

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu organisme akuatik sebagai sumber protein hewani yang digemari oleh konsumen dan memiliki nilai ekonomis penting dalam pasar ekspor maupun lokal. Saat ini udang vaname telah dapat menunjukkan dominasinya sebagai salah satu komoditi andalan ekspor di pasaran dunia. Berdasarkan data Kementerian Kelautan dan Perikanan Indonesia produksi udang vaname pada tahun 2023 mencapai 764.239 ton, dimana hal ini mengalami kenaikan sebanyak 4,51% dibandingkan tahun sebelumnya (2022) yang mencapai 731.250 ton. Seiring dengan meningkatkan produksi udang vaname di Indonesia, tentunya akan menghadapi beberapa tantangan seperti serangan penyakit. Walaupun pembudidaya telah menerapkan manajemen sistem budidaya yang baik, faktanya serangan penyakit pada udang vaname sampai saat ini belum teratasi secara maksimal.

Beberapa serangan penyakit seperti Enterocytozoon hepatopenaei (EHP), AHPND (Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease), White Spot Syndrom Virus (WSSV) juga telah menyerang populasi udang vaname. Beberapa hasil penelitian melaporkan adanya beberapa kasus serangan penyakit yaitu kasus infeksi EHP di beberapa daerah di provinsi Bali dengan prevalensi infeksi berkisar 66,67% - 86,67% (Aras *et al.* 2023), serangan penyakit WSSV tipe III (kronis) juga terjadi pada beberapa tambak dan perairan umum di Kabupaten Sinjai, Sulawesi Selatan (Lilisuriani, 2020), dan infeksi penyakit AHPND pada budidaya produksi di beberapa daerah Kabupaten Bangkalan, Jawa Timur (Suryana *et al.* 2023). Pencegahan dan pengelolaan penyakit ini memerlukan upaya serius melalui peningkatan biosekuriti dan manajemen budidaya yang lebih baik. Namun hal itu saja tidak cukup. Pencegahan lainnya yang dapat dilakukan dengan menggunakan antibiotic, tetapi saat ini penggunaan antibiotic pada kegiatan budidaya sudah mulai dibatasi. Menurut Jofre *et al.* (2019) penggunaan antibiotic secara sembarangan dalam sistem akuakultur secara perlahan memicu perkembangan resistensi antimikroba. Alternatif lain yang dapat dilakukan yaitu meningkatkan sistem kekebalan tubuh udang vaname.

Sistem imun atau sistem kekebalan tubuh merupakan suatu mekanisme respon fisiologis untuk mempertahankan kondisi tubuh agar tetap homeostatis saat pathogen mencoba masuk ke dalam tubuh. Menurut Nugroho & Firman (2018) ketika pathogen mencoba masuk ke dalam tubuh, antigen yang akan menstimulasi sistem pertahanan tubuh dari berbagai serangan penyakit. Sistem imun pada udang Vaname bersifat non-spesifik yang berarti tidak mempunyai sel memori atau dapat disebut sistem pertahanan tubuh alami (inner immunity) (Darwanti *et al.*, 2016). Sistem pertahanan tubuh bawaan udang terdiri dari respon imun seluler dan humoral, yang bekerja sama untuk memberikan perlindungan terhadap infeksi mikroba. Bagian seluler dari respon imun bawaan melibatkan beberapa fungsi imun seperti fagositosis dan apoptosis melalui sel imun seperti hemosit dan respon imun humoral melibatkan enzim atau faktor non-spesifik seperti fenoloksidase, lektin, peptide, peptide antimikroba (AMP) yang mengeliminasi pathogen dengan cara membunuh secara langsung atau menghambat pertumbuhan dan penyebarannya (Petronio *et al.*, 2022). Peningkatan sistem imun udang vaname dapat dilakukan melalui pemberian pakan dengan penambahan imunostimulan.

