

DISERTASI

**RESPON FISIOLOGIS SISTEM OSMOREGULASI
JUVENIL UDANG WINDU *Penaeus monodon* Fabr.
PADA SALINITAS YANG BERFLUKTUASI**

*Physiological Osmoregulation System Responses of Black Tiger
Juveniles *Penaeus monodon* Fabr. in Fluctuated Salinity*

SOUMOKIL AGUSTINA



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

**RESPON FISIOLOGIS SISTEM OSMOREGULASI
JUVENIL UDANG WINDU *Penaeus monodon* Fabr.
PADA SALINITAS YANG BERFLUKTUASI**

*Physiological Osmoregulation System Responses of Black Tiger
Juveniles *Penaeus monodon* Fabr.
in Fluctuated Salinity*

DISERTASI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi
Ilmu Pertanian

Dususun dan Diajukan Oleh

SOUMOKIL AGUSTINA

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

**RESPON FISILOGI SISTEM OSMOREGULASI
JUVENIL UDANG WINDU *Penaeus monodon* Fabr.
PADA SALINITAS YANG BERFLUKTUASI**

Diajukan oleh :

Soumokil Agustina
P0100308038

Menyetujui :
Tim Promotor

Prof. Dr. Ir. M. Natsir Nessa, M.S
Promotor

Dr.Ir.Dody Dharmawan Trijuno, M.App.Sc
M.Sc.Ph.D
Ko-Promotor

Ir. M. Iqbal Djawad,
Ko-Promotor

Plt. Ketua Program Studi
Ilmu Pertanian

Direktur Pascasarjana
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Ir. Mulsalim

Prof. Dr. Ir. Mursalim

PRAKATA

Tidak terbayangkan sebelumnya bahwa penelitian yang terkendala oleh berbagai faktor ini bisa terampungkan. Hal ini hanya mungkin terjadi berkat rahmat dan kasih karunia Tuhan YMK. Oleh karenanya, mengawali tulisan ini penulis memanjatkan Puji dan Syukur yang tak terhingga atas seluruh perkenannya.

Tulisan ini merupakan hasil penelitian yang diwujudkan dalam bentuk suatu disertasi. Dapat penulis sampaikan bahwa tulisan ini terlihat telah memenuhi kerangka umum sebagaimana layaknya suatu disertasi, hal itu terwujud berkat bimbingan yang terarah dari Tim Promotor dan juga dukungan dari berbagai pihak. Karena itu, pada kesempatan ini dengan tulus penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Natsir Nessa, MS. selaku promotor, Bapak Dr. Ir. Dody Dharmawan Trijuno, M.App.Sc, dan Bapak Ir. M. Iqbal Djawad, M.Sc. Ph.D. masing-masing sebagai ko promotor yang telah memberikan motivasi, arahan dan bimbingan mulai dari penyusunan proposal penelitian hingga penyelesaian disertasi ini.
2. Bapak Prof. Ir. Jacobus W. Mosse, M.Sc, Ph.D. selaku penguji eksternal dan Bapak Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA. DES, Dr. Ir. Siti Aslamyah, MP dan Dr. Ir. Zainuddin, M.Si., masing-masing selaku penguji internal, semuanya banyak memberikan masukan yang konstruktif.

3. Semua Staf Stasiun Penelitian Balitbangda Provinsi Sulawesi Selatan di Kupa Barru, Staf Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, khususnya Ibu Prof. Dr. drh. Tutik Wedyastari, Med., Staf Laboratorium Histologi dan TEM Lembaga Eijkmaan, Jakarta, Staf Laboratorium Patologi Ferteriner, Maros, Laboratorium Bioteknologi BPPBAP, Maros, Staf Laboratorium Balai Pengkajian Pengembangan dan Teknologi Pertanian yang sudah membantu dalam penelitian gan analisa laboratorium.
4. Semua rekan-rekan PS Ilmu Pertanian, Program Pasca Unhas angkatan 2008, teristimewa Dr. Nova Yuniarti SPi, MP bersama keluarga, Dr Andi Niklani SPi, MP. dan semua keluarga yang tidak sempat disebut namanya, atas partisipasi dan bantuannya dalam penyelesaian studi ini.

