal Betain Berdasarkan Ion Molekuler (m/z) .....	55
17. Kromatogram Tunggal Asam Sinamat Berdasarkan Ion Molekuler (m/z) .....	55
18. Kromatogram Tunggal Kolin Berdasarkan Ion Molekuler (m/z) .....	56
19. Hasil PCR Udang Vaname yang Diinfeksi IMNV .....	60
20. Hasil PCR Sampel Inokulum IMNV .....	61
21. Hubungan antara Perlakuan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi terhadap <i>Total Haemocyte Count</i> (THC) .....	63
22. Hubungan antara Perlakuan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi terhadap <i>Respiratory Burst</i> (RB) .....	70



23. Hubungan antara Perlakuan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi terhadap  
*Superoxide Dismutase (SOD)*..... 73

24. Hubungan antara Perlakuan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi terhadap  
*Survival Rate (SR)* ..... 80





DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan yang Digunakan Pada Saat Penelitian.....	103
2. Hasil Uji PCR Udang yang Terinfeksi IMNV.....	105
3. Hasil Uji RB dan SOD Minggu 0.....	106
4. Hasil Uji RB dan SOD Minggu 1.....	107
5. Hasil Uji RB dan SOD Minggu 2.....	108
6. Hasil Uji RB dan SOD Minggu 3.....	109
7. Hasil Uji LC-MS Kandungan Senyawa pada Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi.....	110
8. Hasil Uji <i>Lethal Dose</i> 50 (LD <sub>50</sub> ) IMNV pada Udang Vaname.....	114
9. Hasil Uji <i>Lethal Concentration</i> 50 (LC <sub>50</sub> ) Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi pada Udang Vaname.....	115
10. Data Perhitungan <i>Total Haemocyte Count</i> .....	117
11. Data Perhitungan <i>Respiratory Burst</i> .....	124
12. Data Perhitungan <i>Superoxide Dismutase</i> .....	130
13. Hasil Analisis Proksimat Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi dan Pakan X.....	136
14. Data Perhitungan <i>Survival Rate</i> .....	137
15. Data Pengamatan Kualitas Air.....	140
16. Dokumentasi Penelitian.....	148



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Direktorat Jendral Perikanan Budidaya (2017) melaporkan bahwa capaian produksi udang vaname tahun 2016 mencapai 488.019 ton dari target awal 484.002 ton sehingga mencapai persentase 100,83%. Hal tersebut menunjukkan produksi udang vaname sesuai target dan naik 19,86% dari tahun 2015.

Sementara itu volume produksi udang nasional pada tahun 2018 menurut Kementerian Kelautan dan Perikanan (2019), produksinya mencapai 1,4 juta ton udang yang meliputi udang vaname dan udang windu.

Produksi tinggi merupakan tujuan dari budidaya udang secara intensif untuk memenuhi kebutuhan pasar. Salah satu ciri budidaya intensif adalah padat penebaran yang tinggi. Padat penebaran udang yang dibudidayakan berpengaruh terhadap kebutuhan pakan, ruang gerak dan oksigen, yang selanjutnya akan berpengaruh terhadap kualitas media pemeliharaan, pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang (Budiardi, *et al.*, 2005).

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan udang alternatif selain udang windu (*Penaeus monodon*) yang dapat dibudidayakan secara intensif.

Udang vaname memiliki keunggulan yaitu dapat tumbuh secepat udang windu (3 g/minggu), dapat dibudidayakan pada kisaran salinitas yang lebar (0,5-45 ppt), kebutuhan protein yang lebih rendah (20-35%) dibanding udang windu, mampu mengkonversi pakan dengan lebih baik (FCR 1,2-1,6) serta dapat ditebar dengan kepadatan tinggi hingga lebih dari 150 ekor/m<sup>2</sup> (Budiardi, *et al.*, 2005).

Perkembangan sistem budidaya dari tradisional ke intensif pada mayoritas tambak udang vaname memiliki potensi terhadap peningkatan pencemaran lingkungan. Kurang optimalnya pemanfaatan pakan yang berlebihan akan



menyebabkan penumpukan bahan organik. Penguraian bahan organik memerlukan oksigen dalam prosesnya, sehingga ketersediaan oksigen bagi biota di dalamnya menjadi berkurang. Jika hal ini terjadi secara terus menerus maka akan menyebabkan kematian bagi udang dan biota lainnya. Bahan pencemaran yang sulit untuk diuraikan oleh mikroorganisme juga menyebabkan penimbunan dan berakibat kerusakan bagi lingkungan yang secara langsung akan mengganggu organisme yang hidup di lingkungan tersebut. Bahan pencemaran organik yang berfungsi sebagai pupuk justru merugikan akibat blooming alga dan tanaman air yang menyebabkan terjadinya kompetisi oksigen di perairan. Faktor-faktor di atas merupakan penyebab menurunnya ketahanan tubuh organisme terhadap serangan penyakit karena kualitas lingkungan yang buruk, jika hal ini dibiarkan secara terus menerus maka kematian secara massal akan terjadi sehingga populasi akan menurun (Kilawati dan Maimunah, 2015).

Usaha pengembangan budidaya udang tidak dapat terlepas dari adanya penyakit. Penyakit merupakan kendala utama dalam usaha pengembangan usaha budidaya karena dapat menimbulkan kematian relatif tinggi (Utami, *et al.*, 2016). Kendala pada pembudidaya udang saat ini adanya penyakit IMNV (*Infectious Myonecrosis Virus*) di pertambakan. IMNV merupakan salah satu virus yang menyerang udang vaname pada bagian otot dan hepatopankreas yang mengancam budidaya udang di Indonesia bahkan dunia (Sarah, *et al.*, 2018).

Penyakit IMNV pertama kali menyerang udang vaname di Piaui (Timur Laut, Brazil) pada 2002 (Umiliana, *et al.*, 2016). Di Indonesia, penyakit myonecrosis pertama kali dilaporkan terjadi di Situbondo pada tahun 2006, dengan gejala klinis serupa dengan kejadian wabah myonecrosis di Brazil berupa jaringan otot berwarna putih akibat nekrosis ekstensif, khususnya bagian punggung dan ekor (Zaujat, *et al.*, 2016).



Penyakit myonecrosis biasanya terjadi secara akut di tambak dengan tingkat kematian yang tinggi dan gejala klinis pada udang muda, kemudian perjalanan penyakit menjadi kronis dengan tingkat kematian mencapai 40-70%.

Penularan IMNV terjadi secara horizontal karena kanibalisme dan melalui air, sedangkan penularan secara vertikal diduga terjadi dari induk ke benur (Zaujat, *et al.*, 2016). IMNV menginfeksi udang pada stadia pasca-larva, juvenil dan dewasa.

Udang pada stadia juvenil dan *subadult* merupakan tahapan yang paling rentan terhadap infeksi IMNV. Infeksi IMNV dapat menyebabkan mortalitas mencapai 40% hingga 70% (Umiliana, *et al.*, 2016).

Dalam manajemen kesehatan budidaya udang, strategi pencegahan penyakit dapat dilakukan melalui berbagai cara seperti penggunaan bahan-bahan kimia dan antibiotik, bakteri probiotik, SPF (*specific pathogen free*) dan SPR (*specific pathogen resistance*), sistem produksi biosekuriti, dan imunostimulan.

Penggunaan antibiotik memiliki dampak negatif yaitu akumulasi residu dalam jaringan ikan dan munculnya *drug-resistance pathogen*. Probiotik berguna dalam mengontrol infeksi mikroba melalui kompetisi dengan mikroorganisme berbahaya/patogen, produksi bahan-bahan penghambat atau melalui stimulasi sistim imun udang yang dibudidayakan. Udang SPR hanya resisten terhadap patogen tertentu dan dengan adanya mutasi genetik, udang SPR yang awalnya resisten menjadi rentan terhadap patogen yang baru. Resistensi udang terhadap patogen juga berbeda-beda berdasarkan siklus hidup udang. Meskipun strategi

biosekuriti seperti pengurangan pergantian air, penyaringan, pengeringan kolam, *screening* (penapisan) pascalarva untuk membatasi masuknya patogen dalam lingkungan budidaya, dan bahkan dikombinasikan dengan udang SPR secara nyata meningkatkan produksi, namun penyakit terus saja terjadi dalam usaha budidaya. Penggunaan nutrisi yang seimbang kini sedang diteliti untuk meningkatkan respon terhadap stres dan infeksi patogen misalnya suplementasi



UFA, sterol dan vitamin dalam pakan. Pendekatan lain adalah penggunaan imunostimulan dalam mencegah penyakit infeksius (Manoppo, *et al.*, 2011).

Sumber imunostimulan bagi akuakultur dapat diproduksi secara kimia atau biologi. Bahan-bahan imunostimulator tersebut dapat dikelompokkan berdasarkan fungsi maupun sumbernya dan terdiri atas beragam kelompok yakni berupa bakteri dan produk bakteri, yeast, kompleks karbohidrat, faktor nutrisi, ekstrak hewan, ekstrak tumbuhan, dan obat-obatan sintetik (Manoppo, *et al.*, 2011). Pemberian imunostimulan yang baik harus memperhatikan dosis dan frekuensi pemberian yang optimal. Dosis pemberian imunostimulan yang tinggi dapat menekan mekanisme pertahanan, sedangkan dosis pemberian yang rendah kurang efektif untuk memberikan respon imun. Frekuensi dan pemberian imunostimulan berkelanjutan diperlukan untuk lebih memberikan kemampuan imun agar mencapai proteksi yang optimal (Febriani, *et al.*, 2013). Salah satu alternatif sumber imunostimulan yang dapat digunakan untuk meningkatkan sistem pertahanan tubuh udang adalah bubuk ekstrak tinta cumi-cumi.

Kandungan lengkap dalam tinta cumi masih terus diteliti. Beberapa penelitian mengatakan bahwa kandungan utama tinta cumi ialah melanin. Kandungan tinta seperti eumelanin terdiri dari 5,6-dihydroxyindole (DHI) dan 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) serta kandungan 2-carboxyl indole (Nasution, *et al.*, 2017). Zhong, *et al.* (2009) menyatakan bahwa tinta cumi-cumi memiliki kemampuan meningkatkan jumlah leukosit, bersifat antioksidan, serta anti-retrovirus. Hal ini juga senada dengan pendapat Soliman, *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa tinta cumi-cumi adalah bahan bioaktif laut multifungsi yang dapat meningkatkan jumlah leukosit, memiliki sifat antioksidan, antiradiasi, anti-retrovirus dan antibakteri. Potensi ekstrak tinta cumi sebagai imunostimulan bagi organisme akuatik masih sedikit dibahas. Oleh karena itu pada penelitian ini akan membahas tentang pengaruh respon imun non spesifik udang vaname (*L.*

*vanname*) yang telah diberi perlakuan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) untuk melawan penyakit IMNV.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut di atas maka didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana respon imun non spesifik udang vaname (*L. vanname*) yang telah diberi perlakuan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) untuk melawan penyakit IMNV?
2. Berapa konsentrasi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) yang paling optimal dalam meningkatkan imun non spesifik udang vaname (*L. vanname*) untuk melawan penyakit IMNV?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut di atas, maka tujuan yang diharapkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk menganalisis respon imun non spesifik udang vaname (*L. vanname*) yang telah diberi perlakuan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) untuk melawan penyakit IMNV
2. Untuk mengetahui dosis optimal bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dalam meningkatkan imun non spesifik udang vaname (*L. vanname*) untuk melawan penyakit IMNV.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

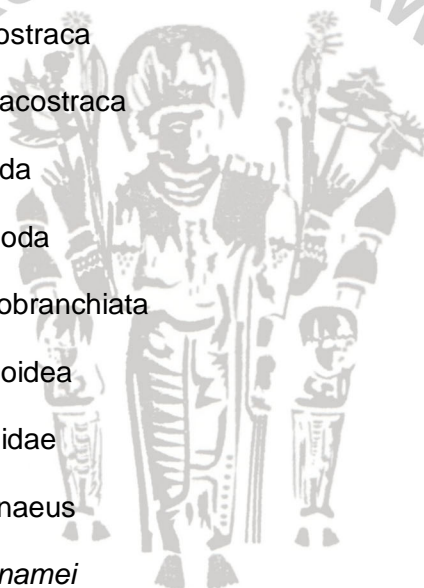
Klasifikasi udang vaname menurut Dugassa dan Gaetan (2018) adalah

sebagai berikut:

Domain	: Eukarya
Kingdom	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Subfilum	: Crustacea
Kelas	: Malacostraca
Subkelas	: Eumalacostraca
Superordo	: Eucarida
Ordo	: Decapoda
Subordo	: Dendrobranchiata
Superfamili	: Penaeoidea
Famili	: Penaeidae
Genus	: <i>Litopenaeus</i>
Spesies	: <i>L. vannamei</i>

Menurut Suyanto dan Takarina (2009), tubuh udang famili Penaeidae dapat dibedakan menjadi tiga bagian, yaitu kepala-dada (chepalothorax), badan (abdomen), dan ekor. Bagian chepalothorax tertutup oleh satu kelopak yang disebut karapas. Lebih rinci, karapas mempunyai tonjolan yang meruncing ke depan, yaitu rostrum. Rostrum tampak bergerigi pada tepi-tepinya. Di bawah pangkal rostrum terdapat sepasang mata majemuk yang bertangkai. Mulut berada

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



di bagian bawah mata, dilengkapi dengan kelengkapan anggota kepala yang lain seperti antenna, antennula, mandibula, dan sebagainya.

Morfologi udang vaname yaitu berwarna putih transparan dengan kromatofor kebiruan yang terkonsentrasi di dekat telson dan uropod. Memiliki dua gigi rostrum di ventral dan delapan atau sembilan gigi rostrum di bagian dorsal.

Udang vaname termasuk subgenus *Litopenaeus* dan spesies betinanya memiliki telicium yang terbuka tanpa penutup. Proses perkawinan dimulai dengan loncatan tiba-tiba dari betina. Pada saat yang sama udang jantan melakukan pengeluaran sperma. Proses kawin berlangsung sekitar satu menit. Sepasang vaname yang berbobot 30-45 gram akan menghasilkan sekitar 100.000-250.000 butir telur dengan diameter 0,22 mm (Ruswahyuni, *et al.*, 2010). Morfologi udang vaname dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Udang Vaname (Vergel, *et al.*, 2019)

### 2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Udang Penaeidae bersifat euryhaline yang sangat tahan terhadap fluktuasi kadar garam. Di tambak yang berair dangkal, daya tahan terhadap guncangan suhu juga cukup besar. Di malam hari, suhu dapat mencapai 22°C atau di bawah 25°C. Namun di siang hari, terutama musim kemarau mungkin suhu sering mencapai 31°C. Meskipun demikian, udang vaname tetap dapat tumbuh dengan cukup baik (Suyanto dan Takarina, 2009).

Menurut Pasongli, *et al.* (2015), habitat yang sesuai untuk pertumbuhan udang vaname yaitu pada suhu berkisar 27-32°C. Udang vaname dapat hidup



pada kisaran kadar garam yang cukup luas yaitu dari 0,5-45 ppt. pH yang optimal untuk udang vaname adalah 7,3-8,5.

Udang vaname dapat hidup pada salinitas 0,1-60 ppt (tumbuh dengan baik 10-30 ppt, ideal 15-25 ppt) dan suhu 12-37°C (tumbuh dengan baik pada suhu 24-24°C dan ideal pada suhu 28-31°C). Di beberapa negara Amerika Selatan, Amerika Tengah, dan Cina, udang vaname juga dipelihara di lingkungan air tawar dan menunjukkan perbedaan produktivitas yang tidak signifikan dengan yang dipelihara di habitatnya (Kordi, 2009).

### 2.1.3 Kebiasaan Makan

Kebiasaan makan dan cara makan (*feeding and food habit*) udang vaname yaitu tergolong hewan *omnivorous scavenger*, pemakan segala (hewan dan tumbuhan), dan bangkai. Jenis makanan yang dimakan udang vaname antara lain plankton (fitoplankton dan zooplankton), alga bentik, detritus, dan bahan organik lainnya. Udang vaname lebih rakus (*piscivorous*) dan membutuhkan protein yang lebih rendah. Udang vaname membutuhkan pakan yang mengandung protein 32-38% (Kordi, 2009).

Kebiasaan makan (*feeding behaviour*) udang vaname mencari makan di dasar perairan (benthic). Pada sistem intensif untuk pakan utamanya menggunakan pellet. Kandungan protein pada pakan udang buatan (pellet) cukup tinggi, yaitu sekitar 40%. Sehingga proses pembusukan (perombakan) pellet akan menghasilkan senyawa nitrogen anorganik berupa  $\text{NH}_3\text{-N}$  dan  $\text{NH}_4^+$  yang merupakan salah satu senyawa toksik bagi udang. Kualitas pakan yang baik tergantung pada kandungan protein, lemak, serat kasar dan beberapa nutrisi lain yang diperlukan bagi pertumbuhan udang. Nutrisi pada pakan seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin menjadi faktor penting yang mendukung kelangsungan hidup dan laju pertumbuhan pada udang (Romadhona, *et al.*, 2016).



## 2.2 Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (*Loligo sp.*)

Bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) merupakan suatu inovasi bahan obat yang terbuat dari ekstrak tinta cumi yang kemudian diolah menjadi bubuk.

Tinta cumi-cumi bersifat alkaloid, sehingga tinta tersebut tidak disukai oleh predator, terutama bagi ikan. Alkaloid merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder yang memiliki atom nitrogen dan bersifat basa. Beberapa alkaloid dilaporkan memiliki manfaat sebagai pengobatan. Tinta cumi-cumi mengandung butir-butir melanin atau pigmen hitam. Melanin alami adalah melanoprotein yang mengandung 10-15% protein, sehingga menjadi salah satu sumber protein yang baik karena sama baiknya dengan kandungan protein yang ada pada dagingnya (Agusandi, *et al.*, 2013).

Menurut Fadjar, *et al.* (2016), tinta cumi-cumi dianggap sebagai produk limbah perikanan yang kurang dioptimalkan kegunaannya. Padahal berbagai komponen bioaktif amina sederhana ditemukan pada tinta cumi-cumi. Tinta cumi-cumi mengandung melanin, protein, lemak dan glikosaminoglikan (Nair, *et al.*, 2011). Berdasarkan hasil penelitian Thang, *et al.* (2019), bahwa kandungan melanin pada tinta cumi-cumi dapat melindungi udang vaname dari penyakit *White Spot Syndrome Virus* (WSSV).

Pembuatan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) sesuai dengan pendapat Zaharah dan Rabeta (2018), sampel cumi-cumi dengan ukuran dan fisik yang setara dikumpulkan. Kemudian dilakukan pembedahan pada cumi-cumi dan kelenjar tinta dapat dikeluarkan. Tinta cumi-cumi diletakkan pada wadah plastik bersih kemudian dimasukkan ke dalam freezer. Tinta yang sudah beku dimasukkan ke dalam *dry freeze* untuk mengalirkan air dan menyimpang senyawa yang ada di dalam sampel. Tinta yang berbentuk padatan kemudian dikeringkan dan digiling menjadi bubuk halus menggunakan mesin penggiling dan disimpan pada wadah plastik yang kedap terhadap udara. Wadah ditutup dengan aluminium



foil untuk mencegah masuknya cahaya. Sampel disimpan di dalam *freezer* dengan suhu 20°C.

### 2.2.1 Kandungan Senyawa Aktif pada Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (*Loligo sp.*)

Tinta cumi-cumi mengandung protein sebesar 10,88% yang terdiri atas asam amino esensial dan non esensial. Tinta cumi-cumi mengandung asam amino esensial yang dominan berupa lisin, leusin, arginin dan fenilalanin. Sementara kadar asam amino non esensial yang dominan adalah asam glutamat dan asam aspartat (Hidayati, *et al.*, 2016).

Tinta cumi-cumi mengandung melanin, protein, lemak dan glikosaminoglikan. Tinta cumi-cumi dapat berperan sebagai obat pelindung sel pada pengobatan kanker dengan cara kemoterapi, melalui peningkatan jumlah sel leukosit dan sel nukleat sumsum tulang, yang jumlahnya menurun akibat penggunaan obat pembunuh sel tumor tersebut. Melanin dari tinta cumi-cumi mempunyai aktivitas anti tumor dengan menghambat aktivitas plasmin untuk meningkatkan thromboxan dan meningkatkan sistem imun untuk membunuh sel kanker. Melanin juga berperan sebagai antioksidan, anti radiasi, dan anti rotavirus (Fitrial dan Khotimah, 2017).

Menurut Girija, *et al.* (2012), tinta cumi telah terbukti berperan di dunia pengobatan alternatif. Tinta cumi-cumi juga memiliki antimikroba terhadap bakteri biofilm. Tinta cumi-cumi memiliki kandungan senyawa alkaloid. Menurut Utomo, *et al.* (2015), alkaloid terbukti memiliki kemampuan sebagai promotor pertumbuhan, anti stres, imunostimulan dan anti bakteri. Pratama, *et al.* (2018), menyebutkan bahwa alkaloid bersifat toksik terhadap mikroba, sehingga efektif membunuh bakteri dan virus. Alkaloid mampu merangsang pembentukan sel-sel hemosit yang kemudian dilepaskan ke dalam hemolimfa. Alkaloid juga mampu menghentikan reaksi berantai radikal bebas.



### 2.2.2 Ekstraksi Tinta Cumi-Cumi (*Loligo sp.*)

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Pelarut yang digunakan sangat beragam, diantaranya n-heksana, kloroform, dan methanol, dimana ketiganya merupakan larutan pro analisis yang memiliki kemurnian sangat tinggi. Kandungan senyawa aktif yang diketahui dalam simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar (Fajarullah, *et al.*, 2014).

Tinta cumi-cumi mengandung senyawa antioksidan yang tidak tahan panas, sehingga metode maserasi yang merupakan ekstraksi secara dingin akan lebih optimal dalam mengekstraksi senyawa antioksidan (Huliselan, *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Girija, *et al.* (2012), tinta cumi diekstraksi menggunakan pelarut polar dan non polar seperti heksana, petroleum eter, kloroform, butanol, etil asetat, aseton, methanol, dan etanol dengan perbandingan 1:3. Hasil ekstraksi kemudian disimpan pada suhu 4°C selama 7 hari dalam botol kaca steril.

### 2.2.3 Pembubukan Ekstrak Kasar

Proses pembubukan ekstrak kasar tinta cumi-cumi dilakukan dengan menggunakan metode pengeringan sembur (*spray drying*) (Gambar 2).

Pengeringan sembur merupakan suatu metode pengeringan yang banyak digunakan untuk menghasilkan partikel halus berupa serbuk atau kristal dengan cara mendispersikan larutan ke dalam udara panas dalam bentuk tetesan kecil (droplet). Proses pengeringan sembur melibatkan tiga langkah dasar, yaitu atomisasi larutan, pencampuran gas-droplet, dan pengeringan droplet.

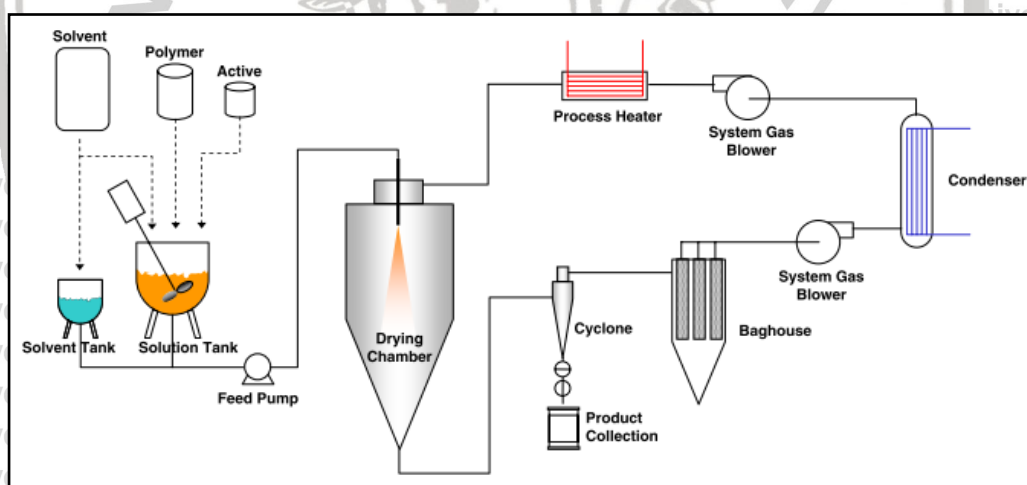
Pembentukan droplet pada proses pengeringan sembur dapat dilakukan dengan menggunakan tiga macam atomizer yaitu nosel bertekanan tinggi, nosel dengan



dua fluida, dan piringan putar berkecepatan tinggi. Droplet dapat meningkatkan luas permukaan kontak antara fluida dengan udara pengering, sehingga dapat meningkatkan laju pengeringan (Pinalia, 2014).

Tahapan proses pengeringan sembur dilakukan dengan cara melarutkan, mengemulsikan, atau mendispersikan ke dalam cairan pembawa, diikuti penyemprotan dalam bentuk kabut ke dalam *chamber* panas (Hayati, *et al.*, 2011).

Keuntungan menggunakan pengeringan sembur adalah waktu pengeringannya sangat singkat, sebagian besar cita, rasa, warna, dan gizi bahan pangan dapat dipertahankan. Tujuan dilakukan pengeringan adalah mengurangi resiko kerusakan karena kegiatan mikroba, menghemat ruang penyimpanan, mengurangi berat dan volume bahan, dan untuk mendapatkan produk yang lebih sesuai dengan penggunaannya (Nurhayati dan Andayani, 2014).



Gambar 2. Alat *Spray Dryer* (Dobry, *et al.*, 2009)

### 2.2.4 Suplementasi Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi pada Pakan

Suplementasi pakan dilakukan untuk meningkatkan nutrisi pakan sehingga dapat mendukung pertumbuhan dan perkembangbiakan organisme budidaya (Tripuratapini, *et al.*, 2015). Prosedur suplementasi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) ke dalam pakan dengan menggunakan metode penyemprotan (Kaemudin, *et al.*, 2016). Pertama menimbang bubuk ekstrak tinta cumi-cumi

sesuai dosis perlakuan. Kemudian melarutkan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi ke dalam air hangat sebanyak 10 mL, lalu disemprotkan pada pakan dan diaduk rata.

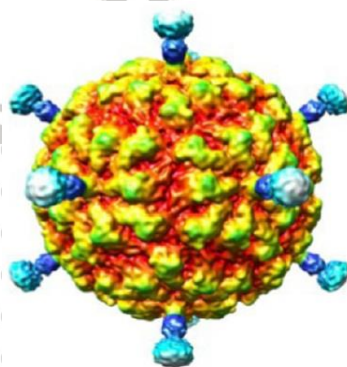
Setelah selesai pakan di simpan di inkubator atau lemari pengering selama kurang lebih 24 jam.

## 2.3 Infectious Myonecrosis Virus (IMNV)

### 2.3.1 Biologi Infectious Myonecrosis Virus (IMNV)

Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) merupakan jenis virus dari famili Totiviridae, genus Giardiavirus. Virus ini tidak beramplop, memiliki kapsid ikosahedral simetri berdiameter 40 nm (Poulos, *et al.*, 2006). IMNV termasuk dalam anggota famili Totiviridae. Famili Totiviridae mencakup virus yang ditandai oleh virion isometrik, berdiameter sekitar 40 nm (Kibenge dan Godoy, 2016).

Permukaan luar dari kapsid IMNV terdiri dari 12 daerah berbentuk pentagon yang dibatasi oleh ngarai lebar yang membentang. Bagian tengah setiap pentagon memiliki tonjolan kecil yang sebagian besar dikaitkan dengan kaki serabut. Bagian dalam virus berisi kapsid berlapis tunggal dengan ketebalan maksimum  $\approx 50 \text{ \AA}$  dan diameter luar  $\approx 450 \text{ \AA}$ . Kapsid memiliki permukaan luar yang kasar dan permukaan dalam yang halus (Tang, *et al.*, 2008). Morfologi IMNV disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Morfologi IMNV (Kibenge dan Godoy, 2016)

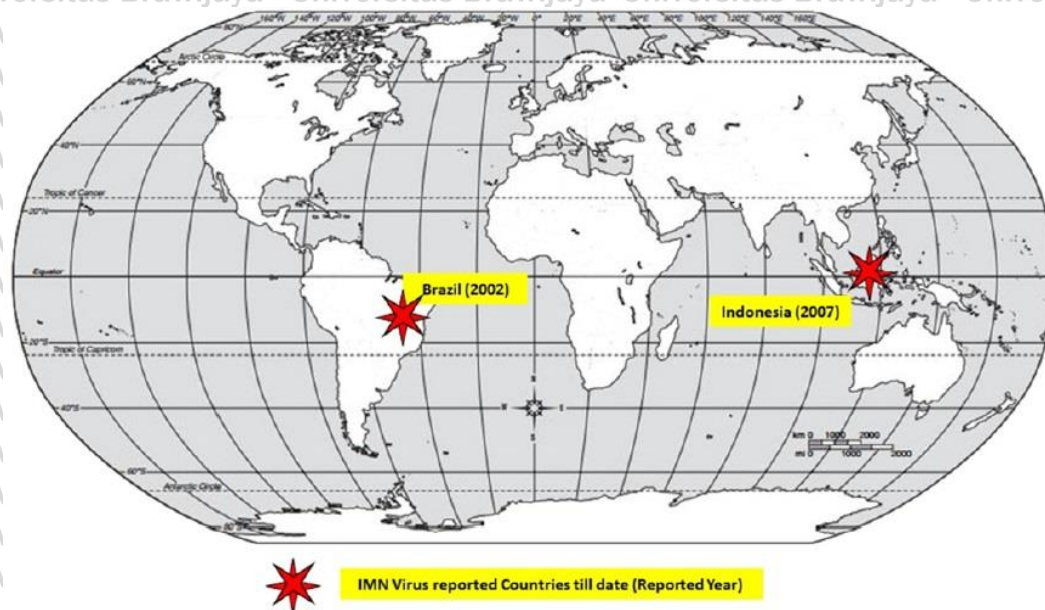


### 2.3.2 Habitat dan Penyebaran

Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) merupakan virus yang menyerang udang vaname pada beberapa tahun terakhir. IMNV atau yang lebih dikenal sebagai virus myo, pertama kali ditemukan di Brazil pada tahun 2002 dalam kolam budidaya udang vaname. Kasus IMNV di Indonesia pertama kali ditemukan pada tahun 2006 di tambak budidaya udang vaname yang ada di Situbondo, Jawa Timur dengan tingkat prevalensi pada bulan Mei 2006 sebesar 11,11%. Penyakit yang ditandai dengan nekrosis otot rangka, saluran pencernaan, dan ekor ini dapat menyebabkan kematian massal hampir 70% dari total udang yang ditebar selama satu siklus budidaya. Udang vaname yang terserang IMNV secara bertahap akan mati di dasar tambak dan dapat menyebar luas jika tidak ada pemantauan secara dini pada tambak budidaya (Rekasana, *et al.*, 2013).

Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) adalah virus udang yang dilaporkan menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup besar dalam budidaya udang. Penyakit ini umumnya menyerang juvenil dan tahap dewasa yang menyebabkan mortalitas berkisar antara 40% hingga 70%. Virus ini pertama kali dilaporkan dari Timur Laut Brazil di Amerika Selatan pada tahun 2002. Hingga 2007, penyakit ini hanya terbatas di Brazil. Tetapi pada 2007, virus ini menyebar dan dilaporkan di Indonesia untuk pertama kalinya dari negara Asia yang ditemukan di Jawa Barat, Sumatra, Bangka, Kalimantan Barat, Sulawesi Selatan, Bali, Lombok, dan Sumbawa. Penyebaran penyakit ke lokasi baru seperti Indonesia diyakini disebabkan oleh perpindahan dari induk yang terinfeksi atau pembawa virus serta postlarva udang (Prasad, *et al.*, 2017) (Gambar 4).





**Gambar 4.** Distribusi Geografis Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) di Seluruh Dunia (Prasad, *et al.*, 2017)

### 2.3.3 Cara Infeksi

Cara penularan virus IMN secara tepat belum diketahui, namun sifat kanibalisme udang yang terinfeksi dapat menjadi salah satu cara penularan penyakit ini secara horizontal. Peluang hidup virus yang masuk ke saluran pencernaan organisme yang memakan hewan yang terinfeksi cukup tinggi, sehingga penyebaran virus melalui pakan kemungkinan akan terjadi. Selain itu penularan melalui air dan penularan secara vertikal dari induk ke benur juga menjadi perantara penyebaran virus ini. Penelitian menyatakan bahwa virus dapat ditularkan ke hewan yang rentan secara horizontal melalui vektor, hidup bersama melalui air, kanibalisme, dan secara vertikal yang diturunkan induk secara maternal (Prasad, *et al.*, 2017).

Penyebaran IMNV pada tiap daerah dimungkinkan terjadi secara vertikal maupun horizontal. Penyebaran penyakit di lokasi tambak dapat terjadi melalui beberapa cara antara lain karena udang yang karier, bangkai udang yang mati, kontak dengan objek yang sudah terkontaminasi, maupun sumber air dan udara yang terkontaminasi. Selain itu, inang (benih, induk, inang vektor, dan inang



perantara) yang terinfeksi dapat menjadi pembawa patogen pada sistem budidaya.

IMNV juga dapat menyebar melalui perantara lainnya seperti burung, anjing, serangga, dan manusia (Rekasana, *et al.*, 2013).

Menurut Liu (2016), transmisi IMNV biasanya terjadi melalui transfer horizontal, yaitu penularan agen infeksius dari individu yang sakit atau pembawa, baik melalui kontak langsung atau tidak langsung. Penularan terjadi melalui kontaminasi air dan/atau kanibalisme. Penularan vertikal adalah perpindahan agen penular dari individu yang sakit ke keturunannya, terutama dari induk ke keturunannya. Menurut Lucianus (2003), replikasi virus umumnya terdiri dari 6 tahap: (1) Penempelan (*attachment*, adsorpsi). Pada tahap ini, *receptor-binding* protein virus berikatan secara spesifik dengan reseptor pada permukaan sel inang. (2) Penetrasi (*internalisasi*). Ada 3 jenis mekanisme untuk penetrasi: fusi, endositois, dan translokasi. (3) *Uncoating*. Asam nukleat virus terpisah dari coat proteinnya. (4) Biosintesa. Tahap ini terdiri dari produksi protein-protein struktural virus dan enzim-enzim serta replikasi genom virus. (5) *Maturasi (assembly)*. Diawali dengan perakitan protein kapsid yang diikuti dengan *packaging* genom virus. (6) Pelepasan (*release*). Virus yang berenvelop lepas melalui membran plasma sel inang membentuk envelop virus, sedangkan virus yang tidak berenvelop lepas melalui ruptur membran plasma sel inang (sel inang mati).

#### 2.3.4 Virulensi

Virulensi (keganasan) dapat diukur melalui persentase kelulushidupan, gejala klinis serta waktu kematian pada masing-masing perlakuan. Virulensi berkaitan dengan beberapa faktor penyebab virulensi, seperti flagel, toksin, dan *lytic enzyme* yang terdiri dari *chitinase*, lipase, haemolysisin, *serine protease*, metalloprotease, dan *cysteine protease* (Utami, *et al.*, 2016). Tingkat virulensi (patogenitas) setiap jenis organisme patogen berbeda walaupun ditimbulkan oleh



jenis yang sama. Hal ini sangat bergantung pada jenis dan ukuran udang yang diserang, serta kondisi lingkungan perairan lokasi serangan (Yanto, 2006).

Target utama infeksi IMNV adalah otot rangka dan bukan merupakan organ vital, sehingga virulensi IMNV tidak terlalu fatal dibandingkan dengan virus lainnya seperti WSSV, YHV, dan TSV (Prasad, *et al.*, 2017). Berkembangnya virus IMNV pada udang vaname dapat menyebabkan kematian massal pada udang. Penyakit ini muncul karena kondisi lingkungan yang buruk. Gejala khas pada serangan penyakit ini yaitu terjadi perubahan warna menjadi merah pada pangkal ekor dan secara bertahap terjadi kematian di dasar tambak. Virus penyebab penyakit IMN tergolong ganas karena dapat mematikan udang vaname berumur 60-80 hari dalam waktu yang sangat cepat (Pantjara, *et al.*, 2010).

### 2.3.5 Gejala Klinis Udang Vaname yang Terinfeksi IMNV

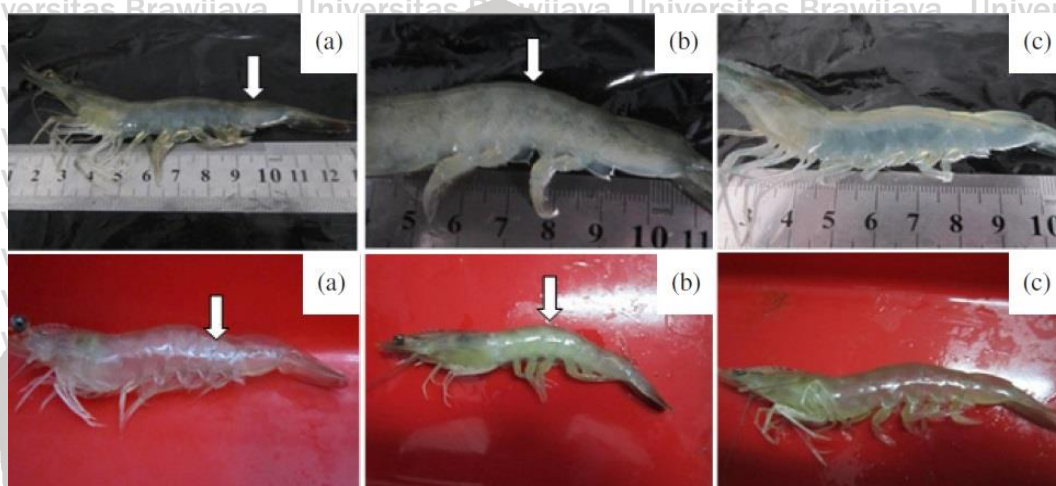
Infeksi IMNV menyebabkan nekrosis pada otot lurik perut, otot cephalothorax, dan penyakit pada organ limfoid dan jaringan insang. Lesi otot digambarkan sebagai bercak buram, terutama di daerah perut dan ekor distal, yang berevolusi dari putih susu selama tahap awal menjadi merah dalam tahap lanjut (Feijo, *et al.*, 2013). Gejala klinis infeksi IMNV pada *P. vannamei* meliputi nekrosis pada jaringan otot terutama di segmen perut distal. Ini terlihat seperti buram, keputihan, dan terjadi perubahan warna. Pemeriksaan histologis infeksi jaringan terinfeksi IMNV mengungkapkan nekrosis otot yang parah, peradangan fibrositik dan munculnya inklusi sitoplasma serta spheroid organ limfoid (Kunanopparat, *et al.*, 2011).

Udang yang terserang IMNV mengalami gangguan pada sistem motorik dan nafsu makan berkurang. Tanda klinis udang yang terserang IMNV adalah 2 ruas belakang abdomen serta pangkal ekor berwarna putih sampai kemerahan.

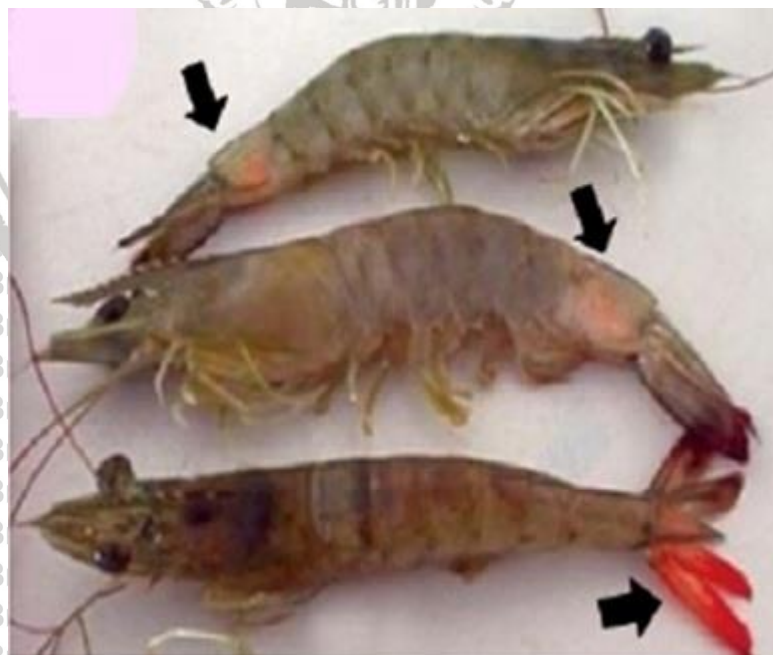
Karakteristik serangan IMNV secara patologi ditandai dengan adanya nekrosis yang tampak secara kasat mata berwarna putih pada daging udang vaname dan



berlanjut ke warna merah pada bagian ekor kipas dan 2 ruas abdomen terakhir (Rekasana, *et al.*, 2013). Seperti namanya, penyakit IMNV ditandai dengan nekrosis otot lurik perut dan cephalothorax, dengan nekrosis likuifaktif otot fibrotik pada fase akut, yang menyebabkan warna kemerahan pada area yang terkena pada udang yang terinfeksi (da Silva, *et al.*, 2016). Gejala klinis udang vaname yang terinfeksi IMNV dapat dilihat pada Gambar 5 dan Gambar 6.