Imunostimulan merupakan suatu substansi nutrisi dan obat yang dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh dan meningkatkan aktivitas komponen sistem imun untuk melawan infeksi dan penyakit (Martinus, *et al.*, 2019). Lebih lanjut Kurniawan *et al.*, (2018) menyatakan pemberian imunostimulan seperti bakteri dan produk bakteri, yeast, kompleks karbohidrat, faktor nutrisi, ekstrak hewan, ekstrak tumbuhan, dan obat-obatan sintetik dalam pakan mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh hewan akuatik. Menurut Merrifield *et al.*, 2010 dalam Djauhari *et al.*, (2021) bahwa prebiotik adalah imuno polisakarida yang tidak dapat dicerna inang namun secara selektif memberi efek menguntungkan dengan merangsang pertumbuhan dan aktivitas metabolisme sejumlah bakteri menguntungkan di dalam usus, sehingga dapat memperbaiki keseimbangan dinamis populasi bakteri usus. Menurut Djauhari *et al.*, (2017) jenis prebiotik akuakultur seperti FOS (*fruktooligosakarida*), GOS (*galaktooligosakarida*), inulin  $\beta$ -glukan dan BIOMOS<sup>®</sup> yang mengandung MOS (*mannanligosakarida*) adalah *glucomannoprotein* kompleks bersumber dari dinding sel ragi (*Saccharomyces cerevisiae*).

Prebiotik, seperti mannanligosakarida (MOS), merupakan senyawa yang tidak dapat dicerna oleh inang tetapi dapat menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas mikroba menguntungkan dalam saluran pencernaan (Dawood *et al.*, 2018). MOS

telah menunjukkan efek positif pada berbagai spesies akuakultur, termasuk ikan dan krustasea (Nawaz *et al.*, 2020). MOS dapat meningkatkan pertumbuhan dan status kesehatan pada udang vaname. Shangshang *et al.*, (2021) menyatakan bahwa suplementasi MOS dapat meningkatkan kinerja pertumbuhan, meningkatkan kapasitas antioksidan, dan sistem kekebalan tubuh pada *L. vannamei* dalam mengatasi stress hiposalin. Hal ini disebabkan karena mekanisme kerja MOS melibatkan stimulasi sistem kekebalan bawaan, peningkatan aktivitas enzim pencernaan, dan modulasi mikrobiota usus udang. Lebih lanjut Mohan *et al.*, (2018) menjelaskan bahwa penambahan MOS dalam pakan udang vaname meningkatkan populasi *Lactobacillus* spp. dan menurunkan jumlah bakteri *vibrio* spp. Keseimbangan mikrobiota yang lebih baik ini berkontribusi pada kesehatan pencernaan dan imunitas udang.

Terjadinya peningkatan sistem kekebalan tubuh pada udang dapat diketahui dari meningkatnya aktifitas sel-sel fagosit dari haemosit. Sel hemosit adalah komponen penting dari sistem kekebalan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dan berperan utama dalam respons imun terhadap patogen. Hemosit terlibat dalam proses fagositosis, enkapsulasi, dan melanisasi patogen yang menyerang (Eleftherianos *et al.*, 2021). Peningkatan jumlah haemosit pada udang menunjukkan bahwa meningkatnya reaksi pertahanan tubuh udang karena adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Hemosit pada udang vaname diklasifikasikan menjadi beberapa jenis yaitu hyalin, granular, dan semi-granular. Hyalin biasanya berperan dalam fagositosis, sementara granular dan semi-granular lebih terlibat dalam enkapsulasi dan melanisasi. Perubahan dalam proporsi dan jumlah masing-masing jenis hemosit sering kali digunakan sebagai indikator respons imun terhadap infeksi dan kondisi stress lainnya (Zhang Z, *et al.*, 2021). Untuk memantau kesehatan udang dapat dilakukan dengan mengetahui perubahan struktur darah, jumlah dan tipe hemosit, serta aktifitas fagositosisnya. Menurut Hartinah *et al.*, (2014) perubahan jumlah hemosit sampai batas tertentu, biasanya diikuti dengan perubahan komposisi diferensiasi sel-sel hemosit. Jumlah sel hemosit dapat berubah secara signifikan sebagai respons terhadap infeksi patogen atau paparan stress lingkungan. Peningkatan atau penurunan THC dapat mengindikasikan adanya tantangan imunologis yang dihadapi oleh udang vaname.

Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa penambahan prebiotik MOS pada pakan memberikan efek menguntungkan terhadap kesehatan pada saluran

pencernaan dan sistem kekebalan hewan budidaya. Berdasarkan hasil penelitian Widanarni *et al.*, (2018a) pemberian prebiotik mannanoligosakarida (MOS) dengan dosis 0,8 mg pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dapat meningkatkan respon imun dan kinerja pertumbuhan udang. Penelitian terbaru oleh Wang, T., *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa suplementasi MOS dengan dosis 0.08% dan 0,16% dalam pakan dapat meningkatkan kelangsungan hidup, imunitas bawaan, dan mengoptimalkan mikroekologi usus pada udang vaname. Namun sampai saat ini belum ditemukannya dosis yang tepat dalam pemanfaatan prebiotik MOS terhadap respon fisiologis dan hematologis udang vaname untuk meningkatkan ketahanan tubuhnya terhadap stress dan penyakit. Karena itu perlu dilakukan penelitian untuk menguji respon fisiologis dan hematologis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diberi pakan dengan penambahan prebiotik MOS (*Mannan oligosakarida*).

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah yang dapat dikemukakan pada penelitian ini yaitu :

1. Bagaimana perubahan darah udang vaname secara histologi, setelah diberikan pakan dengan pengayaan prebiotik MOS (*Mannan oligosakarida*) ?
2. Bagaimana mekanisme kerja pakan prebiotik MOS (*Mannan oligosakarida*) terhadap perubahan Total Haemocyte Count, Differential Haemocyte Count, dan aktifitas fagositosis ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah maka tujuan dari dilaksanakannya penelitian ini yaitu:

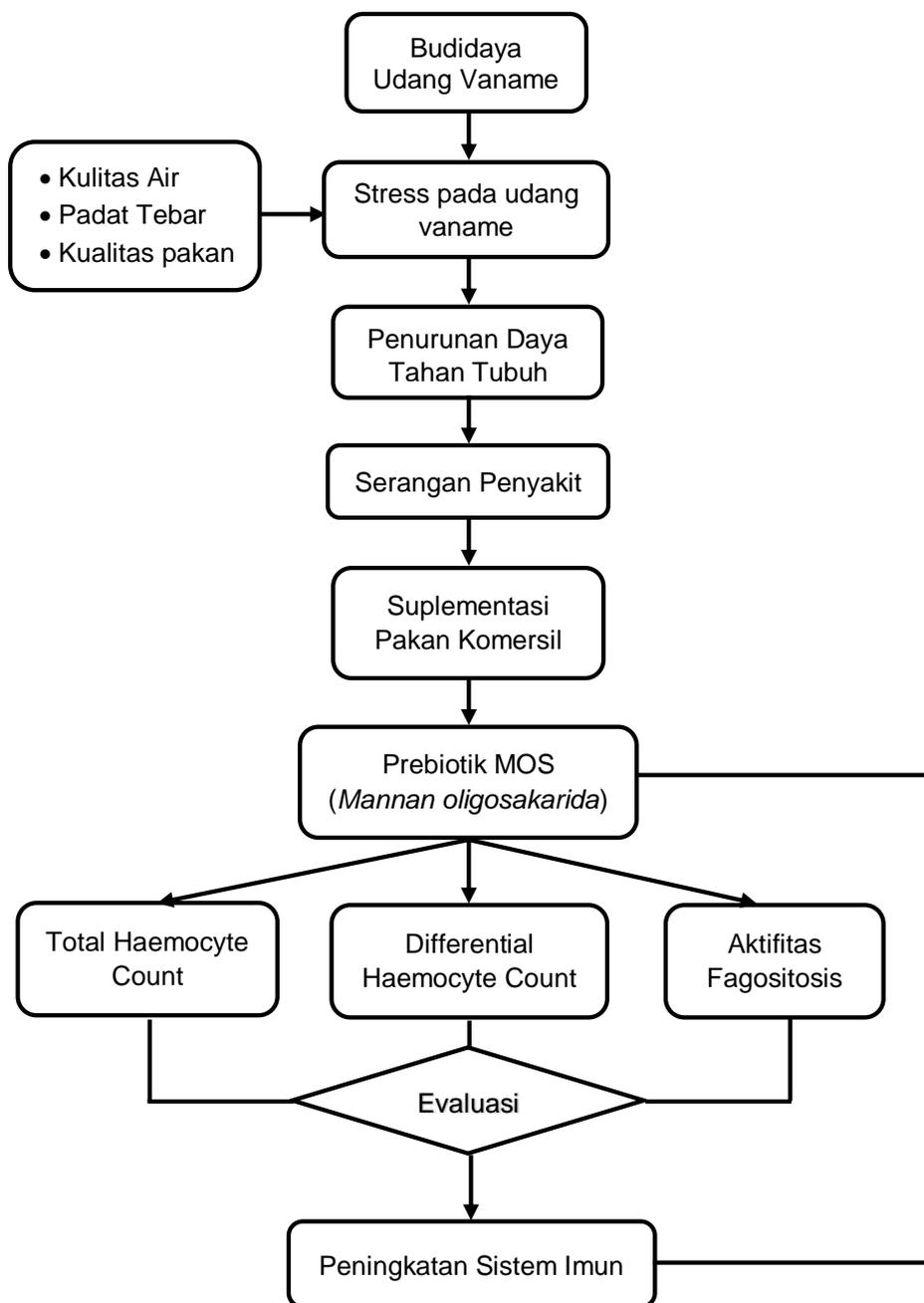
1. Menganalisis perubahan darah udang vaname secara histologi, setelah diberi pakan dengan penambahan prebiotik MOS (*mannan oligosakarida*).
2. Menganalisis mekanisme kerja pakan prebiotik MOS (*Mannan oligosakarida*) terhadap perubahan Total Haemocyte Count, Differential Haemocyte Count, dan aktifitas fagositosis.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Adapun kegunaan dari dilakukannya penelitian ini yaitu sebagai bahan informasi ataupun referensi bagi pembudidaya udang vaname dan juga mahasiswa mengenai

respon fisiologi dan hematologis udang vaname yang diberi pakan dengan penambahan prebiotik MOS (*mannan oligosakarida*).

### 1.5 Kerangka Pikir



Gambar 1. Kerangka Pikir

## 1.6 Hipotesis

Berdasarkan latar belakang dan beberapa penelitian sebelumnya yang telah dilakukan maka hipotesis yang dapat diajukan pada penelitian ini yaitu pemberian prebiotik MOS (*mannan oligosakarida*) mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh udang vanamei.

## BAB II

### METODE PENELITIAN

#### 2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 25 bulan April s/d 25 Juli 2024. Pemeliharaan hewan uji akan dilakukan di Laboratorium Hatchery, pengujian prebiotik dilakukan di Lab Mikrobiologi, pemeriksaan kesehatan hewan uji dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, sedangkan pengujian kualitas air dilakukan di Lab Produktivitas dan Kualitas Perairan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan.