Rasa terima kasih yang tulus penulis haturkan kepada Ayah dan Ibu tercinta : Bapak Th. Soumokil (alm) dan Ibu Anne Malessy (almh), Adik dan Kakaku bersama keluarga atas cinta kasih dan doa yang senantiasa mengiringi hingga penyelesaian studi ini. Khusus buat yang tercinta suamiku Drs. H. Pattimahu, M.M. dan anak-anakku: Ricardo Pattimahu, SE,M.Si., Helmy Pattimahu, ST., Jossi Pattimahu/P dan cucu tersayang Joel Rossi, yang selalu bersama dalam suka dan duka memberi semangat, doa dan cinta yang tulus yang begitu berharga sehingga disertasi ini bisa terselesaikan.

Akhirnya, penulis haturkan terima kasih kepada Bapak Rektor Universitas Pattimura dan Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Pattimura yang telah memberi izin dan fasilitas bagi studi lanjut penulis.

Semoga disertasi ini bermanfaat bagi semua yang memerlukannya.

Makassar, September 2013

Soumokil Agustina

ABSTRAK

Soumokil Agustina. Respon Fisiologi sistem osmoregulasi Juvenil Udang Windu *Penaeus monodon* Fabr.pada salinitas yang berfluktuasi(Natsir Nessa, sebagai promotor, Dody Dharmawan Trijuno dan M.Iqbal Djawad,

Penelitian ini bertujuan mengkaji respon fisiologi sistem osmoregulasi juvenil udang windu pada salinitas media yang berfluktuasi. Penelitian dilakukan di Hatchery Stasiun Penelitian Balitbangda Provinsi Sulawesi Selatan.Pengambilan data dilakukan melalui eksperimen hatchery dan analisis laboratorium.Analisis respon juvenil udang windu terhadap fluktuasi salinitas menggunakan Rancangan Petak Terpisah dalam Waktu dengan aplikasi RAL.Analisis data menggunakan ANOVA dengan bantuan Program SAS aplikasi MINITAB, dilanjutkan dengan uji lanjut Tukey. Perlakuan salinitas terdiri dari 9 level dan dirancang untuk media isoosmotik (25 ppt), hiposmotik (13, 10, 7, 4 ppt) dan hiperosmotik (37, 39, 41, 43 ppt) dengan 4 level waktu pemeliharaan yaitu 6, 24, 96, 168 jam. Juvenil udang ukuran 12.6 ± 1.3 gram sebagai hewan uji dipelihara di dalam akuarium kaca (50 L) dengan kepadatan 10 ekor./akuarium. Pengambilan data dilakukan pada setiap penurunan dan kenaikan salinitas media per waktu pemeliharaan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa TKO tertinggi (6.572 mOsm/L) ditemukan pada juvenil di media hiposmotik (interaksi salinitas 4 ppt dan waktu 24 jam), dan TKO terendah (0.467 mOsm/L) pada juvenil di media hiperosmotik (interaksi salinitas 39 ppt dan waktu 168 jam). Rata-rata konsentrasi terendah ion hemolim terdapat pada juvenil di media hiposmotik (4 ppt) dan tertinggi pada media hiperosmotik (43 ppt). Hasil analisis histologi dan TEM menunjukkan bahwa pada media hiposmotik (ketika penurunan salinitas ke 4 ppt) terlihat sejumlah podosit yang padat di dalam sel-sel epitel coelomosac berkontraksi menyebabkan ruang antar podosit pada membrane basal menyempit yang mempengaruhi aliran hemolim dan berdampak proses filtrasi dan penyerapan material yang dibutuhkan. Pada kondisi ini aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase meningkat dalam transport aktif dengan peran pompa natrium untuk memompa air dan garam ion sehingga membutuhkan banyak energi. Energi yang dibutuhkan diperoleh dari adenosin trifosfat (ATP) yang dihasilkan oleh pompa Na^+/K^+ -ATPase untuk aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase. Hasil imunohistokimia menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase salinitas rendah dengan ekspresi warna coklat yang pekat.

ABSTRACT

SOUMOKIL AGUSTINA. Physiological Osmoregulation Response of the Osmoregulation System of Juvenile Black Tiger, *Penaeus monodon* Fabr. in Fluctuated Salinity (Supervised by Natsir Nessa; Dody Darmawan Trijuno and M.Iqbal Djawad)

This aims to analyse the physiological response of the osmoregulation system of juvenile black tiger shrimps toward fluctuated salinity.