**Gambar 5.** Gejala Klinis Udang Vaname (*L. vannamei*) yang Terinfeksi Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) dengan Bobot Skoring Menengah/++ (a), Berat/+++ (b), dan Tidak Terinfeksi (c). Tanda Panah Menunjukkan Nekrosis Pada Bagian Otot (Febriani, *et al.*, 2013)



**Gambar 6.** Udang yang Menunjukkan Tanda Klinis Infectious Myonecrosis Virus (IMNV). Panah Hitam Menunjukkan Jaringan Nekrotik di Segmen Perut Terakhir dan Ekor yang Memerah (Mai, *et al.*, 2019)



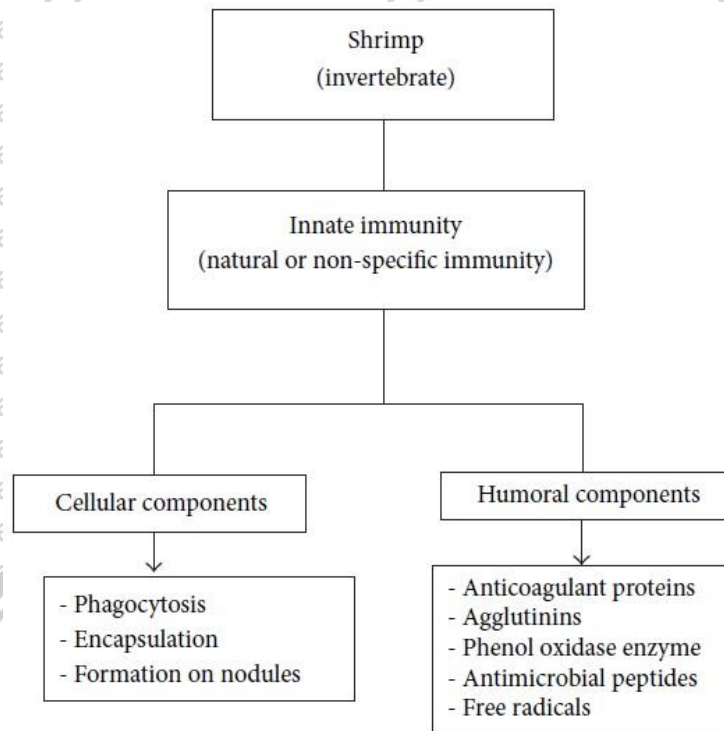
## 2.4 Sistem Pertahanan Tubuh Udang Vaname (*L. vannamei*)

Krustasea, termasuk udang memiliki sistem pertahanan tubuh non spesifik.

Hal ini dikarenakan udang tidak mempunyai imunoglobulin T dan C serta pertahanan tubuhnya hanya dilakukan secara fagositosis oleh hemosit sehingga tidak mempunyai sistem memori dalam pertahanannya. Dalam melakukan pertahanan tubuh hanya berlangsung secara selular dan humoral, yang sebagian besar berlangsung dalam hemolim (Tompo, *et al.*, 2015). Sistem imun pada udang bertumpu pada sistem imun nonspesifik, karena udang diyakini tidak memiliki reseptor pemicu terhadap patogen. Namun sistem imun non-spesifik pada udang cukup efektif sebagai pertahanan utama. Pertahanan tersebut terdapat pada hemosit yang berperan dalam sistem imun seluler dan hormonal (Ramadhani, *et al.*, 2017).

Sistem imun bawaan krustasea bereaksi terhadap mikroorganisme patogen. Sistem imun bawaan udang memiliki komponen imunitas seluler dan humoral untuk melawan mikroba yang menyerang. Imunitas seluler meliputi nodulasi, melanisasi, enkapsulasi, dan fagositosis, sedangkan komponen imun humoral meliputi peptida antimikroba, enzim pertahanan antioksidan, penghambat proteinase, sistem pengaktifasi prophenoloxidase (sistem proPO), peptida antimikroba, lektin, spesies oksigen reaktif (ROS), enzim lisosom, pembekuan darah, sitokin dan aglutinin. Sistem kekebalan udang dapat melibatkan fungsi yang berbeda seperti mengenali antigen asing, membunuh berbagai jenis patogen dan membatasi kerusakan jaringan inang (Dugassa dan Gaetan, 2018).





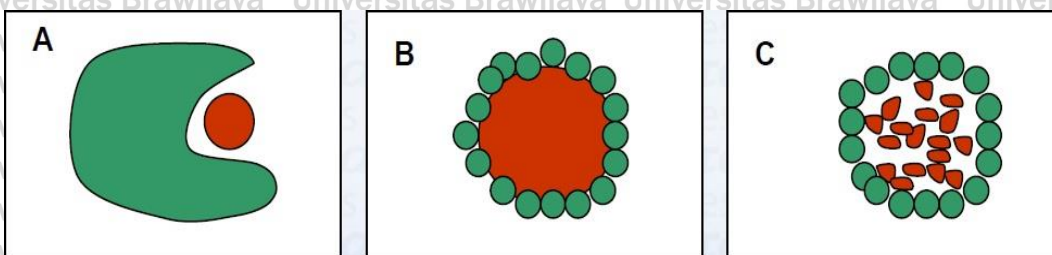
**Gambar 7.** Sistem Imun pada Udang (Lakshmi, *et al.*, 2013)

Pada krustasea, darah disebut hemolimf dan sel darah disebut hemosit.

Hemosit terdiri dari sel-sel hialin, granular, dan semi granular. Masing-masing dari mereka memiliki peran utama dalam pencegahan penyakit (Afsharnasab, *et al.*, 2014). Hemosit merupakan faktor yang sangat penting dalam sistem pertahanan seluler yang bersifat non spesifik. Kemampuan hemosit dalam aktivitas fagositosis yang dapat meningkat pada kejadian infeksi, menunjukkan pertahanan tubuh yang bersifat seluler. Meningkatnya ketahanan tubuh udang dapat diketahui dari meningkatnya aktivitas fagositosis sel-sel hemosit. Fagositosis merupakan mekanisme pertahanan non spesifik yang secara umum dapat melindungi adanya serangan patogen (Putri, *et al.*, 2013).

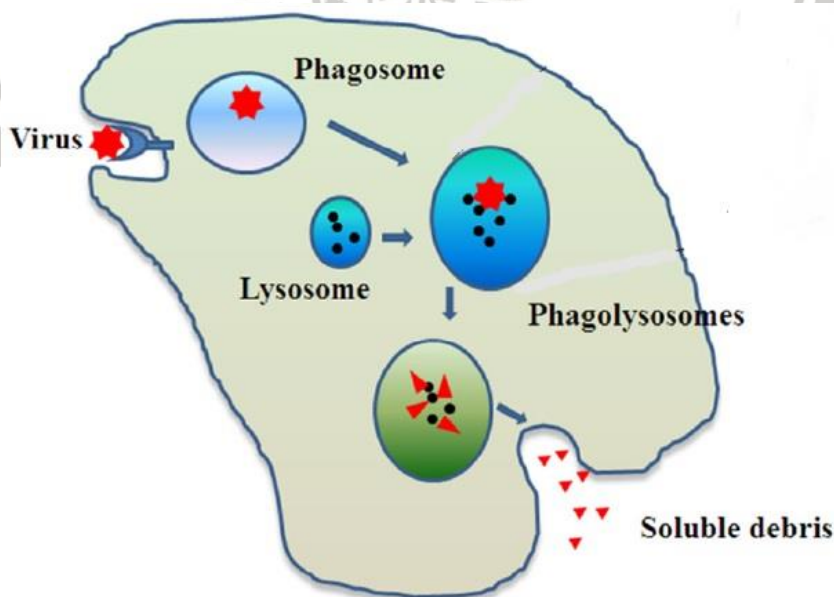
Sel hialin dicirikan dengan tidak memiliki sitoplasmik yang merupakan agranular, berukuran lebih kecil diantara sel hemosit. Sel ini melakukan fungsinya yaitu aktifitas fagositosis. Sel semi granular dicirikan dengan adanya sejumlah kecil granul. Sel ini tidak stabil *in vitro* cepat lisis dan melepaskan isinya. Aktifitas fagositosis (terbatas), enkapsulasi, proPO dan sitotoksitas merupakan fungsi dari

sel ini. Granular memiliki sejumlah besar granul, dan melakukan fungsi sebagai proPO dan sitotoksik (Jasmanindar, 2009). Ilustrasi proses pembentukan pertahanan sel dapat dilihat pada Gambar 8.



**Gambar 8.** Proses Pertahanan Sel Meliputi: (A) Fagositosis, (B) Enkapsulasi, dan (C) Pembentukan Nodul. Hemosit Ditunjukkan dengan Warna Hijau, sedangkan Organisme Asing yang Menginfeksi Ditunjukkan dengan Warna Merah (Martinez, 2007)

Salah satu respon imun udang adalah proses fagositosis. Xu, *et al.* (2014) menyatakan bahwa selama fagositosis, partikel-partikel virus pertama kali dikenali pada permukaan fagosit kemudian ditelan oleh sel untuk membentuk fagosom. Setelah terbentuk, fagosom mengalami pematangan dan kemudian fusi dengan lisosom yang selanjutnya menjadi fagolisosom yang matang. Virus di dalam fagolisosom kemudian dimatikan oleh pH rendah, proses hidrolisis, dan radikal bebas. Proses fagositosis virus dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Proses Fagositosis Patogen Virus (Xu, *et al.*, 2014)



## 2.5. Imunostimulan

Imunostimulan adalah bahan yang dapat merangsang sistem imun tubuh melalui mekanisme respon imun non spesifik dan melalui respon imun spesifik (Rauf, *et al.*, 2016). Imunostimulan merupakan senyawa kimia, obat atau bahan lainnya yang mampu meningkatkan mekanisme respon imunitas ikan, baik seluler maupun humoral (Alifuddin, 2002). Imunostimulan yang umum digunakan merupakan organisme maupun hasil sampingan organisme yang tidak virulen.

Bahan yang dapat digunakan sebagai imunostimulan antara lain berasal dari bahan kimia sintetik, derivat bakteri, polisakarida, ekstrak hewan dan tumbuhan, serta vitamin (Ermantianingrum, *et al.*, 2013).

Pemberian imunostimulan yang baik harus memperhatikan dosis pemberian yang optimal, dimana dosis aplikasi pemberian imunostimulan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi peningkatan respon imun pada udang. Dosis pemberian imunostimulan yang tinggi dapat menekan mekanisme pertahanan, sedangkan dosis pemberian yang rendah tidak cukup atau kurang efektif untuk memberikan respon imun (Putri, *et al.*, 2013).

Terdapat 3 cara untuk memberikan imunostimulan menurut Barman, *et al.* (2013), yang meliputi injeksi, perendaman dan oral. Injeksi dapat menghasilkan respon non spesifik yang kuat tetapi membutuhkan banyak biaya dan tenaga yang intensif. Perendaman menghasilkan respon imun non spesifik yang kurang kuat tetapi lebih hemat biaya daripada injeksi, dan dapat menyebabkan stres pada udang. Metode oral menghasilkan respon imun non spesifik yang bagus dan dapat menjadi metode yang paling efektif dengan biaya yang ekonomis.

## 2.6. Mekanisme Masuknya Imunostimulan pada Udang Vaname

Pemberian imunostimulan sering dilakukan dengan menambahkan senyawa imunostimulan ke dalam air tempat hidup organisme atau melalui pakan.



Menurut Syawal (2016), partikel dari senyawa imunostimulan tersebut akan masuk ke dalam jaringan tubuh organisme melalui beberapa jalan, yaitu saluran pernafasan, pencernaan, dan penetrasi melalui kulit. Di dalam tubuh organisme, partikel akan diabsorpsi darah, berikatan dengan protein darah yang kemudian didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh.

## 2.7 Total Haemocyte Count (THC)

Hemosit merupakan faktor yang sangat penting dalam sistem pertahanan seluler yang bersifat non spesifik. Kemampuan hemosit dalam aktivitas fagositosis yang dapat meningkat pada kejadian infeksi, menunjukkan pertahanan tubuh yang bersifat seluler. Meningkatnya ketahanan tubuh udang dapat diketahui dari meningkatnya aktivitas fagositosis sel-sel hemosit (Putri, *et al.*, 2013). Fungsi dan komposisi hemosit masih belum diketahui dengan baik, sedangkan jumlah dan tipe hemosit serta aktivitas mikrobial kemungkinan dapat digunakan untuk memantau kesehatan udang (Maharani, *et al.*, 2009).

Hemosit pada krustasea merupakan penyusun utama sistem imun yang menjalankan perannya dengan mekanisme fagositosis, enkapsulasi, nodulasi, dan sebagai media sitotoksitas terhadap material asing. Total hemosit mengindikasikan kemampuan inang dalam merespon material asing dalam tubuhnya. Semakin tinggi total hemosit, maka semakin tinggi pula aktifitas fagositosis yang diberikan inang dalam mengendalikan mikroorganisme asing (Sukenda, *et al.*, 2007).

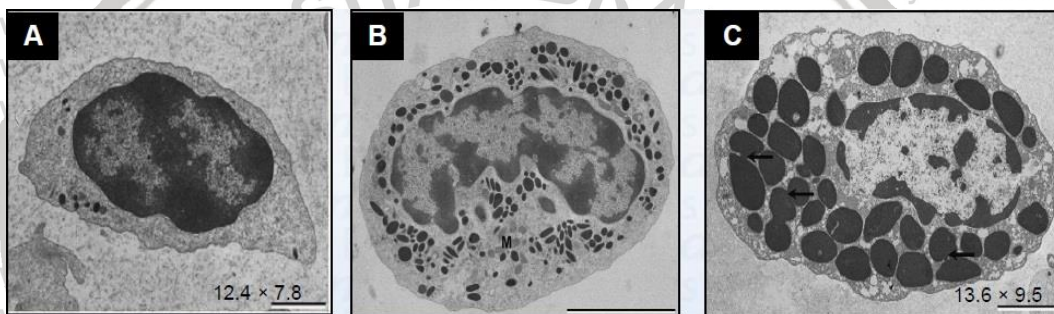
Kelimpahan jumlah dan jenis sel hemosit pada krustasea dapat bervariasi. Hal tersebut dipengaruhi oleh berbagai hal antara lain jenis kelamin, temperatur air, siklus *moulting*, kondisi kelaparan. Pada musim panas, *Total Haemocyte Count* (THC) krustasea cenderung mengalami penurunan dikarenakan efek stress akibat temperatur air yang tinggi sehingga dapat memicu terjadinya serangan patogen



tidak terkecuali juga oleh parasit. Kualitas air antara lain suhu, salinitas dan oksigen terlarut (DO) mempengaruhi jumlah hemosit pada kelas krustasea (Sari dan Ekawaty, 2016). Klasifikasi hemosit dapat dilihat pada Gambar 10 dan 11.



**Gambar 10.** Klasifikasi Hemosit (Wang, *et al.*, 2002): GC = Granular, SGC = Semi-granular, HC = Hialin



**Gambar 11.** Klasifikasi Hemosit (Martinez, 2007): (A) Hialin, (B) Semi-granular, (C) Granular

### 2.8 Respiratory Burst (RB)

Fagositosis adalah reaksi pertahanan seluler yang paling umum. Selama fagositosis, partikel atau mikroorganisme diinternalisasi ke dalam sel yang kemudian membentuk vakuola pencernaan yang disebut fagosom. Penghilangan partikel fagosit melibatkan pelepasan enzim degradatif ke dalam fagosom dan generasi ROI. Proses terakhir ini dikenal sebagai *respiratory burst* (Rodriguez dan Le Moullac, 2000). *Respiratory burst* (RB) merupakan salah satu parameter imun udang berkaitan dengan reaksi fagositosis yang merupakan reaksi yang paling umum dalam pertahanan seluler udang.

Telah lama diketahui bahwa spesies oksigen reaktif (ROS) seperti anion superoksida ( $O_2^-$ ) dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) diproduksi dalam sel aerob baik



sebagai produk selama transportasi elektron mitokondria atau oleh beberapa oksidoreduktase dan oksidasi metabolit yang dikatalisis logam dari metabolit.

Stimulasi produksi ROS pertama kali dideskripsikan dalam sel fagositik seperti neutrofil dan makrofag dan dinamai "*Respiratory burst*" karena mengonsumsi oksigen sementara (Forman dan Torres, 2002). RB berkaitan dengan pembentukan sel fagosit pada hemolim udang dan mekanisme fagositosis, sehingga semakin tinggi nilai RB maka sistem imun udang diduga menjadi semakin baik (Sarmin, *et al.*, 2013).

### 2.9 Superoxide Dismutase (SOD)

Superoksida dismutase (SOD) adalah sekelompok *metalloenzymes* yang ditemukan di semua kehidupan. SOD membentuk garis depan pertahanan terhadap radikal bebas yang disebabkan oleh spesies oksigen reaktif (ROS).

Protein-protein ini mengkatalisis pelepasan radikal bebas anion superoksida ( $O_2^-$ ) menjadi oksigen molekuler dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan menurunkan tingkat  $O_2$  yang merusak sel pada konsentrasi berlebihan. Reaksi ini disertai dengan reduksi-oksidasi ion logam. Berdasarkan kofaktor logam yang ada, SOD dapat diklasifikasikan menjadi empat kelompok berbeda: Tembaga-Seng-SOD (Cu, Zn-SOD), SOD Besi (Fe-SOD), SOD Mangan (Mn-SOD), dan Nikel SOD (Younus, 2018).

Superoksida dismutase merupakan enzim yang mengkatalisis radikal superoksid menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. Enzim yang sebenarnya telah ada dalam tubuh tetapi memerlukan bantuan zat-zat gizi mineral, seperti mangan (Mn), seng (Zn) dan tembaga (Cu). SOD merupakan enzim antioksidan pencegah, yang merupakan suatu antioksidan metalloenzim. SOD berefek sangat kuat dan merupakan pertahanan tubuh pertama dalam menghadapi serangan radikal bebas (Putra, 2014).



Superoksida dismutase (SOD) adalah antioksidan enzim atau disebut juga antioksidan endogen karena terdapat secara alami dalam tubuh dan merupakan sistem pertahanan pertama tubuh terhadap pengaruh aktivitas radikal bebas (Rahman, *et al.*, 2012). Enzim SOD memiliki kemampuan mendegradasi anion superoksida radikal menjadi oksigen dan hidrogen peroksida. Superoksida dismutase termasuk enzim primer di dalam tubuh karena mampu melindungi sel-sel dalam tubuh akibat serangan radikal bebas. Enzim SOD tersebut akan bekerja sempurna dengan adanya mineral-mineral seperti tembaga (Cu), seng (Zn) dan mangan (Mn) (Retnaningsih, *et al.*, 2013).



### 3. KERANGKA KONSEP PENELITIAN

#### 3.1 Landasan Teori

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu jenis udang yang banyak diminati karena memiliki banyak keunggulan seperti relatif tahan penyakit, pertumbuhan cepat (masa pemeliharaan 100-110 hari), tahan terhadap perubahan lingkungan, sintasan selama pemeliharaan tinggi dan FCR-nya rendah (Suwoyo, 2009). Menurut Ernawati dan Rochmady (2017), udang vaname memiliki keunggulan antara lain lebih tahan penyakit, pertumbuhan lebih cepat, waktu pemeliharaan lebih pendek (90-100 hari), dan SR tergolong tinggi (>80%).

Keberhasilan produksi udang sangat didukung oleh keberhasilan dalam budidaya. Tetapi banyak kendala yang harus dihadapi dalam berbudidaya udang, salah satunya adalah adanya serangan penyakit (Febriani, *et al.*, 2013). (*Infectious Myonecrosis Virus*) IMNV merupakan salah satu virus menyerang udang vaname pada bagian otot dan hepatopankreas (Sarah, *et al.*, 2018). Tingkat kematian yang ditimbulkan penyakit IMNV pada udang vaname budidaya berkisar antara 40-70% (Febriani, *et al.*, 2013).

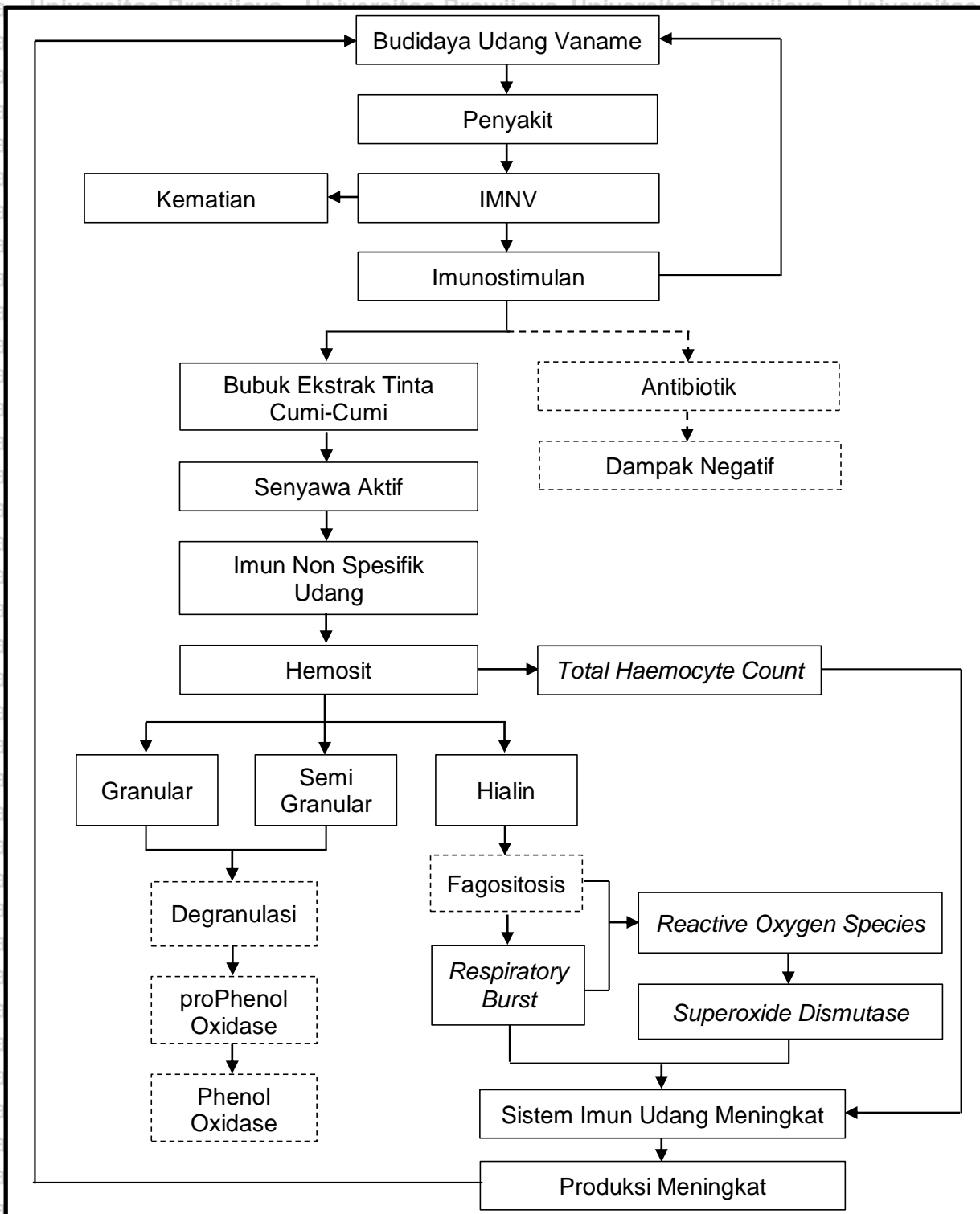
Upaya alternatif yang tidak menyebabkan terjadinya resistensi dan ramah lingkungan untuk mengatasi ataupun mengurangi penyebab terjadinya IMNV adalah menggunakan imunostimulan dari bubuk ekstrak tinta cumi-cumi.

Kandungan lengkap dalam tinta cumi masih terus diteliti, tetapi menurut Rajaganapathi, *et al.* (2000) mengemukakan bahwa tinta cumi memiliki aktivitas antiretroviral yang potensial. Oleh karena itu pada penelitian ini akan membahas tentang pengaruh respon imun non spesifik udang vaname (*L. vannamei*) yang telah diberi perlakuan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) untuk melawan penyakit IMNV.



### 3.2 Kerangka Konsep Penelitian

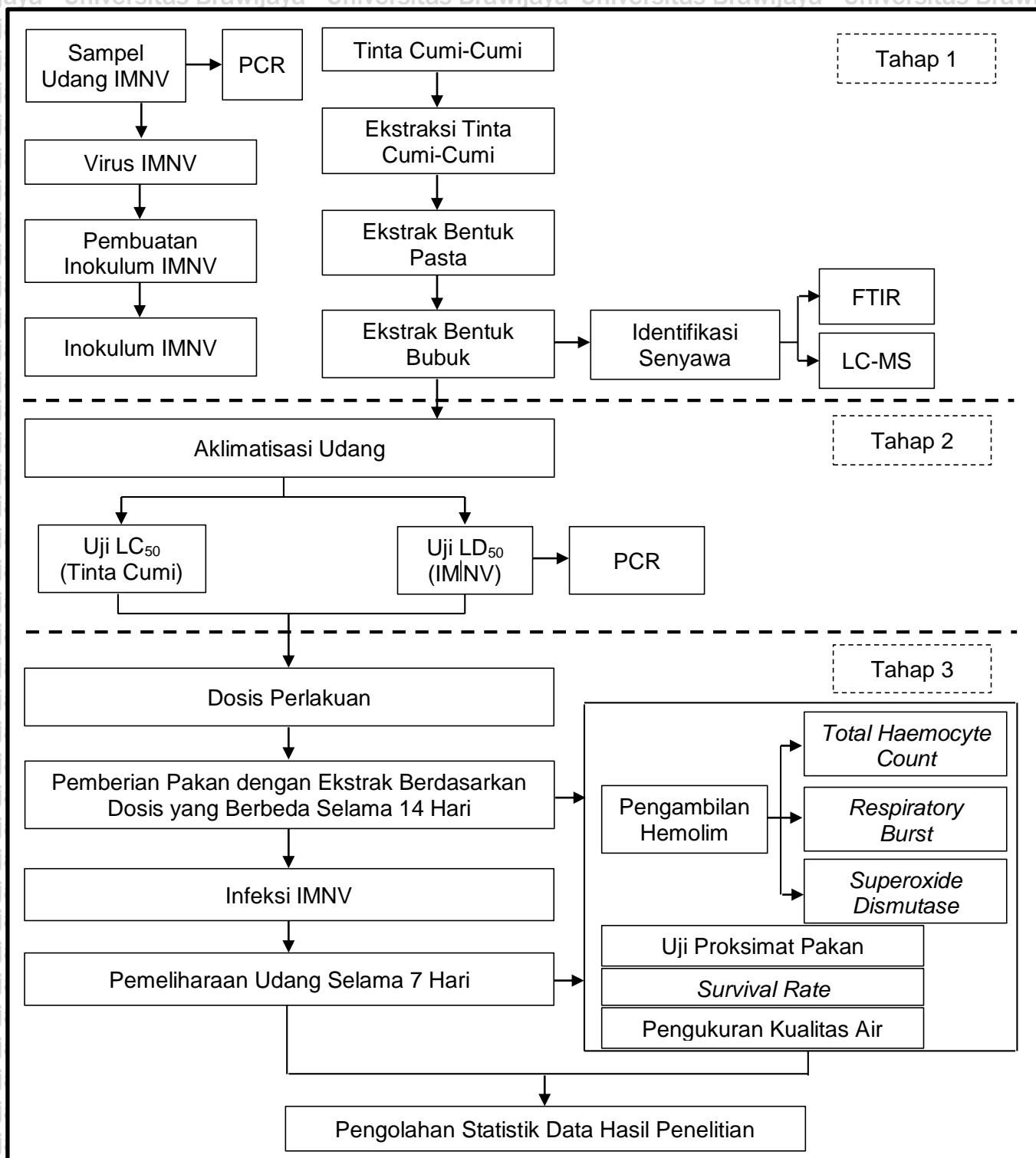
Berdasarkan landasan teori di atas maka bisa dibuat suatu kerangka konsep penelitian seperti pada Gambar 12.



Gambar 12. Kerangka Konsep Penelitian

### 3.3 Kerangka Operasional Penelitian

Kerangka operasional dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Kerangka Operasional Penelitian



### 3.4. Kebaruan Penelitian

Analisis kebaruan penelitian yang belum dilakukan dari penelitian sebelumnya mengenai ekstrak tinta cumi-cumi adalah penggunaan ekstrak tinta cumi-cumi sebagai imunostimulan, khususnya dalam melawan penyakit IMNV pada udang. Berdasarkan kajian literatur (Tabel 1), penelitian mengenai ekstrak tinta cumi-cumi membahas penggunaan tinta cumi-cumi untuk pengobatan udang dalam melawan penyakit yang disebabkan oleh bakteri dan virus. Pada tabel tersebut juga dijelaskan tentang jurnal yang menjadi acuan dalam penulisan laporan ini.

**Tabel 1.** Penelitian Terdahulu

No.	Nama Penulis	Judul Penelitian	Hasil/Kesimpulan
1.	Mohamad Fadjar, Sri Andajani, Kartini Zaelani	Squid ( <i>Loligo edulis</i> ) ink raw extract as an anti-vibriosis substance in grouper ( <i>Epinephelus fuscoguttatus</i> ) juvenile culture infected by <i>Vibrio alginolyticus</i>	Ekstrak mentah tinta cumi dapat digunakan sebagai bakterisida terhadap <i>V. alginolyticus</i> dengan dosis 265,5 mg/L yang memberikan efek yang sangat signifikan terhadap profil hematologi dan tingkat kelangsungan hidup juvenil ikan kerapu macan. Ekstrak mentah tinta cumi mengandung asam 9-oktadekanoat/asam oleat sebagai agen antibakteri.
2.	Smiline Girija A.S, Vijayshree Priyadharshini J, Pandi Suba K, Hariprasad P Brawijaya & Raguraman R	Antibacterial effect of squid ink on ESBL producing strains of <i>Escherichia coli</i> and <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Penelitian ini merekomendasikan penggunaan tinta cumi-cumi sebagai produk biofarmasi yang berharga dengan sifat antibakteri terhadap strain <i>E. coli</i> dan <i>K. pneumoniae</i> yang memproduksi ESBL. Studi ini menyimpulkan bahwa tinta cumi-cumi pasti akan membantu dalam pemberantasan strain resisten bakteri dalam waktu dekat.
3.	J. Rajaganapathi, S. P.	Study on cephalopod's ink for anti-retroviral activity	Penelitian ini mengungkapkan bahwa tinta cumi-cumi mengandung alkaloid dan tinta

**Tabel 1.** (Dilanjutkan)



Tabel 1. (Lanjutan)

No.	Nama Penulis	Judul Penelitian	Hasil/Kesimpulan
	Thyagarajan & J. K. Patterson Edward		cumi-cumi memiliki aktivitas antiretroviral yang potensial.
4.	Fatimah Zaharah, M.Y. and Rabeta, M.S.	Antioxidant and antimicrobial activities of squid ink powder	Protein adalah senyawa utama dalam bubuk tinta cumi-cumi karena persentase tertinggi dalam analisis sementara ada sejumlah rendah lemak, kelembaban, dan abu. Hasil penelitian menunjukkan bubuk tinta cumi memberikan nilai tertinggi dalam uji penentuan aktivitas antimikroba di mana kisaran zona hambat sekitar 7 mm hingga 15 mm.
5.	Nguyen Dinh Thang, Le Dinh Tu, Nguyen Thi Le Na, Ngo Thi Trang, Phan Tuan Nghia	Melanin-containing feedstuffs protect <i>Litopenaeus vannamei</i> from white spot syndrome virus	Berdasarkan hasil penelitian ini, disarankan untuk menggunakan ekstrak tinta cumi-cumi yang memiliki kandungan melanin dalam melindungi udang terhadap serangan virus. Dalam kasus infeksi WSSV, sangat sulit untuk melindungi tambak udang ketika beberapa ekor udang terinfeksi. Oleh karena itu, petambak harus memberi pakan secara berkala yang mengandung melanin pada selama periode budidaya. Bahan pakan yang mengandung melanin tidak mahal, sehingga saran ini memungkinkan petambak udang untuk menghemat biaya.
6.	Amel Soliman, Sohair R. Fahmy, Salma A. El-Abied	Anti-neoplastic activities of <i>sepia officinalis</i> ink and <i>coelatura aegyptiaca</i> extracts against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice	Sebagai kesimpulan, penelitian ini mengkonfirmasi bahwa ekstrak tinta cumi-cumi mampu menurunkan peroksidasi lipid, meningkatkan status antioksidan, dan dengan demikian berpotensi dalam pengobatan berbagai penyakit yang mungkin terkait dengan

Tabel 1. (Dilanjutkan)



Tabel 1. (Lanjutan)

No.	Nama Penulis	Judul Penelitian	Hasil/Kesimpulan
			ketidakseimbangan status oksidoreduktif seluler.
7.	Yusphiana Fitriah, Khusnul Khotimah	Aktivitas Antibakteri dari Melanin Tinta Sotong dan Cumi-Cumi	Melanin dari tinta sotong ( <i>Sepia sp.</i> ) dan cumi-cumi ( <i>Loligo sp.</i> ) memiliki aktivitas penghambatan terhadap <i>E. coli</i> . Aktivitas penghambatan terhadap <i>E. coli</i> dari melanin tinta sotong lebih tinggi dibandingkan melanin dari cumi-cumi. Tinta sotong dan cumi-cumi pada konsentrasi 0,013-0,020 g/ mL tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap <i>E. coli</i> .

### 3.5 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

$H_0$  : Diduga pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan metode suplementasi pada pakan tidak berpengaruh terhadap respon imun non spesifik udang vaname (*L. vannamei*) untuk melawan penyakit IMNV dan tidak didapatkan dosis optimal bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dalam meningkatkan sistem imun non spesifik udang vaname (*L. vannamei*) untuk melawan penyakit IMNV

$H_1$  : Diduga pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan metode suplementasi pada pakan berpengaruh terhadap respon imun non spesifik udang vaname (*L. vannamei*) untuk melawan penyakit IMNV dan didapatkan dosis optimal bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dalam meningkatkan sistem imun non spesifik udang vaname (*L. vannamei*) untuk melawan penyakit IMNV.

### 3.6 Strategi Publikasi

Publikasi karya ilmiah merupakan tahapan setelah pelaksanaan penelitian.

Publikasi dipersyaratkan pada pelaksanaan Kurikulum Program Magister



Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Strategi publikasi oleh penulis adalah memilih jurnal internasional yang memiliki indeks scopus berdasarkan informasi dari *SCImago Journal and Country Rank* atau *SJR*. *SCImago Journal and Country Rank* atau *SJR* adalah portal yang menginformasikan jurnal-jurnal ilmiah negara maju serta terdaftar dalam database *Scopus (Elsevier)*. Indikator ini dapat digunakan untuk menilai dan menganalisis artikel ilmiah. *SJR* dikembangkan oleh *SCImago* yang dikenal luas oleh *Google Page Rank* dari tahun 1996 ([www.scimagojr.com](http://www.scimagojr.com)).

**Tabel 2.** Strategi Publikasi

No	Judul	Jurnal	Indeks
1.	<i>Active Compounds on Squid (Loligo sp.) Ink Powder as Immunostimulant Candidate to Against Shrimp Disease Effect of Squid (Loligo sp.) Ink Powder as Immune Response in White Shrimp (Litopenaeus vannamei) Infected Infectious Myonecrosis Virus (IMNV)</i>	<i>Research Journal of Life Science</i>	DOAJ, SINTA
2.	<i>Effect of Squid (Loligo sp.) Ink Powder as Immune Response in White Shrimp (Litopenaeus vannamei) Infected Infectious Myonecrosis Virus (IMNV)</i>	<i>F1000Research</i>	Scopus Q1



## 4. MATERI DAN METODE PENELITIAN

### 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus - November 2019 di Laboratorium Eksplorasi Sumberdaya Perikanan dan Kelautan, Laboratorium Hidrobiologi Divisi Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, dan Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Laboratorium Uji Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Laboratorium Satuan Operasi dan Teknologi Proses Kimia (SOTPK), Fakultas Teknik, Universitas Surabaya, Laboratorium Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Unit Pelaksana Teknis (UPT) Perikanan Air Tawar Sumber Pasir dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya.

### 4.2 Materi

Materi penelitian ini adalah pengaruh respon imun non spesifik udang vaname (*L. vannamei*) yang akan diberi perlakuan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) untuk melawan penyakit IMNV. Dosis terbaik bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) sebagai imunostimulan yang diberikan terhadap *L. vannamei* yang diinfeksi IMNV. Parameter utama yang diukur yaitu pengujian senyawa menggunakan FTIR dan LC-MS, parameter imun pada udang seperti THC, RB, SOD, *Survival Rate*, dan deteksi virus IMNV dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Parameter penunjang yang diukur meliputi pengukuran parameter kualitas air seperti suhu, derajat keasaman (pH), oksigen terlarut (DO), salinitas, nitrat, nitrit, amonia, *Total Organic Matter* (TOM), dan alkalinitas.

### 4.3. Alat dan Bahan Penelitian

#### 4.3.1 Alat-Alat Penelitian

Adapun peralatan yang digunakan adalah akuarium, seser, cool box styrofoam, pH pen, DO pen, kulkas, kabel roll, timbangan digital, waterbath, glasswares (staining jar, erlenmeyer, gelas ukur, dll), mikro pipet (100-1000  $\mu$ l), blue tip, white tip, rak white tip, autoklaf, nampan, seperangkat alat *Polymerase Chain Reaction* (PCR) semi kuantitatif real time, seperangkat alat elektroforesis, shaker, haemocytometer.

#### 4.3.2 Bahan-Bahan Penelitian

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini seluruhnya adalah udang vaname (*L. vannamei*), bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.), methanol, aquades, kertas label, tisu, giemsa, trypan blue, Na sitrat, tube, spuit, masker, pakan udang, sarung tangan lateks, bahan ekstraksi DNA, *Go Taq Green*, dan bubuk agarose.

### 4.4 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode eksperimen. Menurut Umar (2005), metode eksperimen merupakan langkah-langkah lengkap yang diambil sebelum eksperimen dilakukan agar data yang semestinya diperlukan dapat diperoleh sehingga analisis menjadi obyektif.

Variabel bebas dijadikan sebagai variabel eksperimen, variabel penyebab atau variabel perlakuan yang karakteristiknya diyakini dapat menghasilkan perbedaan, sedangkan variabel terikat atau variabel akibat merupakan hasil dari suatu penelitian. Dikatakan terikat karena tergantung atas variabel bebas.

### 4.5 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan memberikan perlakuan beberapa konsentrasi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) pada



udang vaname. Rancangan penelitian yang akan digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 perlakuan dan 2 kontrol dengan 3 ulangan.

Rancangan perlakuan dan denah penelitian dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

**Tabel 3.** Rancangan Perlakuan

Ulangan	Perlakuan				
	K+	K-	A	B	C
1	K+1	K-1	A1	B1	C1
2	K+2	K-2	A2	B2	C2
3	K+3	K-3	A3	B3	C3

**Tabel 4.** Denah Penelitian

C3	B3	K+3	B1	K-2
K-3	A1	C2	K-1	A2
A3	K+2	B2	C1	K+1

Keterangan:

K (+) : Udang vaname (*L. vannamei*) yang diinfeksi IMNV tanpa diberi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*)

K (-) : Udang vaname (*L. vannamei*) tanpa pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dan tanpa diinfeksi IMNV

A : Udang vaname (*L. vannamei*) diberi perlakuan dengan konsentrasi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan dosis 400 mg/kg dan diinfeksi IMNV

B : Udang vaname (*L. vannamei*) diberi perlakuan dengan konsentrasi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan dosis 500 mg/kg dan diinfeksi IMNV

C : Udang vaname (*L. vannamei*) diberi perlakuan dengan konsentrasi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dengan dosis 600 mg/kg dan diinfeksi IMNV

#### 4.6 Prosedur Penelitian

Tahap-tahap yang dilakukan untuk pelaksanaan dalam penelitian ini antara lain ekstraksi tinta cumi-cumi hingga menjadi bubuk, identifikasi senyawa aktif

bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dengan FTIR dan LC-MS, uji PCR udang yang akan dijadikan inokulum IMNV, persiapan wadah dan hewan uji, pembuatan inokulum IMNV, uji *Lethal Dosis* 50 (LD<sub>50</sub>) dan *Lethal Concentration* 50 (LC<sub>50</sub>), suplementasi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada pakan, pemberian imunostimulan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi melalui pakan, uji tantang IMNV pada udang vaname, pemeliharaan selama 7 hari. Selama pemeliharaan dilakukan uji parameter imun dan parameter kualitas air.