#### 2.2 Alat dan Bahan

Adapun bahan dan alat yang digunakan selama penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Alat-alat penelitian

No	Nama Alat	Kegunaan
1	Baskom	Wadah Pemeliharaan
2	Blower set	Menyuplai oksigen
3	Timbangan Digital (0.01)	Menimbang pakan dan hewan uji
4	Seser	Mengambil udang
5	Selang sifon	Mengambil sisa pakan
6	Cetakan pellet	Mencetak pakan udang
7	Microtube 0.05 ml	Wadah sampel darah udang
8	Sput 0.01 ml	Mengambil darah udang
9	Mikroskop	Mengamati sampel berukuran kecil
10	Haemocytometer	Mengamati sel darah udang
11	Gelas objek	Menempatkan sampel

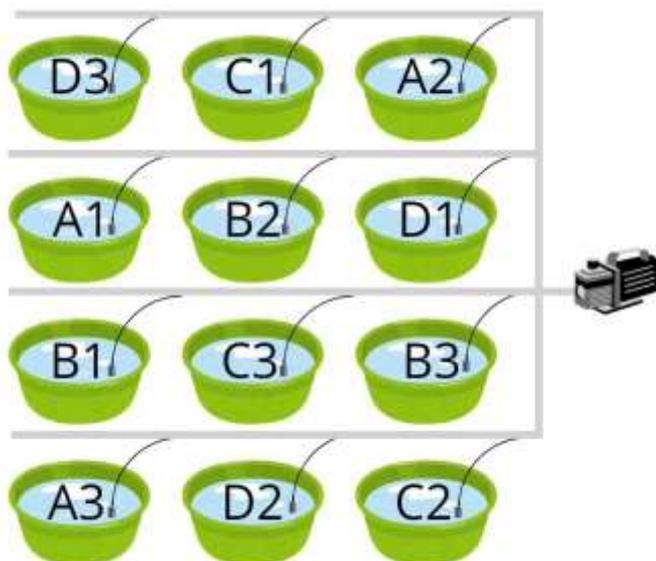
Tabel 2. Bahan-bahan yang digunakan

No	Nama Bahan	Kegunaan
1	Udang vaname (5-6 g)	Hewan uji
2	Bio-Mos (Altech)	Prebiotik
3	Pakan Komersil (Cp.prima, tepung)	Pakan Udang
4	Air laut	Media pemeliharaan udang
5	Air tawar	Mengencerkan air laut
6	Na-sitrat	Menghambat pembekuan darah udang

### 2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dan disusun menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Rancangan percobaan pada penelitian ini menggunakan 4 perlakuan dengan tiga ulangan dengan dosis perlakuan sebagai berikut :

- Perlakuan A = Pemeliharaan udang vaname dengan pemberian pakan tanpa penambahan prebiotik MOS (Kontrol)
- Perlakuan B = Pemeliharaan udang vaname dengan pemberian pakan dengan penambahan prebiotik MOS 1 %
- Perlakuan C = Pemeliharaan udang vaname dengan pemberian pakan dengan penambahan prebiotik MOS 1,5 %
- Perlakuan D = Pemeliharaan udang vaname dengan pemberian pakan dengan penambahan prebiotik MOS 2 %



Gambar 2. Desain Tata Letak Hasil Rancangan

## 2.4 Prosedur dan Pelaksanaan Penelitian



Gambar 3. Prosedur Penelitian



Gambar 4. Alur Pelaksanaan Penelitian

#### **2.4.1 Persiapan Prebiotik**

Prebiotik yang digunakan adalah BIO-MOS Altech yang memiliki kandungan *mannanoligosakarida* (MOS). *Mannanoligosakarida* terdiri dari ekstrak dinding sel ragi *Saccharomyces cerevisiae* yang kaya akan gula mannose yaitu mencapai 45% (Indariyah *et al.*, 2013). Sebelum digunakan akan dilakukan isolasi mikroba pada prebiotik yang akan digunakan untuk menguji keberadaan kandungan *Saccharomyces cerevisiae*. Selanjutnya prebiotik akan ditimbang sesuai dengan dosis perlakuan menggunakan timbangan digital.