The research was conducted at the Hatchery Research Station of Balitbangda, South Sulawesi. The data were gathered through hatchery experiment and laboratory analysis. The analysis of the response of juvenile black tiger shrimps on fluctuated salinity was conducted by using split-plot in time design with RAL application. The data analysis was also conducted by using ANOVA with SAS - MINITAB programs, followed by Tukey test. The treatment of salinities consisted of 9 level and designed on iso-osmotic media, mainly 25 ppt, hypo-osmotic (13, 10, 7, 4 ppt) and hyper-osmotic (37, 39, 41, 43 ppt) and 4 level of maintenance time (6, 29, 96, and 168 hours). Juvenile *P. monodon* sized $12,6 \pm 1,3$ gram used as tested animal were maintained in glass aquarium (50 L) with 10 animal per aquarium. Sampling was taken every decreasing and increasing of salinity per maintenance time.

The result of reveal that the highest TKO of 6.572 mOsm/L, was found in juveniles black tiger shrimps put on hypo-osmotic media, (salinity interaction of 4 ppt and 24 hours of time); while the smallest TKO (0,467mOsm/L) was found in juveniles black tiger shrimps put in hyper-osmotic media (salinity interaction of 39 ppt and 168 hours of time) The lowest average concentration of hemolin ion was found in juveniles black tiger shrimps put in hypo-osmotic media (4 ppt); while the highest concentration was found in hyper-osmotic media (43 ppt). The result of histology and TEM analysis revealed that in the hypo-osmotic (when the salinity decreasing to 4 ppt). some solid podocytes in coelomic epithelium cells contracted, making the space between podocytes in basal membrane narrow. This affected the haemolymph flow and it influenced the process of filtration and the absorption of needed materials. In this condition, the activity of enzyme Na^+/K^+ -ATPase increased in the active transport with the role of Sodium pump to pump water and ion, which need much energy. The energy needed was obtained from adenosine-triphosphate (ATP) produced by Na^+/K^+ -ATPase pump in the activity of Na^+/K^+ -ATPase enzyme. The immunohistochemical result reveal that the increase of enzyme activities happened in low salinity (4 ppt) with dark brown feature.

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Soumokil Agustina

Nomor Mahasiswa : P0100308038

Program Studi : Ilmu-Ilmu Pertanian

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apalagi di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, September 2013
Yang menyatakan,

Soumokil Agustina

DAFTAR ISI

	halaman
PRAKATA	Iv
ABSTRAK	Vii
ABSTRACT	viii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI.....	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xix
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	6
C. Tujuan Penelitian	9
D. Kegunaan Penelitian	10
E. Ruang Lingkup Penelitian	11
F. Defenisi dan Istilah	12
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	14
A. Biologi udang windu.....	14
A.1. Morfologi dan Anatomi	14
A.2. Kelenjar Antennal	16
A.3. Distribusi dan Daur Hidup	20
B. Metabolisme	22

C. Karakteristik Media	25
D. Salinitas dan Kapasitas Elektrolit	27
E. Homeostasis dan Osmoregulasi	32
F. Hormon dan Enzim dalam Osmoregulasi	42
G. Kerangka Konseptual	47
H. Hipotesis	48
III. METODE PENELITIAN	40
A. Rancangan Penelitian	49
B. Lokasi dan Waktu	55
C. Bahan dan Peralatan Penelitian.....	56
C.1. Bahan	56
C.2. Peralatan Penelitian.....	58
D Teknik Sampling dan Proseur Pengumpulan Data.....	59
D.1. Metode Pemeliharaan	59
D.2. Teknik dan Prosedur Pengumlulan Data	60
1. Pengamatan Parameter Fisika Kimia Media Percobaan.....	60
2. Kelangsungan Hidup Juvenil Udang.....	60
3. Analisis Osmolaritas.....	61
4. Analiisis Konsentrasi Ion	62
5. Pengamatan Histologi Helenjar Antennal.....	62
6. Analis Imunohistokimia.....	64
7. Pengamatan mikroskop elektron transmisi.....	65