#### 4.6.1 Pembuatan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (*Loligo* sp.)

Pembuatan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dimulai dengan pengambilan tinta dari cumi-cumi. Cumi-cumi yang digunakan berasal dari Malang, Jawa Timur dalam keadaan segar. Pengambilan tinta diawali dengan pemotongan bagian mantel (bagian bawah tubuh cumi-cumi) secara vertikal atau membujur. Alat yang digunakan untuk mengambil kantong tinta cumi adalah pinset. Pengambilan dilakukan dengan hati-hati untuk menghindari sobeknya kantong tinta. Kemudian kantong tinta cumi diletakkan pada wadah. Kantong tinta cumi-cumi dipotong dengan menggunakan gunting dan diperas untuk diambil tintanya yang berwarna hitam pekat. Tinta cumi-cumi yang sudah diambil diletakkan dalam botol yang steril kemudian dimasukkan pada lemari pendingin untuk mencegah tinta rusak. Proses ekstraksi diawali dengan melakukan maserasi. Maserasi merupakan upaya perendaman tinta cumi-cumi dengan pelarut. Perbandingan pencampuran antara tinta cumi-cumi dan pelarut adalah 1:3 (Girija, *et al.*, 2012). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu pelarut metanol. Sesuai dengan pendapat Susanti, *et al.* (2012), bahwa pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi bahan yang berasal dari alam. Metanol merupakan senyawa polar yang disebut sebagai pelarut universal karena selain mampu mengekstrak komponen polar dan juga dapat mengekstrak komponen non polar seperti lilin dan lemak. Saifudin (2014) menambahkan bahwa metanol adalah pelarut organik



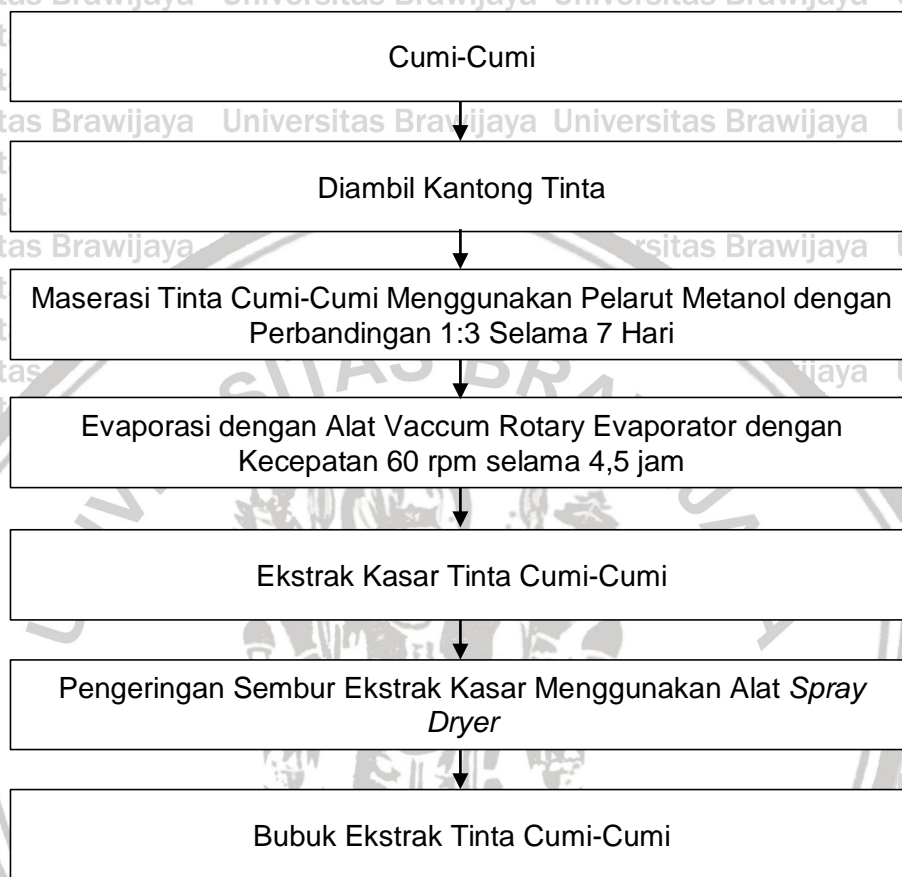
paling polar. Metabolit yang larut dalam metanol adalah senyawa glikosida yang mengikat satu atau lebih molekul gula heksosa atau pentosa. Pengambilan tinta cumi-cumi dan pelarut dilakukan dengan menggunakan gelas ukur lalu dituangkan ke dalam erlenmeyer dan dihomogenkan menggunakan *shaker* selama 1,5 jam.

Langkah selanjutnya yaitu pada mulut erlenmeyer ditutup dengan menggunakan kapas dan aluminium foil kemudian ditali. Selanjutnya erlenmeyer disimpan pada lemari pendingin dengan suhu 4°C selama 7 hari. Setelah 7 hari dilakukan evaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 60 rpm selama 4,5 jam. Setelah proses evaporasi didapatkan ekstrak kasar berbentuk pasta. Setelah didapatkan ekstrak kasar berbentuk pasta kemudian dicampur dengan aquades dan bahan pelengkap lainnya dengan perbandingan 1:3.

Proses berikutnya dengan menggunakan alat *spray dryer*. *Spray drying* atau pengeringan sembur adalah proses pengeringan dengan merubah cairan yang akan dikeringkan menjadi butiran kecil fluida dengan menggunakan alat pembutiran (*atomizer*) dan mengeringkannya dengan udara panas yang dialirkan ke dalam sebuah ruang pengering (*drying chamber*) (Arwizet, 2009). Ruang pengeringan memiliki fungsi sebagai tempat penguapan air yang ada bersama dengan butiran fluida. Setelah fluida menguap, maka menghasilkan butiran halus produk kering yang jatuh ke dalam bak penampungan di bawah ruang pengeringan. Bahan pertama disemprotkan dan mengalami proses atomisasi untuk dapat membentuk droplet ke dalam suatu media pengeringan yang memiliki suhu yang panas, selanjutnya air dalam droplet akan mengalami proses penguapan dan akan meninggalkan bahan yang kering (Dubey, *et al.*, 2009).

Prinsip pengeringan pada sistem ini menggunakan temperatur udara pengeringan yang cukup tinggi yaitu sekitar 100 hingga 180°C. Prinsip pengeringan sembur banyak digunakan untuk pengeringan obat-obatan, makanan, produk sehari-hari, bahan organik dan anorganik, karet, tepung keramik, deterjen, susu dan berbagai

produk lainnya (Arwizet, 2009). *Spray dryer* memiliki empat tahapan proses yang terdiri dari atomisasi bahan dengan cara penyemprotan, kontak antara droplet dengan udara pengering, evaporasi uap air, dan yang terakhir yaitu produk kering dari udara kering.



Gambar 14. Diagram Ekstraksi Tinta Cumi-Cumi

#### 4.6.2 Identifikasi Senyawa Aktif

##### a. *Fourier Transform Infrared (FTIR)*

Analisis *Fourier Transform Infrared (FTIR)* dilakukan pada sampel pelet yang terbuat dari KBr (99,99%) dicampur dengan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi.

Sampel bubuk ekstrak tinta cumi-cumi untuk uji FTIR sekitar 4 mg. Jumlah ini dicampur dengan sekitar 1.400 mg KBr. Untuk memastikan bahwa pelet yang dihasilkan memungkinkan spektrum yang akurat, campuran dicampur menggunakan mortar dan alu. Serbuk yang diperoleh dimasukkan ke dalam pelet makro-mikro KBr dan dikompresi menjadi pelet dengan menggunakan pengepres





hidrolik (Beckman 00-25 Glenrothes lima Skotlandia). Pelet ini siap untuk analisis

FTIR. Spektrum FTIR dikumpulkan pada resolusi  $4\text{ cm}^{-1}$  dalam mode transmisi

( $400\text{--}4.000\text{ cm}^{-1}$ ) menggunakan spektrofotometer Thermo Scientific Nicolet Is10

FTIR (Mbonyiryivuze, *et al.*, 2015).

#### **b. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS)**

Uji LC-MS digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa dalam suatu

bahan. Langkah pertama 20 mg bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dioksidasi dalam

4,0 mL  $\text{K}_2\text{CO}_3$  1 mol/L dengan 0,5 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% selama 20 jam dan menjadi

produk HPLC pada suhu  $25^\circ\text{C}$  dan pada laju aliran 7,0 mL/menit. Fase gerak

adalah 0,4 mol/L. Injeksi 10  $\mu\text{L}$  dari produk pada konsentrasi 60–80  $\mu\text{M}$  dalam

campuran 75:25 metanol grade LC dan air kemudian diinjeksikan ke sistem

kromatografi cair Agilent 1.200 Series (HPLC; Agilent Technologies Inc.) dan

dipisahkan menggunakan kolom  $\text{C}_{18}$  Ascents Express 5 cm x 2,1 mm x 2,7  $\mu\text{m}$

(Supelco Analytical). HPLC terhubung dengan antarmuka ESI standar ke Agilent

Technologies 6.224 MS-TOF untuk mendapatkan pengukuran massa tepat

dengan resolusi tinggi. LC-MS-TOF dioperasikan pada laju aliran 0,3 mL/menit

menggunakan gradien linier asam format 0,3%, air 98%, dan asetonitril 2% (A) dan

asam format 0,3%, asam asetonitril 98%, dan 2% air (B) sebagai fase gerak.

Program gradien dimulai dengan 0% B pada 0 menit dan meningkat menjadi 55%

B selama 13 menit program. MS menggunakan sumber ionisasi electrospray (ESI)

dalam mode negatif. Suhu desolvasi diatur ke  $300^\circ\text{C}$  menggunakan nitrogen

sebagai gas desolvasi pada 11 L/menit pada tekanan nebulizer 227,5 kPa (Glass,

*et al.*, 2012).

### **4.6.3 Pemeliharaan Udang Vaname**

#### **a. Persiapan Wadah dan Hewan Uji**

Sampel udang didapatkan dari tambak yang berada di Desa Kranji,

Kecamatan Paciran, Kabupaten Lamongan. Persiapan sebelum udang



dimasukkan ke dalam akuarium perlakuan, dilakukan sterilisasi terlebih dahulu.

Akuarium dibersihkan dan dilakukan proses sterilisasi menggunakan klorin dengan dosis 100 ppm lalu dibilas bersih. Selanjutnya diisi air dengan volume 20,25 liter (Almuqaramah, *et al.*, 2018). Udang vaname yang digunakan yaitu udang berukuran 6-7 gram, sebanyak 10 ekor/akuarium (Febriani, *et al.*, 2013). Sebelum udang uji dimasukkan ke wadah percobaan, udang uji terlebih dahulu diaklimatisasi selama 7 hari untuk mengadaptasi hewan uji dengan lingkungan baru (Saraswati, *et al.*, 2013).

#### **b. Pembuatan Inokulum IMNV**

Prosedur pembuatan inokulum virus dibuat mengikuti metode Nurhayati (2014); Feijo, *et al.* (2015), pertama 1 gram daging udang positif IMNV dicacah (tanpa hepatopankreas, usus, dan karapas), kemudian dilarutkan dalam 10 ml PBS dan sentrifuse pada suhu 4°C dengan kecepatan 6.500 rpm selama 20 menit. Setelah itu supernatan diambil dan dimasukkan dalam mikrotube baru. Selanjutnya mikrotube disentrifuse dengan kecepatan 13.000 rpm (4°C) selama 20 menit. Supernatan diambil kemudian disaring dengan *syringe filter* (0,45 µm) dan didapatkan stok virus IMNV yang setara dengan  $1,02 \times 10^7$  kopi virus/ml. Hasil ekstrak virus IMNV disimpan pada suhu -70°C sampai digunakan lebih lanjut.

#### **c. Uji Lethal Dose 50 (LD<sub>50</sub>) IMNV pada Udang Vaname**

Metode uji LD<sub>50</sub> yang digunakan merupakan modifikasi metode dari penelitian Satoh, *et al.* (2008); Loy, *et al.* (2012); da Silva, *et al.* (2015). Udang yang digunakan sebanyak 120 ekor, kemudian diaklimatisasi dan dipelihara. Masing-masing akuarium uji diisi 10 ekor udang yang berukuran 6-7 gram. Metode yang digunakan yaitu perendaman. Inokulum IMNV diberikan sebanyak 10 ml/L. 1 ml inokulum IMNV setara dengan  $1,02 \times 10^7$  kopi virus. Udang direndam selama 3 jam dalam 3 liter larutan IMNV dengan dosis pengenceran 1:10 dan 1:100, serta stok (tanpa pengenceran) dan NaCl 2% sebagai pembanding. Setelah dilakukan



perendaman udang dimasukkan pada akuarium pemeliharaan. Pengamatan dilakukan selama 96 jam. Masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan.

**d. Uji *Lethal Concentration* 50 (LC<sub>50</sub>) Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi pada Udang Vaname**

Metode uji LC<sub>50</sub> yang digunakan merupakan modifikasi metode dari penelitian Roque, *et al.* (2005) dan Kalor, *et al.* (2019). Udang yang digunakan sebanyak 120 ekor, kemudian diaklimatisasi dan dipelihara. Masing-masing akuarium pemeliharaan diisi 10 ekor udang yang berukuran 6-7 gram. Udang diberi pakan empat kali sehari dengan perlakuan dosis masing-masing 250 mg/kg, 500 mg/kg, 750 mg/kg dan kontrol sebagai pembanding. Masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Pengamatan dilakukan selama 96 jam. Mortalitas dicatat pada 15 menit, 30 menit, 45 menit, 1 jam, 2 jam, 4 jam, 8 jam, 14 jam, 24 jam, 33 jam, 48 jam, 72 jam, dan 96 jam.

**e. Suplementasi Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-cumi (*Loligo sp.*) ke dalam Pakan**

Suplementasi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi ke dalam pakan berdasarkan penelitian Febriani, *et al.* (2013), pertama dilakukan penimbangan bubuk ekstrak tinta cumi terlebih dahulu berdasarkan dosis perlakuan yaitu menunggu hasil LC<sub>50</sub> dan dilarutkan dalam 10 mL air. Larutan bubuk tinta cumi-cumi dicampurkan dengan cara disemprotkan secara merata pada pakan komersial yang telah disiapkan. Setelah itu, pakan dikeringanginkan pada suhu ruang, di ruangan terbuka namun tidak langsung terkena cahaya matahari. Pakan yang telah siap dimasukkan dalam wadah plastik dan disimpan dalam lemari pengering hingga digunakan.

**f. Perlakuan Pemberian Pakan yang Telah Dicampur dengan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-cumi (*Loligo sp.*)**

Pemberian pakan yang telah dicampur dengan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dilakukan sebanyak empat kali dalam sehari yaitu pukul 08.00, 12.00, 16.00, dan 20.00. Pemberian pakan sesuai FR (*Feeding Rate*) yaitu 5% dari



total biomassa/hari. Pakan dimasukan ke dalam akuarium sesuai dengan perlakuan yaitu perlakuan A (400 mg/kg), perlakuan B (500 mg/kg), dan perlakuan C (600 mg/kg). Udang vaname dipelihara selama empat belas hari dan udang yang diberi perlakuan melalui pakan. Dilakukan pengukuran kualitas air pada wadah pemeliharaan yang meliputi suhu, pH, salinitas, DO, nitrat, nitrit, amonia, TOM, dan alkalinitas.

#### g. Infeksi IMNV pada Udang Vaname

Infeksi virus *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV) terhadap udang vaname (*L. vannamei*) dilakukan dengan cara perendaman virus dengan dosis pengenceran 1:100. Udang uji dipelihara selama 7 hari karena IMNV dapat menyebabkan kematian udang selama 1-15 hari setelah timbulnya gejala klinis (da Silva, *et al.*, 2015). Gejala klinis yang umum terjadi pada udang yang terinfeksi IMNV adalah rusaknya jaringan otot yang ditandai dengan warna putih pada skeletal abdomen dan cephalothorax, hepatopankreas mengecil dan warna lebih merah, transparansi pada ekor hilang dan muncul warna putih pada telson dan kaki jalan berwarna lebih kemerahan dari normal. Pada fase infeksi akut, tampak warna putih pada otot skeleton daerah abdomen dan ekor, kehilangan nafsu makan, berenang ke permukaan dan kemudian mengalami kematian. Pada fase infeksi kronis dan pemulihan, ekor udang berwarna keputihan dan ukuran udang lebih kecil dari normal.

#### h. Deteksi Virus IMNV dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Isolasi DNA udang dilakukan dengan mengambil sampel segmen abdominal terakhir tubuh udang dan pleopod sebanyak 25 mg, kemudian diukur kemurnian DNA dari hasil isolasi yang telah dilakukan. Uji PCR dilakukan menggunakan primer *forward* IMNV 95F (5'-AGAAAGTTTGTTCGTAGAGCGAGA-3') dan primer *reverse* IMNV 474R (5'-



AAAGGTGGCAGGTGTCCATACTGA-3'). Adapun langkah langkah pengujian PCR adalah sebagai berikut:

- **Pengambilan Sampel Organ Udang Vaname**

Tahap pertama pengambilan organ target IMNV yaitu segmen abdominal terakhir tubuh udang dan pleopod sebanyak 25 mg, kemudian dilakukan *pooling* dan dimasukkan ke dalam mikrotube 1,5 ml dan diberi label setiap masing-masing mikrotube. Selanjutnya sampel udang dicacah dan ditimbang sebanyak 0,05 gram guna ekstraksi DNA. Tahap selanjutnya dilakukan uji kuantitatif DNA, amplifikasi, dan elektroforesis.

- **Uji Kuantitatif**

Pada proses ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan Kit Tiangen dengan prosedur sebagai berikut:

1. Sampel yang sudah didapatkan ditimbang menggunakan timbangan analitik hingga didapatkan 0,05 gram.
2. Sampel dicacah di dalam tube 1,5 ml dengan gunting hingga halus dan ditambahkan TE-Buffer pH 7.
3. Setelah halus ditambahkan 200  $\mu$ L buffer GA dan 20  $\mu$ L proteinase-K dan dilapisi menggunakan paraffin.
4. Selanjutnya sampel diinkubasi pada *thermo mixer* dengan suhu 56°C semalam untuk mengoptimalkan proses lisis pada sel dengan kecepatan 800 rpm.
5. Kemudian sampel disentrifugasi selama 8 menit dengan kecepatan 11.000 rpm, pada suhu ruang.
6. Diambil supernatan dan ditambahkan buffer GB untuk memaksimalkan proses lisis dan meminimalisir kontaminan protein selanjutnya diinkubasi kembali pada suhu 70°C selama 30 menit.

7. Kemudian ditambahkan 200  $\mu\text{L}$  etanol absolut untuk mengikat DNA dan divortex selama 10 detik.
8. Setelah itu sampel dipindahkan ke *spin column* dan disentrifugasi 12.000 rpm selama 4 menit.
9. Selanjutnya ditambahkan 500  $\mu\text{L}$  buffer GD dan disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 4 menit.
10. Setelahnya ditambahkan 600  $\mu\text{L}$  buffer PW dan disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 4 menit sebanyak 2 kali (diulang 1 kali lagi).
11. Kemudian sampel disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 6 menit untuk membersihkan sisa etanol yang menempel pada membran.
12. Selanjutnya sampel dipindahkan ke tube 1,5 ml dan ditambahkan 25  $\mu\text{L}$  Buffer-TE hangat untuk membantu meluruhkan DNA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit.
13. Kemudian sampel disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 8 menit, pada suhu ruang.
14. Selanjutnya sampel ditambahkan 25  $\mu\text{L}$  Buffer-TE hangat dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit.
15. Langkah terakhir sampel disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 8 menit, pada suhu ruang.

Setelah diperoleh DNA, segera dilakukan uji kuantitatif dengan menggunakan UV spektrofotometer Nano Drop 2000. Kalibrasi dilakukan dengan menggunakan Elution Buffer sebagai pelarut stock DNA. DNA dalam keadaan murni apabila memiliki rentangan A 260/280 sebesar 1,8-2.

- **Amplifikasi DNA**

Tahap selanjutnya adalah amplifikasi IMNV menggunakan metode reverse transcriptase PCR (RT-PCR) dan Qiagen® *One Step* RT-PCR Kit sesuai prosedur standar kit. Campuran reaksi amplifikasi pada tabung mikro adalah Qiagen *One*



Step RT-PCR Master Mix 2,5 µl, Qiagen One Step RT-PCR buffer 0,5 µl, Q-Solution 2,5 µl, dNTP Mix 10 mM 0,5 µl, RNase free water 2,5 µl, primer forward IMNV 95F (5'-AGAAAGTTTGTTCGTAGAGCGAGA-3') dan primer reverse IMNV 474R (5'-AAAGGTGGCAGGTGTCCATACTGA-3') masing-masing sebanyak 1 µl, ekstrak RNA sebagai templat 2 µl. Total volume reaksi 12,5 µl. Sekuens primer IMNV untuk amplifikasi dengan One Step PCR berdasarkan dari susunan genom IMNV (GenBank accession no. EF061744). Profil amplifikasi yang digunakan yaitu suhu 95°C selama 10 menit, 35 siklus PCR pada suhu 95°C selama 15 detik, dan suhu 60°C selama 1 menit (Zaujat, *et al.*, 2016).

- **Elektroforesis**

Produk PCR dielektroforesis menggunakan 1.5% gel agarose. Gel diletakkan dalam *electrophoresis chamber* dan direndam buffer TAE 1x hingga tertutup seluruh permukaannya. Sumur pada gel diisi secara berurutan dengan *marker* (DNA ladder) 100 bp (Promega), kontrol negatif, kontrol positif IMNV, dan produk PCR (amplikon) sebanyak 10 µl per sumuran gel dari masing-masing sampel yang telah ditambahkan sebelumnya dengan 3 µl *mass loading dye*. Mesin elektroforesis diatur pada 220V selama 30 menit. Pita DNA kemudian tervisualisasi dalam gel agarose. Gel kemudian direndam pada ethidium bromide (EtBr) selama 10 menit. Sampel positif IMNV ditandai dengan munculnya pita pada 400 bp. Pita produk PCR didokumentasikan menggunakan Gel Doc UV Transilluminator (Zaujat, *et al.*, 2016).

#### 4.6.4 Pengamatan Parameter Imun Udang Vaname

##### a. Pengambilan Hemolim Udang Vaname (*L. vannamei*)

Pengambilan hemolim udang vaname untuk perhitungan hemosit umumnya dapat dilakukan pada dua tempat. Tempat pertama pada bagian abdomen yang pertama dan kedua pada bagian pangkal kaki renang yang pertama. Pertama yang perlu dipersiapkan yaitu mengambil spuit 1 ml dan diisi dengan antikoagulan berupa



Na sitrat 0,1 ml kemudian hemolim diambil sebanyak 0,1 ml dan dimasukkan ke dalam tube. Pengambilan hemolim pada penelitian ini dilakukan untuk perhitungan hemosit udang vaname yang meliputi THC, RB, dan SOD.

#### b. Total Haemocyte Count (THC)

Menurut Suryahman (2011), hemolim sebanyak 50  $\mu$ l diambil menggunakan syringe 1 mL di bagian ventral udang pada abdomen kedua kemudian dicampur antikoagulan (10% sodium citrate, pH 7.2) dengan volume yang sama dan diberi pewarna Trypan blue solution sebanyak 100  $\mu$ L. Selanjutnya diteteskan ke haemositometer dan dihitung jumlah selnya per ml di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100 kali. Rumus yang digunakan menurut Chuchird, *et al.* (2015):

$$\text{Total Haemocyte Count (THC)} = \text{Jumlah sel dihitung} \times \text{faktor pengenceran} \times 10^4$$

#### c. Respiratory Burst (RB)

Metode pembacaan RB menggunakan *microplate reader* menurut Sarmin, *et al.* (2013) adalah sebagai berikut:

1. 50  $\mu$ L hemolim udang yang telah dicampur Na-sitrat 10% dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang
2. Disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 20 menit, kemudian supernatan dibuang
3. Endapan yang terbentuk ditambahkan 100  $\mu$ L NBT (NBT yang dilarutkan dalam *hank's basal salt solution* (HBSS) dengan konsentrasi 0,3%) dan dидiamkan selama 2 jam pada suhu ruang
4. Disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit. Hasil berupa supernatan (cairan bening) dibuang dan endapan yang dihasilkan ditambahkan 100  $\mu$ L methanol PA 100%



5. Kemudian di sentrifugasi kembali dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit.

Supernatan dibuang, sisa endapan lalu dibilas sebanyak dua kali menggunakan methanol PA 70%

6. Selanjutnya endapan dilarutkan dengan 120  $\mu$ L KOH (2M) dan ditambahkan 140  $\mu$ L DMSO

7. Sampel dimasukkan ke dalam *microplate well 96*

8. Pengukuran *Optical Density* dilakukan dengan menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 630 nm. Nilai RB dinyatakan sebagai reduksi NBT per 10  $\mu$ L hemolim.

#### d. **Superoxide Dismutase (SOD)**

Metode pembacaan SOD menggunakan *microplate reader* menurut

Yudiati, *et al.* (2016) adalah sebagai berikut:

1. 40  $\mu$ L hemolim udang telah dicampur Na-sitrat 10%

2. Dicampur dengan 360  $\mu$ L buffer fosfat (50mM, pH 7,4)

3. Sentrifugasi sampel dengan kecepatan 6.000 g, suhu 4°C selama 7 menit.

Supernatan (cairan bening) diambil dan di panaskan pada suhu 65°C selama 5 menit dalam termo mixer

4. Ditambahkan larutan NBT 50  $\mu$ L yang telah dilarutkan dalam HBSS (NBT yang dilarutkan dalam *hank's basal salt solution* (HBSS) dengan konsentrasi 0,3%)

5. Sampel dimasukkan ke dalam *microplate well 96*

6. Pengukuran *Optical Density* dilakukan dengan menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 630 nm. Nilai SOD dalam unit/ml.

#### 4.6.5 Uji Proksimat Pakan

Uji proksimat pakan X dilakukan menggunakan alat *Near Infrared Reflectance Spectroscopy* (NIRS). Pengujian sampel pakan dilakukan ketika pakan awal yang belum disuplementasi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dan pakan setelah disuplementasi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi. Hal tersebut dilakukan



untuk mengetahui perbedaan kandungan nutrisi pada pakan X sebelum dan setelah suplementasi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi. Metode yang digunakan mengikuti mengacu dari penelitian Masoumy, *et al.* (2012), sampel pakan dipindai dalam mode pantulan pada rentang spektrum NIR (1.000 hingga 2.500 nm) menggunakan instrumen monokromator FT-NIRSystem (Bomem, 450 St. Jean Baptiste, Quebec PQ G2E 5S5 Kanada, Versi 1, 1994). Dua puluh gram dari setiap sampel dimasukkan ke dalam wadah sampel yang ditempatkan di sel pengukuran untuk dipindai. Masing-masing sampel rata-rata dilakukan pemindaian spectrum 64 kali berturut-turut. Dengan demikian, area sampel yang dipindai dapat ditingkatkan dan kesalahan pengukuran sampel dapat berkurang. Semua sampel pakan yang telah dipindai kemudian didapat hasil kandungan nutrisi kimianya.

#### 4.6.6 Survival Rate (SR)

Sintasan atau *Survival Rate* dihitung sebelum diujiantang dan setelah diujiantang dengan menggunakan rumus menurut Asma, *et al.* (2016):

$$SR = \frac{No - Nt}{No} \times 100\%$$

Keterangan:

SR = Tingkat kelangsungan hidup (%)

Nt = Jumlah udang yang mati selama penelitian (ekor)

No = Jumlah udang di awal penelitian (ekor).

#### 4.6.7 Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur pada penelitian ini adalah tingkat oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen*), suhu air pada media pemeliharaan, derajat keasaman (pH), salinitas, nitrat, nitrit, amonia, TOM, dan alkalinitas. Pengukuran kualitas air harian meliputi DO, suhu, pH, dan salinitas. Pengukuran kualitas air harian dilakukan dua kali dalam sehari. Pengukuran suhu menggunakan termometer akuarium, yaitu dengan mengamati nilai suhu pada termometer yang



menempel pada dinding akuarium untuk mendapatkan hasilnya. Pengukuran DO menggunakan alat digital yaitu DO pen, elektroda DO pen dimasukkan ke dalam media pemeliharaan lalu ditunggu hingga menunjukkan angka yang stabil pada DO pen. Pengukuran pH menggunakan alat digital yaitu pH pen, elektroda pH pen dimasukkan ke dalam media pemeliharaan lalu ditunggu hingga menunjukkan angka yang stabil pada pH pen. Pengukuran salinitas dilakukan dengan cara air sampel ditetaskan pada alat refraktometer kemudian alat tersebut diarahkan pada cahaya sampai terlihat nilai salinitas yang tertera pada refraktometer pada sisi sebelah kanan.

Pengukuran kualitas air mingguan meliputi nitrat, nitrit, amonia, TOM, dan alkalinitas. Pengukuran kualitas air mingguan dilakukan tiga kali selama penelitian yaitu pada minggu pertama (7 hari perlakuan pemberian imunostimulan), minggu kedua (14 hari perlakuan pemberian imunostimulan), dan minggu ketiga (7 hari setelah penginfeksi IMNV). Pengukuran nitrat, nitrit, dan amonia menggunakan test kit khusus untuk mengukur masing-masing ketiga parameter tersebut.

Pengukuran TOM dan alkalinitas menggunakan metode titrasi.

#### 4.7 Analisis Data

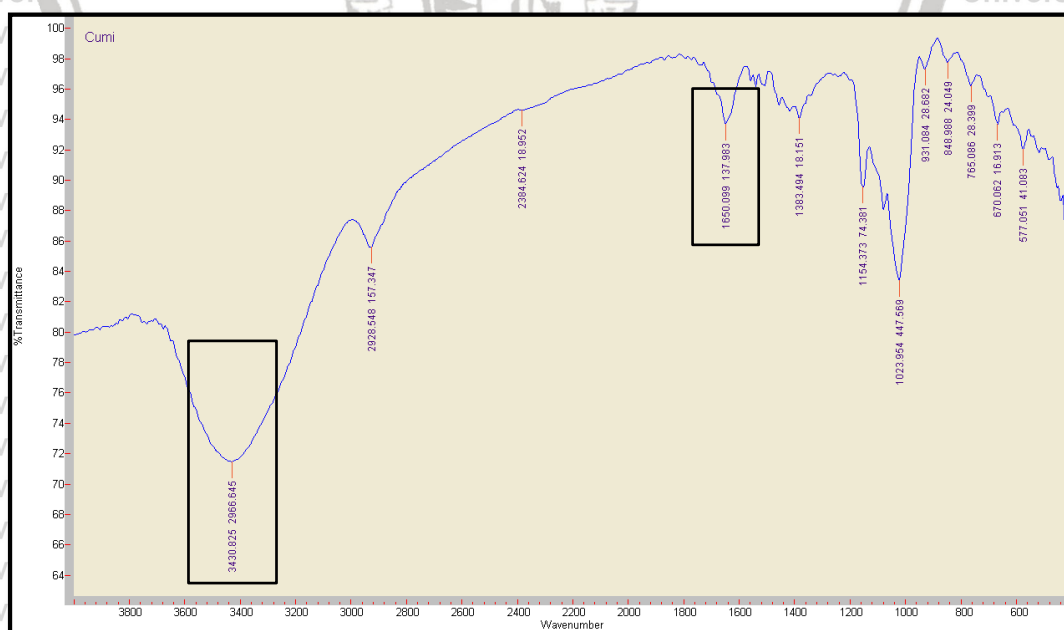
Data yang diperoleh dari hasil penelitian, akan diuji normalitas terlebih dahulu selanjutnya dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman *One Way ANOVA* menggunakan software progam SPSS 26 untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Apabila terdapat perbedaan antar perlakuan maka analisis dilanjutkan dengan uji Duncan menggunakan software SPSS untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh non spesifik pada udang vaname (*L. vannamei*).

## 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Identifikasi Senyawa Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (*Loligo sp.*)

#### 5.1.1 *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

Berdasarkan tahap penelitian yang telah dilakukan dari 1 kg cumi-cumi yang terdiri dari 20 ekor didapatkan tinta sebanyak 300 ml. Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi tinta cumi-cumi dan didapatkan 16,65 gram ekstrak kasar berbentuk pasta. Lalu dari 16,65 gram ekstrak kasar menghasilkan 94,74 gram bubuk ekstrak tinta cumi-cumi. Bubuk ekstrak tinta cumi-cumi diidentifikasi kandungan senyawa aktifnya menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) pada panjang gelombang 400-4.000  $\text{cm}^{-1}$ . Uji FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi sehingga dapat dicari senyawa yang tergolong dalam gugus fungsi tertentu. Identifikasi ini bertujuan untuk memberikan informasi bahwa terdapat beberapa senyawa yang terkandung pada bubuk ekstrak tinta cumi-cumi yang berfungsi sebagai imunostimulan pada udang vaname. Adapun hasil uji FTIR dapat dilihat pada Gambar 15 sebagai berikut:



Gambar 15. Hasil Uji FTIR Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (*Loligo sp.*)



Berdasarkan hasil pada Gambar 15 dapat dilihat bahwa bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) mengandung senyawa-senyawa dengan absorbansi 3.430,825  $\text{cm}^{-1}$  pada puncak 1; 2.928,548  $\text{cm}^{-1}$  pada puncak 2; 2.384,624  $\text{cm}^{-1}$  pada puncak 3; 1.650,099  $\text{cm}^{-1}$  pada puncak 4; 1.383,494  $\text{cm}^{-1}$  pada puncak 5; 1.154,373  $\text{cm}^{-1}$  pada puncak 6; 1.023,954  $\text{cm}^{-1}$  pada puncak 7; 931,084  $\text{cm}^{-1}$  pada puncak 8; 848,988  $\text{cm}^{-1}$  pada puncak 9; 765,086  $\text{cm}^{-1}$  pada puncak 10; 670,062  $\text{cm}^{-1}$  pada puncak 11; 577,051  $\text{cm}^{-1}$  pada puncak 12. Berkas absorbansi pada:

1. 3.500-3.370  $\text{cm}^{-1}$  adalah ikatan kelompok N-H (Centeno dan Shamir, 2008)
2. 1.650-1.620  $\text{cm}^{-1}$  adalah ikatan rangkap C=O (COOH) dari kelompok karboksil (Tarangini dan Mishra, 2013)

Spektrum FTIR bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) menunjukkan bahwa bubuk ekstrak tinta cumi-cumi mengandung gugus amina. Ini ditunjukkan oleh absorbansi pada 3.430  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan bagian dari gugus N-H yang termasuk dalam gugus amina. Dewick (2009) mengatakan bahwa salah satu senyawa yang termasuk kelompok amina adalah alkaloid. Menurut Sari, *et al.* (2019), alkaloid mengandung nitrogen sebagai bagian dari sistem siklik dan mengandung berbagai substituen seperti gugus amina, amida, fenol dan metoksi sehingga alkaloid bersifat semipolar dan dapat bertindak sebagai senyawa antibakteri. Selain itu alkaloid juga terbukti memiliki aktivitas untuk melawan banyak jenis virus (Pushpa, *et al.*, 2013). Kandungan alkaloid ini juga dapat berfungsi sebagai imunostimulan pada udang yang diinfeksi virus IMNV. Melalui penambahan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada pakan dengan kandungan alkaloid dapat meningkatkan imunitas udang sehingga tidak rentan terserang penyakit. Andayani, *et al.* (2017) menyatakan bahwa senyawa bioaktif alkaloid meningkatkan aktivitas imun non-spesifik dan dapat digunakan sebagai imunostimulan terutama yang berkaitan dengan pencegahan penyakit. Alkaloid meningkatkan jumlah aktivitas fagosit makrofag. Makrofag berperan dalam sistem



imun bawaan dan adaptif. Pada imun bawaan, makrofag berfungsi sebagai sel fagosit yang memakan patogen, memproduksi sitokin proinflamasi dan produksi ROS oleh enzim NADPH oksidase serta RNS oleh nitrat oksida ( $\text{NO}^-$ ). ROS dan RNS juga disebut sebagai ledakan oksidatif yang dibentuk melalui proses oksidasi. ROS yang terbentuk adalah anion superoksida ( $\text{O}_2^-$ ),  $\text{H}_2\text{O}_2$ , HOCl, oksigen tunggal ( $\text{O}^-$ ) dan radikal hidroksil ( $\text{OH}^-$ ).

Selain gugus amina, bubuk ekstrak tinta cumi-cumi mengandung gugus karboksilat. Hal ini ditunjukkan oleh absorbansi pada  $1.650\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan bagian dari ikatan rangkap  $\text{C}=\text{O}$  milik kelompok karboksilat. Menurut Crocker (2012), salah satu turunan dari asam karboksilat adalah asam oleat. Kandungan asam oleat dalam ekstrak tinta cumi-cumi memiliki aktivitas antivirus (Kohn, *et al.*, 1980). Senyawa lain yang termasuk dalam kelompok asam karboksilat adalah asam sinamat. Guzman (2014) menyatakan bahwa asam sinamat termasuk dalam kelompok asam karboksilat aromatik yang memiliki aktivitas antikanker, antituberkulosis, antimalaria, antijamur, antimikroba, antiatherogenik dan antioksidan. Gravina, *et al.* (2011) juga menyatakan bahwa asam sinamat menunjukkan aktivitas antimikroba, antijamur dan antitumor. Selain itu, senyawa ini juga menunjukkan aktivitas antivirus. Hasil penelitian Pourmozaffar, *et al.* (2017) menunjukkan bahwa udang vaname yang diberi pakan dengan kandungan asam karboksilat menunjukkan peningkatan tingkat ekspresi gen lisozim setelah 30 dan 60 hari perlakuan. Peningkatan ekspresi gen lisozim merupakan hasil dari peningkatan imun non-spesifik udang terhadap patogen infeksius, lingkungan yang buruk dan stres. Infeksi virus dapat mengakibatkan 100% kematian organisme akuatik dalam beberapa hari setelah infeksi dan menimbulkan ancaman besar bagi industri budidaya udang di seluruh dunia. Oleh karena itu, peningkatan ekspresi gen lisozim terhadap infeksi virus merupakan hasil dari peningkatan respon imun bawaan udang.



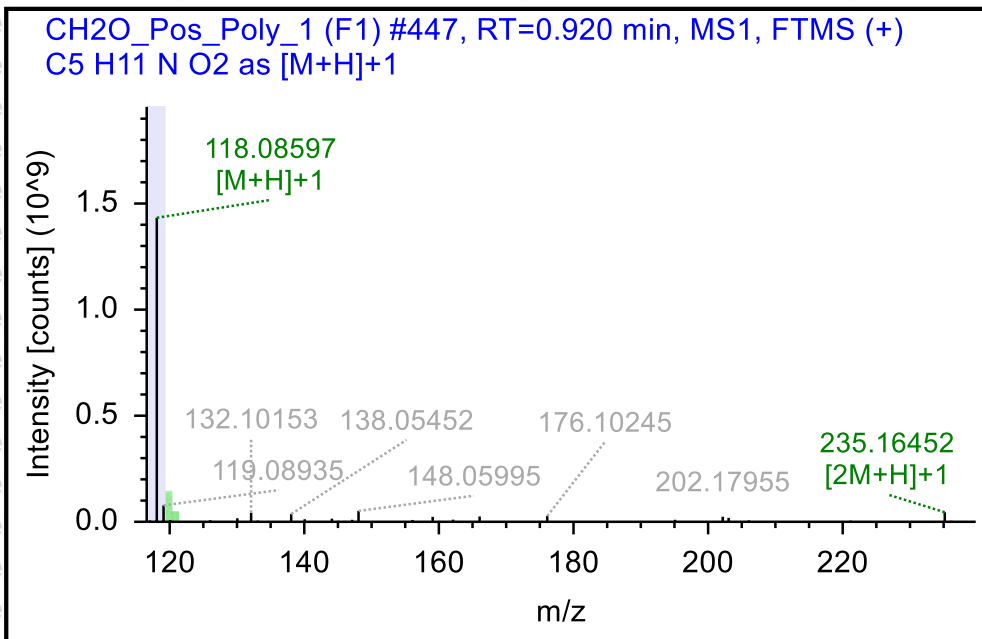
### 5.1.2 Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS)

Uji LC-MS bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa dalam suatu bahan. Identifikasi ini bertujuan untuk memberikan informasi bahwa terdapat beberapa senyawa yang terkandung pada bubuk ekstrak tinta cumi-cumi yang berfungsi sebagai imunostimulan pada udang vaname. Jenis kandungan senyawa yang terdapat pada bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dapat dilihat secara lengkap pada Lampiran 7. Adapun untuk kandungan senyawa tertinggi pada bubuk ekstrak tinta cumi-cumi berdasarkan uji LC-MS dapat dilihat pada Tabel 5 sebagai berikut:

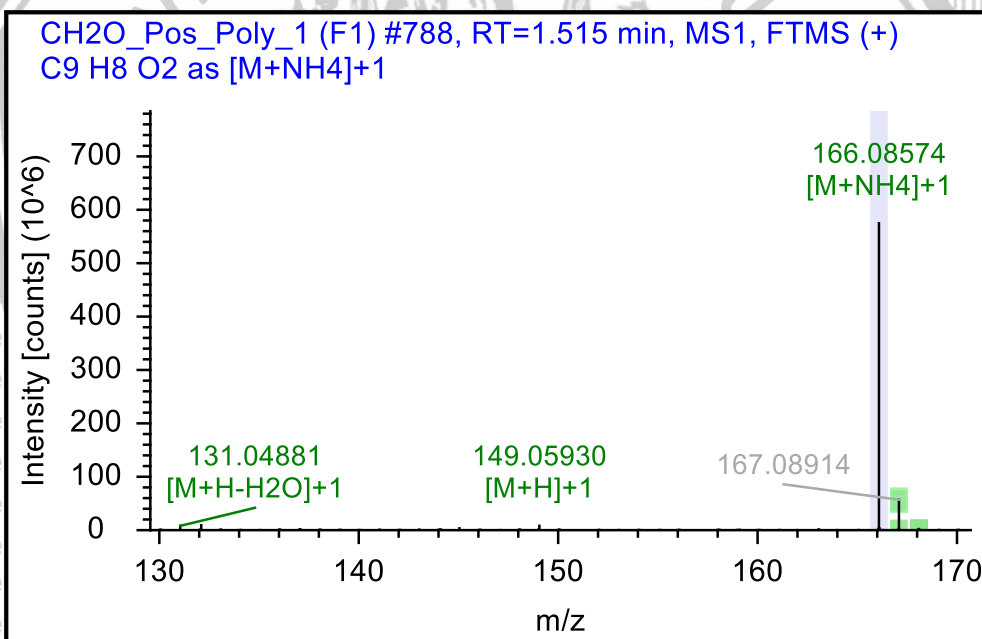
**Tabel 5.** Hasil Uji LC-MS Senyawa Tertinggi pada Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (*Loligo* sp.)

Senyawa	Rumus Kimia	Berat Molekul (g/mol)	Waktu Retensi (menit)	Luas Area	Persentase (%)
Betain	$C_5H_{11}NO_2$	117,0787	0,925	270.127.830,54	34,38
Asam Sinamat	$C_9H_8O_2$	148,0519	1,508	59.555.693,09	7,58
Kolin	$C_5H_{14}NO$	103,0997	1,072	42.791.025,71	5,45

Berdasarkan hasil pada Tabel 5, diketahui bahwa ada tiga senyawa dominan pada bubuk ekstrak tinta cumi-cumi yaitu betain, asam sinamat, dan kolin. Kandungan senyawa dominan dari suatu bahan dapat ditentukan dari luas area. Hal ini sesuai dengan pendapat Tuli dan Resson (2009) yang menyatakan bahwa kelimpahan relatif suatu senyawa ditentukan oleh luas area dalam uji LC-MS. Berdasarkan Tabel 5 dapat dilihat bahwa betain memiliki luas terbesar yaitu 270.127.830,54 (34,38%). Senyawa kedua yang memiliki luas terbesar adalah asam sinamat dengan luas 59.555.693,09 (7,58%). Senyawa ketiga yang memiliki luas terbesar adalah kolin dengan luas 42.791.025,71 (5,45%). Kromatogram tunggal berdasarkan ion molekuler ( $m/z$ ) dari betain, asam sinamat, dan kolin masing-masing ditunjukkan pada Gambar 16, Gambar 17, dan Gambar 18.