#### **2.4.2 Persiapan Pakan Uji**

Pakan buatan yang digunakan yaitu pakan komersil MS Prima Feed (powder) dengan kandungan protein 40%. Pengayaan pakan komersil dilakukan dengan metode pembuatan pellet. Pakan buatan ditambahkan MOS sesuai perlakuan masing-masing dengan konsentrasi 1%, 1,5%, dan 2% kemudian pakan buatan diberikan air tawar sebagai pengikat lalu diaduk sampai merata. Selanjutnya, pakan yang telah menjadi adonan dicetak menggunakan alat cetakan pellet lalu dikering udarkan selama 24 jam kemudian disimpan pada suhu ruang.

#### **2.4.3 Persiapan Wadah**

Penelitian ini menggunakan wadah baskom bervolume 30 L yang diletakkan di hatchery sebanyak 12 wadah termasuk pula dengan wadah kontrol. Wadah yang akan digunakan mulanya dicuci menggunakan detergen kemudian dibilas menggunakan air tawar, selanjutnya wadah dan alat penunjang lainnya disterilkan dengan cara direndam dengan air kaporit selama 24 jam lalu bilas dengan air tawar dan dikeringkan. Selanjutnya wadah yang telah dikeringkan diberi label sesuai dengan perlakuan lalu disusun di dalam hatchery berdasarkan hasil rancangan acak lengkap. Wadah lalu di isi dengan air laut bersalinitas 29 ppt yang telah melalui proses treatment terlebih dahulu dengan volume 15 L/wadah. Selanjutnya pemasangan selang aerasi dilakukan sebagai sumber oksigen bagi udang vaname. Wadah yang telah siap untuk pemeliharaan hewan uji kemudian di diamkan selama 1x 24 jam.

#### **2.4.4 Persiapan Hewan Uji**

Hewan uji yang digunakan adalah udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) diperoleh dari hatchery BPBAP Takalar dengan bobot 5-6 g/ekor. Sebelum dilakukan penebaran, udang vaname diaklimatisasi dalam kolam fiber agar udang vaname dapat beradaptasi pada lingkungan yang baru. Proses aklimatisasi

dilakukan dengan mengapungkan kantong udang vaname selama 30 menit, lalu kantong udang dibuka secara perlahan dan udang vaname dibiarkan keluar dengan sendirinya.

#### **2.4.5 Pemeliharaan Hewan Uji**

Udang vaname yang akan digunakan untuk pemeliharaan dimasukkan ke dalam wadah pemeliharaan yang telah disiapkan dengan padat tebar 1 ekor/liter (Kaltsum, 2021). Sebelum pemberian pakan pada udang, dilakukan pemuasaan pada udang selama 24 jam. Pakan yang telah dicampur BIO-MOS di tebar ke dalam wadah setiap hari selama 15 hari, dengan frekuensi pemberian pakan 3 kali dalam sehari pada pukul 06.00, 12.00, 18.00 wita. Pakan yang diberikan yaitu sebanyak 5% dari total biomassa udang vaname. Untuk menjaga kualitas air selama pemeliharaan, maka dilakukan penyiponan setiap hari dan pergantian air sebanyak 30% dari total volume wadah setiap 3 hari sekali.

### **2.5 Parameter Penelitian**

Parameter penelitian yang diamati meliputi parameter respon imun yaitu *Total Haemocyte Count*, *Differential Haemocyte Count*, aktifitas fagositosis, pertumbuhan bobot mutlak dan kelangsungan hidup. Sebagai data penunjang dilakukan pengukuran kualitas air meliputi suhu, oksigen terlarut, salinitas, pH dan amoniak.