D. Analisis Data	67
IV, HASIL DAN PEMBAHASAN.....	69
A. Penelitian Pendahuluan.....	69
A. 1. Fluktuasi Salinitas di Tambak Udang.....	69
A. 2. Kemampuan Osmolaritas.....	72
B. Penelitian Utama.....	86
B. 1. Pengaruh Salinitas pada Osmoregulasi Udang Windu..	86
1. Osmolaritas Hemolim dan Media Percobaan.....	86
2. Tingkat Kerja Osmotik dan Regulasi Ion.....	95
B. 2. Kualitas Media dan Pengaruh Salinitas Terhadap Kelangsungan hidup.....	117
1. Kualitas Media.....	117
2. Tingkat Kelangsungan Hidup.....	120
B. 3. Respon Kelenjar Antennal Terhadap Perubahan Salinitas.....	125
1. Pengamatan Histologi Kelenjar Antennal.....	127
2. Imunohistokimia dengan antibody terhadap subunit α Na ⁺ /K ⁺ -ATPase.....	144
3. Ultrastruktur Kelenjar Antennal Udang Windu.....	148
B. 4. Pembahasan Umum.....	127
IV. PEUNUTUP	160
A. Kesimpulan.....	160
B. Saran	161
DAFTAR PUSTAKA	162
DAFTAR LAMPIRAN	183

DAFTAR TABEL

Nomor	halaman
1. Kelenjar hormon, produk sekresi dan fungsinya pada proses Osmoregulasi (Zairin, 2003)	43
2 Nilai osmolaritas media pemeliharaan juvenil udang windu pada penurunan salinitas media pemeliharaan pada Penelitian Pendahuluan	73
3 Nilai osmolaritas media pemeliharaan juvenil udang windu pada penaikan salinitas media pemeliharaan pada penelitian pendahuluan	73
4 Nilai osmolaritas hemolim juvenil Udang windu pada penurunan salinitas media pemeliharaan pada penelitian pendahuluan	75
5 Nilai osmolaritas hemolim juvenil Udang windu pada penaikan salinitas media pemeliharaan	75
6 Nilai parameter fisika kimia media pemeliharaan juvenil udang windu, <i>Penaeus monodon</i>	117
7. Perubahan jaringan sel labirin kelenjar antennal udang windu hasil pengamatan histopatologi berdasarkan skoring	111

DAFTAR GAMBAR

Nomor		halaman
1	Penampakan Morfologi Eksternal Udang <i>Peneus monodon</i> Fabr.....	14
2	Penampakan lateral anatomi internal udang <i>Penaeus monodon</i> Fabr. betina.....	15
3	Kelenjar antennal dan bagian-bagiannya (a). Lokasi kelenjar antennal pada bagian cepalotoraks udang (b). Ilustrasi dari Bowater(2008).....	17
4	Penampakan ultrastruktur sistem urinary dan osmoregulasi dekapoda.....	18
5	Daur hidup udang windu, <i>Penaeus monodon</i> Fabr. di alam.....	22
6	Hubungan sel, sistem-sistem tubuh dan homeostasi.....	34
7	Pengendalian jarak jauh melalui sistem endokrin dan sistem saraf.....	35
8	Grafik osmotik krustase tipe osmokonforer dan osmoregulator.....	38
9	Skema Kerangka Konseptual	47
10	Skema perubahan salinitas media percobaan.....	52
11	Peletakan unit-unit percobaan dengan cara pengacakan menggunakan Pola Rancangan Acak lengkap (RAL).....	53
12	Prosedur pengamatan osmolaritas dan analisa konsentrasi ion hemolim juvenil udang windu.....	62
13	Prosedur pengamatan histologi kelenjar antennal juvenil udang windu.....	63
14	Prosedur pengamatan dan analisa ultrastruktur kelenjar antennal udang windu menggunakan mikroskop elektron transmisi.....	66
15	Bagan Alur Penelitian.....	68
16	Grafik hubungan salinitas dengan osmolaritas media pemeliharaan juvenil udang pada penelitian pendahuluan.....	74
17	Grafik hubungan salinitas dengan osmolaritas hemolim juvenil udang windu pada penelitian pendahuluan.....	77
18	Grafik plot rata-rata nilai osmolaritas media dan hemolim juvenil udang windu pada penurunan salinitas media selama 24 jam pemeliharaan.....	78
19	Grafik plot rata-rata nilai osmolaritas media dan hemolim juvenil udang windu pada penurunan salinitas media selama 48 jam pemeliharaan.....	79
20	Grafik plot rata-rata nilai osmolaritas media dan osmolaritas	