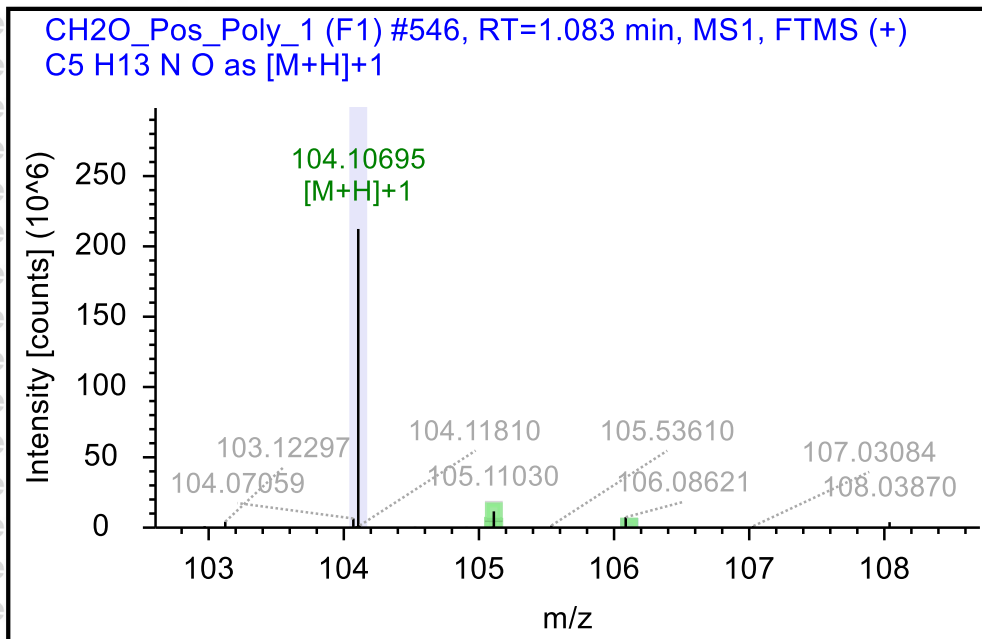


Gambar 16. Kromatogram Tunggal Betain Berdasarkan Ion Molekuler (m/z)



Gambar 17. Kromatogram Tunggal Asam Sinamat Berdasarkan Ion Molekuler (m/z)





**Gambar 18.** Kromatogram Tunggal Kolin Berdasarkan Ion Molekuler (m/z)

Gambar 16 menunjukkan bahwa betain memiliki ion molekul 118 m/z sehingga memiliki berat molekul 117 g/mol. Gambar 17 menunjukkan bahwa asam sinamat memiliki ion molekul 149 m/z sehingga memiliki berat molekul 148 g/mol.

Gambar 18 menunjukkan bahwa kolin memiliki ion molekul 104 m/z sehingga memiliki berat molekul 103 g/mol. Nilai ion molekul dan berat molekul dari suatu senyawa tidak jauh berbeda atau bahkan sama. Sargent (2013) menyatakan ion dengan muatan +1 atau -1, seperti yang ditemukan pada sebagian besar "molekul kecil", berat molekulnya sama atau tidak jauh berbeda dengan nilai m/z.

Betain adalah salah satu senyawa alkaloid (Preedy, 2015; Mahibalan, et al., 2016). Betain memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, dan antijamur. Kumar, et al. (2014) menyatakan bahwa betain diketahui memiliki peran imunostimulatori pada ikan. Berdasarkan penelitian Huynh, et al. (2018) diketahui bahwa betain dapat bertindak sebagai donor kelompok metil yang memainkan peran penting dalam metilasi DNA, mengubah ekspresi gen, dan perubahan terkait dalam proliferasi dan diferensiasi sel. Betain juga terbukti meningkatkan konsentrasi serin plasma. Betain dapat bertindak sebagai donor kelompok metil untuk ekspresi serin

protease yang mengatur aktivasi prophenoloxidase ke phenoloxidase, sehingga menghasilkan aktivasi peroxinectin secara bersamaan dan menghasilkan peningkatan kelangsungan hidup udang vaname. Betain dalam hal ini mungkin memainkan peran penting dalam mengatur sistem imun udang.

Asam sinamat termasuk dalam kelompok senyawa asam karboksilat.

Penelitian Yilmaz dan Ergun (2018) menghasilkan bahwa pemberian asam sinamat dalam pakan dapat meningkatkan imunitas dengan kenaikan granulosit (%), aktivitas fagosit, indeks fagosit, aktivitas *respiratory burst*, dan lisozim.

Menurut Hassaan, *et al.* (2019), bahwa kandungan antioksidan alami yang tinggi dalam obat herbal seperti asam sinamat dapat menghambat pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) dan menghilangkan radikal bebas dari jaringan. Senada dengan pendapat itu, Yonar, *et al.* (2011) melaporkan bahwa kandungan asam sinamat dalam propolis memiliki aktivitas antioksidan. Kandungan asam sinamat dalam ekstrak kayu manis juga memiliki aktivitas antiparasit (Ji, *et al.*, 2012). Sova (2012) menyatakan bahwa asam sinamat memiliki aktivitas antivirus terhadap virus yang berasal dari kelompok taksonomi yang berbeda serta sifat antijamur dan antibakteri. Syahidah, *et al.* (2015) melaporkan bahwa beberapa patogen akuatik seperti *Mycobacterium* sp., *Staphylococcus* sp., *Enterococcus* sp., *Pseudomonas* sp. dan *Micrococcus* sp. dapat secara efektif dihambat oleh ekstrak

kayu manis yang mengandung asam sinamat, sementara minyak esensial dari bahan ini juga memiliki sifat antibakteri, antijamur, antivirus, insektisida dan antioksidan. Penelitian dari Yeh, *et al.* (2009) menyimpulkan bahwa kandungan asam sinamat pada ekstrak daun kayu manis memiliki kemampuan untuk melawan patogen dan meningkatkan respon imun udang vaname. Aktivitas phenoloxidase, *respiratory burst*, dan aktivitas fagositosis mengalami peningkatan secara signifikan selama perlakuan.



Kolin termasuk dalam kelompok senyawa alkaloid. Khosravi, *et al.* (2015) menyatakan bahwa kolin adalah komponen penting dari struktur sel dan memainkan peran penting dalam pemeliharaan sel dan fungsi metabolisme tertentu. Oleh karena itu, kekurangan kofaktor ini dapat mempengaruhi fungsi kekebalan dan resistensi terhadap penyakit. Kolin juga diketahui dapat mensintesis asetilkolin yang berfungsi sebagai neurotransmitter. Wang, *et al.* (2019) menyatakan bahwa asetilkolin adalah komponen dari sistem kolinergik dan berfungsi sebagai sinyal antiinflamasi dengan mengikat reseptor pada makrofag. Selama infeksi WSSV pada *L. vannamei* terjadi gangguan pada asetilkolin. Diketahui bahwa kadar asetilkolin dalam hemosit udang terus mengalami penyesuaian selama infeksi WSSV karena hal tersebut akan mempengaruhi respon imun dari udang vaname ketika terjadi serangan dari patogen.

Berdasarkan uraian betain, asam sinamat, dan kolin di atas, diketahui bahwa bubuk ekstrak tinta cumi-cumi memiliki beberapa aktivitas biologis. Selama bertahun-tahun kandungan tinta cumi-cumi terus dipelajari. Penelitian ini menunjukkan bahwa bubuk ekstrak tinta cumi-cumi mengandung alkaloid dan asam karboksilat dari hasil uji FTIR. Pengujian lebih lanjut menggunakan LC-MS diketahui bahwa bubuk ekstrak tinta cumi-cumi mengandung banyak senyawa aktif. Senyawa dominan pada bubuk ekstrak tinta cumi-cumi adalah betain (alkaloid), asam sinamat (asam karboksilat), dan kolin (alkaloid). Betain memiliki luas terbesar yaitu 270.127.830,54 (34,38%). Asam sinamat dengan luas 59.555.693,09 (7,58%) dan kolin dengan luas 42.791.025,71 (5,45%). Kandungan betain, asam sinamat, dan kolin dalam bubuk ekstrak tinta cumi-cumi memiliki beberapa aktivitas biologis seperti antivirus, antibakteri, antioksidan, antijamur, dan lain-lain. Berdasarkan informasi tersebut dapat dikatakan bahwa bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dapat digunakan sebagai imunostimulan dalam industri budidaya perikanan, khususnya untuk melawan penyakit pada udang.



Berdasarkan hasil uji LC-MS pada Lampiran 7, diketahui bahwa senyawa tertinggi yang terkandung dalam 10 gram bubuk ekstrak tinta cumi-cumi adalah betain dengan persentase 34,38%. Jika dikonversikan ke dalam miligram maka dalam 10.000 mg bubuk ekstrak tinta cumi-cumi memiliki betain 34,38%. Pada penelitian ini menggunakan dosis perlakuan 400 mg/kg, 500 mg/kg, dan 600 mg/kg. Pada dosis 400 mg/kg pakan memiliki kandungan senyawa betain sebanyak 1,38%. Pada dosis 500 mg/kg pakan memiliki kandungan senyawa betain sebanyak 1,72%. Pada dosis 600 mg/kg pakan memiliki kandungan senyawa betain sebanyak 2,06%.

## 5.2 Hasil Uji LD<sub>50</sub> dan LC<sub>50</sub>

### 5.2.1 Uji *Lethal Dose 50* (LD<sub>50</sub>) IMNV pada Udang Vaname

Berdasarkan uji LD<sub>50</sub> yang telah dilakukan, didapatkan hasil kematian hewan uji berdasarkan perlakuan yang diberikan. Kematian tertinggi pada perlakuan 1:10, pada perlakuan kontrol negatif tidak terjadi kematian pada hewan uji, dan pada perlakuan kontrol positif terjadi kematian 100% pada hewan uji (Lampiran 8). Berdasarkan hasil tersebut didapatkan perlakuan dengan pengenceran 1:100 sebagai konsentrasi LD<sub>50</sub>. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Loy, *et al.* (2012), uji LD<sub>50</sub> dari perlakuan infeksi IMNV didapatkan hasil dengan konsentrasi pengenceran 1:100.

### 5.2.2 Uji *Lethal Concentration 50* (LC<sub>50</sub>) Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi pada Udang Vaname

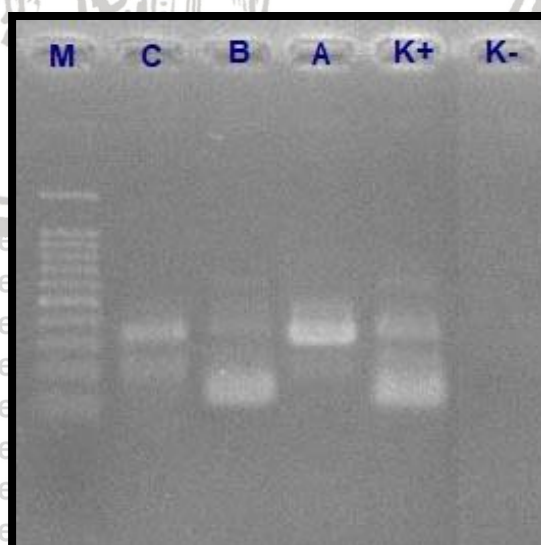
Berdasarkan uji LC<sub>50</sub> yang telah dilakukan, didapatkan hasil kematian hewan uji berdasarkan perlakuan yang diberikan. Kematian tertinggi pada perlakuan 750 mg/kg dan pada perlakuan kontrol negatif tidak terjadi kematian pada hewan uji (Lampiran 9). Hasil data yang didapatkan diuji menggunakan analisis probit untuk mengetahui konsentrasi mana yang dapat digunakan sebagai dosis LC<sub>50</sub> (analisis probit dapat dilihat pada Lampiran 9). Berdasarkan analisis



probit yang telah dilakukan didapatkan dosis yang dapat mengakibatkan kematian hewan uji sebanyak 50% yaitu 610,605 mg/kg. Maka dari itu dosis yang digunakan untuk penelitian ini adalah 400 mg/kg, 500 mg/kg, dan 600 mg/kg. Pemberian imunostimulan yang baik harus memperhatikan dosis pemberian yang optimal, dimana dosis aplikasi pemberian imunostimulan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi peningkatan respon imun pada udang. Dosis pemberian imunostimulan yang tinggi dapat menekan mekanisme pertahanan, sedangkan dosis pemberian yang rendah tidak cukup atau kurang efektif untuk memberikan respon imun (Putri, *et al.*, 2013). Cara pemberian imunostimulan menurut Barman, *et al.* (2013), yaitu dengan metode oral menghasilkan respon imun non spesifik yang bagus dan dapat menjadi metode yang paling efektif dengan biaya yang ekonomis.

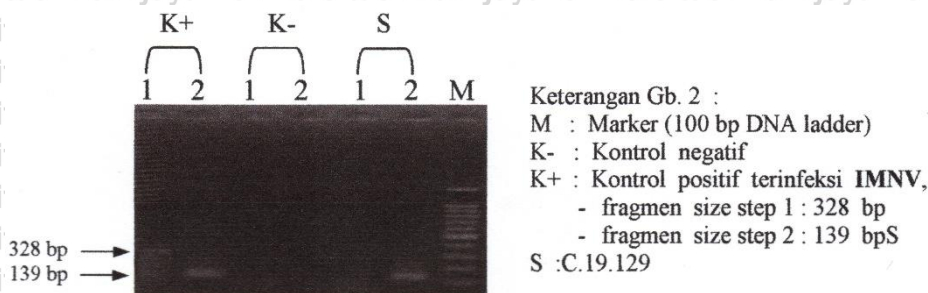
### 5.3 Konfirmasi Virus IMNV dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Berdasarkan tahap penelitian pengujian sampel udang vaname menggunakan metode PCR pada sampel udang penelitian didapatkan hasil positif terjangkit IMNV (Gambar 19) dibandingkan dengan sampel inokulum IMNV (Gambar 20 dan Lampiran 2).



Gambar 19. Hasil PCR Udang Vaname yang Diinfeksi IMNV





**Gambar 20.** Hasil PCR Sampel Inokulum IMNV

Hasil PCR diperoleh amplifikasi gen *RNA dependent RNA polymerase* (RdRp) pada 328 bp dan 139 bp, yang berarti terdapat DNA virus IMNV pada sampel DNA udang vaname. Hal ini mengindikasikan terinfeksi udang oleh virus IMNV. Tebal tipisnya pita yang terbentuk pada gel dipengaruhi oleh konsentrasi DNA yang dimiliki oleh setiap sampel. Berdasarkan hasil ini dapat dilihat bahwa ekspresi gen RdRp udang vaname yang terserang IMNV dapat terespresikan. Sudjito, *et al.* (2014) menyatakan bahwa perkembangbiakan IMNV yang cepat ditentukan oleh gen *RNA dependent RNA polymerase* (RdRp) yang menyandi RNA polimerase. Didukung keterangan Coelho-Melo, *et al.* (2014), bahwa hasil analisis filogenik dari RdRp IMNV menunjukkan klasifikasi sebagai anggota keluarga Totiviridae dan menunjukkan bahwa IMNV adalah anggota keluarga ini yang dapat menginfeksi secara horizontal maupun vertikal.

Sampel dari udang yang diinfeksi IMNV memunculkan *band* pada 328 bp dan 139 bp. Hal tersebut sependapat dengan Poulos dan Lightner (2006) yang menyatakan bahwa hasil dari deteksi IMNV pada udang vaname yang menggunakan dua set primer PCR menghasilkan amplicon 328 bp dan amplicon 139 bp. Didukung juga oleh Gudkovs, *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa sampel dari udang yang diinfeksi IMNV menghasilkan amplicon yang relatif kuat pada 328 bp dan 139 bp yang menunjukkan tingkat infeksi yang tinggi.



## 5.4 Respon Imun Udag Vaname

### 5.4.1 Total Haemocyte Count (THC)

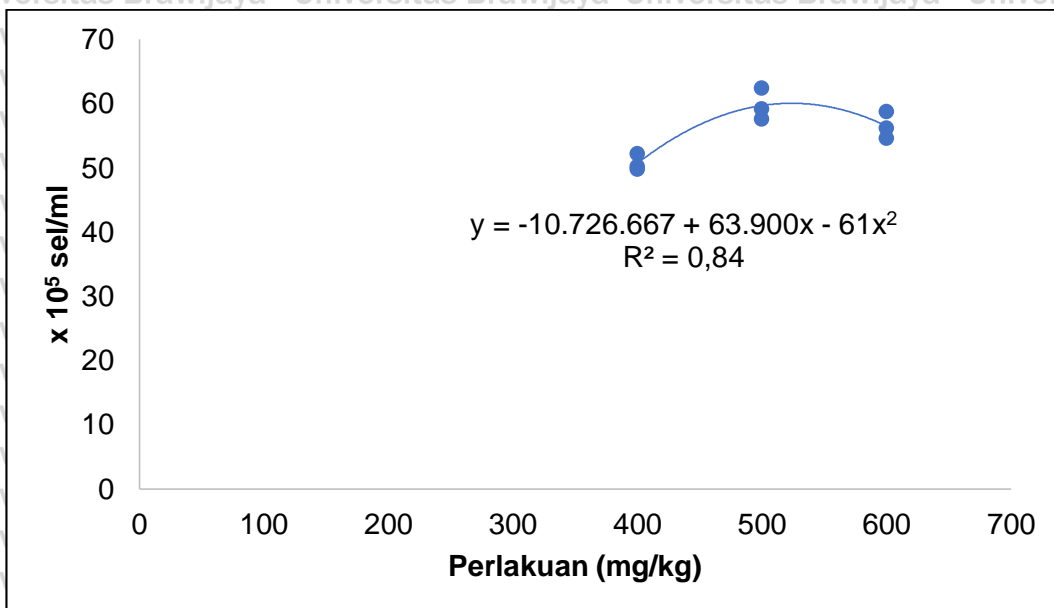
Berdasarkan tahap penelitian yang telah dilakukan, perhitungan jumlah total hemosit dilakukan dalam 4 tahapan yaitu sebelum pemberian imunostimulan (minggu 0), 7 hari pemberian imunostimulan (minggu 1), 14 hari pemberian imunostimulan (minggu 2), dan 7 hari pasca infeksi virus (minggu 3). Hasil pengamatan jumlah total hemosit udang selama penelitian disajikan dalam Tabel 6 dan data perhitungan THC terdapat pada Lampiran 10.

**Tabel 6.** Hasil Perhitungan *Total Haemocyte Count* (THC)

Perlakuan	Ulangan			Rerata ± SD	Notasi
	1	2	3		
<b>Minggu 0</b>					
K+	38,6	38,4	40,4	39,1 ± 1,1	ab
K-	37,2	38,6	40,2	38,7 ± 1,5	a
A	39,6	42,2	42,6	41,5 ± 1,6	bc
B	41,8	41,0	43,4	42,1 ± 1,2	c
C	43,6	40,4	41,6	41,9 ± 1,6	c
<b>Minggu 1</b>					
K+	39,0	38,2	42,4	39,9 ± 2,2	a
K-	35,4	38,8	39,6	37,9 ± 2,2	a
A	43,8	45,0	43,8	44,2 ± 0,7	b
B	46,2	47,4	49,0	47,5 ± 1,4	bc
C	51,8	49,2	46,2	49,1 ± 2,8	c
<b>Minggu 2</b>					
K+	41,6	39,0	43,8	41,5 ± 2,4	a
K-	35,6	39,2	41,6	38,8 ± 3,0	a
A	45,2	45,4	45,8	45,5 ± 0,3	b
B	52,6	51,8	53,4	52,6 ± 0,8	c
C	51,0	51,6	53,4	52,0 ± 1,2	c
<b>Minggu 3</b>					
K+	43,2	42,4	44,2	43,3 ± 0,9	b
K-	33,6	37,4	38,2	36,4 ± 2,5	a
A	49,8	52,2	50,2	50,7 ± 1,3	c
B	62,4	57,6	59,2	59,7 ± 2,4	d
C	54,6	56,2	58,8	56,5 ± 2,1	d

Berdasarkan Tabel 6 menunjukkan bahwa antar perlakuan memiliki pengaruh yang berbeda. Hal ini ditunjukkan dengan notasi yang dihasilkan tiap perlakuan yaitu berbeda-beda. Bentuk hubungan pada tiap perlakuan terhadap jumlah total hemosit udang vaname dapat dilihat pada Gambar 21.





**Gambar 21.** Hubungan antara Perlakuan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi terhadap *Total Haemocyte Count* (THC)

Berdasarkan Tabel 6 dapat dilihat pada waktu sebelum pemberian imunostimulan (minggu 0), nilai THC tertinggi pada perlakuan B yaitu sebesar 42,1 x 10<sup>5</sup> sel/ml dan terendah pada perlakuan kontrol negatif yaitu 38,7 x 10<sup>5</sup> sel/ml.

Berdasarkan analisis data yang dilakukan dengan metode *one way anova*, hasil pengamatan THC pada waktu sebelum pemberian imunostimulan (minggu 0) ini memiliki pengaruh berbeda nyata. Selanjutnya dilakukan dengan uji Duncan didapatkan hasil perlakuan A, C, dan B memiliki pengaruh yang paling besar pada nilai THC udang vaname (dapat dilihat pada Lampiran 10). Hal ini dikarenakan pada perlakuan A, C, dan B memiliki nilai THC yang hampir sama.

Berdasarkan Tabel 6 dapat dilihat pada waktu 7 hari pemberian imunostimulan (minggu 1), nilai THC tertinggi pada perlakuan C yaitu bernilai 49,1 x 10<sup>5</sup> sel/ml dan terendah pada perlakuan kontrol negatif yaitu 37,9 x 10<sup>5</sup> sel/ml.

Berdasarkan analisis data yang dilakukan dengan metode *one way anova*, perlakuan yang diberikan pada penelitian ini memiliki pengaruh berbeda sangat nyata. Selanjutnya dilakukan dengan uji Duncan didapatkan hasil perlakuan B dan C memiliki pengaruh yang paling besar terhadap peningkatan nilai THC pada



udang vaname (dapat dilihat pada Lampiran 10). Hal ini dikarenakan pada perlakuan B dan C memiliki nilai THC yang hampir sama.

Berdasarkan Tabel 6 dapat dilihat pada waktu 14 hari pemberian imunostimulan (minggu 2), nilai THC tertinggi pada perlakuan B yaitu bernilai  $52,6 \times 10^5$  sel/ml dan terendah pada perlakuan kontrol negatif yaitu  $38,8 \times 10^5$  sel/ml.

Berdasarkan analisis data yang dilakukan dengan metode *one way* anova, perlakuan yang diberikan pada penelitian ini memiliki pengaruh berbeda sangat nyata. Selanjutnya dilakukan dengan uji Duncan didapatkan hasil perlakuan C dan B memiliki pengaruh yang paling besar terhadap peningkatan nilai THC pada udang vaname (dapat dilihat pada Lampiran 10). Hal ini dikarenakan pada perlakuan C dan B memiliki nilai THC yang hampir sama.

Berdasarkan Tabel 6 dapat dilihat pada waktu 7 hari pasca infeksi virus (minggu 3), nilai THC tertinggi pada perlakuan B yaitu bernilai  $59,7 \times 10^5$  sel/ml dan terendah pada perlakuan kontrol negatif yaitu  $36,4 \times 10^5$  sel/ml. Berdasarkan analisis data yang dilakukan dengan metode *one way* anova perlakuan yang diberikan pada penelitian ini memiliki pengaruh berbeda sangat nyata. Selanjutnya dilakukan dengan uji Duncan didapatkan hasil perlakuan C dan B memiliki pengaruh yang paling besar terhadap peningkatan nilai THC pada udang vaname (dapat dilihat pada Lampiran 10). Hal ini dikarenakan pada perlakuan B dan C memiliki nilai THC yang hampir sama.

Berdasarkan pengamatan dari waktu sebelum pemberian imunostimulan (minggu 0) hingga 7 hari pasca infeksi virus (minggu 3) pada Tabel 6, perlakuan A, B, dan C mengalami kenaikan. Pada perlakuan kontrol positif juga terjadi kenaikan, hal ini dikarenakan mekanisme pertahanan udang vaname yang bereaksi terhadap serangan IMNV. Kontrol negatif mengalami penurunan dan kenaikan nilai THC karena pada perlakuan ini tidak diberi imunostimulan maupun infeksi virus. Berdasarkan hasil penelitian pada THC mengalami peningkatan yang



signifikan setelah dilakukan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi. Perlakuan B (500 mg/kg) selama pengamatan menunjukkan hasil yang berbeda signifikan dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Gambar 21 di atas menjelaskan bahwa hubungan antara penambahan dosis perlakuan ekstrak tinta cumi-cumi terhadap jumlah total hemosit udang vaname berbentuk pola kuadratik dengan persamaan  $y = -10.726.667 + 63.900x - 61x^2$ . Grafik yang dihasilkan dari persamaan tersebut adalah grafik berbentuk kurva positif, sehingga perlu ditentukan pada titik berapa X atau dosis dapat menghasilkan nilai Y atau THC tertinggi. Berdasarkan hasil perhitungan yang disajikan pada Lampiran 10, diketahui nilai X tersebut adalah 523,8 mg/kg dengan nilai Y atau THC yang dihasilkan sebesar 6.007.800,16 sel/ml. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang diperoleh sebesar 0,84, artinya nilai THC yang dihasilkan, 84% dipengaruhi oleh pemberian ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*).

Nilai THC yang didapatkan dari penelitian ini berdasarkan data pada Tabel 6 berkisar antara  $36,4 \times 10^5 - 59,7 \times 10^5$  sel/ml. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya pada udang penaeid yaitu terjadi peningkatan THC setelah pemberian OMP (*outer membrane protein*) *Vibrio alginolyticus* 20  $\mu$ g dengan nilai THC  $31,75 \times 10^5$  sel/ml (Maftuch, *et al.*, 2013), pemberian bakteri probiotik *Lactobacillus sp.* dapat meningkatkan *Total Hemocyte Count* (THC) udang vaname yang diinfeksi *Vibrio parahaemolyticus* dengan nilai THC berkisar antara 6,0 -  $55,8 \times 10^5$  sel/ml (Jannah, *et al.*, 2018). Hemosit didistribusikan baik dalam sistem pembuluh darah dan jaringan. Akibatnya, peningkatan nilai THC diasumsikan dari proliferasi atau pergerakan sel dari jaringan ke hemolim. Penurunan nilai THC mungkin karena lisis sel atau peningkatan pergerakan sel dari hemolim ke jaringan. Penurunan THC juga mungkin karena kondisi fisiologis udang yang berubah, karena meningkatnya kerentanan terhadap infeksi patogen (Maftuch, *et al.*, 2013). Variasi jumlah



hemosit diantara spesies udang penaid disebabkan juga oleh infeksi dan stresor lingkungan (Utomo, *et al.*, 2015).

Berdasarkan Gambar 21 dapat dilihat pada perlakuan B dan C terdapat perbedaan yang kecil, namun pada perlakuan B memiliki nilai yang lebih signifikan dibandingkan dengan perlakuan C. Hal ini dikarenakan menurut Chifdhiyah (2012), pemberian immunostimulan bergantung pada dosis. Pemberian konsentrasi dosis di bawah nilai minimal untuk terjadinya respon imun maka tidak akan memberikan pengaruh terhadap peningkatan jumlah hemosit, sedangkan pada dosis yang terlalu tinggi juga dapat tidak memberikan efek atau berperilaku sebagai inhibitor.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dapat meningkatkan jumlah total hemosit udang vaname. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nurdiansah (2013); Lestari, *et al.* (2015), bahwa tinta cumi positif mengandung senyawa alkaloid. Senyawa alkaloid dapat meningkatkan jumlah total hemosit udang vaname. Sahoo, *et al.* (2008) menjelaskan tingginya nilai THC pada udang yang diberi immunostimulan diakibatkan oleh tingginya mobilisasi sel darah dalam tubuh udang sehingga dapat meningkatkan imunitas dan pengenalan terhadap benda asing yang masuk dalam tubuh udang. Peningkatan jumlah hemosit merupakan ukuran kemampuan suatu zat untuk menstimulasi sistem pertahanan tubuh udang. Menurut Hermawan, *et al.* (2016), hemosit disintesis oleh jaringan hematopoietik yang merupakan sepasang *epigastric nodule*. Produksi tersebut dilakukan untuk mencapai keadaan homeostatis pasca introduksi immunostimulan. Jaringan tersebut terletak tepat di bagian dorsal pada lambung bagian depan (*anterior stomach*), yaitu tempat sintesa hemocyanin. Bila immunostimulan dapat meningkatkan hemocyanin, maka secara langsung akan terjadi pula peningkatan hemosit.

Hemosit merupakan sel yang memainkan peran sentral dalam pertahanan kekebalan krustasea, karena berperan dalam respon imun seluler maupun



humoral (Xu, *et al.*, 2014). Perubahan jumlah hemosit merupakan salah satu indikator stress dan status kesehatan pada udang (Rodriguez dan Le Moullac, 2000). Peningkatan total hemosit ini mengindikasikan bahwa meningkatnya reaksi pertahanan tubuh karena adanya partikel asing yang masuk kedalam tubuh udang.

Partikel asing yang masuk ke dalam tubuh udang, akan dikenali oleh reseptor sel hemosit hingga menghasilkan respon seluler seperti *intercellular signaling cascade*, fagositosis, enkapsulasi, dan agregasi nodular (Rodriguez dan Le Moullac, 2000). Johansson, *et al.* (2000) menambahkan bahwa hemosit udang memegang peranan penting dalam respon imun.

Total hemosit yang rendah sangat mempengaruhi kerentanan udang terhadap patogen. Apabila total hemosit menurun maka dapat terjadi infeksi akut yang menyebabkan kematian, sehingga total hemosit yang tinggi setelah dilakukan ujiantang menunjukkan bahwa peluang terbentuknya sel-sel fagositik dalam mengendalikan serangan organisme patogen tetap tinggi dan dapat meningkatkan sistem imun udang (Rodriguez dan Le Moullac, 2000). Jumlah hemosit udang juga dapat menurun apabila kondisi lingkungan memburuk, misalnya rendahnya kandungan oksigen terlarut, suhu dan salinitas atau terdapatnya serangan patogen (Supamattaya, *et al.*, 2005).

#### 5.4.2 Respiratory Burst (RB)

Berdasarkan tahap penelitian yang telah dilakukan, perhitungan RB dilakukan dalam 4 tahapan yaitu sebelum pemberian imunostimulan (minggu 0), 7 hari pemberian imunostimulan (minggu 1), 14 hari pemberian imunostimulan (minggu 2), dan 7 hari pasca infeksi virus (minggu 3). Didapatkan hasil pengamatan RB selama penelitian disajikan dalam Tabel 7 dan data perhitungan RB terdapat pada Lampiran 11.



**Tabel 7.** Hasil Perhitungan *Respiratory Burst* (RB)

Perlakuan	<i>Respiratory Burst</i> (OD 630 nm)			Notasi	
	Ulangan				
	1	2	3		
<b>Minggu 0</b>					
K+	0,526	0,518	0,521	0,52 ± 0,004	b
K-	0,511	0,514	0,512	0,51 ± 0,002	a
A	0,529	0,523	0,519	0,52 ± 0,005	b
B	0,568	0,565	0,566	0,57 ± 0,002	d
C	0,554	0,551	0,553	0,55 ± 0,002	c
<b>Minggu 1</b>					
K+	0,623	0,677	0,681	0,66 ± 0,032	a
K-	0,629	0,699	0,649	0,66 ± 0,036	a
A	0,689	0,7	0,742	0,71 ± 0,028	a
B	0,89	0,861	0,828	0,86 ± 0,031	c
C	0,784	0,743	0,793	0,77 ± 0,027	b
<b>Minggu 2</b>					
K+	0,668	0,773	0,756	0,73 ± 0,056	a
K-	0,664	0,617	0,639	0,64 ± 0,024	a
A	0,881	0,953	0,966	0,93 ± 0,046	b
B	0,981	0,901	0,886	0,92 ± 0,051	b
C	0,975	0,867	0,828	0,89 ± 0,076	b
<b>Minggu 3</b>					
K+	0,757	0,839	0,86	0,82 ± 0,054	b
K-	0,635	0,628	0,623	0,63 ± 0,006	a
A	0,891	0,91	0,966	0,92 ± 0,039	c
B	1,114	1,173	1,107	1,13 ± 0,036	d
C	0,981	0,971	0,945	0,97 ± 0,019	c

Berdasarkan Tabel 7 menunjukkan bahwa antar perlakuan memiliki pengaruh yang berbeda. Hal ini ditunjukkan dengan notasi yang dihasilkan tiap perlakuan yaitu berbeda-beda. Bentuk hubungan pada tiap perlakuan terhadap *respiratory burst* udang vaname dapat dilihat pada Gambar 22.

Berdasarkan Tabel 7 dapat dilihat pada waktu sebelum pemberian imunostimulan (minggu 0), nilai RB tertinggi pada perlakuan B yaitu sebesar 0,57 dan terendah pada perlakuan kontrol negatif yaitu 0,51. Berdasarkan analisis data yang dilakukan dengan metode *one way* anova, hasil pengamatan RB pada waktu sebelum pemberian imunostimulan (minggu 0) ini memiliki pengaruh berbeda sangat nyata. Selanjutnya dilakukan uji lanjutan dengan uji Duncan didapatkan hasil perlakuan B memiliki pengaruh yang paling besar pada nilai RB pada udang vaname (dapat dilihat pada Lampiran 11).





Berdasarkan Tabel 7 dapat dilihat pada 7 hari pemberian imunostimulan (minggu 1), nilai RB tertinggi pada perlakuan B yaitu sebesar 0,86 dan terendah pada perlakuan kontrol positif dan negatif yaitu 0,66. Berdasarkan analisis data yang dilakukan dengan metode *one way* anova, perlakuan yang diberikan pada penelitian ini memiliki pengaruh berbeda sangat nyata. Selanjutnya dilakukan uji lanjutan dengan uji Duncan didapatkan hasil perlakuan B memiliki pengaruh yang paling besar terhadap peningkatan jumlah RB pada udang vaname (dapat dilihat pada Lampiran 11).

Berdasarkan Tabel 7 dapat dilihat pada waktu 14 hari pemberian imunostimulan (minggu 2), nilai RB tertinggi pada perlakuan A yaitu sebesar 0,93 sedangkan nilai RB terendah pada perlakuan kontrol negatif yaitu 0,64. Berdasarkan analisis data yang dilakukan dengan metode *one way* anova, perlakuan yang diberikan pada penelitian ini memiliki pengaruh berbeda sangat nyata. Selanjutnya dilakukan uji lanjutan dengan uji Duncan didapatkan hasil perlakuan C, B, dan A memiliki pengaruh yang paling besar terhadap peningkatan jumlah RB pada udang vaname (dapat dilihat pada Lampiran 11). Hal ini dikarenakan nilai RB pada perlakuan C, B, dan A memiliki nilai yang hampir sama.

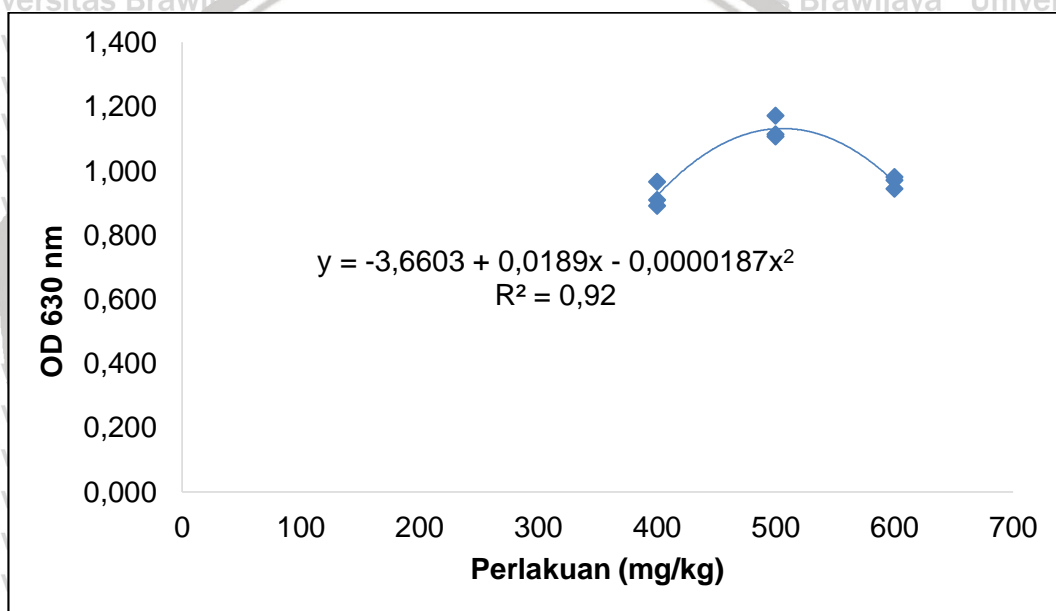
Berdasarkan Tabel 7 dapat dilihat pada waktu 7 hari pasca infeksi virus (minggu 3), nilai RB tertinggi pada perlakuan B yaitu sebesar 1,13 dan terendah pada perlakuan kontrol negatif yaitu 0,63. Berdasarkan analisis data yang dilakukan dengan metode *one way* anova, perlakuan yang diberikan pada penelitian ini memiliki pengaruh berbeda sangat nyata. Selanjutnya dilakukan uji lanjutan dengan uji Duncan didapatkan hasil perlakuan B memiliki pengaruh yang paling besar terhadap peningkatan jumlah RB pada udang vaname (dapat dilihat pada Lampiran 11).

Berdasarkan pengamatan dari waktu sebelum pemberian imunostimulan (minggu 0) hingga 7 hari pasca infeksi virus (minggu 3) pada Tabel 7, perlakuan



A, B, dan C mengalami kenaikan. Pada perlakuan kontrol positif juga terjadi kenaikan, hal ini dikarenakan mekanisme pertahanan udang vaname yang bereaksi terhadap serangan IMNV. Kontrol negatif terjadi penurunan dan kenaikan nilai RB karena pada perlakuan ini tidak diberi imunostimulan maupun infeksi virus.

Berdasarkan hasil penelitian pada RB mengalami peningkatan yang signifikan setelah dilakukan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi. Perlakuan B (500 mg/kg) selama pengamatan menunjukkan hasil yang berbeda signifikan dibandingkan dengan perlakuan lainnya.



**Gambar 22.** Hubungan antara Perlakuan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi terhadap *Respiratory Burst* (RB)

Gambar 22 di atas menjelaskan bahwa hubungan antara penambahan dosis perlakuan ekstrak tinta cumi-cumi terhadap *respiratory burst* udang vaname berbentuk pola kuadratik dengan persamaan  $y = -3,6603 + 0,0189x - 0,0000187x^2$ .

Grafik yang dihasilkan dari persamaan tersebut adalah grafik berbentuk kurva positif, sehingga perlu ditentukan pada titik berapa X atau dosis dapat menghasilkan nilai Y atau RB tertinggi. Berdasarkan hasil perhitungan yang disajikan pada Lampiran 11, diketahui nilai X tersebut adalah 505,4 mg/kg dengan nilai Y atau RB yang dihasilkan sebesar 1,1. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang

diperoleh sebesar 0,92, artinya nilai RB yang dihasilkan, 92% dipengaruhi oleh pemberian ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*).

Berdasarkan Gambar 22 dapat dilihat pada perlakuan B dan C terdapat perbedaan yang kecil. Namun pada perlakuan B memiliki nilai yang lebih signifikan dibandingkan dengan perlakuan C. Hal ini dikarenakan menurut Chidhiyah (2012), pemberian immunostimulan bergantung pada dosis. Pemberian konsentrasi dosis di bawah nilai minimal untuk terjadinya respon imun maka tidak akan memberikan pengaruh terhadap peningkatan jumlah hemosit, sedangkan pada dosis yang terlalu tinggi juga dapat tidak memberikan efek atau berperilaku sebagai inhibitor.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dapat meningkatkan nilai RB. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nurdiansah (2013); Syahidah, *et al.* (2015), bahwa tinta cumi positif mengandung senyawa alkaloid. Senyawa alkaloid dapat meningkatkan nilai RB. Rodriguez dan Le Moullac (2000) menyatakan bahwa RB diamati dengan tujuan untuk mengetahui tingkat pertahanan tubuh yang berkaitan dengan aktivitas superoxide anion ( $O_2^-$ ) yang ditandai dengan kemampuan sel darah untuk mereduksi NBT (nitroblue tetrazolium). Selain itu, nilai RB berkaitan dengan tingkat fagositosis sehingga semakin tinggi nilai RB, diduga semakin baik pula sistem pertahanan tubuh udang.

RB yang terjadi selama proses fagositosis, mengarah pada pembentukan anion superoksida dan spesies oksigen reaktif lainnya (ROS) (Chen, *et al.*, 2015).

Fagositosis merupakan proses penting pada sistem pertahanan seluler udang vaname. Saat terjadinya penelanan mikroorganisme oleh hemosit akan diikuti dengan dihasilkannya beberapa bahan antimikroba. Salah satu substansi tersebut adalah *reactive oxygen* yang terdiri atas anion superoksida. Anion superoksida merupakan substansi yang pertama kali dihasilkan pada saat terjadi lonjakan respirasi yang dikatalis oleh enzim NADPH oksidase sehingga pengukurannya



dapat dijadikan dasar untuk menentukan intensitas RB (Campa-Córdova, *et al.*, 2002).

### 5.4.3 Superoxide Dismutase (SOD)

Berdasarkan tahap penelitian yang telah dilakukan, perhitungan SOD dilakukan dalam 4 tahapan yaitu sebelum pemberian imunostimulan (minggu 0), 7 hari pemberian imunostimulan (minggu 1), 14 hari pemberian imunostimulan (minggu 2), dan 7 hari pasca infeksi virus (minggu 3). Didapatkan hasil pengamatan SOD selama penelitian disajikan dalam Tabel 8 dan data perhitungan SOD terdapat pada Lampiran 12.