#### **2.5.1 Total Haemocyte Count (THC)**

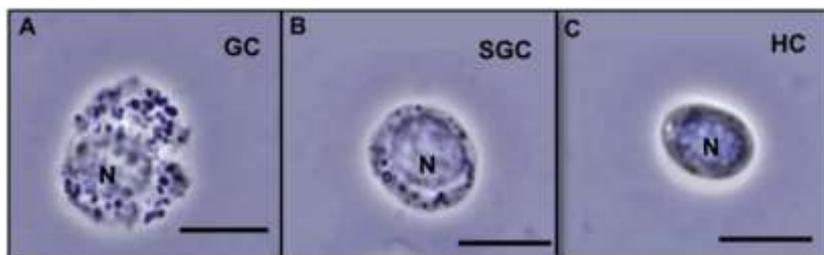
*Total haemocyte count* adalah jumlah total hemosit yang ada didalam sirkulasi hemolimfa udang vaname. *Total haemocyte count* dilakukan untuk menilai kesehatan dan status imunologis udang. Peningkatan THC mengindikasikan adanya peningkatan aktivitas imun sebagai respon terhadap pathogen atau stressor lingkungan. Sebaliknya penurunan THC menunjukkan adanya penurunan imunitas atau peningkatan stress fisiologi. THC dihitung menggunakan hemocytometer setelah sampel hemolimfa diambil. Pengambilan sampel THC dilakukan pada awal dan akhir penelitian. Hemolimfe udang diambil pada bagian pangkal pleopod pada segmen abdominal dekat lubang genital dengan menggunakan syringe 1 ml yang telah dibasahi larutan antikoagulan (EDTA 10%). Selanjutnya perhitungan THC dilakukan dengan metode oleh Liu & Chen (2004) dalam Kurniawan, *et al.*, (2018) dengan rumus :

$$THC = \frac{\text{Jumlah sel dihitung}}{\text{Volume dihitung}} \times \text{pengenceran} \times 10^6$$

### 2.5.2 Differential Haemocyte Count (DHC)

*Differential haemocyte count* (DHC) adalah metode yang digunakan untuk menentukan proporsi berbagai jenis hemosit dalam hemolimfa udang vaname. Hemosit dikategorikan dalam tiga jenis yaitu *Granulocytes*, *Hyalinocytes*, dan *Semigranulocytes*. Pengambilan sampel parameter *differential haemocyte count* dilakukan pada awal dan akhir penelitian. Penghitungan DHC dilakukan dengan mengambil hemolimfe dari udang. Hemolimfe diteteskan pada gelas objek dan dibuat ulasan, lalu dikering aginkan dan difiksasi dengan methanol 100% selama 5 menit. Kemudian diwarnai dengan larutan Giemsa 10% dan didiamkan selama 10 menit, setelah itu dicuci dengan air mengalir selama 30 detik dan dikeringanginkan kembali. Penghitungan DHC dilakukan dengan mengelompokkan sel hemosit dalam 3 tipe sel yaitu sel granular, semi granular dan hialin di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x dan 1.000x. Tipe sel hemosit yang dihitung berjumlah 100 sel lalu presentase tiap jenis sel dihitung dengan rumus (Tampangallo, *et al.*, 2012):

$$DHC = \frac{\text{Jumlah sel haemocyte tertentu}}{\text{Total Sel Haemocyte}} \times 100$$



Gambar 5. Jenis-jenis hemosit ; GC (*Granulocytes*) ; SGC (*Semigranulocytes*) ; HC (*Hyalinocytes*). (Sumber : Kitikiew *et.al* 2013)

### 2.5.3 Aktifitas Fagositosis

Aktifitas fagositosis merupakan salah satu parameter penting dalam menilai respon imun seluler udang vaname. Aktivitas fagositosis adalah proses di mana sel-sel tertentu, seperti fagosit, menelan dan menghancurkan partikel asing yang masuk ke dalam tubuh udang. Aktifitas fagositosis dilakukan pada awal dan akhir penelitian.