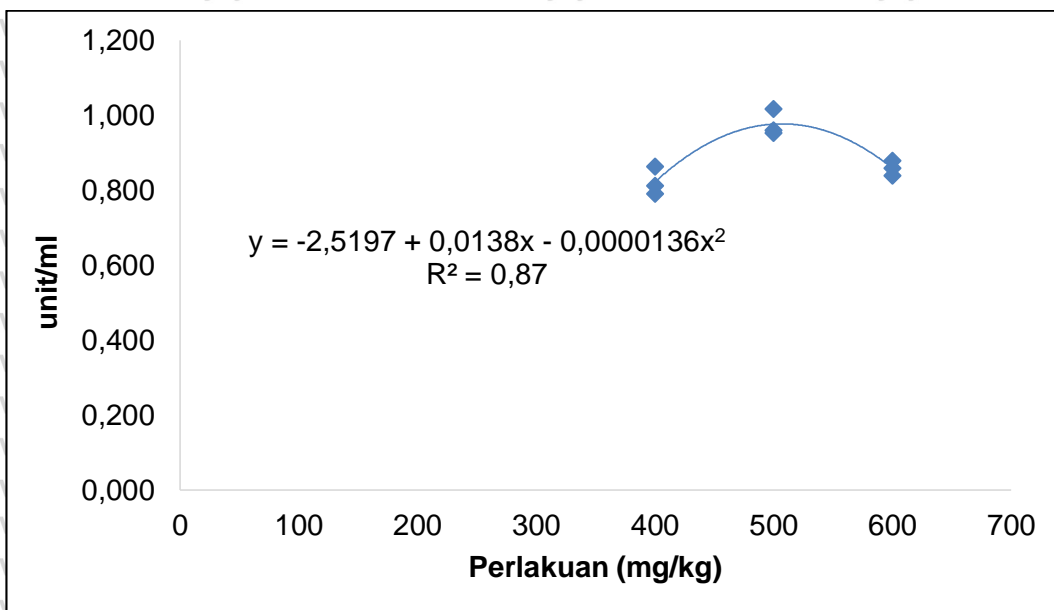
**Tabel 8.** Hasil Perhitungan *Superoxide Dismutase* (SOD)

Perlakuan	Ulangan			Rerata ± SD	Notasi
	1	2	3		
<b>Minggu 0</b>					
K+	0,577	0,558	0,535	0,56 ± 0,021	b
K-	0,501	0,512	0,524	0,51 ± 0,012	a
A	0,583	0,572	0,563	0,57 ± 0,010	b
B	0,588	0,556	0,596	0,58 ± 0,021	b
C	0,579	0,515	0,558	0,55 ± 0,033	b
<b>Minggu 1</b>					
K+	0,548	0,507	0,571	0,54 ± 0,032	a
K-	0,563	0,638	0,502	0,57 ± 0,068	ab
A	0,627	0,652	0,692	0,66 ± 0,033	bc
B	0,786	0,793	0,86	0,81 ± 0,041	d
C	0,747	0,635	0,63	0,67 ± 0,066	c
<b>Minggu 2</b>					
K+	0,553	0,506	0,555	0,54 ± 0,028	a
K-	0,557	0,649	0,548	0,58 ± 0,056	a
A	0,69	0,721	0,753	0,72 ± 0,032	b
B	0,854	0,863	0,892	0,87 ± 0,020	d
C	0,829	0,79	0,786	0,80 ± 0,024	c
<b>Minggu 3</b>					
K+	0,702	0,74	0,728	0,72 ± 0,019	b
K-	0,562	0,676	0,562	0,60 ± 0,066	a
A	0,791	0,812	0,864	0,82 ± 0,038	c
B	0,96	0,953	1,018	0,98 ± 0,036	d
C	0,879	0,84	0,859	0,86 ± 0,020	c

Berdasarkan Tabel 8 menunjukkan bahwa antar perlakuan memiliki pengaruh yang berbeda. Hal ini ditunjukkan dengan notasi yang dihasilkan tiap



perlakuan yaitu berbeda-beda. Bentuk hubungan pada tiap perlakuan terhadap *superoxide dismutase* udang vaname dapat dilihat pada Gambar 23.



**Gambar 23.** Hubungan antara Perlakuan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi terhadap *Superoxide Dismutase* (SOD)

Berdasarkan Tabel 8 dapat dilihat pada waktu sebelum pemberian imunostimulan (minggu 0), nilai SOD tertinggi pada perlakuan C yaitu sebesar 0,58 unit/ml dan terendah pada perlakuan kontrol negatif yaitu 0,51 unit/ml.

Berdasarkan analisis data yang dilakukan dengan metode *one way anova*, hasil pengamatan SOD pada waktu sebelum pemberian imunostimulan (minggu 0) ini memiliki pengaruh berbeda nyata. Kemudian dilakukan uji lanjutan dengan uji Duncan didapatkan hasil perlakuan C, K+, A, dan B memiliki pengaruh yang paling besar pada nilai SOD pada udang vaname (dapat dilihat pada Lampiran 12). Hal ini dikarenakan nilai SOD pada perlakuan C, K+, A, dan B memiliki nilai yang hampir sama.

Berdasarkan Tabel 8 dapat dilihat pada 7 hari pemberian imunostimulan (minggu 1), nilai SOD tertinggi pada perlakuan B yaitu sebesar 0,81 unit/ml dan terendah pada perlakuan kontrol positif yaitu 0,54 unit/ml. Berdasarkan analisis data yang dilakukan dengan metode *one way anova*, perlakuan yang diberikan



pada penelitian ini memiliki pengaruh berbeda nyata. Kemudian dilakukan uji lanjutan dengan uji Duncan didapatkan hasil perlakuan C, K+, A, dan B memiliki pengaruh yang paling besar terhadap peningkatan jumlah SOD pada udang vaname (dapat dilihat pada Lampiran 12). Hal ini dikarenakan nilai SOD pada perlakuan C, K+, A, dan B memiliki nilai yang hampir sama.

Berdasarkan Tabel 8 dapat dilihat pada waktu 14 hari pemberian imunostimulan (minggu 2), nilai SOD tertinggi pada perlakuan B yaitu sebesar 0,87 unit/ml sedangkan nilai SOD terendah pada perlakuan kontrol positif yaitu 0,54 unit/ml. Berdasarkan analisis data yang dilakukan dengan metode *one way anova*, perlakuan yang diberikan pada penelitian ini memiliki pengaruh berbeda sangat nyata. Kemudian dilakukan uji lanjutan dengan uji Duncan didapatkan hasil perlakuan B memiliki pengaruh yang paling besar terhadap peningkatan jumlah SOD pada udang vaname (dapat dilihat pada Lampiran 12).

Berdasarkan Tabel 8 dapat dilihat pada waktu 7 hari pasca infeksi virus (minggu 3), nilai SOD tertinggi pada perlakuan B yaitu sebesar 0,98 unit/ml dan terendah pada perlakuan kontrol negatif yaitu 0,60 unit/ml. Berdasarkan analisis data yang dilakukan dengan metode *one way anova*, perlakuan yang diberikan pada penelitian ini memiliki pengaruh berbeda sangat nyata. Kemudian dilakukan uji lanjutan dengan uji Duncan didapatkan hasil perlakuan C dan B memiliki pengaruh yang paling besar terhadap peningkatan jumlah SOD pada udang (dapat dilihat pada Lampiran 12). Hal ini dikarenakan nilai SOD pada perlakuan C dan B memiliki nilai yang hampir sama.

Berdasarkan pengamatan dari waktu sebelum pemberian imunostimulan (minggu 0) hingga 7 hari pasca infeksi virus (minggu 3) pada Tabel 8, perlakuan A, B, dan C mengalami kenaikan. Pada perlakuan kontrol positif juga terjadi kenaikan, hal ini dikarenakan mekanisme pertahanan udang vaname yang bereaksi terhadap serangan IMNV. Kontrol negatif terjadi penurunan dan kenaikan



nilai SOD karena pada perlakuan ini tidak diberi imunostimulan maupun infeksi virus. Berdasarkan hasil penelitian pada SOD mengalami peningkatan yang signifikan setelah dilakukan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi. Perlakuan B (500 mg/kg) selama pengamatan menunjukkan hasil yang berbeda signifikan dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Gambar 23 di atas menjelaskan bahwa hubungan antara penambahan dosis perlakuan ekstrak tinta cumi-cumi terhadap *superoxide dismutase* udang vaname berbentuk pola kuadratik dengan persamaan  $y = -2,5197 + 0,0138x - 0,0000136x^2$ . Grafik yang dihasilkan dari persamaan tersebut adalah grafik berbentuk kurva positif, sehingga perlu ditentukan pada titik berapa X atau dosis dapat menghasilkan nilai Y atau SOD tertinggi. Berdasarkan hasil perhitungan yang disajikan pada Lampiran 12, diketahui nilai X tersebut adalah 507,4 mg/kg dengan nilai Y atau SOD yang dihasilkan sebesar 1 unit/ml. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang diperoleh sebesar 0,87, artinya nilai SOD yang dihasilkan, 87% dipengaruhi oleh pemberian ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.).

Berdasarkan Gambar 23 dapat dilihat pada perlakuan B dan C terdapat perbedaan yang kecil. Namun pada perlakuan B memiliki nilai yang lebih signifikan dibandingkan dengan perlakuan C. Hal ini dikarenakan menurut Chidhiah (2012), pemberian imunostimulan bergantung pada dosis. Pemberian konsentrasi dosis di bawah nilai minimal untuk terjadinya respon imun maka tidak akan memberikan pengaruh terhadap peningkatan jumlah hemosit, sedangkan pada dosis yang terlalu tinggi juga dapat tidak memberikan efek atau berperilaku sebagai inhibitor.

Menurut Gómez-Anduro, *et al.* (2012), ketika udang mengalami infeksi atau mendapat stressor, hemosit akan memproduksi *reactive oxygen species* (ROS) dan konsentrasinya akan diimbangi dengan enzim antioksidan, salah satunya adalah SOD. Ramadhani, *et al.* (2017) menyatakan bahwa peningkatan SOD ini



bertujuan untuk mengurangi ledakan superoksida seluler selama pertahanan melawan infeksi virus dan untuk melindungi sel-sel udang dari kerusakan.

Menurut Nurhayati, *et al.* (2011), SOD merupakan enzim antioksidan yang berperan dalam mengkatalisis perubahan ion superoksida yang merupakan radikal bebas menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. *Superoxide dismutase* telah menjadi satu cara alternatif untuk meminimalkan kerusakan jaringan akibat radikal bebas. Roberston, *et al.* (2003) menyatakan bahwa rendahnya aktivitas enzim antioksidan dapat menunjukkan tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh. Hal ini disebabkan SOD tidak mampu mengimbangi peningkatan produksi superoksida.

### 5.5 Hasil Analisis Proksimat

Data komposisi kimia bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dan pakan X secara lengkap disajikan pada Lampiran 13. Hasil analisis proksimat bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dan pakan X dengan perlakuan 400 mg/kg, 500 mg/kg, dan 600 mg/kg dapat dilihat pada Tabel 9.

**Tabel 9.** Hasil Analisis Proksimat Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi dan Pakan X

Perlakuan	Protein (%)	Lemak (%)	Air (%)	Abu (%)	Serat Kasar (%)
Kontrol (Pakan X)	37,12	4,76	10,9	10,92	2,72
A (400 mg/kg)	40,38	4,03	10,43	12,45	2,49
B (500 mg/kg)	40,49	4,39	10,73	12,44	2,39
C (600 mg/kg)	40,62	4,18	10,9	12,44	2,52
Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi	10,25	1,35	0,35	1,28	1,11

Berdasarkan hasil Tabel 9 diketahui bahwa pakan X memiliki protein 37,12% yang cukup untuk memenuhi kebutuhan protein dari udang vaname. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kordi (2009), bahwa udang vaname membutuhkan pakan yang mengandung protein 32-38%. Menurut Tahe dan Suwoyo (2011), kadar protein dalam pakan merupakan zat makanan yang sangat dibutuhkan untuk pemeliharaan tubuh, pembentukan jaringan tubuh yang rusak serta penambahan protein tubuh dalam proses pertumbuhan.





Pakan perlakuan memiliki kandungan protein yang lebih tinggi daripada pakan kontrol yaitu perlakuan A memiliki kandungan protein 40,38%, perlakuan B memiliki kandungan protein 40,49%, dan perlakuan C memiliki kandungan protein 40,62%. Kandungan protein ini masih tergolong dalam kebutuhan protein yang dibutuhkan pada pakan udang. Menurut Romadhona, *et al.* (2016), kandungan protein pada pakan udang buatan (pellet) yang dibutuhkan cukup tinggi, yaitu sekitar 40%.

Berdasarkan hasil Tabel 9 diketahui bahwa bubuk ekstrak tinta cumi-cumi memiliki protein 10,25%. Hal ini sesuai dengan pernyataan Agusandi, *et al.* (2013), bahwa tinta cumi-cumi mengandung 10-15% protein, sehingga menjadi salah satu sumber protein yang baik. Hidayati, *et al.* (2016) juga menambahkan bahwa tinta cumi-cumi mengandung protein sebesar 10,88% yang terdiri atas asam amino esensial dan non esensial.

Berdasarkan hasil uji LC-MS yang telah dilakukan (Lampiran 7), diketahui bahwa terdapat beberapa asam amino esensial dan non esensial dalam bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (Tabel 10).

**Tabel 10.** Kandungan Asam Amino dalam Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi

Asam Amino	Rumus Kimia	Berat Molekul (g/mol)	Waktu Retensi (menit)	Luas Area	Persentase (%)	Jenis
Isoleusin	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	131,0943	1,369	27.280.191,36	3,47	Esensial
Prolin	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	115,0632	1,137	19.645.378,64	2,50	Non Esensial
Asam Glutamat	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	147,05274	0,939	8.712.897,87	1,11	Non Esensial
Histidin	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	155,06903	1,125	2.148.815,07	0,27	Esensial
Asam Aspartat	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>4</sub>	133,03711	0,945	789.218,86	0,10	Non Esensial
Arginin	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	174,11118	1,125	691.799,57	0,09	Esensial
Sitruilin	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	197,07712	0,973	615.487,87	0,08	Non Esensial
Treonin	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	119,05872	1,503	253.283,34	0,03	Esensial

Berdasarkan Tabel 10 diketahui bahwa terdapat asam amino esensial dan non esensial dalam bubuk ekstrak tinta cumi-cumi. Asam amino esensial yang





ditemukan yaitu isoleusin, histidin, arginin, dan treonin. Asam amino non esensial yang ditemukan yaitu prolin, asam glutamat, asam aspartat, dan sitrulin. Hasil tersebut sesuai dengan pernyataan Hidayati, *et al.* (2016), bahwa tinta cumi-cumi mengandung asam amino esensial yang dominan berupa lisin, leusin, arginin dan fenilalanin, sedangkan kadar asam amino non esensial yang dominan adalah asam glutamat dan asam aspartat.

Zuliyani, *et al.* (2017) menyatakan bahwa penambahan protein ke dalam pakan bertujuan untuk menambahkan asam amino esensial dalam pakan buatan.

Kaligis (2015) menambahkan bahwa naiknya kandungan protein berarti asam amino dengan porsi yang lebih banyak tersedia dalam pakan sehingga udang vaname mampu secara efisien memanfaatkan kelebihan protein pakan untuk pertumbuhan. Xie, *et al.* (2015) berpendapat bahwa asam amino tidak hanya berfungsi membangun blok untuk protein jaringan, tetapi juga substrat penting untuk sintesis banyak zat yang aktif secara biologis dengan peran penting dalam mempertahankan proses fisiologis dan status gizi dari tubuh. Menurut Rahimnejad dan Lee (2014), beberapa asam amino diketahui berperan penting dalam memodulasi berbagai respon imun.

Berdasarkan penelitian Xie, *et al.* (2016), dosis isoleusin yang ditambahkan ke dalam pakan berbanding lurus dengan peningkatan aktivitas katalase, *superoxide dismutase*, dan *phenoloxidase* pada udang vaname. Macias-Sancho, *et al.* (2014) menambahkan bahwa histidin yang merupakan asam amino esensial yang ditambahkan dalam pakan untuk *L. vannamei* mampu meningkatkan respon imun dengan meningkatkan jumlah sel granular dan dengan mengurangi apoptosis. Menurut Li, *et al.* (2007), arginin berperan dalam membunuh patogen, regulasi produksi sitokin, dan mediator penyakit autoimun. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Zhou, *et al.* (2013), penambahan asam amino treonin pada pakan mampu meningkatkan kinerja pertumbuhan dan kemampuan imun udang

vaname yang ditandai dengan peningkatan aktivitas superoxide dismutase dan phenoloxidase.

**5.6 Survival Rate**

Berdasarkan hasil pengamatan kelulushidupan menunjukkan bahwa pada akhir masa pemeliharaan pada perlakuan K+ memiliki nilai kelulushidupan yang terendah yaitu sebesar 36,67% dan tertinggi pada perlakuan K- yaitu sebesar 93,33%, hal ini disebabkan tidak adanya pemberian infeksi virus (data *survival rate* terdapat pada Lampiran 14). Hasil kematian selama pemeliharaan dapat dilihat pada Tabel 11.

**Tabel 11.** Hasil Perhitungan *Survival Rate* (SR)

Perlakuan	Survival Rate (%)			Rerata ± SD	Notasi
	1	2	3		
<b>7 Hari Perlakuan Pakan</b>					
K+	100	100	100	100 ± 0	a
K-	100	100	100	100 ± 0	a
A	100	100	100	100 ± 0	a
B	100	100	100	100 ± 0	a
C	100	100	100	100 ± 0	a
<b>14 Hari Perlakuan Pakan</b>					
K+	100	100	100	100 ± 0	a
K-	90	100	100	96,67 ± 5,77	a
A	100	100	100	100 ± 0	a
B	100	100	100	100 ± 0	a
C	100	100	100	100 ± 0	a
<b>1 Hari Infeksi IMNV</b>					
K+	100	90	90	93,33 ± 5,77	a
K-	90	100	100	96,67 ± 5,77	a
A	90	100	90	93,33 ± 5,77	a
B	100	100	100	100 ± 0	a
C	100	90	100	96,67 ± 5,77	a
<b>3 Hari Infeksi IMNV</b>					
K+	80	70	70	73,33 ± 5,77	a
K-	90	100	100	96,67 ± 5,77	b
A	90	80	90	86,67 ± 5,77	b
B	100	90	100	96,67 ± 5,77	b
C	90	90	80	86,67 ± 5,77	b

**Tabel 11.** (Dilanjutkan)

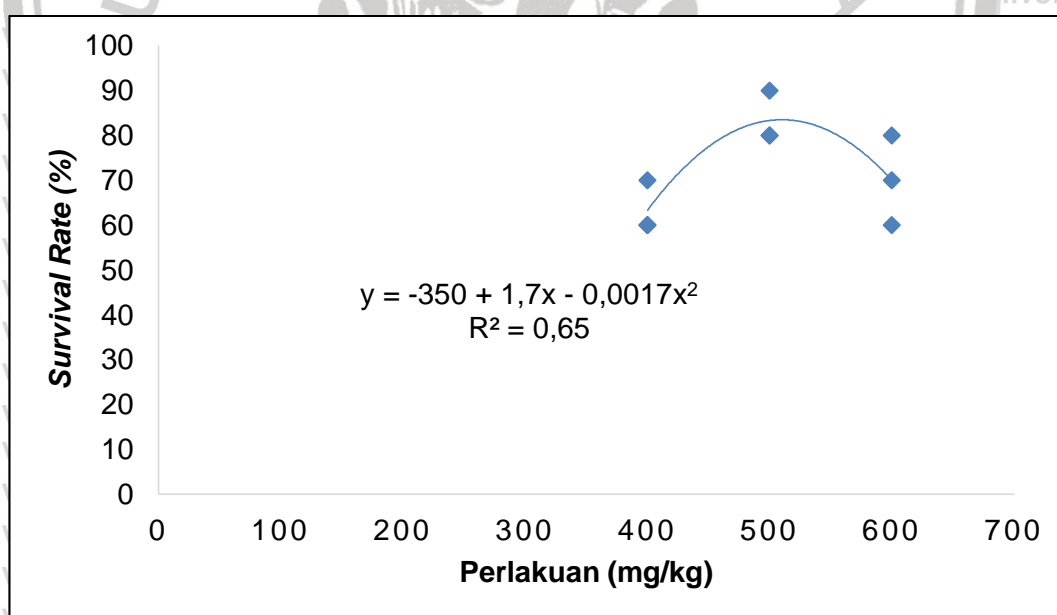




Tabel 11. (Lanjutan)

Perlakuan	Survival Rate (%)			Notasi	
	Ulangan				
	1	2	3		
<b>5 Hari Infeksi IMNV</b>					
K+	50	50	60	53,33 ± 5,77	a
K-	90	100	90	93,33 ± 5,77	d
A	80	70	70	73,33 ± 5,77	b
B	80	90	90	86,67 ± 5,77	cd
C	90	80	70	80 ± 10,00	bc
<b>7 Hari Infeksi IMNV</b>					
K+	30	40	40	36,67 ± 5,77	a
K-	90	100	90	93,33 ± 5,77	c
A	70	60	60	63,33 ± 5,77	b
B	80	80	90	83,33 ± 5,77	c
C	80	70	60	70 ± 10,00	b

Berdasarkan Tabel 11 menunjukkan bahwa antar perlakuan memiliki pengaruh yang berbeda. Hal ini ditunjukkan dengan notasi yang dihasilkan tiap perlakuan yaitu berbeda-beda. Bentuk hubungan pada tiap perlakuan terhadap tingkat kelangsungan hidup udang vaname dapat dilihat pada Gambar 24.



Gambar 24. Hubungan antara Perlakuan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi terhadap Survival Rate (SR)

Berdasarkan Tabel 11 dapat dilihat bahwa survival rate terendah pada perlakuan K+ hal ini dikarenakan pada perlakuan tersebut udang terinfeksi IMNV tanpa ada penambahan imunostimulan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Zaujat,



et al. (2016), bahwa penyakit myonecrosis biasanya terjadi secara akut di tambak dengan tingkat kematian yang tinggi dan gejala klinis pada udang vaname, kemudian perjalanan penyakit menjadi kronis dengan tingkat kematian mencapai 40-70%.

SR tertinggi terjadi pada perlakuan K-. Hal ini dikarenakan pada perlakuan ini udang tidak diberikan perlakuan apapun (udang sehat), kematian udang yang terjadi pada perlakuan kontrol dikarenakan udang *moulting* dan di makan oleh udang yang lainnya. Sesuai yang disebutkan oleh Yustianti, et al. (2013), bahwa jika udang *moulting* akan menyebabkan kanibalisme sehingga udang akan saling makan. Udang akan mengeluarkan cairan *moulting* yang dapat merangsang udang lain untuk mendekat dan memangsa (kanibalisme), sehingga akan membuat organ udang hilang seperti mata, rostrum, kaki jalan dan kaki renang bahkan akan membuat udang itu mati.

Tingkat kematian pada perlakuan A lebih tinggi dari pada perlakuan C dan perlakuan B. Hal ini disebabkan pada perlakuan A merupakan perlakuan dengan pemberian imunostimulan paling rendah konsentrasinya dibandingkan dengan kedua perlakuan lainnya. Hal ini menyebabkan daya tahan tubuh udang lebih rentan dibandingkan dengan perlakuan B dan C. Sesuai dengan pernyataan Couso, et al. (2003), bahwa dosis pemberian imunostimulan yang rendah kurang efektif untuk memberikan respon imun pada udang. *Survival rate* udang lebih tinggi ketika diberikan imunostimulan sebagai pertahanan terhadap serangan IMNV dibandingkan udang yang terinfeksi IMNV tanpa perlakuan imunostimulan.

Gambar 24 di atas menjelaskan bahwa hubungan antara penambahan dosis perlakuan ekstrak tinta cumi-cumi terhadap tingkat kelangsungan hidup udang vaname berbentuk pola kuadratik dengan persamaan  $y = -350 + 1,7x - 0,0017x^2$ . Grafik yang dihasilkan dari persamaan tersebut adalah grafik berbentuk kurva positif, sehingga perlu ditentukan pada titik berapa X atau dosis dapat



menghasilkan nilai Y atau SR tertinggi. Berdasarkan hasil perhitungan yang disajikan pada Lampiran 14, diketahui nilai X tersebut adalah 500 mg/kg dengan nilai Y atau SR yang dihasilkan sebesar 75%. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang diperoleh sebesar 0,65, artinya nilai SR yang dihasilkan, 65% dipengaruhi oleh pemberian ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*).

Berdasarkan analisis data yang dilakukan dengan metode *one way anova*, perlakuan yang diberikan pada penelitian ini memiliki pengaruh berbeda sangat nyata. Kemudian dilakukan uji lanjutan dengan uji Duncan (dapat dilihat pada Lampiran 14). Berdasarkan analisis yang dilakukan didapatkan hasil perlakuan K- tidak berbeda secara signifikan terhadap perlakuan B. Perlakuan K+ berbeda secara nyata dengan perlakuan A, B, C dan K-. Perlakuan A berbeda secara nyata dengan perlakuan K-, K+, dan B. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan perlakuan imunostimulan yang paling berpengaruh terhadap SR adalah perlakuan B. Hal ini menunjukkan bahwa dengan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi mampu mempertahankan kelulushidupan lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Lebih tingginya kelulushidupan perlakuan yang diberi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dibandingkan K+ mengindikasikan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada udang mampu mengendalikan penyakit IMNV, dimana hal ini didukung juga dengan peningkatan sistem imun pada udang. Hal ini sependapat dengan penelitian yang dilakukan Thang, *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa penggunaan tinta cumi-cumi sebagai suplemen dalam pakan atau ekstrak mampu dalam melindungi udang terhadap serangan virus.

Tinta cumi-cumi mengandung senyawa alkaloid. Citarasu (2010) dan Kumaran, *et al.* (2014) menyatakan bahwa alkaloid berperan dalam menghambat atau memblokir transkripsi dari virus untuk mengurangi replikasi dan dapat meningkatkan respon imun non spesifik. Maikaeo, *et al.* (2015) juga berpendapat



bahwa senyawa alkaloid dapat menghambat replikasi virus RNA yang salah satu contohnya adalah IMNV.

Hasil dari penelitian ini diketahui bahwa dosis optimal pemberian imunostimulan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi untuk melawan penyakit IMNV pada udang vaname adalah 500 mg/kg setelah pemberian imunostimulan selama 14 hari kemudian diuji tantang dengan IMNV selama 7 hari. Ada beberapa bahan lain yang dapat juga digunakan sebagai imunostimulan untuk melawan penyakit IMNV.

Manoppo, *et al.* (2011) menggunakan nukleotida murni (Sigma-Aldrich) yang terdiri atas uridine-5'-monophosphate disodium salt, cytidine-5'-monophosphate disodium salt, guanosine-5'-monophosphate disodium salt, adenosine-5'-monophosphate sodium salt, dan inosine-5'-monophosphate disodium salt memiliki hasil pemberian nukleotida dengan dosis 400 mg/kg melalui pakan selama 4 minggu memberi pengaruh positif terhadap peningkatan respons imun non-spesifik, resistensi dan pertumbuhan udang vaname dalam menalwan penyakit IMNV. Penelitian Sukenda, *et al.* (2011) memberikan informasi bahwa pemberian tepung meniran *Phyllanthus niruri* sebesar 20 mg/kg pakan dapat meningkatkan kelangsungan hidup udang yang diinfeksi dengan IMNV (infectious myonecrosis virus) dari 66,67% menjadi 86,67%. Nindarwi, *et al.* (2013) menyatakan bahwa pemberian kitosan dalam pakan dengan dosis 3 ml/kg dapat meningkatkan respon imun non-spesifik udang vaname melalui pengamatan THC,

DHC, aktivitas fagositosis, SOD dan phenoloxidase (PO). Penelitian Febriani, *et al.* (2013) memberikan hasil bahwa pemberian kappa-karagenan sebagai imunostimulan melalui pakan mampu meningkatkan respons imun, pertumbuhan dan resistensi udang vaname terhadap infeksi IMNV. Pemberian kappa-karagenan dengan dosis 15 g/kg pakan dengan frekuensi pemberian selama 14 hari secara berulang, dengan interval tujuh hari memberikan hasil terbaik dengan pertumbuhan bobot relatif 88,57% dan kelangsungan hidup setelah diinfeksi



dengan IMNV sebesar 90%. Neto dan Nunes (2015) menyatakan bahwa penambahan 1.000 mg/kg  $\beta$ -glukan pada *L. vannamei* mampu meningkatkan kelangsungan hidup udang yang diinfeksi virus myonecrosis.

### 5.7 Kualitas Air

Kualitas air merupakan faktor penting untuk kelangsungan hidup suatu organisme perairan. Kualitas air yang berada dalam kisaran optimal juga berpengaruh terhadap aktivitas organisme yang dipelihara seperti misalnya pertumbuhan, kemampuan reproduksi maupun metabolisme. Parameter kualitas air yang mendukung dalam kehidupan udang vaname yaitu suhu, oksigen terlarut, pH, salinitas, amonia, nitrit, nitrat, TOM, dan alkalinitas.

#### 5.7.1 Suhu

Pengukuran suhu selama penelitian dilakukan setiap 2 kali sehari, yaitu pagi pada pukul 08.00 WIB dan sore pada pukul 16.00 WIB. Suhu pemeliharaan udang vaname selama penelitian berkisar antara 25-34,3°C. Data lengkap suhu air selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 15. Jika suhu tidak sesuai maka akan mempengaruhi metabolisme udang. Kondisi suhu selama penelitian masih berada dalam keadaan yang optimal. Menurut Arsad, *et al.* (2017), Kisaran suhu yang optimum untuk pertumbuhan udang vaname yaitu 28-31°C dan tumbuh dengan baik pada suhu 24-34°C.

#### 5.7.2 Oksigen Terlarut (DO)

Pengukuran oksigen terlarut media hidup udang diukur setiap 2 kali sehari, yaitu pada pagi pada pukul 08.00 WIB dan sore hari pukul 16.00 WIB. Oksigen terlarut merupakan paramater kualitas air yang penting bagi kehidupan udang vaname. Tinggi rendahnya kandungan oksigen terlarut sangat dipengaruhi oleh jumlah buangan metabolisme udang. Semakin tinggi buangan yang dihasilkan, maka kandungan oksigen akan semakin menurun dikarenakan oksigen lebih



banyak digunakan bakteri untuk dekomposisi bahan organik. Hasil pengukuran oksigen terlarut selama penelitian berkisar antara 4,2-9,4 ppm. Data lengkap pengukuran oksigen terlarut dapat dilihat pada Lampiran 15. Selama penelitian kandungan oksigen terlarut pada air media hidup udang masih tergolong dalam kategori normal berdasarkan pendapat Ferreira, *et al.* (2011), konsentrasi oksigen yang baik untuk udang vaname yaitu 2,5-10 ppm.

### 5.7.3 Derajat Keasaman (pH)

pH air sebagai media hidup udang diukur setiap 2 kali sehari, yaitu pada pagi pada pukul 08.00 WIB dan sore hari pukul 16.00 WIB. Hasil pengukuran pH yang didapatkan selama penelitian berkisar antara 6,82-8,9. Nilai pH untuk setiap hari selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 15. Nilai pH selama penelitian masih dalam kondisi normal berdasarkan pendapat Wyk, *et al.* (1999), yang menyatakan bahwa derajat keasaman air media hidup udang yang dapat diterima yaitu berkisar 7-9.

### 5.7.4 Salinitas

Pengukuran salinitas dilakukan setiap 2 kali sehari, yaitu pada pagi pada pukul 08.00 WIB dan sore hari pukul 16.00 WIB. Udang vaname memiliki toleransi yang cukup luas terhadap salinitas atau bersifat euryhaline. Hasil pengukuran salinitas selama penelitian yaitu 16-18 ppt. Hasil pengukuran salinitas setiap harinya selama pemeliharaan udang vaname dapat dilihat pada Lampiran 15.

Kondisi salinitas selama penelitian masih berada dalam keadaan yang optimal. Hal ini sesuai dengan pendapat Yustianti, *et al.* (2013), menjelaskan bahwa salinitas optimal untuk udang vaname berkisar antara 3-35 ppt.

### 5.7.5 Amonia

Pengukuran amonia dilakukan setiap minggu yaitu pada minggu pertama, minggu kedua, dan minggu ketiga. Hasil pengukuran amonia selama penelitian berkisar antara 0-1 ppm. Data lengkap pengukuran amonia dapat dilihat pada



Lampiran 15. Selama penelitian kandungan amonia pada air media hidup udang masih tergolong dalam kategori normal berdasarkan pendapat Ferreira, *et al.* (2011), konsentrasi amonia yang dapat ditolerir udang vaname yaitu 0,1-1 ppm.

#### 5.7.6 Nitrit

Pengukuran nitrit dilakukan setiap minggu yaitu pada minggu pertama, minggu kedua, dan minggu ketiga. Nitrit sebagai hasil oksidasi amonia, juga merupakan senyawa nitrogen anorganik yang dapat membahayakan kehidupan udang bila terdapat dalam jumlah tinggi. Pada penelitian ini hasil pengukuran nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) berkisar antara 0,3-1,6 ppm. Data lengkap pengukuran nitrit dapat dilihat pada Lampiran 15. Hal tersebut masih dalam batas normal dalam pemeliharaan udang vaname. Lin dan Chen (2003), merekomendasikan tingkat aman nitrit untuk *L. vannamei* adalah 6,1 ppm.

#### 5.7.7 Nitrat

Pengukuran nitrat dilakukan setiap minggu yaitu pada minggu pertama, minggu kedua, dan minggu ketiga. Nitrat akan bersifat toksik pada konsentrasi di atas 300 ppm, tetapi pada udang konsentrasi nitrat lebih dari 200 ppm akan mempengaruhi pertumbuhan serta daya tahan udang terhadap penyakit (Yuniasari, 2009). Hasil penelitian pada pengukuran nitrat berkisar antara 0-100 ppm. Data lengkap pengukuran nitrat dapat dilihat pada Lampiran 15. Hal tersebut masih dalam kondisi normal dan tidak mengganggu kehidupan udang.

#### 5.7.8 TOM

Pengukuran TOM dilakukan setiap minggu yaitu pada minggu pertama, minggu kedua, dan minggu ketiga. Pada penelitian ini hasil pengukuran TOM berkisar antara 0-32,792 ppm. Data lengkap pengukuran TOM dapat dilihat pada Lampiran 15. Bahan organik yang optimal untuk budidaya udang vaname semiintensif maksimal 90 ppm sedangkan untuk tambak intensif maksimalnya adalah 55 ppm (Parlina, *et al.*, 2018). Berdasarkan pernyataan di atas, maka

kisaran nilai TOM selama penelitian masih tergolong baik. Tingginya akumulasi bahan organik dapat menimbulkan beberapa dampak yang merugikan, yaitu memacu pertumbuhan mikroorganisme heterotrofik dan bakteri patogen, eutrofikasi, dan terbentuknya senyawa toksik (amonia dan nitrit), serta menurunkan konsentrasi oksigen terlarut (Parlina, *et al.*, 2018).

#### 5.7.9 Alkalinitas

Pengukuran alkalinitas dilakukan setiap minggu yaitu pada minggu pertama, minggu kedua, dan minggu ketiga. Pada penelitian ini hasil pengukuran alkalinitas berkisar antara 24-508 ppm. Data lengkap pengukuran alkalinitas dapat dilihat pada Lampiran 15. Nilai alkalinitas selama penelitian masih dalam kondisi normal berdasarkan pendapat Wyk, *et al.* (1999), yang menyatakan bahwa nilai alkalinitas media hidup udang yang dapat diterima yaitu >100 mg/L.

Berdasarkan kisaran-kisaran nilai kualitas air yang diperoleh pada media pemeliharaan selama penelitian berlangsung, masih berada pada kisaran yang baik dan bisa dikatakan dapat ditolerir udang vaname, sehingga secara umum tidak berpengaruh terhadap kematian udang vaname. Jadi, kematian udang vaname selama penelitian berlangsung disebabkan oleh perlakuan yang diberikan.



## 6. KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Terdapat beberapa kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini, antara lain sebagai berikut :

1. Pemberian imunostimulan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi mampu meningkatkan aktivitas respon imun non spesifik udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) untuk melawan penyakit IMNV. Peningkatan aktivitas imun tersebut ditandai dengan peningkatan nilai *Total Haemocyte Count* (THC) tertinggi  $59,7 \times 10^5$  sel/ml, *Respiratory Burst* (RB) tertinggi 1,13, dan *Superoxide Dismutase* (SOD) tertinggi 0,98 unit/ml. Hasil ini juga didukung dengan *Survival Rate* (SR) yang tinggi sebesar 83,33%
2. Hasil penelitian yang didapatkan setelah infeksi IMNV menunjukkan dosis yang paling optimal untuk udang vaname adalah 500 mg/kg dilihat dari parameter *survival rate*.

### 6.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, untuk saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah diharapkan ada variasi waktu yang lebih panjang untuk pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi melalui pakan pada udang vaname dan waktu pengamatan pasca penginfeksi virus IMNV dapat dilakukan lebih lama untuk mendapatkan data yang lebih banyak.



## DAFTAR PUSTAKA

- Afsharnasab, M., S. Kakoolaki and F. Afzali. 2014. The status of white spot syndrome virus (wssv) in Islamic Republic of Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. **13** (4) :1021-1055.
- Agusandi., A. Supriadi dan S. D. Lestari. 2013. Pengaruh penambahan tinta cumi-cumi (*Loligo* sp) terhadap kualitas nutrisi dan penerimaan sensoris mi basah. *Fistech*. **2** (1): 22-37.
- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulan pada hewan akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **1** (2): 87-92.
- Almuqaramah, T. M. H., M. Setiawati., N. B. Priyoutomo dan I. Effendi. 2018. Penderitaan udang vaname *Litopenaeus vannamei* dengan teknologi bioflok untuk meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. **10** (1): 143-152.
- Andayani, S., M. Fadjar and M. F. Rahman. 2017. Isolation and identification of jellyfish alkaloid (*Bougainvillia* sp.) as immunostimulant to profile of protein and phagocyte activity of tiger grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Aquacultura Indonesiana*. **18** (2): 67-71.
- Arsad, S., A. Afandy., A. P. Purwadhi., B. Maya V., D. K. Saputra dan N. R. Buwono. 2017. Studi kegiatan budidaya pembesaran udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan penerapan sistem pemeliharaan berbeda. *Jurnal Ilmu Perikanan dan Kelautan*. **9** (1): 1-14.
- Arwizet, K. 2009. Uji prestasi kerja mesin pembuatan santan kering sistem *spray drying*. *Jurnal Teknik Mesin*. **6** (2): 54-66.
- Asma, N., Z. A. Muchlisin dan I. Hasri. 2016. Pertumbuhan dan kelangsungan hidup benih ikan peres (*Osteochilus vittatus*) pada ransum harian yang berbeda. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. **1** (1): 1-11.
- Barman, D., P. Nen., S. C. Mandal and V. Kumar. 2013. Immunostimulants for aquaculture health management. *Journal of Marine Science: Research & Development*. **3** (3): 1-11.
- Budiardi, T., A. Muzaki dan N. B. P. Utomo. 2005. Produksi udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di tambak biocrete dengan padat penebaran berbeda. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **4** (2): 109-113.
- Campa-Cordova, A. I., N.Y. Hernandez-Saavedra., R. De Philippis and F. Ascentio. 2002. Generation of superoxide anion and SOD activity in haemocytes and muscle of American white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as a response to  $\beta$ -glucan and sulphated polysaccharide. *Fish & Shellfish Immunology*. **12**: 353-366.



Centeno, S. A. and J. Shamir. 2008. Surface enhanced Raman scattering (SERS) and FTIR characterization of the sepia melanin pigment used in works of art. *Journal of Molecular Structure*. **873**: 149-159.

Chen, Y. Y., J. C. Chen., Y. C. Lin., S. T. Yeh and C. L. Huang. 2015. White shrimp *Litopenaeus vannamei* that have received *Gracilaria tenuistipitata* extract show early recovery of immune parameters after ammonia stressing. *Marine Drugs*. **13**: 3606-3624.

Chidhiyah, A. N. 2012. Pengaruh penambahan ekstrak kunyit putih (*Kaempferia rotunda*) terhadap jumlah total hemosit dan aktifitas fagositosis udang windu (*Penaeus monodon*). *Journal Of Aquaculture Management and Technology*. **1** (1): 35-47.

Chuchird, N., P. Rorkwiree and T. Rairat. 2015. Effect of dietary formic acid and astaxanthin on the survival and growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and their resistance to *Vibrio parahaemolyticus*. *SpringerPlus*. **4** (440): 1-12.

Citarasu, T. 2010. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*. **18**: 403-414.

Coelho-Melo, M. V., M. I. Florindo-Guedes., S. Rodriguez-Málaga., L. M. de Almeida., M. de Freitas Moreira and T. R. de Oliveira. 2014. Molecular characterization of infectious myonecrosis virus (IMNV) isolated from the shrimp *Litopenaeus vannamei* farmed in Ceará State, Brazil. *Latin American Journal of Aquatic Research*. **42** (3): 649-652.

Couso, N., R. Castro., B. Magarinos., A. Obach and J. Lamas. 2003. Effect of oral administration of glucans on the resistance of gilthead seabream to pasteurellosis. *Aquaculture*. **219**: 99-109.

Crocker, K. 2012. Chemistry of Carboxylic Acid. Research World. Delhi. 123 pp.

da Silva, S. M. B. C., A. D. R. da Silva., H. D. Lavander., T. Castelo-Branco Chaves., S. Peixoto., A. O. Gálvez and M. R. M. Coimbra. 2016. Vertical transmission of Infectious myonecrosis virus in *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. **459**: 216-222.

\_\_\_\_\_, H. D. Lavander., M. M. de Santana Luna., A. O. de Melo Eloi da Silva., A. O. Gálvez and M. R. M. Coimbra. 2015. *Artemia franciscana* as a vector for infectious myonecrosis virus (IMNV) to *Litopenaeus vannamei* juvenile. *Journal of Invertebrate Pathology*. **126**: 1-5.

Dewick, P. M. 2009. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. John Wiley & Sons Ltd. Chichester. 539 pp.

Direktorat Jendral Perikanan Budidaya. 2017. Laporan Kinerja Tahun 2016. Kementerian Kelautan dan Perikanan. Jakarta. 168 hlm.

Dobry, D. E., D. M. Settel., J. M. Baumann., R. J. Ray., L. J. Graham and R. A. Beyerinck. 2009. A model-based methodology for spray-drying process development. *Journal of Pharmaceutical Innovation*. **4**: 133-142.



Dubey, R., T. C. Shami and K. U. B. Rao. 2009. Microencapsulation technology and applications. *Defence Science Journal*. **59** (1): 82-95.

Dugassa, H. and D. G. Gaetan. 2018. Biology of white leg shrimp, *Penaeus vannamei*: review. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. **10** (2): 5-17.

Ermatianingrum, A. A., R. Sari dan S. B. Prayitno. 2013. Potensi *Chlorella* sp. sebagai imunostimulan untuk pencegahan penyakit bercak putih (*white spot syndrome virus*) pada udang windu (*Panaeus monodon*). *Jurnal Aquaculture Management and Technology*. **1** (1): 206-221.

Ernawati dan Rochmady. 2017. Pengaruh pemupukan dan padat penebaran terhadap tingkat kelangsungan hidup dan pertumbuhan post larva udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Akuakultur, Pesisir dan Pulau-Pulau Kecil*. **1** (1): 1-10.

Fadjar, M., S. Andajani and K. Zaelani. 2016. Squid (*Loligo edulis*) ink raw extract as an anti-vibriosis substance in grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) juvenile culture infected by *Vibrio alginolyticus*. *AAFL Bioflux*. **9** (2): 422-428.

Fajarullah, A., H. Irawan dan A. Pratomo. 2014. Ekstraksi senyawa metabolit sekunder lamun *Thalassodendron ciliatum* pada pelarut berbeda. FIKP UMRAH. Tanjung Pinang.

Febriani, D., Sukenda dan S. Nuryati. 2013. Kappa-karagenan sebagai imunostimulan untuk pengendalian penyakit *infectious myonecrosis* (imn) pada udang vaname *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **12** (1): 70-78.

Feijo, R. G., M. T. Kamimura., J. M. Oliveira-Neto., C. M. V. M. Vila-Nova., A. C. S. Gomes., M. das Graças L. Coelho., R. F. Vasconcelos., T. C. V. Gesteira., L. F. Marins and R. Maggioni. 2013. Infectious myonecrosis virus and white spot syndrome virus co-infection in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) farmed in Brazil. *Aquaculture*. **380-383**: 1-5.

\_\_\_\_\_, R. Maggioni., P. C. C. Martins., K. L. de Abreu., J. M. Oliveira-Neto., C. Guertler., E. B. Justino., L. M. Perazzolo and L. F. Marins. 2015. RNAi-based inhibition of infectious myonecrosis virus replication in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Diseases of Aquatic Organisms*. **114**: 89-98.

Ferreira, N. C., C. Bonetti and W. Q. Seiffert. 2011. Hydrological and water quality indices as management tools in marine shrimp culture. *Aquaculture*. **318**: 425-433.

Fitrial, Y. dan I. K. Khotimah. 2017. Aktivitas antibakteri dari melanin tinta sotong dan cumi-cumi. *JPHPI 2017*. **20** (2): 266-274.

Forman, H. J. and M. Torres. 2002. Reactive oxygen species and cell signaling: respiratory burst in macrophage signaling. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. **166**: 4-8.



Girija, A. S. S., J. V. Priyadharsini., K. P. Suba., P. Hariprasad and R. Raguraman. 2012. Antibacterial effect of squid ink on ESBL producing strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. **41** (4): 338-343.

Glass, K., S. Ito., P. R. Wilby., T. Sota., A. Nakamura., C. R. Bowers., J. Vinther., S. Dutta., R. Summons., D. E. G. Briggs., K. Wakamatsu and J. D. Simon. 2012. Direct chemical evidence for eumelanin pigment from the jurassic period. *PNAS*. **109** (26): 10218-10223.

Gomez-Anduro, G. A., F. Ascencio-Valle., A. B. Peregrino-Uriarte., A. Cámpa-Córdova and G. Yepiz-Plascencia. 2012. Cytosolic manganese superoxide dismutase genes from the white shrimp *Litopenaeus vannamei* are differentially expressed in response to lipopolysaccharides, white spot virus and during ontogeny. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. **162**: 120-125.

Gravina, H. D., N. F. Tafuri., A. S. Júnior., J. L. R. Fietto., T. T. Oliveira., M. A. N. Diaz and M. R. Almeida. 2011. *In vitro* assessment of the antiviral potential of trans-cinnamic acid, quercetin and morin against *equid herpesvirus 1*. *Research in Veterinary Science*. **91**: e158-e162.

Gudkovs, N., J. Slater., K. McColl., C. R. Handayani and M. Crane. 2015. Tactical Research Fund Aquatic Animal Health Subprogram: Determining the susceptibility of Australian species of prawns to infectious myonecrosis. CSIRO Australian Animal Health Laboratory. Geelong. 34 pp.

Guzman, J. D. 2014. Natural cinnamic acids, synthetic derivatives and hybrids with antimicrobial activity. *Molecules*. **19**: 19292-19349.

Hassaan, M. S., E. Y. Mohammady., M. R. Soady., H. A. S. El-Garhy., M. M. A. Moustafa., S. A. Mohamed and E. R. El-Haroun. 2019. Effect of *Silybum marianum* seeds as a feed additive on growth performance, serum biochemical indices, antioxidant status, and gene expression of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Aquaculture*. **509**: 178-187.

Hayati, S. N., H. Herdian., E. Damayanti., L. Istiqomah dan H. Julendra. 2011. Profil asam amino ekstrak cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) terenkapsulasi dengan metode *spray drying*. *Jurnal Teknologi Indonesia*. **34**: 1-7.

Hermawan, O., W. H. Satyantini dan Prayogo. 2016. Efek penambahan kitosan terhadap perubahan jumlah total hemosit dan daya tahan terhadap stres salinitas pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture and Fish Health*. **5** (3): 100-107.

Hidayati, A. A., Sumardianto dan Romadhon. 2016. Pengaruh penambahan tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap kualitas petis limbah ikan pindang. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. **5** (1): 1-7.

Huliselan, Y. M., M. R. J. Runtuwene dan D. S. Wewengkang. 2015. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan dari daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **4** (3): 155-163.



Huynh, T. G., A. C. Cheng., C. C. Chi., K. H. Chiu and C. H. Liu. 2018. A synbiotic improves the immunity of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: metabolomic analysis reveal compelling evidence. *Fish and Shellfish Immunology*. **79**: 284-293.

Jannah, M., M. Junaidi., D. N. Setyowati dan F. Azhar. 2018. Pengaruh pemberian *Lactobacillus* sp. dengan dosis yang berbeda terhadap sistem imun udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Kelautan*. **11** (2): 140-150.

Jasmanindar, Y. 2009. *Penggunaan Ekstrak Gracilaria verrucosa Untuk Meningkatkan Sistem Ketahanan Udang Vaname Litopenaeus vannamei*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 97 hlm.

Ji, J., C. Lu., Y. Kang., G. X. Wang and P. Chen. 2012. Screening of 42 medicinal plants for in vivo anthelmintic activity against *Dactylogyirus intermedius* (Monogenea) in goldfish (*Carassius auratus*). *Parasitology Research*. **111**: 97-104.

Johansson, M. W., P. Keyser., K. Sritunyalucksana and K. Soderhall. 2000. Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture*. **191**: 45-52.

Kaemudin., A. Erlina dan A. Taslihan. 2016. Aplikasi ekstrak allisin untuk pengendalian penyakit kotoran putih pada udang vanamei (*Litopenaeus vannamei*) di Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara. Prosiding Seminar Nasional Tahunan Ke-V Hasil-Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan. Juni 2016: hlm. 493-499.

Kaligis, E. 2015. Respons pertumbuhan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di media bersalinitas rendah dengan pemberian pakan protein dan kalsium berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. **7** (1): 225-234.

Kalor, J. D., E. S. Simaremare., A. Futwembun., G. Wabiser., E. Gunawan and Y. R. Yabansabra. 2019. Cytotoxic test of *Octopus cyanea* ink extract. *Journal of Ecological Engineering*. **20** (8): 144-152.

Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2019. Laporan Kinerja Tahun 2018. Kementerian Kelautan dan Perikanan. Jakarta. 174 hlm.

Khosravi, S., J. W. Jang., S. Rahimnejad., J. W. Song and K. J. Lee. 2015. Choline essentiality and its requirement in diets for juvenile parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. **28** (5): 647-653.

Kibenge, F. S. B. and M. G. Godoy. 2016. *Aquaculture Virology*. Elsevier. London. 549 pp.

Kilawati, Y. dan Y. Maimunah. 2015. Kualitas lingkungan tambak intensif *Litopenaeus vannamei* dalam kaitannya dengan prevalensi penyakit white spot syndrome virus. *Research Journal of Life Science*. **2** (1): 50-59.

Kohn, A., J. Gitelman and M. Inbar. 1980. Unsaturated free fatty acids inactivate animal enveloped viruses. *Archives of Virology*. **66**: 301-307.



Kordi, K. M. G. H. 2009. Budi Daya Perairan. PT. Citra Aditya Bakti. Jakarta. 963 hlm.

Kumar, N., S. Gupta., N. K. Chandan., Md. Aklakur., A. K. Pal and S. B. Jadhao. 2014. Lipotropes protect against pathogen-aggravated stress and mortality in low dose pesticide-exposed fish. *PLOS ONE*. **9** (4): 1-13.

Kumaran, T., V. T. viji., S. Velmurugan and T. Citarasu. 2014. Influence of selected antiviral herbal active principles against shrimp white spot syndrome virus (wssv). *International Journal of Molecular Biology & Biochemistry*. **2** (1): 41-49.

Kunanopparat, A., P. Chaivisuthangkura., S. Senapin., S. Longyant., S. Rukpratanporn., T. W. Flegel and P. Sithigorngul. 2011. Detection of infectious myonecrosis virus using monoclonal antibody specific to N and C fragments of the capsid protein expressed heterologously. *Journal of Virological Methods*. **171**: 141-148.

Lakshmi, B., B. Viswanath and D. V. R. S. Gopal. 2013. Probiotics as antiviral agents in shrimp aquaculture. *Journal of Pathogens*. 1-13.

Lestari, A. N., W. Abdulkadir dan H. Hasan. 2015. Uji efek sitotoksik tinta cumi (*Loligo sumatrensis*) terhadap larva udang *Artemia salina* L. menggunakan metode bslt (*brine shrimp lethality test*). *KIM Fakultas Ilmu Kesehatan dan Keolahragaan*. **3** (3): 1-11.

Li, P., Y. L. Yin., D. Li., Sung W. K. and G. Wu. 2007. Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition*. **98**: 237-252.

Lin, Y. C. and J. C. Chen. 2003. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *Aquaculture*. **224**: 193-201.

Liu, D. 2016. Molecular Detection of Animal Viral Pathogens. Taylor & Francis Group. Boca Raton. 921 pp.

Loy, J. D., M. A. Mogler., D. S. Loy., B. Janke., K. Kamrud., E. D. Scura., D. L. H. Harris and L. C. Bartholomay. 2012. dsRNA provides sequence-dependent protection against infectious myonecrosis virus in *Litopenaeus vannamei*. *Journal of General Virology*. **93**: 880-888.

Lucianus, J. 2003. Introduksi genetika molekular virus. *JKM*. **3** (1): 1-6.

Macias-Sancho, J., L. H. Poersch., W. Bauer., L. A. Romano., W. Wasielesky and M. B. Tesser. 2014. Fishmeal substitution with *Arthrospira* (*Spirulina platensis*) in a practical diet for *Litopenaeus vannamei*: Effects on growth and immunological parameters. *Aquaculture*. **426-427**: 120-125.

Maftuch., E. Prasetyo., A. Sudianto., M. Rozik., R. Nurdiyani., E. Sanusi., H. Nursyam., F. Fariedah., Marsoedi and Murachman. 2013. Improvement of innate immune responses and defense activity in tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fab.) by intramuscular administration of the outer membrane protein *Vibrio alginolyticus*. *SpringerPlus*. **2** (432): 1-8.



Maharani, G., Sunarti., J. Triastuti dan T. Juniastuti. 2009. Kerusakan dan jumlah hemosit udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang mengalami zoothamniosis. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 1 (1): 21-29.

Mahibalan, S., M. Stephen., R. T. Nethrani., R. Khan and S. Begum. 2016. Dermal wound healing potency of single alkaloid (betaine) versus standardized crude alkaloid enriched ointment of *Evolvulus alsinoides*. *Pharmaceutical Biology*. 54 (12): 2851-2856.

Mai, H. N., B. Hanggono., L. F. A. Caro., U. Komaruddin., Y. L. Nur'aini and A. K. Dhar. 2019. Novel infectious myonecrosis virus (IMNV) genotypes associated with disease outbreaks on *Penaeus vannamei* shrimp farms in Indonesia. *Archives of Virology*. 1-7.

Maikaeo, L., W. Chotigeat and W. Mahabusarakam. 2015. *Emilia sonchifolia* extract activity against white spot syndrome virus and yellow head virus in shrimp cell cultures. *Diseases of Aquatic Organisms*. 115: 157-164.

Manoppo, H., Sukenda., D. Djokosetiyanto., M. F. Sukadi dan E. Harris. 2011. Peningkatan respons imun non-spesifik, resistensi, dan pertumbuhan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) melalui pemberian pakan nukleotida. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 10 (1): 1-7.

Martinez, F. S. 2007. The Immune System of Shrimp. Boltines Nicovita. Kasetsart University. Thailand. 6 pp.

Masoum, S., A. R. Alishahi., H. Farahmand., M. Shekarchi and N. Prieto. 2012. Determination of protein and moisture in fishmeal by near-infrared reflectance spectroscopy and multivariate regression based on partial least squares. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*. 31 (3): 51-59.

Mbonyiryivuze, A., B. Mwakikunga., S. M. Dhlamini and M. Maaza. 2015. Fourier transform infrared spectroscopy for sepia melanin. *Physics and Materials Chemistry*. 3 (2): 25-29.

Nair, J. R., D. Pillai., S. M. Joseph., P. Gomathi., P. V. Senan and P. M. Sherief. 2011. Cephalopod research and bioactive substances. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. 40 (1): 13-27.

Nasution, F. M., R. S. Mardia., A. Azri., R. R. Hutabarat., F. A. Izza dan R. Asfur. 2017. Pengaruh pemberian ekstrak tinta cumi (*squid ink*) terhadap aterosklerosis. *Jurnal e-Biomedik*. 5 (2): 1-6.

Neto, H. S. and A. J. P. Nunes. 2015. Performance and immunological resistance of *Litopenaeus vannamei* fed a  $\beta$ -1,3/1,6-glucan-supplemented diet after per os challenge with the Infectious myonecrosis virus (IMNV). *Revista Brasileira de Zootecnia*. 44 (5):165-173.

Nindarwi, D. D., U. Yanuhar and Sukoso. 2013. Non-specific immune response of vanname shrimp (*Litopenaeus vannamei*) induced by chitosan as an immunomodulator against imnv (infectious myonecrosis virus) exposure. *Journal of Biology and Life Science*. 4 (2): 320-327.



Nurdiansah, D. 2013. *Pemanfaatan Tepung Meniran (Phyllanthus niruri) sebagai Imunostimulan Herbal pada Budidaya Udang Vaname (Litopenaeus vannamei) di Tambak*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 16 hlm.

Nurhayati, D. 2014. *Kajian Pemberian Sinbiotik dengan Dosis Berbeda untuk Pencegahan Ko-Infeksi Infectious Myonecrosis Virus dan Vibrio harveyi Pada Udang Vaname (Litopenaeus vannamei)*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 53 hlm.

Nurhayati, C. dan O. Andayani. 2014. Teknologi mutu tepung pisang dengan sistem *spray drying* untuk biskuit. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*. **25** (1): 31-41.

Nurhayati, S., T. Kisananto dan M. Syaifudin. 2011. Superoksida dismutase (sod) : apa dan bagaimana peranannya dalam radioterapi. *Buletin Alara*. **13** (2): 67-74.

Pantjara, B., A. Nawang., Usman dan Rachmansyah. 2010. Budidaya udang vaname sistem bioflok. *Media Akuakultur*. **5** (2): 93-97.

Parlina, I., Nasirin., I. M. Ihsan., Suharyadi., A. Syaputra., S. Budiani dan M. Hanif. 2018. Perbandingan pengelolaan lingkungan pada budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan aplikasi anorganik chelated dengan probiotik. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. **19** (1): 33-40.

Pasongli, H., G. D. Dirawan dan Suprpta. 2015. Zonasi kesesuaian tambak untuk pengembangan budidaya udang vaname (*Penaeus vannamei*) pada aspek kualitas air di Desa Todowongi Kecamatan Jailolo Kabupaten Halmahera Barat. *Jurnal Bioedukasi*. **3** (2): 324-335.

Pinalia, A. 2014. Reduksi ukuran partikel ammonium perklorat (AP) dengan metode *spray drying*. *Majalah Sains dan Teknologi Dirgantara*. **9** (2): 75-80.

Poulos, B. T and D. V. Lightner. 2006. Detection of infectious myonecrosis virus (IMNV) of penaeid shrimp by reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). *Diseases of Aquatic Organisms*. **73**: 69-72.

\_\_\_\_\_, K. F. J. Tang., C. R. Pantoja., J. R. Bonani and D. V. Lightner. 2006. Purification and characterization of infectious myonecrosis virus of penaeid shrimp. *Journal of General Virology*. **87** : 987-996.

Pourmozaffar, S., A. Hajimoradloo and H. K. Miandare. 2017. Dietary effect of apple cider vinegar and propionic acid on immune related transcriptional responses and growth performance in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*. **60**: 65-71.

Prasad, K. P., K. U. Shyam., H. Banu., K. Jeena and R. Krishnan. 2017. Infectious myonecrosis virus (imnv) - an alarming viral pathogen to Penaeid shrimps. *Aquaculture*. **477**: 99-105.



Pratama, A. F., Tarsim dan O. Susanti. 2018. Kajian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) sebagai immunostimulan untuk meningkatkan imunitas non spesifik udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Sains Teknologi Akuakultur*. **2** (2): 16-21.

Preedy, V. R. 2015. Betaine: Chemistry, Analysis, Function and Effects. Royal Society of Chemistry. Cambridge. 445 pp.

Pushpa, R., R. Nishant., K. Navin and G. Pankaj. 2013. Antiviral potential of medicinal plants: an overview. *International Research Journal of Pharmacy*. **4** (6): 8-16.

Putra, I. P. R. 2014. *Penurunan Kadar Superoksida Dismutase Lensa Berhubungan dengan Peningkatan Derajat Kekeruhan Lensa pada Katarak Senilis*. Tesis. Universitas Udayana. Denpasar. 104 hlm.

Putri, F. M., Sarjito dan Suminto. 2013. Pengaruh penambahan *Spirulina* sp. dalam pakan buatan terhadap jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2** (1): 102-112.

Rahimnejad, S. and K. J. Lee. 2014. Dietary isoleucine influences non-specific immune response in juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **14**: 853-862.

Rahman, H., T. G. Kartawinata dan E. Julianti. 2012. Uji aktivitas enzim superoksida dismutase dalam ekstrak mesokarp buah merah (*Pandanus conoideus* Lamarck) menggunakan densitometri citra elektroforegram. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. **37** (2): 43-47.

Rajaganapathi, J., S. P. Thyagarajan and J. K. P. Edward. 2000. Study on cephalopod's ink for anti-retroviral activity. *Indian Journal of Experimental Biology*. **38**: 519-520.

Ramadhani, I. S., E. Harpeni., Tarsim dan L. Santoso. 2017. Potensi sinbiotik lokal terhadap respon imun non spesifik udang vaname *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Depik Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan, Pesisir dan Perikanan*. **6** (3): 221-227.

Rauf, A., Haeria dan D. D. Anas. 2016. Efek imunostimulan fraksi daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr.) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag pada mencit jantan (*Mus musculus*). *JF FIK UINAM*. **4** (1): 9-15.

Rekasana, A., L. Sulmartiwi dan Soedarno. 2013. Distribusi penyakit infectious myo necrosis virus (imnv) pada udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) di pantai utara Jawa Timur. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **5** (1): 49-54.

Retnaningsih, C., Darmono., B. Widianarko dan Siti Fatimah Muis. 2013. Peningkatan aktivitas antioksidan superoksida dismutase pada tikus hiperglikemi dengan asupan tempe koro benguk (*Mucuna pruriens* L.). *AgriTech*. **33** (2): 154-161.



Roberston, R. P., J. Harmon., P. O. Tran., Y. Tanaka and H. Takahashi. 2003. Glucose toxicity in  $\beta$ -cell: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes*. **52**: 581-587.

Rodriguez, J. and G. Le Moullac. 2000. State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture*. **191**: 109-119.

Romadhona, B., B. Yulianto dan Sudarno. 2016. Fluktuasi kandungan amonia dan beban cemaran lingkungan tambak udang vaname intensif dengan teknik panen parsial dan panen total. *Jurnal Saintek Perikanan*. **11** (2): 84-93.

Roque, A., S. Abad., M. Betancourt-Lozano., L. M. G. de la Parra., D. Baird., A. L. Guerra-Flores and B. Gomez-Gil. 2005. Evaluation of the susceptibility of the cultured shrimp *Litopenaeus vannamei* to vibriosis when orally exposed to the insecticide methyl parathion. *Chemosphere*. **60**: 126-134.

Ruswahyuni, A. Hartoko and S. Rudiyanti. 2010. Aplication of chitosan for water quality and macrobenthic fauna rehabilitation in vannamei shrimps (*Litopenaeus vannamei*) ponds, north coast of Semarang, Central Java – Indonesia. *Journal of Coastal Development*. **14** (1): 1-13.

Sahoo, P. K., A. Das., S. Mohanty., B. K. Mohanty., B. R. Pillai and J. Mohanty. 2008. Dietary  $\beta$ -1,3 glucan improves the immunity and disease resistance of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* challenged with *Aeromonas hydrophyla*. *Aquaculture Research*. **39**: 1574-1578.

Saifudin, A. 2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian. Deepublish. Yogyakarta. 118 hlm.

Sarah, H., S. B. Prayitno dan A. H. C. Haditomo. 2018. Studi kasus keberadaan penyakit imnv (infectious myonecrosis virus) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di pertambakan Pekalongan, Jawa Tengah. *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*. **2** (1): 66-72.

Saraswati, E., A. Prajitno., U. Yanuhar and A. L. Abadi. 2013. Administration of hot water extract diatomae *Caetoceros ceratosporum* via injection enhances the immune resistance of white shrimp *Litopenaeus vannamei* against infectious myonecrosis virus. *Aquatic Science and Technology*. **1** (2): 95-107.

Sargent, M. 2013. Guide to achieving reliable quantitative LC-MS measurements. RSC Analytical Methods Committee. Teddington. 61 pp.

Sari, A. H. W. dan R. Ekawaty. 2016. Profil hemosit dan aktifitas fagositosis kepiting bakau (*Scylla* sp.) yang terserang ektoparasit di ekosistem mangrove Kuta Selatan, Bali. *Journal of Marine and Aquatic Sciences*. **2**: 34-39.

Sari, R. C., I. Wijayanti and T. W. Agustini. 2019. The effectiveness of melanin from squid ink (*Loligo* sp.) as antibacterial agent against *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. **246**: 1-8.



Sarmin., M. A. Suprayudi., D. Jusadi dan J. Ekasari. 2013. Pertumbuhan dan respons imun *Litopenaeus vannamei* yang diberi  $\beta$ -(1,3) glukon dan poli- $\beta$  hidroksibutirat. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **12** (2): 121-127.

Satoh, J., T. Nishizawa and M. Yoshimizu. 2008. Protection against white spot syndrome virus (WSSV) infection in kuruma shrimp orally vaccinated with WSSV rVP26 and rVP28. *Diseases of Aquatic Organisms*. **82**: 89-96.

Soliman, A. M., S. R. Fahmy and S. A. El-Abied. 2015. Anti-neoplastic activities of *sepia officinalis* ink and *coelatura aegyptiaca* extracts against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. **8** (4): 3543-3555.

Sova, M. 2012. Antioxidant and antimicrobial activities of cinnamic acid derivatives. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. **12**: 749-767.

Sudjito, Y. L., C. R. Handayani., H. P. Kusumaningrum dan A. Budiharjo. 2014. Karakterisasi genetik fragmen gen penyandi rna polimerase infectious myonecrosis virus (imnv) yang menginfeksi udang vannamei (*Litopenaeus vannamei* Boone.) dari Lampung, Gresik dan Pontianak. *BIOMA*. **16** (1): 18-25.

Sukenda., S. Nuryati dan I. R. Sari. 2011. Pemberian meniran *Phyllanthus niruri* untuk pencegahan infeksi IMNV (infectious myonecrosis virus) pada udang vaname *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **10** (2): 192-202.

\_\_\_\_\_, Y. T. Anggoro., D. Wahyuningrum dan Rahman. 2007. Penggunaan kitosan untuk pengendalian infeksi *Vibrio harveyi* pada udang putih *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **6** (2): 205-209.

Supamattaya, K., S. Kirirathikom., M. Boonyaratpalin and L. Borowitzka. 2005. Effect of a *Dunaliella* extract on growth performance, health condition, immune response and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*. **248**: 207-216.

Suryahman, A. 2011. Optimasi penggunaan bakteri probiotik sebagai imunostimulan untuk meningkatkan respon imun seluler pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Balik Diwa*. **2** (1): 1-7.

Susanti, A. D., D. Ardiana., G. Gumlar dan Y. Bening. 2012. Polaritas pelarut sebagai pertimbangan dalam pemilihan pelarut untuk ekstraksi minyak bekatul dari bekatul varietas ketan (*Oriza sativa glatinosa*). *Simposium Nasional RAPI XI FT UMS*. 8-14.

Suwoyo, H. S. 2009. *Tingkat Konsumsi Oksigen Sedimen Pada Dasar Tambak Intensif Udang Vaname (Litopenaeus vannamei)*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 115 hlm.

Suyanto, S. R. dan E. P. Takarina. 2009. *Panduan Budi Daya Udang Windu*. Penebar Swadaya. Jakarta. 116 hlm.



Syahidah, A., C. R. Saad., H. M. Daud and Y. M. Abdelhadi. 2015. Status and potential of herbal applications in aquaculture: a review. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. **14** (1): 27-44.

Syawal, M. S. 2016. *Kualitas Air dan Kandungan Logam Berat dalam Sedimen dan Moluska dalam Kaitannya dengan Aktivitas Antropogenik di Danau Maninjau, Sumatera Barat*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 49 hlm.

Tahe, S. dan H. S. Suwoyo. 2011. Pertumbuhan dan sintasan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan kombinasi pakan berbeda dalam wadah terkontrol. *Jurnal Riset Akuakultur*. **6** (1): 31-40.

Tang, J., W. F. Ochoa., R. S. Sinkovits., B. T. Poulos., S. A. Ghabrial., D. V. Lightner., T. S. Baker and M. L. Nibert. 2008. Infectious myonecrosis virus has a totivirus-like, 120-subunit capsid, but with fiber complexes at the fivefold axes. *PNAS*. **105** (45): 17526-17531.

Tarangini, K. and S. Mishra. 2013. Production, characterization and analysis of melanin from isolated marine *Pseudomonas* sp. using vegetable waste. *Research Journal of Engineering Sciences*. **2** (5): 40-46.

Thang, N. D., L. D. Tu., N. T. L. Na., N. T. Trang and P. T. Nghia. 2019. Melanin-containing feedstuffs protect *Litopenaeus vannamei* from white spot syndrome virus. *International Aquatic Research*. **11**: 303-310.

Tompo, A., E. Susianingsih dan K. Kurniawan. 2015. Aplikasi bakterin pada budidaya udang windu di tambak dengan pola tradisional plus. *Media Akuakultur*. **10** (2): 85-89.

Tripuratapini, S., I. M. Mudita dan D. P. M. A. Candrawati. 2015. Kandungan bahan kering dan nutrien suplemen berprobiotik yang diproduksi dengan tingkat limbah rumen berbeda. *E-Journal Peternakan Tropika*. **3** (1): 105-120.

Tuli, L. and H. W. Resson. 2009. LC-MS based detection of differential protein expression. *Journal of Proteomics & Bioinformatics*. **2** (10): 416-438.

Umar, H. 2005. *Riset Sumber Daya Manusia*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 320 hlm.

Umiliana, M., Sarjito dan Desrina. 2016. Pengaruh salinitas terhadap infeksi *infectious myonecrosis virus* (imnv) pada udang vaname *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **5** (1): 73-81.

Utami, W., Sarjito dan Desrina. 2016. Pengaruh salinitas terhadap efek infeksi *Vibrio harveyi* pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **5** (1): 82-90.

Utomo, A. S., S. B. Prayitno dan Sarjito. 2015. Penambahan serbuk daun binahong (*Anredera cardivolia*) pada pakan terhadap respon imun, kelulushidupan dan status kesehatan udang windu (*Penaeus monodon*) yang diinfeksi *Vibrio harveyi*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **4** (3): 61-68.



Vergel, J. C. V., L. D. P. Cabawatan., V. A. C. Madrona., A. F. T. Rosario., J. B. M. Sta. Ana., M. V. R. Tare and M. B. B. Maningas. 2019. Detection of taura syndrome virus (tsv) in *Litopenaeus vannamei* in the Philippines. *The Philippine Journal of Fisheries*. **26** (1): 8-14.

Wang, F., S. Li., J. Xiang and F. Li. 2019. Transcriptome analysis reveals the activation of neuroendocrine-immune system in shrimp hemocytes at the early stage of WSSV infection. *BMC Genomics*. **20** (247): 1-14.

Wang, Y. T., W. Liu., J. N. Seah., C. S. Lam., J. H. Xiang., V. Korzh and J. Kwang. 2002. White spot syndrome virus (WSSV) infects specific hemocytes of the shrimp *Penaeus merguensis*. *Diseases of Aquatic Organisms*. **52**: 249-259.

Wyk, P. V., M. Davis-Hodgkins., R. Laramore., K. L. Main., J. Mountain and J. Scarpa. 1999. Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems. Florida Department of Agriculture and Consumer Services. Florida. 220 pp.

Xie, S. W., L. X. Tian., Y. M. Li., W. Zhou., S. L. Zeng., H. J. Yang and Y. J. Liu. 2015. Effect of proline supplementation on anti-oxidative capacity, immune response and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. **448**: 105-111.

\_\_\_\_\_, Y. J. Liu., S. L. Zeng., J. Niu and L. X. Tian. 2016. Partial replacement of fish-meal by soy protein concentrate and soybean meal based protein blend for juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. **464**: 296-302.

Xu, D., W. Liu., A. Alvarez and T. Huang. 2014. Cellular immune responses against viral pathogens in shrimp. *Developmental and Comparative Immunology*. **47**: 287-297.

Yanto, H. 2006. Diagnosa dan identifikasi penyakit udang asal tambak intensif dan panti benih di Kalimantan Barat. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. **7** (1): 17-32.

Yeh, R. Y., Y. L. Shiu., S. C. Shei., S. C. Cheng., S. Y. Huang., J. C. Lin and C. H. Liu. 2009. Evaluation of the antibacterial activity of leaf and twig extracts of stout camphor tree, *Cinnamomum kanehirae*, and the effects on immunity and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*. **27**: 26-32.

Yilmaz, S. and S. Ergun. 2018. *Trans*-cinnamic acid application for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): I. Effects on haematological, serum biochemical, non-specific immune and head kidney gene expression responses. *Fish and Shellfish Immunology*. **78**: 140-157.

Yonar, M. E., S. M. Yonar and S. Silici. 2011. Protective effect of propolis against oxidative stress and immunosuppression induced by oxytetracycline in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.). *Fish & Shellfish Immunology*. **31**: 318-325.

Younus, H. 2018. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International Journal of Health Sciences*. **12** (3): 88-93.



Yudiati, E., A. Isnansetyo., Murwantoko., Ayuningtyas., Triyanto and C. R. Handayani. 2016. Innate immune-stimulating and immune genes up-regulating activities of three types of alginate from *Sargassum siliquosum* in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*. **54**: 46-53.

Yuniasari, D. 2009. *Pengaruh Pemberian Bakteri Nitrifikasi dan Denitrifikasi serta Molase dengan C/N Rasio Berbeda Terhadap Profil Kualitas Air, Kelangsungan Hidup, dan Pertumbuhan Udang Vaname Litopenaeus vannamei*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 65 hlm.

Yustianti., M. N. Ibrahim dan Ruslaini. 2013. Pertumbuhan dan sintasan larva udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) melalui substitusi tepung ikan dengan tepung usus ayam. *Jurnal Mina Laut Indonesia*. **1** (1): 93-103.

Zaharah, M. Y. F. and M. S. Rabeta. 2018. Antioxidant and antimicrobial activities of squid ink powder. *Food Research*. **2** (1): 82-88.

Zaujat, R. C., S. Setyaningsih dan A. M. Lusiastuti. 2016. Prevalensi dan karakterisasi molekuler *infectious myonecrosis virus* (imnv) di sentra budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) Propinsi Banten. *Acta Veterinaria Indonesiana*. **4** (2): 88-96.

Zhong, J. P., G. Wang., J. H. Shang., J. Q. Pan., K. Li., Y. Huang and H. Z. Liu. 2009. Protective effects of squid ink extract towards hemopoietic injuries induced by cyclophosphamine. *Marine Drugs*. **7**: 9-18.

Zhou, Q. C., Y. L. Wang., H. L. Wang and B. P. Tan. 2013. Dietary threonine requirements of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. **392-395**: 142-147.

Zuliyani, B., Agustono dan W. H. Satyantini. 2017. Pengaruh substitusi kedelai dengan fermentasi tepung daun lamtoro pada pakan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) terhadap nilai pencernaan protein dan pencernaan energi. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. **6** (3): 129-134.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan yang Digunakan Pada Saat Penelitian

A. Alat-alat yang digunakan pada saat penelitian adalah sebagai berikut:

No	Alat	Fungsi
1	Beaker glass 1 Liter	Sebagai tempat maserasi tinta cumi-cumi
2	Gelas ukur 10 mL dan 100 mL	Untuk mengukur larutan
3	Timbangan analitik	Untuk menimbang sampel bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dan bahan uji
4	Spatula	Untuk menghomogen larutan
5	Botol kecil	Sebagai tempat bubuk ekstrak tinta cumi-cumi
6	Beaker glass	Sebagai wadah penampung sampel tinta cumi-cumi sementara dan wadah <i>blue tip</i> , <i>white tip</i> dan <i>yellow tip</i>
7	Lemari es	Sebagai tempat penyimpanan hasil ekstrak
8	Autoklaf listrik	Sebagai alat sterilisasi
9	Gunting	Untuk membantu proses pemotongan kantong tinta cumi-cumi
10	Akuarium	Sebagai wadah media udang vannamei
11	Selang	Sebagai penyalur aerasi pada tiap akuarium
12	Aerator dan batu aerator	Sebagai penyalur oksigen di dalam akuarium
13	pH meter	Untuk mengukur pH
14	DO meter	Untuk mengukur kadar oksigen terlarut dalam air media hewan uji
15	Refraktometer	Untuk mengukur salinitas media hidup hewan uji
16	Termometer	Untuk mengukur suhu
17	Syringe 1 ml	Untuk mengambil darah udang
18	Tube	Sebagai tempat sampel darah udang
19	Micropipet	Untuk mengambil larutan dalam skala kecil
20	Sentrifuge	Sebagai alat sentrifugasi uji RB dan SOD serta ekstrak virus IMNV
21	Kamera digital	Sebagai alat dokumentasi pengambilan gambar selama penelitian
22	Blue tip, yellow tip dan white tip	Sebagai alat pada mikropipet untuk membantu mengambil larutan dalam skala kecil
23	Stopwatch	Untuk menghitung waktu yang digunakan
24	Botol falcon	Sebagai wadah larutan
25	Plastik klip	Sebagai wadah tempat pakan imunostimulan
26	Jaring	Menutup permukaan akuarium perlakuan
27	Erlenmeyer	Pencampuran larutan dan bahan, menyimpan media
28	Inkubator	Mengkubasi sampel SOD
29	Saringan Milipore 0,45 µl	Untuk menyaring larutan virus
30	Microplate reader	Untuk mengukur absorbansi RB dan SOD

Lampiran 1. (Dilanjutkan)





**Lampiran 1. (Lanjutan)**

No	Alat	Fungsi
31	Freezer	Menyimpan sampel ekstrak tinta cumi-cumi
32	Vortex	Untuk menghomogenkan larutan

B. Bahan-bahan yang digunakan pada saat penelitian adalah sebagai berikut:

No	Bahan	Fungsi
1	Bubuk ekstrak tinta cumi-cumi	Sebagai bahan imunostimulan pakan
2	KOH	Sebagai pelarut
3	Methanol	Sebagai pelarut
4	Kain saring	Untuk menyaring residu hasil maserasi tinta cumi-cumi
5	Udang vaname	Sebagai hewan uji penelitian
6	Buffer Phospat (50mM, pH 7,4)	Sebagai pelarut uji SOD
7	Aquades	Sebagai bahan pelarut dan sterilisasi alat
8	<i>hank's basal salt solution</i> (HBSS)	Sebagai larutan buffer SOD
9	<i>Nitroblue Tetrazolium</i> (NBT) 0,3%	Sebagai pewarna pada pembacaan uji SOD
10	Kertas saring	Untuk menyaring hasil filtrat maserasi rumput laut
11	Sarung tangan	Sebagai penutup tangan saat proses ekstraksi virus IMNV
12	Kertas label	Untuk menandai sampel uji
13	Tisu	Untuk membersihkan alat setelah di cuci
14	Alkohol	Sebagai bahan sterilisasi alat
15	Masker	Sebagai penutup mulut saat ekstrak IMNV
16	Pakan udang komersial	Sebagai pakan udang vannamei yang dicampurkan dengan imunostimulan
17	Air laut steril dan air tawar	Sebagai media hidup udang vaname
18	Hemolim	Sebagai darah udang yang akan di uji
19	Na-sitrat 10%	Antikoagulan saat pengambilan sampel hemolimph
20	Kaporit	Untuk sterilisasi wadah uji dan air laut
21	Thiosulfat	Untuk menetralkan kaporit



Lampiran 2. Hasil Uji PCR Udang yang Terinfeksi IMNV



KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN  
 DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA  
 BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU JEPARA  
 LABORATORIUM UJI BBPBAP JEPARA



Alamat Surat : Kotak Pos 1 Jepara 59400  
 Alamat Kantor : Jl. Cik Lanang - Bulu Jepara 59418, Telepon : (0291) 591125, Faximile : (0291) 591724  
 Website : <http://kkp.go.id/djpb/bbpbjepara> Email Balai : [bbpbajpr@gmail.com](mailto:bbpbajpr@gmail.com) / [bbpbajpr@kkp.go.id](mailto:bbpbajpr@kkp.go.id)

F.4.5.4.3-2

**LAPORAN HASIL UJI**

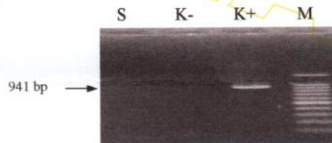
Nomor : BM.477 /LU-BBPBAP/ V /2019

No. Registrasi : LU.BBPBAP /BM.477/ V/2019  
 Perihal : Hasil Diagnosis Biologi Molekuler  
 Nama/Perusahaan : Dinas Kelautan dan Perikanan Yogyakarta  
 Alamat : Yogyakarta  
 Tanggal Penerimaan : 20 Mei 2019  
 Tanggal Pengujian : 20 - 21 Mei 2019  
 Asal contoh : Dinas Kelautan dan Perikanan Yogyakarta  
 Jenis contoh : Udang vaname  
 Kondisi contoh : Dalam alkohol  
 Jumlah contoh : 1 (Satu)  
 Metode : OIE 2017, Chapter 2.2.5, 2.2.8

No.	Nama/Jenis	Kode Contoh	Kode Lab.	WSSV	IMNV
1.	Udang vaname	Kulon Progo	C.19.129	Negatif	Positif

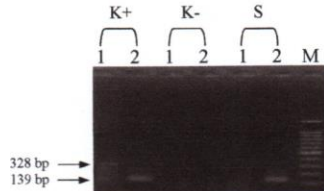
Keterangan : Negatif : tidak terdeteksi, Positif : terdeteksi, WSSV : white spot syndrome virus, IMNV : infectious myonecrosis virus.

Gambar 1 :



Keterangan Gb. 1 :  
 M : Marker (100 bp DNA ladder)  
 K- : Kontrol negatif  
 K+ : Kontrol positif terinfeksi WSSV  
 - fragmen size step 1 : 1.447 bp  
 - fragmen size step 2 : 941 bp  
 S : C.19.129

Gambar 2 :



Keterangan Gb. 2 :  
 M : Marker (100 bp DNA ladder)  
 K- : Kontrol negatif  
 K+ : Kontrol positif terinfeksi IMNV,  
 - fragmen size step 1 : 328 bp  
 - fragmen size step 2 : 139 bp  
 S : C.19.129

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan kerjasamanya yang baik diucapkan terima kasih.