Hemolim udang vaname diambil sebanyak 0,1 menggunakan syringe 1 ml yang telah di isi dengan antikoagulan sebanyak 0,1 ml. Selanjutnya darah udang sebanyak 50 µl dimasukkan ke dalam microplate lalu ditambahkan 50 µl suspense *Staphylococcus aureus* dalam PBS ( $10^7$  sel/ml) lalu dihomogenkan menggunakan vortex dan diinkubasi pada suhu ruang selama 20 menit. Setelah itu sebanyak 5 µl darah di teteskan pada ditetaskan pada objek glass dan dibuat preparat ulas lalu dikeringkan pada suhu ruang. Setelah itu ulasan di difiksasi dengan larutan methanol selama 5-10 menit dan dikeringkan. Kemudian ulasan direndam dengan larutan giemsa selama 15-20 menit. Ulasan kemudian di cuci menggunakan larutan aquades lalu dikeringkan pada suhu ruang. Selanjutnya dilakukan pengamatan dan perhitungan menggunakan rumus (Suleman *et.al.*, 2019) :

$$AF = \frac{\text{Jumlah sel haemocyte yang melakukan fagositosis}}{\text{Total Sel Haemocyte yang diamati}} \times 100$$

#### 2.5.4 Pertumbuhan Bobot Mutlak

Pertumbuhan bobot mutlak pada udang merupakan peningkatan total berat udang dari waktu ke waktu yang diukur sebagai selisih antara berat awal dan berat akhirnya. Pertumbuhan bobot mutlak digunakan sebagai indicator untuk mengevaluasi pertumbuhan udang sehingga dapat mengetahui efektivitas dari pakan, lingkungan, hingga manajemen pemeliharaan udang. Perhitungan pertumbuhan bobot mutlak udang mengacu pada rumus oleh Effendi (2003) dalam Supono *et al.* (2021) :

$$W_m = W_t - W_0$$

Keterangan :

$W_m$  = Pertumbuhan berat mutlak (g)

$W_t$  = Berat rata-rata akhir (g)

$W_0$  = Berat rata-rata awal (g)

#### 2.5.5 Survival Rate

Survival rate atau tingkat kelangsungan hidup adalah persentase udang yang berhasil bertahan hidup selama periode pemeliharaan. Survival rate hidup udang vaname di hitung diakhir penelitian berdasarkan rumus oleh Yunarty dan Renitasari (2022) :

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100$$

Keterangan :

SR = Kelangsungan hidup (%)

$N_t$  = Jumlah udang yang hidup pada akhir penelitian (ekor)

$N_0$  = Jumlah udang yang hidup pada awal pengamatan (ekor)

### 2.5.6 Pengukuran Kualitas Air

Pengukuran parameter kualitas air indikator yang digunakan untuk mengetahui dan mengevaluasi kesehatan dan kesesuaian air selama pemeliharaan udang vaname. Pengukuran kualitas air dalam penelitian ini meliputi suhu, DO, salinitas, pH, dan amoniak. Pengukuran suhu dilakukan setiap pagi dan sore hari, untuk salinitas dilakukan setiap seminggu sekali. Pada pengukuran parameter kualitas air seperti DO, pH, dan Amoniak dilakukan pada awal dan akhir penelitian. Adapun alat ukur yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Parameter Kualitas Air

No	Parameter Kualitas Air	Alat Ukur	Waktu
1	Suhu	Termometer	Setiap hari (Pagi & Sore)
2	DO	DO meter	Awal dan akhir
3	Salinitas	Refarktometer	1x/minggu
4	pH	pH meter	Awal dan akhir
5	Amonia (NH <sub>3</sub> )	Amonia meter	Awal dan akhir

### 2.6 Analisis Data

Data yang diperoleh yaitu data Total Haemocyte Count, Differential Haemocyte Count, Aktifitas Fagositosis, Pertumbuhan Bobot Mutlak, Survival Rate, dan kualitas air. Selanjutnya data di analisis ragam (ANOVA) dan data yang berpengaruh nyata dilanjutkan dengan uji lanjut W-Tuckey untuk menentukan perbedaan antar perlakuan. Uji statistic pada penelitian ini menggunakan perangkat lunak SPSS versi 23.0. Selanjutnya data disajikan dalam bentuk tabel dan diagram.