Catatan :

- Hasil analisa dianggap valid pada saat kondisi penerimaan contoh dan hanya berhubungan dengan contoh yang diuji.
- Apabila ternyata hasil analisa di laboratorium lain menunjukkan hasil berbeda bukan menjadi tanggung jawab kami.
- Lampiran hasil analisa ini tidak dinestikan untuk diperjual belikan kecuali atas ijin dari Kepala





Lampiran 3. Hasil Uji RB dan SOD Minggu 0

Test Name: Rangka RB SOD 291019												Date: 29/10/2019 Time: 16:12:47		
Absorbance												Microplate View		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
A	0,526	0,518	0,521	0,511	0,514	0,512	0,529	0,523	0,519	0,568	0,565	0,566	X1	X2
B	0,554	0,551	0,553										X13	X14
C														
D	0,577	0,558	0,535	0,501	0,512	0,524	0,583	0,572	0,563	0,588	0,556	0,596	X17	X18
E	0,579	0,515	0,558										X29	X30
F														
G														
H														

Legend:  
 1. Raw Data (630)  
 2. Layout: Plate: COSTAR 96

Reader: SPECTROstar Nano User: USER (C:\Program Files (x86)\BMG\SPECTROstar Nano\User\Data\)  
 BMG LABTECH MARS 2.41 Test run: 470 (Rangka RB SOD 291019) printing date: 29/10/2019 Page: 1 of 1



Lampiran 4. Hasil Uji RB dan SOD Minggu 1

Test Name: Rangka RB SOD 041119								Date: 04/11/2019 Time: 15:43:41				
Absorbance												
Microplate View												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,623	0,677	0,681	0,629	0,699	0,649	0,689	0,70	0,742	0,89	0,861	0,828
	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12
B	0,784	0,743	0,793									
	X13	X14	X15									
C												
D	0,548	0,507	0,571	0,563	0,638	0,502	0,627	0,652	0,692	0,786	0,793	0,86
	X17	X18	X19	X20	X21	X22	X23	X24	X25	X26	X27	X28
E	0,747	0,635	0,63									
	X29	X30	X31									
F												
G												
H												

Legend:  
 1. Raw Data (630)  
 2. Layout: Plate: COSTAR 96

Reader: SPECTROstar Nano User: USER (C:\Program Files (x86)\BMG\SPECTROstar Nano\User\Data)  
 BMG LABTECH MARS 2.41 Test run: 473 (Rangka RB SOD 041119) printing date: 04/11/2019 Page: 1 of 1





Lampiran 5. Hasil Uji RB dan SOD Minggu 2

Test Name: Rangka RB SOD 081119												Date: 08/11/2019 Time: 14:35:11		
Absorbance												Microplate View		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
A	0,668	0,773	0,756	0,664	0,617	0,639	0,881	0,953	0,966	0,981	0,901	0,886	X1	X2
B	0,975	0,867	0,828										X13	X14
C	0,553	0,506	0,555	0,557	0,649	0,548	0,69	0,721	0,753	0,854	0,863	0,892	X17	X18
D	0,829	0,79	0,786										X29	X30
E														
F														
G														
H														

Legend:  
 1. Raw Data (630)  
 2. Layout: Plate: COSTAR 96

Reader: SPECTROstar Nano User: USER (C:\Program Files (x86)\BMG\SPECTROstar Nano\User\Data\)  
 BMG LABTECH MARS 2.41 Test run: 483 (Rangka RB SOD 081119) printing date: 08/11/2019 Page: 1 of 1



Lampiran 6. Hasil Uji RB dan SOD Minggu 3

Test Name: Rangka RB SOD 201119												Date: 20/11/2019 Time: 14:02:14		
Absorbance												Microplate View		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
A	0,757	0,839	0,86	0,635	0,628	0,623	0,891	0,91	0,966	1,114	1,173	1,107	X1	X2
B	0,981	0,971	0,945										X13	X14
C	0,702	0,74	0,728	0,562	0,676	0,562	0,791	0,812	0,864	0,96	0,953	1,018	X17	X18
D	0,879	0,84	0,859										X29	X30
E														
F														
G														
H														

Legend:  
 1. Raw Data (630)  
 2. Layout: Plate: COSTAR 96

Reader: SPECTROstar Nano User: USER (C:\Program Files (x86)\BMG\SPECTROstar Nano\User\Data\)  
 BMG LABTECH MARS 2.41 Test run: 491 (Rangka RB SOD 201119) printing date: 20/11/2019 Page: 1 of 1





Lampiran 7. Hasil Uji LC-MS Kandungan Senyawa pada Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi

No	Nama Senyawa	Rumus Kimia	Berat Molekul	Waktu Retensi (menit)	Luas Area	Persentase (%)
1	Betain	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	117,0787	0,925	270.127.830,54	34,38
2	Asam sinamat	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	148,05192	1,508	59.555.693,09	7,58
3	Kolin	C <sub>5</sub> H <sub>14</sub> NO	103,09968	1,072	42.791.025,71	5,45
4	Isoleusin	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	131,0943	1,369	27.280.191,36	3,47
5	Asam 11-Aminoundecanoic	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>2</sub>	201,17223	1,346	22.436.328,32	2,86
6	Maltosa	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	364,09722	0,984	21.984.272,27	2,80
7	Prolina	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	115,0632	1,137	19.645.378,64	2,50
8	Prolina	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	115,0632	1,137	19.645.378,64	2,50
9	Asam trans-3-Indole Akrilik	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	187,06279	2,319	18.987.535,07	2,42
10	Rafinosa	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>	526,14977	0,956	15.771.277,82	2,01
11	N-methylethanolamine phosphate	C <sub>3</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>4</sub> P	155,03441	1,024	14.671.863,68	1,87
12	Trigonelin	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	137,04726	1,211	8.978.214,63	1,14
13	Asam glutamat	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	147,05274	0,939	8.712.897,87	1,11
14	Dibutil ftalat	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	278,15135	58,816	8.484.541,66	1,08
15	Hipoksantin	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O	136,03807	1,329	8.024.222,00	1,02
16	Oksirasetam	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	158,06867	0,927	7.719.766,82	0,98
17	Norleucine	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	131,0943	0,929	7.429.649,02	0,95
18	Asetofenon	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	120,05733	1,361	6.895.773,46	0,88
19	Asetofenon	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	120,05733	1,361	6.895.773,46	0,88
20	Embelin	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	294,18212	44,037	6.338.202,30	0,81
21	Furfural	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	96,02073	0,919	5.819.315,04	0,74
22	N,N-Diisopropiletilamin (DIPEA)	C <sub>8</sub> H <sub>19</sub> N	129,15145	3,005	5.658.365,50	0,72
23	Dietilpirokarbonat	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	162,05241	1,231	5.604.237,48	0,71
24	Norleucine	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	131,0943	1,136	5.289.267,31	0,67
25	Asam hidroksisinamat	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	164,04691	1,352	4.374.217,63	0,56
26	Asam hidroksisinamat	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	164,04691	1,352	4.374.217,63	0,56
27	gaboxadol	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	140,05824	1,332	4.306.833,22	0,55
28	Karnitina	C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	161,10475	0,931	4.282.592,02	0,55
29	Furfural	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	96,02075	1,123	4.244.200,90	0,54
30	Asam 4-methylthio-2-oxobutanoic	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> S	148,01895	0,924	4.089.631,08	0,52
31	Asam pipekolat	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	129,07868	0,976	3.963.749,82	0,50
32	Asam pipekolat	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	129,07868	0,976	3.963.749,82	0,50
33	Asam glutamat	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	147,05274	1,153	3.881.054,54	0,49
34	Oksirasetam	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	158,06868	1,151	3.518.157,01	0,45
35	Asam 2,3,4,9-Tetrahydro-1H-β-carboline-3-carboxylic	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	216,08931	3,624	3.513.330,73	0,45
36	Anhidrida etanoat	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	102,03173	1,443	3.370.094,04	0,43
37	Cyclandelate	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	276,17198	56,527	3.253.047,86	0,41
38	2-Phenyl-4-pental	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O	160,08853	56,525	3.055.430,33	0,39
39	DL-Stachydrine	C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	143,09424	1,212	2.743.934,29	0,35
40	(2,7-Dimethyloctahydro-1H-cyclopenta[c]pyridin-4-yl)methanol	C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> NO	183,16185	1,601	2.734.757,88	0,35
41	4-tert-Butylcyclohexyl acetate	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	198,16164	61,251	2.633.722,24	0,34

Lampiran 7. (Dilanjutkan)



Lampiran 7. (Lanjutan)

No	Nama Senyawa	Rumus Kimia	Berat Molekul	Waktu Retensi (menit)	Luas Area	Persentase (%)
42	4-tert-Butylcyclohexyl acetate	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	198,16164	61,251	2.633.722,24	0,34
43	1-(4-Aminobutyl)urea	C <sub>5</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O	131,10565	1,17	2.587.451,94	0,33
44	Karnitina	C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	161,10475	1,117	2.496.179,32	0,32
45	Asam gamma-aminobutirat	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	103,06335	0,987	2.429.678,40	0,31
46	Hidroksimetilfurfural	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	126,03149	1,237	2.351.602,98	0,30
47	Laktida	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	144,04189	1,434	2.228.387,41	0,28
48	Asam 4-methylthio-2-oxobutanoic	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> S	148,01895	1,156	2.194.854,50	0,28
49	Histidin	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	155,06903	1,125	2.148.815,07	0,27
50	Histidin	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	155,06903	1,125	2.148.815,07	0,27
51	Kreatinina	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O	113,05882	1,189	2.091.281,05	0,27
52	XLR11 Degradant	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> FNO	329,21929	6,248	2.025.313,50	0,26
53	Prolylleucine	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	228,14673	1,347	1.951.304,51	0,25
54	Dibutil ftalat	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	278,15136	58,244	1.940.470,84	0,25
55	Ethyl 4-(2-methoxyphenyl)piperazine-1-carboxylate	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	264,14665	3,54	1.830.915,45	0,23
56	Histidin	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	155,06903	0,871	1.815.921,72	0,23
57	Laktida	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	144,04194	0,833	1.808.853,24	0,23
58	Octyl decyl phthalate	C <sub>26</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub>	418,30724	2,963	1.779.376,81	0,23
59	Hidroksimetilfurfural	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	126,03148	1,631	1.761.683,92	0,22
60	Leucylproline	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	228,14673	2,143	1.735.168,87	0,22
61	1-(2,2-Dimethylchromen-6-yl)ethan-1-one	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	202,09902	56,521	1.695.026,05	0,22
62	Asam 11-Aminoundecanoic	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>2</sub>	201,17223	0,917	1.667.757,62	0,21
63	n-Pentyl isopentyl phthalate	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	323,20912	58,883	1.593.285,44	0,20
64	Maraniol	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	204,07839	58,816	1.411.084,94	0,18
65	Furfural	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	96,02119	1,235	1.400.811,47	0,18
66	6-Methylquinoline	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> N	143,07314	3,626	1.304.962,81	0,17
67	N-Butylbenzenesulfonamide	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub> S	213,08179	2,962	1.277.757,25	0,16
68	Benzofuran	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O	118,04153	1,363	1.264.585,31	0,16
69	16α-Hydroxydehydroepiandrosterone	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	321,2296	54,472	1.155.461,99	0,15
70	16α-Hydroxydehydroepiandrosterone	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	321,2296	54,472	1.155.461,99	0,15
71	3-Methylsulfolene	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> S	132,02406	1,347	1.152.094,27	0,15
72	Taurina	C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub> S	125,0143	0,906	1.104.496,36	0,14
73	Taurina	C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub> S	125,0143	0,906	1.104.496,36	0,14
74	ACPC	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	101,04777	0,934	1.088.773,96	0,14
75	Benzofuran	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O	118,04168	8,881	1.070.399,25	0,14
76	Precocene II	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	220,10958	54,455	921.126,27	0,12
77	2,2,6,6-Tetramethyl-4-piperidinol	C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> NO	157,14623	1,345	906.322,96	0,12
78	2,2,6,6-Tetramethyl-4-piperidinol	C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> NO	157,14623	1,345	906.322,96	0,12
79	4-Hydroxy-6-methyl-2-pyrone	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	126,03149	1,438	836.387,21	0,11
80	Bis-(2-etilheksil)ftalat	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	390,27593	2,977	835.662,61	0,11
81	Diglycidyl ether	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	147,08911	0,92	832.838,67	0,11
82	Cyclandelate	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	276,17198	38,096	825.411,65	0,11
83	MDPBP	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>	261,13594	56,532	811.011,04	0,10
84	MDPBP	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>	261,13594	56,532	811.011,04	0,10

Lampiran 7. (Dilanjutkan)





Lampiran 7. (Lanjutan)

No	Nama Senyawa	Rumus Kimia	Berat Molekul	Waktu Retensi (menit)	Luas Area	Persentase (%)
85	Asam aspartat	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>4</sub>	133,03711	0,945	789.218,86	0,10
86	Prolinamide	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O	114,07897	0,814	769.359,13	0,10
87	Trimetadion	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	143,05783	1,382	764.463,76	0,10
88	N-Acetylvaline	C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	159,0891	0,928	760.734,51	0,10
89	Asam 11-Aminoundecanoic	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>2</sub>	201,17223	3,308	743.644,57	0,09
90	Asam 2-furankarboksilat	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	112,01595	1,47	742.810,39	0,09
91	Asam 2-furankarboksilat	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	112,01595	1,47	742.810,39	0,09
92	Furfural	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	96,02119	0,768	710.940,92	0,09
93	Arginin	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	174,11118	1,125	691.799,57	0,09
94	(2S)-2-Piperazinecarboxamide	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O	129,08995	1,32	681.581,84	0,09
95	N-metil-2-pirrolidon	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO	99,06845	1,63	679.142,87	0,09
96	N-metil-2-pirrolidon	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO	99,06845	1,63	679.142,87	0,09
97	Asam 5-aminolevulinat	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	131,05792	0,912	668.677,89	0,09
98	Indol	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> N	117,05762	2,328	664.846,65	0,08
99	Asam benzoat	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	122,0366	1,347	625.732,71	0,08
100	Cycluron	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O	198,17275	2,964	615.931,84	0,08
101	Cycluron	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O	198,17275	2,964	615.931,84	0,08
102	Sitrulina	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	197,07712	0,973	615.487,87	0,08
103	Cedefingol	C <sub>20</sub> H <sub>41</sub> NO <sub>3</sub>	343,30806	61,711	602.698,62	0,08
104	Butyl isothiocyanate	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NS	115,04521	9,974	542.433,92	0,07
105	Isoamylamine	C <sub>5</sub> H <sub>13</sub> N	87,10494	1,551	529.762,12	0,07
106	N,N-Diisopropiletilamin (DIPEA)	C <sub>8</sub> H <sub>19</sub> N	129,15145	66,402	508.621,57	0,06
107	Furfural	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	96,02119	1,438	507.884,40	0,06
108	Guanin	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> O	151,049	1,323	499.776,46	0,06
109	4-Indolecarbaldehyde	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> NO	145,0524	2,32	492.055,74	0,06
110	Methyl palmitate	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	287,28151	49,733	465.562,90	0,06
111	Benzaldehida	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O	106,0418	1,504	440.724,01	0,06
112	2,4-dimethyl-4,5-dihydro-1h-imidazole	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub>	98,08441	1,326	437.900,11	0,06
113	N-Acetyl-L-phenylalanine	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	207,08902	6,453	424.723,13	0,05
114	6-(1,2,3,4-Tetrahydro-6-methoxy-2-naphthyl)-2(1H)-pyridone	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	255,12514	19,475	409.788,59	0,05
115	Methyl palmitate	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	287,28151	47,69	409.777,94	0,05
116	1,6,7-Trimethylnaphthalene	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub>	170,10921	19,723	406.161,47	0,05
117	Naftalena	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>	128,06241	19,706	404.449,26	0,05
118	Asam hidroksisinamat	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	146,03641	6,108	399.641,02	0,05
119	Dicyclohexylamine	C <sub>12</sub> H <sub>23</sub> N	181,18271	8,153	397.497,85	0,05
120	Anhidrida etanoat	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	102,03169	1,246	379.838,98	0,05
121	Gitogenin	C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O <sub>4</sub>	432,3228	2,966	372.358,80	0,05
122	N3,N4-Dimethyl-L-arginine	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	202,14249	1,222	367.835,68	0,05
123	gamma-Glutamylleucine	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	260,13652	2,326	365.438,36	0,05
124	Butabarbital	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	212,11548	1,363	364.259,72	0,05
125	16α-Hydroxydehydroepiandrosterone	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	321,22951	51,066	347.442,87	0,04
126	Valylproline	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	214,1312	1,473	326.407,55	0,04
127	2-Phenyl-4-pentalen	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O	160,08853	2,974	325.778,67	0,04
128	Dietilpirokarbonat	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	162,05235	1,446	317.239,86	0,04
129	3-Allylcyclohexene	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub>	122,10932	1,338	310.756,67	0,04

Lampiran 7. (Dilanjutkan)





Lampiran 7. (Lanjutan)

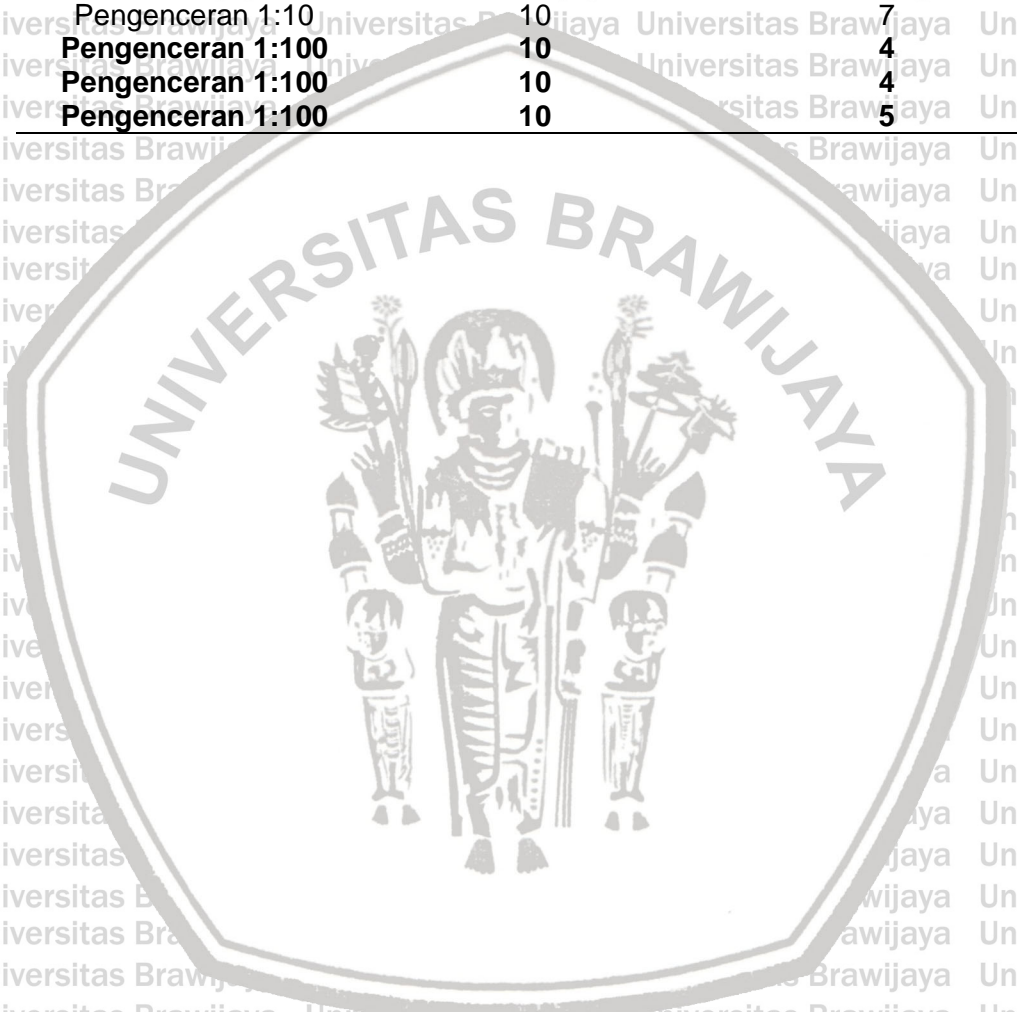
No	Nama Senyawa	Rumus Kimia	Berat Molekul	Waktu Retensi (menit)	Luas Area	Persentase (%)
130	N-Acetyl-L-leucine	C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	173,10483	4,895	297.871,84	0,04
131	N-Acetyl-L-leucine	C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	173,10483	4,895	297.871,84	0,04
132	Cyclo(leucylprolyl)	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	210,13629	5,411	285.617,09	0,04
133	4-Indolecarbaldehyde	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> NO	145,0524	8,818	276.799,68	0,04
134	Sikloheksilamin	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> N	99,10484	2,966	273.661,46	0,03
135	Sikloheksilamin	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> N	99,10484	2,966	273.661,46	0,03
136	Asetanilida	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO	135,06804	1,296	270.600,60	0,03
137	Bis(7-methyloctyl) adipate	C <sub>24</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	398,33846	2,962	257.996,15	0,03
138	6-Methylquinoline	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> N	143,07314	2,32	256.040,45	0,03
139	2-Methylnaphthalene	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub>	142,07785	8,878	255.168,99	0,03
140	Treonina	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	119,05872	1,503	253.283,34	0,03
141	Xantina	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	152,03302	1,328	244.656,94	0,03
142	Asam levulinat	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	116,04722	1,703	232.556,55	0,03
143	(2,7-Dimethyloctahydro-1H-cyclopenta[c]pyridin-4-yl)methanol	C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> NO	183,16185	2,556	230.258,97	0,03
144	Methyl alpha-aspartylphenylalaninate	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	294,12084	2,883	216.889,59	0,03
145	Glycyl-L-leucine	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	188,11568	1,854	216.167,53	0,03
146	4-Oxo-4-[(3-oxo-2-decanyl)amino]butanoic acid	C <sub>14</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>4</sub>	271,1776	3,942	211.808,79	0,03
147	Norharman	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub>	168,06836	3,647	208.598,69	0,03
148	Sitosina	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> N <sub>3</sub> O	111,04315	1,318	199.826,41	0,03
149	gamma-Glutamylleucine	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	260,13652	2,068	196.347,45	0,02
150	Skatola	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> N	131,0732	2,319	195.551,73	0,02
151	Glycyl-L-leucine	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	188,11568	1,664	194.319,24	0,02
152	Asam traneksamat	C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>	157,1099	1,333	185.695,79	0,02
153	DL-Carbidopa	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	226,0947	1,452	183.796,58	0,02
154	Histamin	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub>	111,07956	1,19	178.725,21	0,02
155	Fenasetin	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	179,09416	5,277	174.733,09	0,02
156	Fenasetin	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	179,09416	5,277	174.733,09	0,02
157	Kolin	C <sub>5</sub> H <sub>13</sub> NO	103,09968	66,338	151.255,65	0,02
158	Dietilpirokarbonat	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	162,05235	0,778	149.906,23	0,02
159	Melamin	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> N <sub>6</sub>	126,06512	1,231	149.297,62	0,02
160	N-Acetylcadaverine	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O	144,12583	1,324	146.164,09	0,02
161	6-hydroxypseudooxynicotine	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	194,10509	1,825	137.888,22	0,02
162	1,3,7-Octanetriol	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	162,12515	2,974	137.094,42	0,02
163	N-Vinilpirolidon	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> NO	111,0683	1,498	132.794,08	0,02
164	Cyprodenate	C <sub>13</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>2</sub>	227,18801	2,018	124.504,74	0,02
165	1,4-benzokuinon	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	108,02107	0,752	124.290,55	0,02
166	Sikloheksilamin	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> N	99,10484	0,086	96.849,44	0,01
167	2S-Amino-tridecanoic acid	C <sub>13</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>2</sub>	229,20363	2,047	92.990,24	0,01





Lampiran 8. Hasil Uji *Lethal Dose 50 (LD<sub>50</sub>)* IMNV pada Udang Vaname

Perlakuan	Total Udang Uji (Ekor)	Total Udang Mati (Ekor)
Tanpa Pengenceran	10	10
Tanpa Pengenceran	10	10
Tanpa Pengenceran	10	10
NaCl 2%	10	0
NaCl 2%	10	0
NaCl 2%	10	0
Pengenceran 1:10	10	6
Pengenceran 1:10	10	6
Pengenceran 1:10	10	7
<b>Pengenceran 1:100</b>	<b>10</b>	<b>4</b>
<b>Pengenceran 1:100</b>	<b>10</b>	<b>4</b>
<b>Pengenceran 1:100</b>	<b>10</b>	<b>5</b>



**Lampiran 9.** Hasil Uji *Lethal Concentration* 50 (LC<sub>50</sub>) Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi pada Udang Vaname

- Hasil Uji LC<sub>50</sub> Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi

Perlakuan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (mg/kg)	Total Udang Uji (Ekor)	Total Udang Mati (Ekor)
Kontrol	10	0
Kontrol	10	0
Kontrol	10	0
250	10	3
250	10	2
250	10	2
500	10	5
500	10	5
500	10	4
750	10	6
750	10	5
750	10	6

- Analisis Probit

Confidence Limits			
95% Confidence Limits for Perlakuan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (mg/kg)			
Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT .010	-275.669	-1106.920	64.271
.020	-171.816	-921.763	140.669
.030	-105.925	-804.876	189.730
.040	-56.358	-717.319	227.009
.050	-16.038	-646.376	257.611
.060	18.280	-586.217	283.883
.070	48.370	-533.660	307.109
.080	75.312	-486.769	328.072
.090	99.815	-444.275	347.289
.100	122.370	-405.298	365.117
.150	215.753	-245.611	440.617
.200	289.971	-121.162	503.088
.250	353.643	-16.726	559.013
.300	410.823	74.716	611.579
.350	463.809	157.004	662.736
.400	514.087	232.484	713.884
.450	562.731	302.712	766.168
<b>.500</b>	<b>610.605</b>	<b>368.816</b>	<b>820.635</b>
.550	658.478	431.698	878.323
.600	707.123	492.177	940.357
.650	757.401	551.108	1008.052
.700	810.387	609.500	1083.106
.750	867.567	668.677	1167.938
.800	931.239	730.578	1266.397
.850	1005.457	798.444	1385.450

Lampiran 9. (Dilanjutkan)





Lampiran 9. (Lanjutan)

**Confidence Limits**

95% Confidence Limits for Perlakuan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (mg/kg)

Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
.900	1098.840	878.886	1540.196
.910	1121.395	897.669	1578.218
.920	1145.898	917.836	1619.762
.930	1172.840	939.750	1665.702
.940	1202.930	963.934	1717.301
.950	1237.248	991.181	1776.484
.960	1277.568	1022.791	1846.419
.970	1327.135	1061.137	1932.910
.980	1393.026	1111.375	2048.620
.990	1496.879	1189.209	2232.342



**Lampiran 10.** Data Perhitungan *Total Haemocyte Count*

- Sel Terhitung

Perlakuan	Sel Terhitung			
	Minggu 0	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3
K+1	193	195	208	216
K+2	192	191	195	212
K+3	202	212	219	221
K-1	186	177	178	168
K-2	193	194	196	187
K-3	201	198	208	191
A1	198	219	226	249
A2	211	225	227	261
A3	213	219	229	251
B1	209	231	263	312
B2	205	237	259	288
B3	217	245	267	296
C1	218	259	255	273
C2	202	246	258	281
C3	208	231	267	294

- Perhitungan THC

Perlakuan	<i>Total Haemocyte Count (x 10<sup>5</sup> sel/ml)</i>			
	Minggu 0	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3
K+1	38,6	39,0	41,6	43,2
K+2	38,4	38,2	39,0	42,4
K+3	40,4	42,4	43,8	44,2
K-1	37,2	35,4	35,6	33,6
K-2	38,6	38,8	39,2	37,4
K-3	40,2	39,6	41,6	38,2
A1	39,6	43,8	45,2	49,8
A2	42,2	45,0	45,4	52,2
A3	42,6	43,8	45,8	50,2
B1	41,8	46,2	52,6	62,4
B2	41,0	47,4	51,8	57,6
B3	43,4	49,0	53,4	59,2
C1	43,6	51,8	51,0	54,6
C2	40,4	49,2	51,6	56,2
C3	41,6	46,2	53,4	58,8

Lampiran 10. (Dilanjutkan)





Lampiran 10. (Lanjutan)

Perlakuan	Total Haemocyte Count (x 10 <sup>5</sup> sel/ml)			Notasi
	1	2	3	
<b>Minggu 0</b>				
K+	38,6	38,4	40,4	39,1 ± 1,1 ab
K-	37,2	38,6	40,2	38,7 ± 1,5 a
A	39,6	42,2	42,6	41,5 ± 1,6 bc
B	41,8	41,0	43,4	42,1 ± 1,2 c
C	43,6	40,4	41,6	41,9 ± 1,6 c
<b>Minggu 1</b>				
K+	39,0	38,2	42,4	39,9 ± 2,2 a
K-	35,4	38,8	39,6	37,9 ± 2,2 a
A	43,8	45,0	43,8	44,2 ± 0,7 b
B	46,2	47,4	49,0	47,5 ± 1,4 bc
C	51,8	49,2	46,2	49,1 ± 2,8 c
<b>Minggu 2</b>				
K+	41,6	39,0	43,8	41,5 ± 2,4 a
K-	35,6	39,2	41,6	38,8 ± 3,0 a
A	45,2	45,4	45,8	45,5 ± 0,3 b
B	52,6	51,8	53,4	52,6 ± 0,8 c
C	51,0	51,6	53,4	52,0 ± 1,2 c
<b>Minggu 3</b>				
K+	43,2	42,4	44,2	43,3 ± 0,9 b
K-	33,6	37,4	38,2	36,4 ± 2,5 a
A	49,8	52,2	50,2	50,7 ± 1,3 c
B	62,4	57,6	59,2	59,7 ± 2,4 d
C	54,6	56,2	58,8	56,5 ± 2,1 d

a. Minggu 0

- Uji Normalitas Menggunakan SPSS 26

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	40.640
	Std. Deviation	1.9201
Most Extreme Differences	Absolute	.123
	Positive	.123
	Negative	-.091
Test Statistic		.123
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 <sup>c,d</sup>

- Test distribution is Normal.
- Calculated from data.
- Lilliefors Significance Correction.
- This is a lower bound of the true significance.

Lampiran 10. (Dilanjutkan)



Lampiran 10. (Lanjutan)

• Uji ANOVA Menggunakan SPSS 26

ANOVA

Nilai THC Minggu 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	31162666666.667	4	7790666666.667	3.809	.039
Within Groups	20453333333.333	10	2045333333.333		
Total	51616000000.000	14			

• Uji Duncan Menggunakan SPSS 26

Nilai THC Minggu 0

Duncan <sup>a</sup>				
Subset for alpha = 0.05				
Perlakuan	N	1	2	3
K-	3	3866666.67		
K+	3	3913333.33	3913333.33	
A	3		4146666.67	4146666.67
C	3			4186666.67
B	3			4206666.67
Sig.		.698	.074	.635

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

b. Minggu 1

• Uji Normalitas Menggunakan SPSS 26

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	43.720
	Std. Deviation	4.7478
Most Extreme Differences	Absolute	.141
	Positive	.141
	Negative	-.107
Test Statistic		.141
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 <sup>c,d</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

Lampiran 10. (Dilanjutkan)





**Lampiran 10.** (Lanjutan)

d. This is a lower bound of the true significance.

- **Uji ANOVA Menggunakan SPSS 26**

**ANOVA**

Nilai THC Minggu 1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2750773333333.334	4	687693333333.333	16.977	.000
Within Groups	405066666666.667	10	40506666666.667		
Total	3155840000000.000	14			

- **Uji Duncan Menggunakan SPSS 26**

**Nilai THC Minggu 1**

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K-	3	3793333.33		
K+	3	3986666.67		
A	3		4420000.00	
B	3		4753333.33	4753333.33
C	3			4906666.67
Sig.		.267	.070	.373

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**c. Minggu 2**

- **Uji Normalitas Menggunakan SPSS 26**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Perlakuan
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	46.067
	Std. Deviation	5.9222
Most Extreme Differences	Absolute	.198
	Positive	.118
	Negative	-.198
Test Statistic		.198
Asymp. Sig. (2-tailed)		.119 <sup>c</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Lampiran 10.** (Dilanjutkan)



**Lampiran 10.** (Lanjutan)

c. Lilliefors Significance Correction.

• **Uji ANOVA Menggunakan SPSS 26**

**ANOVA**

Nilai THC Minggu 2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4566400000000.000	4	1141600000000.000	33.212	.000
Within Groups	343733333333.333	10	34373333333.333		
Total	4910133333333.333	14			

• **Uji Duncan Menggunakan SPSS 26**

**Nilai THC Minggu 2**

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K-	3	3880000.00		
K+	3	4146666.67		
A	3		4546666.67	
C	3			5200000.00
B	3			5260000.00
Sig.		.109	1.000	.700

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

**d. Minggu 3**

• **Uji Normalitas Menggunakan SPSS 26**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Perlakuan
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	49.333
	Std. Deviation	9.0081
Most Extreme Differences	Absolute	.121
	Positive	.116
	Negative	-.121
Test Statistic		.121
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 <sup>c,d</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Lampiran 10.** (Dilanjutkan)





Lampiran 10. (Lanjutan)

- c. Lilliefors Significance Correction.
- d. This is a lower bound of the true significance.

• Uji ANOVA Menggunakan SPSS 26

**ANOVA**

Nilai THC Minggu 3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10981066666666.662	4	2745266666666.666	72.345	.000
Within Groups	379466666666.667	10	37946666666.667		
Total	1136053333333.328	14			

• Uji Duncan Menggunakan SPSS 26

**Nilai THC Minggu 3**

Duncan<sup>a</sup>

Subset for alpha = 0.05

Perlakuan	N	1	2	3	4	Sig.
K-	3	3640000.00				
K+	3		4326666.67			
A	3			5073333.33		
C	3				5653333.33	
B	3				5973333.33	
Sig.		1.000	1.000	1.000		.072

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Mencari titik puncak kurva kuadratik ialah turunan pertama persamaan tersebut =

0 atau  $y = 0$

Persamaan:

$$y = -10.726.667 + 63.900x - 61x^2$$

$$y' = 63.900 - 2(61)x$$

$$y' = 63.900 - 122x$$

$$0 = 63.900 - 122x$$

$$122x = 63.900$$

$$x = 523,8$$

Lampiran 10. (Dilanjutkan)



**Lampiran 10.** (Lanjutan)

Nilai  $x = 523,8$  kemudian disubstitusikan ke dalam persamaan  $y = -10.726.667 +$

$63.900x - 61x^2$ , sehingga diperoleh hasil sebagai berikut:

$$y = -10.726.667 + 63.900x - 61x^2$$

$$y = -10.726.667 + 63.900(523,8) - 61(523,8)^2$$

$$y = -10.726.667 + 33.470.820 - 16.736.352,84$$

$$y = 6.007.800,16$$

$$y = 6.007.800,16$$





Lampiran 11. Data Perhitungan *Respiratory Burst*

Perlakuan	<i>Respiratory Burst</i> (OD 630 nm)			
	Minggu 0	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3
K+1	0,526	0,623	0,668	0,757
K+2	0,518	0,677	0,773	0,839
K+3	0,521	0,681	0,756	0,86
K-1	0,511	0,629	0,664	0,635
K-2	0,514	0,699	0,617	0,628
K-3	0,512	0,649	0,639	0,623
A1	0,529	0,689	0,881	0,891
A2	0,523	0,7	0,953	0,91
A3	0,519	0,742	0,966	0,966
B1	0,568	0,89	0,981	1,114
B2	0,565	0,861	0,901	1,173
B3	0,566	0,828	0,886	1,107
C1	0,554	0,784	0,975	0,981
C2	0,551	0,743	0,867	0,971
C3	0,553	0,793	0,828	0,945

Perlakuan	<i>Respiratory Burst</i> (OD 630 nm)			Notasi	
	Ulangan				
	1	2	3	Rerata ± SD	
<b>Minggu 0</b>					
K+	0,526	0,518	0,521	0,52 ± 0,004	b
K-	0,511	0,514	0,512	0,51 ± 0,002	a
A	0,529	0,523	0,519	0,52 ± 0,005	b
B	0,568	0,565	0,566	0,57 ± 0,002	d
C	0,554	0,551	0,553	0,55 ± 0,002	c
<b>Minggu 1</b>					
K+	0,623	0,677	0,681	0,66 ± 0,032	a
K-	0,629	0,699	0,649	0,66 ± 0,036	a
A	0,689	0,7	0,742	0,71 ± 0,028	a
B	0,89	0,861	0,828	0,86 ± 0,031	c
C	0,784	0,743	0,793	0,77 ± 0,027	b
<b>Minggu 2</b>					
K+	0,668	0,773	0,756	0,73 ± 0,056	a
K-	0,664	0,617	0,639	0,64 ± 0,024	a
A	0,881	0,953	0,966	0,93 ± 0,046	b
B	0,981	0,901	0,886	0,92 ± 0,051	b
C	0,975	0,867	0,828	0,89 ± 0,076	b
<b>Minggu 3</b>					
K+	0,757	0,839	0,86	0,82 ± 0,054	b
K-	0,635	0,628	0,623	0,63 ± 0,006	a
A	0,891	0,91	0,966	0,92 ± 0,039	c
B	1,114	1,173	1,107	1,13 ± 0,036	d
C	0,981	0,971	0,945	0,97 ± 0,019	c

Lampiran 11. (Dilanjutkan)



Lampiran 11. (Lanjutan)

a. Minggu 0

• Uji Normalitas Menggunakan SPSS 26

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.53533
	Std. Deviation	.021443
Most Extreme Differences	Absolute	.216
	Positive	.216
	Negative	-.167
Test Statistic		.216
Asymp. Sig. (2-tailed)		.058 <sup>c</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

• Uji ANOVA Menggunakan SPSS 26

ANOVA

Nilai RB Minggu 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.006	4	.002	162.842	.000
Within Groups	.000	10	.000		
Total	.006	14			

• Uji Duncan Menggunakan SPSS 26

Nilai RB Minggu 0

Duncan<sup>a</sup>

		Subset for alpha = 0.05			
Perlakuan	N	1	2	3	4
K-	3	.51233			
K+	3		.52167		
A	3		.52367		
C	3			.55267	
B	3				.56633
Sig.		1.000	.451	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 11. (Dilanjutkan)





Lampiran 11. (Lanjutan)

b. Minggu 1

• Uji Normalitas Menggunakan SPSS 26

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.73253
	Std. Deviation	.082993
Most Extreme Differences	Absolute	.186
	Positive	.186
	Negative	-.093
Test Statistic		.186
Asymp. Sig. (2-tailed)		.173 <sup>c</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

• Uji ANOVA Menggunakan SPSS 26

ANOVA

Nilai RB Minggu 1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.087	4	.022	22.589	.000
Within Groups	.010	10	.001		
Total	.096	14			

• Uji Duncan Menggunakan SPSS 26

Nilai RB Minggu 1

Duncan<sup>a</sup>

		Subset for alpha = 0.05		
Perlakuan	N	1	2	3
K-	3	.65900		
K+	3	.66033		
A	3	.71033		
C	3		.77333	
B	3			.85967
Sig.		.081	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 11. (Dilanjutkan)



Lampiran 11. (Lanjutan)

c. Minggu 2

• Uji Normalitas Menggunakan SPSS 26

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	Perlakuan
N	15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	
Mean	.82367
Std. Deviation	.129111
Most Extreme Differences	
Absolute	.165
Positive	.153
Negative	-.165
Test Statistic	.165
Asymp. Sig. (2-tailed)	.200 <sup>c,d</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

• Uji ANOVA Menggunakan SPSS 26

ANOVA

Nilai RB Minggu 2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.205	4	.051	17.996	.000
Within Groups	.028	10	.003		
Total	.233	14			

• Uji Duncan Menggunakan SPSS 26

Nilai RB Minggu 2

Duncan <sup>a</sup>		Subset for alpha = 0.05	
Perlakuan	N	1	2
K-	3	.64000	
K+	3	.73233	
C	3		.89000
B	3		.92267
A	3		.93333
Sig.		.060	.365

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 11. (Dilanjutkan)





Lampiran 11. (Lanjutan)

d. Minggu 3

• Uji Normalitas Menggunakan SPSS 26

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.89333
	Std. Deviation	.174720
Most Extreme Differences	Absolute	.130
	Positive	.130
	Negative	-.111
Test Statistic		.130
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 <sup>c,d</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

• Uji ANOVA Menggunakan SPSS 26

ANOVA

Nilai RB Minggu 3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.415	4	.104	83.963	.000
Within Groups	.012	10	.001		
Total	.427	14			

• Uji Duncan Menggunakan SPSS 26

Nilai RB Minggu 3

Duncan <sup>a</sup>		Subset for alpha = 0.05			
Perlakuan	N	1	2	3	4
K-	3	.62867			
K+	3		.81867		
A	3			.92233	
C	3			.96567	
B	3				1.13133
Sig.		1.000	1.000	.162	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 11. (Dilanjutkan)



## Lampiran 11. (Lanjutan)

Mencari titik puncak kurva kuadratik ialah turunan pertama persamaan tersebut =

$$0 \text{ atau } y = 0$$

Persamaan:

$$y = -3,6603 + 0,0189x - 0,0000187x^2$$

$$y' = 0,0189 - 2(0,0000187)x$$

$$y' = 0,0189 - 0,0000374x$$

$$0 = 0,0189 - 0,0000374x$$

$$0,0000374x = 0,0189$$

$$x = 505,4$$

Nilai  $x = 505,4$  kemudian disubstitusikan ke dalam persamaan  $y = -3,6603 +$

$0,0189x - 0,0000187x^2$ , sehingga diperoleh hasil sebagai berikut:

$$y = -3,6603 + 0,0189x - 0,0000187x^2$$

$$y = -3,6603 + 0,0189(505,4) - 0,0000187(505,4)^2$$

$$y = -3,6603 + 0,0189(505,4) - 0,0000187(255.429,16)$$

$$y = -3,7 + 9,6 - 4,8$$

$$y = 1,1$$



Lampiran 12. Data Perhitungan *Superoxide Dismutase*

Perlakuan	<i>Superoxide Dismutase (unit/ml)</i>			
	Minggu 0	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3
K+1	0,577	0,548	0,553	0,702
K+2	0,558	0,507	0,506	0,74
K+3	0,535	0,571	0,555	0,728
K-1	0,501	0,563	0,557	0,562
K-2	0,512	0,638	0,649	0,676
K-3	0,524	0,502	0,548	0,562
A1	0,583	0,627	0,69	0,791
A2	0,572	0,652	0,721	0,812
A3	0,563	0,692	0,753	0,864
B1	0,588	0,786	0,854	0,96
B2	0,556	0,793	0,863	0,953
B3	0,596	0,86	0,892	1,018
C1	0,579	0,747	0,829	0,879
C2	0,515	0,635	0,79	0,84
C3	0,558	0,63	0,786	0,859

Perlakuan	<i>Superoxide Dismutase (unit/ml)</i>			Notasi	
	Ulangan				
	1	2	3		
<b>Minggu 0</b>					
K+	0,577	0,558	0,535	0,56 ± 0,021	b
K-	0,501	0,512	0,524	0,51 ± 0,012	a
A	0,583	0,572	0,563	0,57 ± 0,010	b
B	0,588	0,556	0,596	0,58 ± 0,021	b
C	0,579	0,515	0,558	0,55 ± 0,033	b
<b>Minggu 1</b>					
K+	0,548	0,507	0,571	0,54 ± 0,032	a
K-	0,563	0,638	0,502	0,57 ± 0,068	ab
A	0,627	0,652	0,692	0,66 ± 0,033	bc
B	0,786	0,793	0,86	0,81 ± 0,041	d
C	0,747	0,635	0,63	0,67 ± 0,066	c
<b>Minggu 2</b>					
K+	0,553	0,506	0,555	0,54 ± 0,028	a
K-	0,557	0,649	0,548	0,58 ± 0,056	a
A	0,69	0,721	0,753	0,72 ± 0,032	b
B	0,854	0,863	0,892	0,87 ± 0,020	d
C	0,829	0,79	0,786	0,80 ± 0,024	c
<b>Minggu 3</b>					
K+	0,702	0,74	0,728	0,72 ± 0,019	b
K-	0,562	0,676	0,562	0,60 ± 0,066	a
A	0,791	0,812	0,864	0,82 ± 0,038	c
B	0,96	0,953	1,018	0,98 ± 0,036	d
C	0,879	0,84	0,859	0,86 ± 0,020	c

Lampiran 12. (Dilanjutkan)



Lampiran 12. (Lanjutan)

a. Minggu 0

• Uji Normalitas Menggunakan SPSS 26

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.55447
	Std. Deviation	.030128
Most Extreme Differences	Absolute	.187
	Positive	.111
	Negative	-.187
Test Statistic		.187
Asymp. Sig. (2-tailed)		.167 <sup>c</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

• Uji ANOVA Menggunakan SPSS 26

ANOVA

Nilai SOD Minggu 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.008	4	.002	4.762	.021
Within Groups	.004	10	.000		
Total	.013	14			

• Uji Duncan Menggunakan SPSS 26

Nilai SOD Minggu 0

Duncan<sup>a</sup>

		Subset for alpha = 0.05	
Perlakuan	N	1	2
K-	3	.51233	
C	3		.55067
K+	3		.55667
A	3		.57267
B	3		.58000
Sig.		1.000	.140

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 12. (Dilanjutkan)





Lampiran 12. (Lanjutan)

b. Minggu 1

• Uji Normalitas Menggunakan SPSS 26

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.65007
	Std. Deviation	.107559
Most Extreme Differences	Absolute	.159
	Positive	.159
	Negative	-.097
Test Statistic		.159
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 <sup>c,d</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

• Uji ANOVA Menggunakan SPSS 26

ANOVA

Nilai SOD Minggu 1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.136	4	.034	13.314	.001
Within Groups	.026	10	.003		
Total	.162	14			

• Uji Duncan Menggunakan SPSS 26

Nilai SOD Minggu 1

Duncan <sup>a</sup>		Subset for alpha = 0.05			
Perlakuan	N	1	2	3	4
K+	3	.54200			
K-	3	.56767	.56767		
A	3		.65700	.65700	
C	3			.67067	
B	3				.81300
Sig.		.548	.056	.748	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 12. (Dilanjutkan)



Lampiran 12. (Lanjutan)

c. Minggu 2

• Uji Normalitas Menggunakan SPSS 26

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.70307
	Std. Deviation	.133341
Most Extreme Differences	Absolute	.197
	Positive	.197
	Negative	-.133
Test Statistic		.197
Asymp. Sig. (2-tailed)		.123 <sup>c</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

• Uji ANOVA Menggunakan SPSS 26

ANOVA

Nilai SOD Minggu 2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.237	4	.059	50.739	.000
Within Groups	.012	10	.001		
Total	.249	14			

• Uji Duncan Menggunakan SPSS 26

Nilai SOD Minggu 2

Duncan <sup>a</sup>		Subset for alpha = 0.05			
Perlakuan	N	1	2	3	4
K+	3	.53800			
K-	3	.58467			
A	3		.72133		
C	3			.80167	
B	3				.86967
Sig.		.126	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 12. (Dilanjutkan)





Lampiran 12. (Lanjutan)

d. Minggu 3

• Uji Normalitas Menggunakan SPSS 26

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.79640
	Std. Deviation	.136024
Most Extreme Differences	Absolute	.092
	Positive	.091
	Negative	-.092
Test Statistic		.092
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 <sup>c,d</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

• Uji ANOVA Menggunakan SPSS 26

ANOVA

Nilai SOD Minggu 3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.243	4	.061	39.145	.000
Within Groups	.016	10	.002		
Total	.259	14			

• Uji Duncan Menggunakan SPSS 26

Nilai SOD Minggu 3

Duncan <sup>a</sup>		Subset for alpha = 0.05			
Perlakuan	N	1	2	3	4
K-	3	.60000			
K+	3		.72333		
A	3			.82233	
C	3			.85933	
B	3				.97700
Sig.		1.000	1.000	.277	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 12. (Dilanjutkan)



**Lampiran 12.** (Lanjutan)

Mencari titik puncak kurva kuadratik ialah turunan pertama persamaan tersebut =

$$0 \text{ atau } y = 0$$

Persamaan:

$$y = -2,5197 + 0,0138x - 0,0000136x^2$$

$$y' = 0,0138 - 2(0,0000136)x$$

$$y' = 0,0138 - 0,0000272x$$

$$0 = 0,0138 - 0,0000272x$$

$$0,0000272x = 0,0138$$

$$x = 507,4$$

Nilai  $x = 507,4$  kemudian disubstitusikan ke dalam persamaan  $y = -2,5197 + 0,0138x - 0,0000136x^2$ , sehingga diperoleh hasil sebagai berikut:

$$y = -2,5197 + 0,0138x - 0,0000136x^2$$

$$y = -2,5197 + 0,0138(507,4) - 0,0000136(507,4)^2$$

$$y = -2,5197 + 0,0138(507,4) - 0,0000136(257.454,76)$$

$$y = -2,5 + 7 - 3,5$$

$$y = 1$$



**Lampiran 13.** Hasil Analisis Proksimat Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi dan Pakan X

Perlakuan	Protein (%)	Lemak (%)	Air (%)	Abu (%)	Serat Kasar (%)
Kontrol (Pakan X)	37,12	4,76	10,9	10,92	2,72
A (400 mg/kg)	40,38	4,03	10,43	12,45	2,49
B (500 mg/kg)	40,49	4,39	10,73	12,44	2,39
C (600 mg/kg)	40,62	4,18	10,9	12,44	2,52
Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi	10,25	1,35	0,35	1,28	1,11



Lampiran 14. Data Perhitungan *Survival Rate*

Perlakuan	Udang Awal (Ekor)	Udang Akhir (Ekor)	<i>Survival Rate</i> (%)
K+1	10	3	30
K+2	10	4	40
K+3	10	4	40
K-1	10	9	90
K-2	10	10	100
K-3	10	9	90
A1	10	7	70
A2	10	6	60
A3	10	6	60
B1	10	8	80
B2	10	8	80
B3	10	9	90
C1	10	8	80
C2	10	7	70
C3	10	6	60

Perlakuan	<i>Survival Rate</i> (%)			Rerata ± SD	Notasi
	Ulangan				
	1	2	3		
<b>7 Hari Perlakuan Pakan</b>					
K+	100	100	100	100 ± 0	a
K-	100	100	100	100 ± 0	a
A	100	100	100	100 ± 0	a
B	100	100	100	100 ± 0	a
C	100	100	100	100 ± 0	a
<b>14 Hari Perlakuan Pakan</b>					
K+	100	100	100	100 ± 0	a
K-	90	100	100	96,67 ± 5,77	a
A	100	100	100	100 ± 0	a
B	100	100	100	100 ± 0	a
C	100	100	100	100 ± 0	a
<b>1 Hari Infeksi IMNV</b>					
K+	100	90	90	93,33 ± 5,77	a
K-	90	100	100	96,67 ± 5,77	a
A	90	100	90	93,33 ± 5,77	a
B	100	100	100	100 ± 0	a
C	100	90	100	96,67 ± 5,77	a
<b>3 Hari Infeksi IMNV</b>					
K+	80	70	70	73,33 ± 5,77	a
K-	90	100	100	96,67 ± 5,77	b
A	90	80	90	86,67 ± 5,77	b
B	100	90	100	96,67 ± 5,77	b
C	90	90	80	86,67 ± 5,77	b

Lampiran 14. (Dilanjutkan)





Lampiran 14. (Lanjutan)

Perlakuan	Survival Rate (%)			Notasi
	Ulangan			
	1	2	3	
<b>5 Hari Infeksi IMNV</b>				
K+	50	50	60	53,33 ± 5,77 a
K-	90	100	90	93,33 ± 5,77 d
A	80	70	70	73,33 ± 5,77 b
B	80	90	90	86,67 ± 5,77 cd
C	90	80	70	80 ± 10,00 bc
<b>7 Hari Infeksi IMNV</b>				
K+	30	40	40	36,67 ± 5,77 a
K-	90	100	90	93,33 ± 5,77 c
A	70	60	60	63,33 ± 5,77 b
B	80	80	90	83,33 ± 5,77 c
C	80	70	60	70 ± 10,00 b

• Uji Normalitas Menggunakan SPSS 26

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	69.33
	Std. Deviation	20.862
Most Extreme Differences	Absolute	.162
	Positive	.120
	Negative	-.162
Test Statistic		.162
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 <sup>c,d</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

• Uji ANOVA Menggunakan SPSS 26

ANOVA

Nilai SR	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5626.667	4	1406.667	30.143	.000
Within Groups	466.667	10	46.667		
Total	6093.333	14			

Lampiran 14. (Dilanjutkan)



Lampiran 14. (Lanjutan)

• Uji Duncan Menggunakan SPSS 26

Duncan <sup>a</sup>		Nilai SR		
Subset for alpha = 0.05				
Perlakuan	N	1	2	3
K+	3	36.67		
A	3		63.33	
C	3		70.00	
B	3			83.33
K-	3			93.33
Sig.		1.000	.260	.103

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Mencari titik puncak kurva kuadratik ialah turunan pertama persamaan tersebut =

$$0 \text{ atau } y = 0$$

Persamaan:

$$y = -350 + 1,7x - 0,0017x^2$$

$$y' = 1,7 - 2 (0,0017) x$$

$$y' = 1,7 - 0,0034x$$

$$0 = 1,7 - 0,0034x$$

$$0,0034x = 1,7$$

$$x = 500$$

Nilai x = 500 kemudian disubstitusikan ke dalam persamaan  $y = -350 + 1,7x -$

$0,0017x^2$ , sehingga diperoleh hasil sebagai berikut:

$$y = -350 + 1,7x - 0,0017x^2$$

$$y = -350 + 1,7 (500) - 0,0017 (500)^2$$

$$y = -350 + 1,7 (500) - 0,0017 (250.000)$$

$$y = -350 + 850 - 425$$

$$y = 75$$





Lampiran 15. Data Pengamatan Kualitas Air

A. Data Kualitas Air Harian

Hari, Tanggal	Perlakuan	Suhu (°C)		DO (ppm)		pH		Salinitas (ppt)	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
Sabtu, 26 Oktober 2019	K+1	31,3	30,9	5,6	6,6	7,77	7,92	17	17
	K+2	31,4	30,7	6,2	7,2	7,85	7,79	17	17
	K+3	32	32,4	6,3	6,6	7,98	7,5	17	17
	K-1	31,8	33,1	6,4	5,4	8	7,81	17	17
	K-2	32	29,7	6,3	5,7	7,93	7,61	17	17
	K-3	33,3	29,7	6	7,2	8,06	7,53	17	17
	A1	28,8	28	6,7	6,9	8,05	8	17	17
	A2	33,6	30,9	6	8,6	7,99	7,76	17	17
	A3	31,4	31,5	6,3	6,6	7,97	7,59	17	17
	B1	31,8	31,3	6,2	7,2	7,99	8,21	17	17
	B2	30	32,1	6,3	7,8	8,09	7,91	17	17
	B3	31,3	32,1	6,4	7,8	7,94	7,32	17	17
Minggu, 27 Oktober 2019	C1	31	32,2	6,1	7,5	7,86	7,73	17	17
	C2	37,7	32,7	6,6	6,3	7,76	7,64	17	17
	C3	32,5	31,7	6,1	7,8	7,88	7,63	17	17
	K+1	29,1	31,9	6,5	7,2	8	8,4	17	17
	K+2	28,7	31,3	6	7,8	7,85	8	17	17
	K+3	28,8	29,2	6,4	6,9	8,15	8,16	17	17
	K-1	29,3	32,7	6,3	7,8	8,23	8,3	17	17
	K-2	28,8	29,2	6,4	4,7	8,2	7,94	17	17
	K-3	29	28,6	6,9	7,8	7,99	8,11	17	17
	A1	29	28,6	6,6	8,3	7,84	8,1	17	17
	A2	29,1	34,3	6,6	6,6	7,81	7,94	17	17
	A3	29,1	31,6	6,2	8,6	7,97	7,99	17	17
Senin, 28 Oktober 2019	B1	28,7	29,1	6,4	6,3	8,4	8,9	17	17
	B2	28,8	31	7,6	7,5	8,5	8,5	17	17
	B3	28,9	29,1	6,3	7,2	8,3	7,96	17	17
	C1	28,8	31,2	6,5	7,3	8,5	7,95	17	17
	C2	29,1	31,5	6,8	7,4	8,1	8	17	17
	C3	29,2	29,1	6,4	7,6	8,17	7,89	17	17
	K+1	32,1	31,8	5,6	5,5	7,93	8,1	17	17
	K+2	31,8	30,7	6,7	6,2	7,76	8,1	17	17
	K+3	31	32,1	6,2	5,6	7,97	8,28	17	17
	K-1	33,3	32,2	6,2	5,8	7,85	8,2	17	17
	K-2	28,8	31,4	6,2	6,2	8,6	8,13	17	17
	K-3	32,5	33,7	6	5,6	7,88	8,3	17	17
A1	31,7	28,2	5,9	5,8	8,9	8,22	17	17	
A2	31,8	33,8	6,3	5,2	7,97	7,52	17	17	
A3	30	31,3	6,3	5,6	7,75	8,6	17	17	
B1	30	31,7	6	6,4	8,5	8,22	17	17	
B2	33,6	30,7	6,2	5,2	8	8,27	17	17	
B3	31,1	31	6,6	5,4	7,99	8	17	17	
C1	31	30,8	6,4	5,4	7,77	7,97	17	17	
C2	29,5	31,1	6,8	6	7,98	8,12	17	17	
C3	32	28,1	6,7	5,8	7,93	8,4	17	17	

Lampiran 15. (Dilanjutkan)





Lampiran 15. (Lanjutan)

Hari, Tanggal	Perlakuan	Suhu (°C)		DO (ppm)		pH		Salinitas (ppt)	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
Selasa, 29 Oktober 2019	K+1	31,1	33,1	6,5	6,7	8,19	8,2	17	17
	K+2	31,5	31,6	6,4	6,8	8,6	8,1	17	17
	K+3	32,1	32,2	6,2	6,6	8,29	8,34	17	17
	K-1	32,8	32,4	6,5	7,2	8,21	8,26	17	17
	K-2	31,3	31,2	6,4	7,6	8,22	8,29	17	17
	K-3	32,6	31,6	6,2	8,6	8,33	8,41	17	17
	A1	28,2	28	7,5	8,6	8,2	8,14	17	17
	A2	33,6	34,3	6,3	8,5	8,2	8,11	17	17
	A3	31,6	31,6	6,3	7,3	8,11	8,14	17	17
	B1	31,8	31,6	6,4	6,2	8,27	8,3	17	17
	B2	31,1	31,8	6,5	7,1	8,28	8,34	17	17
	B3	31,5	30,7	6,3	7,2	7,99	7,94	17	16
	C1	30,7	30,2	6,6	6,5	7,99	8,1	17	17
	C2	31,2	30,8	6,7	8,4	8,17	8,16	17	17
	C3	28,8	27,7	6,9	9,4	8,17	8,25	17	17
Rabu, 30 Oktober 2019	K+1	30,5	30,6	6,9	6,5	8,27	8,25	17	17
	K+2	28,8	29,8	6,4	6,3	8,09	8,01	17	17
	K+3	32,3	31,7	5	4,8	8,39	8,27	17	17
	K-1	31,5	30,5	5,6	5,7	8,28	8,16	17	17
	K-2	31,7	30,8	5,3	4,7	8,32	8,03	17	17
	K-3	32,2	31,2	5,4	5,9	8,41	8,33	17	17
	A1	29,5	30,7	6,1	6,5	8,17	8,24	17	17
	A2	30	31,2	6,2	5,8	8,1	8,01	17	17
	A3	30,5	31,7	5,8	6,1	8,13	8,07	17	17
	B1	31	32,3	5,7	5,2	8,3	8,28	17	17
	B2	30,2	31,1	6,4	5,7	8,35	8,12	17	17
	B3	31,4	30,8	5,4	5,1	8,3	8,21	17	17
	C1	29,9	29,7	6,8	6,1	8,1	8,5	17	17
	C2	30	31,3	6,2	5,9	8,2	8,8	17	17
	C3	28,6	30	5,5	6,2	8,6	8,15	17	17
Kamis, 31 Oktober 2019	K+1	29,7	29,7	7,2	6,3	8,38	8,33	17	17
	K+2	30,5	29,1	6,3	6,6	8,33	8,33	17	16
	K+3	30,5	29,1	5,7	7,1	8,39	8,36	17	17
	K-1	32,3	30,5	5,6	6,6	8,3	8,29	17	17
	K-2	30,9	28,9	5,8	6,9	8,27	8,21	17	17
	K-3	31,5	30,1	6,1	6,2	8,39	8,27	17	17
	A1	28	30	6,2	6	8,34	8,23	17	17
	A2	31,1	29,3	6,2	6,4	8,36	8,33	17	17
	A3	30,5	29,1	6,1	6,8	8,3	8,27	17	17
	B1	31,2	30,3	5,8	5,7	8,34	8,28	17	17
	B2	30,2	29,2	6,4	6,6	8,44	8,42	17	17
	B3	31,7	30,5	5,6	7	8,02	7,92	17	17
	C1	30,4	29,6	6,5	6,8	8,15	8,11	17	17
	C2	29,3	30,3	6,2	6	8,33	8,32	17	17
	C3	29	30	5,9	6,6	8,28	8,26	17	17
Jumat, 1 November 2019	K+1	30,8	31,2	6,7	4,8	8,33	8,31	18	17
	K+2	30,7	30,3	6,2	5,3	8,38	8,36	17	17
	K+3	31,7	31,8	5,8	4,8	8,4	8,43	17	17
	K-1	32,2	32,3	5,7	4,8	8,38	8,39	17	17

Lampiran 15. (Dilanjutkan)





Lampiran 15. (Lanjutan)

Hari, Tanggal	Perlakuan	Suhu (°C)		DO (ppm)		pH		Salinitas (ppt)	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
	K-2	31,1	31,6	6,2	4,6	8,25	8,25	17	17
	K-3	31,2	33,8	6,7	4,7	8,44	8,42	17	17
	A1	28,4	32,8	6,3	4,8	8,37	8,38	17	17
	A2	32,7	33,8	5,1	4,7	8,32	8,3	17	18
	A3	30,8	30,3	6,2	5,9	8,35	8,31	17	17
	B1	31,4	31,6	5,9	4,6	8,35	8,32	17	17
	B2	30,6	30,5	6,1	5,1	8,45	8,48	17	17
	B3	31,3	30,5	5,9	5,1	8,08	8,08	17	16
	C1	30,6	30,8	6,2	5	8,16	8,17	17	17
	C2	29,3	28,7	6,2	5,1	8,39	8,38	17	17
	C3	28,7	28,8	6,4	5,2	8,32	8,27	17	17
	K+1	28,3	26,1	8,2	6,2	8,23	8,28	17	17
	K+2	30,5	25,8	6,9	6,2	8,38	8,23	17	17
	K+3	32,2	26,1	8,1	6,4	8,41	8,28	17	17
	K-1	32,1	26,3	7,5	6,1	8,42	8,24	17	17
	K-2	31,5	26,1	8,5	6,4	8,27	8,08	17	17
	K-3	32,6	26,6	7,1	6	8,42	8,32	17	17
Sabtu, 2 November 2019	A1	29	26,1	7	6,1	8,34	8,22	16	17
	A2	33,3	25,6	6,2	5,9	8,32	8,28	17	17
	A3	30,6	25,7	7,2	6,2	8,34	8,22	17	17
	B1	31,6	26,1	8,3	6,2	8,34	8,19	17	17
	B2	30,3	26,3	7,4	6,1	8,47	8,33	17	17
	B3	31,3	26,6	7,2	6,9	8,14	8,03	17	17
	C1	30,3	26,1	7,2	6	8,18	8,12	17	17
	C2	30,3	26,5	7,1	6	8,33	8,2	17	17
	C3	29,7	26,3	7,8	6,6	8,3	8,13	17	17
	K+1	30,2	30,6	6,6	6	8,15	8,11	17	17
	K+2	30,6	30,3	5,4	5,4	8,29	8,21	17	17
	K+3	31,5	30,5	4,9	4,6	8,3	8,22	17	17
	K-1	32,3	30	5	4,8	8,25	8,19	17	17
	K-2	31,1	31,3	5,1	4,3	8,01	8,1	17	17
	K-3	32,1	30,6	5	5	8,34	8,23	17	17
Minggu, 3 November 2019	A1	28,9	29,7	5,4	5,2	8,12	8,09	17	17
	A2	33,1	31,2	5,5	5	8,27	8,18	17	18
	A3	30,7	30,7	5,4	5,2	8,28	8,18	17	17
	B1	31,3	31,6	5	4,4	8,19	8,16	17	17
	B2	30,3	30,5	5,4	5,4	8,34	8,26	17	17
	B3	31,1	30,3	5	4,6	7,84	8,06	17	17
	C1	30,3	30,4	5,9	5,8	7,96	8,01	17	17
	C2	31,6	30,3	5	5,2	8,33	8,29	17	17
	C3	29	30,8	5,1	4,5	8,15	8,09	17	17
	K+1	28,8	27,7	7,2	6,8	8,18	7,98	16	17
	K+2	30,3	27,7	6,4	6,5	8,24	8,12	17	17
	K+3	30,5	27,3	5,8	6,8	8,29	8,1	17	17
Senin, 4 November 2019	K-1	31,1	27,3	5,8	7	8,21	8,08	17	17
	K-2	30	27,2	6,3	7,3	8,12	8	17	17
	K-3	29,5	27,7	6,3	6,8	8,28	8,07	17	17
	A1	28,6	27,6	6,2	6,7	8,1	7,98	17	17
	A2	30,6	27,3	6,2	6,8	8,29	8,11	17	17

Lampiran 15. (Dilanjutkan)





Lampiran 15. (Lanjutan)

Hari, Tanggal	Perlakuan	Suhu (°C)		DO (ppm)		pH		Salinitas (ppt)	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
	A3	30,3	27,6	6,5	6,6	8,31	8,05	17	17
	B1	30,7	27,2	6,1	6,9	8,22	8,08	17	17
	B2	30	27,7	6,5	6,7	8,36	8,17	17	17
	B3	30,2	27,3	6	6,6	8,13	7,9	17	17
	C1	29,2	27,6	6,9	6,8	8,18	8,01	17	17
	C2	28,6	27,6	6,1	6,7	8,1	7,98	17	17
	C3	30,3	27,4	5,8	6,8	8,21	8,07	17	17
	K+1	29,9	29,5	6,9	6,5	8,15	8,18	17	17
	K+2	30	29,8	6,8	6,1	8,26	8,2	17	17
	K+3	30,5	30,2	6,1	5,3	8	8,11	17	17
	K-1	31	31,1	6,5	5,7	8,34	8,25	17	17
	K-2	30	30,2	6,4	5,2	8,17	8,14	17	17
	K-3	29,9	29,7	6,4	6	8,28	8,15	17	17
Selasa, 5 November 2019	A1	28,8	29,3	6,5	5,9	8,13	7,98	17	18
	A2	30,6	30,3	6,2	6,2	8,27	8,08	17	17
	A3	29,9	29,9	6,5	6,5	8,24	8,18	17	17
	B1	30,3	30,5	6,3	5,3	8,25	8,15	17	17
	B2	29,1	29,7	7,1	6,1	8,39	8,28	17	17
	B3	30,3	30,2	6,1	5,4	8	8,11	17	17
	C1	30	29,7	6,8	6,1	8,19	8,08	17	17
	C2	31,2	30,3	6,2	5,5	8,46	8,34	17	17
	C3	29,1	29	6,3	5,5	8,21	8,07	17	17
	K+1	28,5	28,6	6,3	7	8,25	8,16	17	17
	K+2	28,1	29,1	6,1	6,8	8,4	8,31	17	17
	K+3	27,5	27,9	7,1	7,5	8,34	8,25	17	17
	K-1	26,7	26,9	6,8	6,9	8,33	8,21	17	17
	K-2	26	27,1	9,1	8,5	8,19	7,9	17	17
	K-3	28	27,6	6,4	7,1	8,29	7,97	17	18
Rabu, 6 November 2019	A1	28,7	29,4	6,2	6,4	8,16	8,17	17	17
	A2	26,6	27,3	7,3	7,8	8,23	7,42	17	17
	A3	28,1	29,7	6,2	6,1	8,27	8,2	17	17
	B1	26,2	26,5	8,5	7,3	8,29	8,41	17	17
	B2	28,3	29,4	6,1	6,4	8,38	8,02	17	18
	B3	27	27,7	7,2	7,4	8,22	7,95	17	17
	C1	28,7	27,9	6,2	7,2	8,15	8,17	17	17
	C2	29,3	30,2	6,3	6,7	8,41	8,47	17	17
	C3	26,8	27,1	6,8	7,1	8,21	7,87	17	17
	K+1	28,8	30,3	7,3	5,6	8,28	8,32	17	17
	K+2	30	31	6,4	5,2	8,42	8,35	17	17
	K+3	30	29,8	5,8	6	8,38	8,35	17	17
	K-1	30,6	30,5	6,2	5,7	8,47	8,44	17	17
	K-2	30,2	30,2	6,2	6,9	8,24	8,13	17	17
	K-3	29,8	29,6	6,1	5,7	8,3	8,25	17	17
Kamis, 7 November 2019	A1	28,3	28,2	6	5,9	8,24	7,99	17	17
	A2	30,2	30,2	6,4	5,5	8,31	8,28	17	17
	A3	30,1	31	6,3	5,3	8,26	8,25	17	17
	B1	30,5	30,5	5,9	6	8,19	8,07	17	17
	B2	29,9	30,5	6,3	5,2	8,39	8,32	17	17
	B3	30,3	30,3	5,8	5,6	8,31	8,27	17	17

Lampiran 15. (Dilanjutkan)





Lampiran 15. (Lanjutan)

Hari, Tanggal	Perlakuan	Suhu (°C)		DO (ppm)		pH		Salinitas (ppt)	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
Jumat, 8 November 2019	C1	29,6	30,5	6,8	5,5	8,19	8,16	17	17
	C2	30,8	30,8	5,8	5,5	8,48	8,46	17	17
	C3	29,1	27,6	5,8	5,8	8,25	8,03	17	17
	K+1	27,4	28	7,8	7,8	8,17	8,15	17	17
	K+2	29,1	29,7	6,9	7,2	8,01	8,11	17	17
	K+3	31,2	29,9	6,4	6,4	8,26	8,26	17	17
	K-1	31,5	30	6,5	6,7	8,22	8,27	17	17
	K-2	30,7	29,3	6,8	7,1	8,01	8,1	17	17
	K-3	30,5	29,2	6,8	6,9	8,13	8,13	17	17
	A1	28,2	27,7	6,9	7	8,02	8,3	17	17
	A2	30,8	29,2	6,8	7,1	7,9	7,96	17	17
	A3	30,7	30	6,7	6,8	8,08	8,3	17	17
	B1	30,7	30	6,5	6,9	7,9	7,93	17	17
	B2	27,8	30	6,8	6,8	8,14	8,17	17	17
	B3	30,4	28,6	6,6	6,5	7,85	8,5	17	17
Sabtu, 9 November 2019	C1	27,7	29,2	6,7	7,9	7,99	7,96	17	17
	C2	30,5	29	6,6	6,9	8,22	8,24	17	17
	C3	29,9	28,8	7	7,67	8,11	8,8	17	17
	K+1	29,9	26,3	6,4	7,5	8,27	8,18	17	17
	K+2	30	28,3	5,5	5,7	8,22	8,11	17	17
	K+3	30,3	28,3	5,2	5,8	8,15	8,07	16	17
	K-1	31	27,8	4,9	6,1	8,28	8,21	17	17
	K-2	30,2	29	5,3	6	8,03	7,9	17	17
	K-3	30	29,9	5,2	5,7	8,25	8	17	17
	A1	27,9	29,6	5,6	5,7	7,85	8,03	17	17
	A2	29,8	28,1	5,4	6,3	8,09	8,05	17	17
	A3	30,5	28,8	5,4	5,8	8,13	8,13	17	17
	B1	30,8	28,7	5	6,1	7,93	7,8	17	17
	B2	29,8	26,3	5,7	6,4	8,21	8,4	17	17
	B3	28	28,2	5,5	5,3	7,94	7,2	17	17
Minggu, 10 November 2019	C1	20	26,1	5,9	7,4	8,18	8,16	17	17
	C2	20,4	29,7	5,4	5,7	8,29	8,2	17	17
	C3	28,8	28,5	5,3	5,3	8,05	7,97	17	17
	K+1	27,9	27,3	5,8	6,3	8,32	7,69	17	17
	K+2	28,6	29,1	5,1	5,2	8,33	7,99	17	17
	K+3	26,3	28,2	6	5,3	8,26	7,9	17	17
	K-1	27	28,2	6,3	5,6	8,41	7,93	17	17
	K-2	26,1	27	7,7	6,4	8,4	7,29	17	17
	K-3	28,2	27,2	5,8	5,3	8,09	7,82	17	17
	A1	28,9	26,7	5,3	5,5	8,19	7,95	17	17
	A2	26,1	27,4	6,2	5,6	8,15	7,63	17	17
	A3	28,3	29,3	5,2	5,1	8,25	7,77	17	17
	B1	26,2	29,1	6,9	5,6	7,83	7,75	17	17
	B2	28,9	29,1	5,2	5,3	8,23	7,83	17	17
	B3	26,2	28,5	6	5,3	7,8	7,97	17	17
C1	26,3	28,6	5,5	5,7	8,35	7,92	17	17	
C2	29,7	26,5	5,8	6,1	8,38	7,96	17	17	
C3	26,2	27,6	5,4	5,4	8,1	7,83	17	17	
K+1	29,7	28,3	6,4	6,2	7,97	7,85	17	17	

Lampiran 15. (Dilanjutkan)





Lampiran 15. (Lanjutan)

Hari, Tanggal	Perlakuan	Suhu (°C)		DO (ppm)		pH		Salinitas (ppt)	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
Senin, 11 November 2019	K+2	29,1	29,5	5,8	5,6	8,35	8,18	17	17
	K+3	28,6	28,7	5,7	5,7	8,18	8,06	17	17
	K-1	30,5	25,1	5,6	7,4	8,25	8,19	17	17
	K-2	29,1	27,6	6,1	7	7,78	7,77	17	17
	K-3	26,2	27,3	8,2	5,9	8,06	7,67	17	17
	A1	27,8	26,3	5,7	5,4	8,26	8,07	17	17
	A2	28,6	27,1	5,6	6,3	8,21	8,02	17	17
	A3	28,9	27,9	5,2	6,5	8,02	7,92	17	17
	B1	28,8	26,1	6	6,4	8,05	7,87	17	17
	B2	29,3	28,4	5,4	6,3	8,3	7,88	17	17
	B3	29,1	28,1	5,7	6,5	8,36	7,9	17	17
	C1	29,5	28,7	5,5	6,1	8,21	8,04	18	17
	C2	29,9	29,7	5,7	5,8	8,36	8,07	17	17
	C3	29,1	28,4	5,5	6,1	8,05	7,93	17	17
	Selasa, 12 November 2019	K+1	29,1	28,6	5,2	7,8	7,94	7,78	17
K+2		30,3	30,3	4,9	6,9	8,4	8,28	17	17
K+3		29,5	30,5	5	7,3	8,01	7,8	17	17
K-1		30,6	29,7	4,2	6,4	8,31	8,37	17	17
K-2		30,5	30,5	5,2	4,3	7,68	7,45	17	17
K-3		27,4	27,7	5,2	7	7,68	7,85	17	17
A1		27,6	28,7	5,2	7,2	8,26	8,16	17	17
A2		29,3	29,3	5,2	7,4	8,04	8,8	17	17
A3		30,6	30,2	4,6	6,8	8,08	7,96	17	17
B1		29,2	30,3	5,2	7	8,06	7,48	17	17
B2		30	30	4,7	6,4	7,95	7,6	17	17
B3		30	29,7	4,8	7,4	8,35	8,17	17	17
C1		30,2	29,6	4,7	7,6	8,2	8,09	17	17
C2		29,8	30,3	5	7,3	8,41	8,3	17	17
C3		30	27,1	4,7	7,8	8,04	7,89	17	17
Rabu, 13 November 2019	K+1	30	25,7	6,1	6,6	7,83	7,88	17	17
	K+2	30,5	25,3	5,9	6,5	8,35	8,39	17	17
	K+3	30,2	25,6	5,9	7	7,99	8,11	17	17
	K-1	31,2	26	5,3	6,6	8,37	8,16	17	17
	K-2	29,8	26,7	6	6,3	7,88	7,67	17	17
	K-3	30,9	26	5,6	6,9	7,85	8,05	17	17
	A1	29,6	26	6,1	6,6	8,16	8,26	17	17
	A2	29,9	25,3	5,9	7	8,16	8,07	17	17
	A3	30,7	26,3	5,8	6,6	8,02	8,07	17	19
	B1	30,7	25,5	5,8	7,1	8,02	8,22	17	17
	B2	30,3	25,5	5,7	6,3	7,84	8,28	17	17
	B3	30	25	6	6,9	8,21	8,2	17	17
	C1	30	25,5	6,2	6,4	8,17	8,15	17	17
	C2	30,5	25,6	5,6	6,6	8,41	8,33	16	17
	C3	27,8	25,4	6,7	7	7,92	8,03	17	17
Kamis, 14 November 2019	K+1	26,8	25,5	7,1	6,3	7,62	7,93	17	17
	K+2	27,1	28,8	6,5	6,4	8,33	8,21	16	17
	K+3	27,1	29,3	6,7	6,7	8,14	8,1	17	17
	K-1	27	30,1	7,6	5,6	8,23	8,18	17	17
	K-2	26,7	27,9	7,4	5,7	7,63	7,62	17	17

Lampiran 15. (Dilanjutkan)





Lampiran 15. (Lanjutan)

Hari, Tanggal	Perlakuan	Suhu (°C)		DO (ppm)		pH		Salinitas (ppt)	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
	K-3	26,8	29,3	7,2	5,6	8,02	7,97	17	17
	A1	27,3	28,5	6,7	6,5	8,32	8,24	17	17
	A2	27,1	28	6,8	6,9	8,01	8,03	17	17
	A3	27,1	29,1	6,5	6,7	8,07	8,04	17	17
	B1	27,1	26,3	6,9	6,6	8,16	8,11	17	17
	B2	27	28,8	6,9	6,8	8,26	8,15	17	17
	B3	27,2	29	6,7	6,6	8,15	8,13	17	17
	C1	26,2	28	7,1	7,2	8,15	7,92	17	17
	C2	27,2	27,1	6,7	6,8	8,47	6,82	17	17
	C3	27,2	28	6,7	6,8	8,07	8	17	17
	K+1	30,1	29,6	5	5,5	7,9	7,83	17	17
	K+2	30,5	29,7	5,1	5,5	8,25	8,26	17	17
	K+3	29,4	29,2	6,9	5,7	8,08	8,05	17	17
	K-1	27,4	29,2	6,7	6,1	8,22	8,18	17	17
	K-2	26,7	29,9	7,4	5,7	8,09	8,02	17	17
	K-3	29	29,2	5,8	5,6	8	8,02	17	17
Jumat, 15 November 2019	A1	28,1	28,2	5,8	6,1	8,03	8,03	17	17
	A2	26,5	28,5	6,7	6,2	7,87	7,87	17	17
	A3	30,7	28,9	5	6,7	8,09	8,06	17	17
	B1	27	29,2	6,6	6	8,08	8,03	17	17
	B2	27,7	28,5	6,7	6,5	8,15	8,09	17	17
	B3	26,4	28,7	6,3	6,5	8,15	8,08	17	17
	C1	30,2	28,7	4,9	6,9	8,11	8,07	17	17
	C2	29,3	29,9	5,8	6,2	8,44	8,41	17	17
	C3	26,3	29,2	6,8	6,5	7,97	7,97	17	17

B. Data Kualitas Air Mingguan

Minggu (Hari, Tanggal)	Perlakuan	Amonia (ppm)	Nitrit (ppm)	Nitrat (ppm)	TOM (ppm)	Alkalinitas (ppm)
	K+1	0,25	0,3	25	22,752	396
	K+2	0,25	0,3	25	3,792	328
	K+3	0,25	0,3	25	15,618	364
	K-1	0,25	0,3	0	21,488	444
	K-2	0,25	0,3	0	11,376	272
Minggu Pertama (Jumat, 1 November 2019)	K-3	0,25	0,3	0	7,584	420
	A1	0	0,3	12,5	12,64	344
	A2	0	0,3	12,5	3,792	344
	A3	0	0,3	12,5	2,528	356
	B1	0	1,6	25	3,792	352
	B2	0	1,6	25	3,792	24
	B3	0	1,6	25	6,32	332
	C1	0,25	0,8	25	3,792	352
	C2	0,25	1,6	25	3,792	332
	C3	0,25	1,6	25	5,056	344
Minggu Kedua (Jumat, 8 November 2019)	K+1	0,25	0,8	25	5,06	308
	K+2	0,25	0,8	25	2,53	508
	K+3	0,25	0,8	25	12,64	300
	K-1	0	1,6	25	3,79	264

Lampiran 15. (Dilanjutkan)



Lampiran 15. (Lanjutan)

Minggu (Hari, Tanggal)	Perlakuan	Amonia (ppm)	Nitrit (ppm)	Nitrat (ppm)	TOM (ppm)	Alkalinitas (ppm)
Minggu Ketiga (Jumat, 15 November 2019)	K-2	0	1,6	25	1,26	332
	K-3	0	1,6	25	5,06	275
	A1	0,25	1,6	50	3,79	324
	A2	0,25	1,6	50	6,32	246
	A3	0,25	1,6	50	3,79	324
	B1	0,25	1,6	50	6,32	248
	B2	0,25	1,6	50	3,79	276
	B3	0,25	1,6	50	2,53	308
	C1	0,25	1,6	50	5,06	348
	C2	0,25	1,6	50	2,53	268
	C3	0,25	1,6	50	3,79	328
	K+1	0,25	1,6	100	3,792	212
	K+2	0,25	1,6	100	2,528	228
	K+3	0,25	1,6	100	1,264	140
	K-1	0,25	0,8	100	1,264	204
	K-2	0,25	0,8	100	3,792	196
	K-3	0,25	0,8	100	12,64	180
	A1	0,25	1,6	100	0	300
A2	0,25	1,6	100	25,258	148	
A3	0,25	1,6	100	32,792	200	
B1	0	1,6	100	10,112	144	
B2	0	1,6	100	8,842	148	
B3	0	1,6	100	5,056	180	
C1	1	0,8	50	1,264	148	
C2	1	0,8	50	0	252	
C3	1	0,8	50	3,792	180	



Lampiran 16. Dokumentasi Penelitian



Pengambilan Kantong Tinta Cumi-Cumi



Evaporasi



Ekstrak Kasar Tinta Cumi-Cumi



Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi



Persiapan Wadah



Pengambilan Sampel Udang

Lampiran 16. (Dilanjutkan)





Lampiran 16. (Lanjutan)



Pembuatan Inokulum IMNV



Uji LD<sub>50</sub>



Uji LC<sub>50</sub>



Suplementasi Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi ke dalam Pakan



Penyiponan

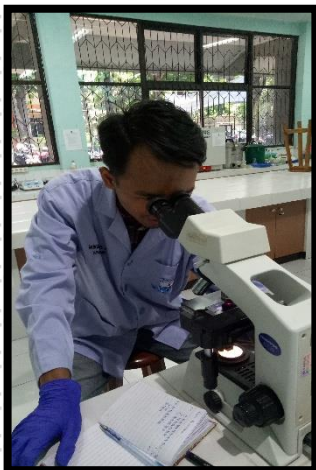


Pengambilan Hemolimf Udang

Lampiran 16. (Dilanjutkan)



Lampiran 16. (Lanjutan)



Pengamatan *Total Haemocyte Count*



Pembuatan Sampel Uji *Respiratory Burst*



Pembuatan Sampel Uji *Superoxide Dismutase*



Pembacaan Hasil Uji RB dan SOD



Pengukuran Kualitas Air Harian



Pengukuran Kualitas Air Mingguan