	hemolim juvenil udang windu pada kenaikan salinitas media selama 24 jam pemeliharaan.....	79
21	Grafik plot rata-rata nilai osmolaritas media dan osmolaritas hemolim juvenil udang windu pada kenaikan salinitas media selama 48 jam pemeliharaan.....	80
22		
23	Kurva nilai Tingkat Kerja Osmotik juvenil udang windu pada penurunan salinitas media pemeliharaan.....	81
	Kurva nilai Tingkat Kerja Osmotik juvenil udang windu pada kenaikan salinitas media pemeliharaan.....	81
24	Plot rata-rata nilai osmolaritas media percobaan berdasarkan interaksi salinitas dan waktu pemeliharaan berbeda.....	86
25	Hubungan salinitas media dengan osmolaritas media pemeliharaan juvenil.....	89
26	Plot rata-rata nilai osmolaritas hemolim udang windu berdasarkan interaksi salinitas dan waktu pengamatan berbeda.....	89
27	Hubungan salinitas dengan osmolaritas juvenil udang windu.....	93
28	Hubungan osmolaritas media pemeliharaan dengan osmolaritas hemolim juvenil udang windu.....	94
29	Tingkat kerja osmotik (TKO) udang windu berdasarkan salinitas media dan waktu pemeliharaan yang berbeda.....	95
30	Hubungan interaksi salinitas media pemeliharaan dan waktu dengan tingkat kerja osmotik (TKO) juvenil udang windu.....	98
31	Rata-rata konsentrasi Na^+ hemolim dan Na^+ media pemeliharaan udang windu berdasarkan salinitas dan waktu.	101
32	Rata-rata konsentrasi Cl^- hemolim dan Cl^- media percobaan pada interaksi salinitas media dan waktu pemeliharaan udang windu.....	103
33	Rata-rata konsentrasi K^+ hemolim dan K^+ media percobaan pada interaksi salinitas media dan waktu udang windu.....	105
34	Rata-rata konsentrasi Ca^{2+} hemolim dan Ca^{2+} media percobaan pada interaksi salinitas media dan waktu pemeliharaan udang windu.....	107
35	Rata-rata konsentrasi Mg^{2+} hemolim dan Mg^{2+} media percobaan pada interaksi salinitas media dan waktu pemeliharaan udang windu.....	109

36	Rata-rata konsentrasi SO ₄ ²⁻ hemolim dan SO ₄ ²⁻ media percobaan pada interaksi salinitas media dan waktu pemeliharaan udang windu.....	112
37	Kelangsungan hidup juvenil udang windu pada berbagai salinitas media dan waktu pemeliharaan yang berbeda.....	120
38	Hubungan salinitas media dengan kelangsungan hidup juvenil udang windu.....	123
39	Lokasi kelenjar antennal pada bagian kepala udang windu, dengan urinary pore (A); pembedahan (B); setelah dikeluarkan (C) dan setelah dilepaskan dari otot daging (D). Pembesaran 40 x.....	127
40	Mikrograf cahaya struktur morfologi kelenjar antennal udang windu. Pewarnaan HE. Bar = 100 µm	139
41	Mikrograf cahaya labirin kelenjar antennal udang windu pada media bersalinitas 25 ppt (a), 37 ppt (b), 13 ppt (c) dan 4 ppt (d).Pewarnaan HE. Bar = 100 µm	133
42	Histopatologi sel labirin kelenjar antennal juvenil udang windu pada media 37 ppt dengan waktu pemeliharaan 6 jam (a), 24 jam (b), 96 jam (c) dan 168 jam (d). Pewarnaan HE. Bar = 100 µm.	138
43	Histopatologi sel labirin kelenjar antennal juvenil udang windu pada media 25 ppt dengan waktu pemeliharaan 6 jam (a), 24 jam (b), 96 jam (c) dan 168 jam (d)	139
44	Penampakan jaringan sel labirin kelenjar antennal juvenil udang windu hasil pengamatan histopatologi pada media bersalinitas 13 ppt dengan waktu pemeliharaan 6 jam (a), 24 jam (b), 96 jam (c) dan 168 jam (d)	141
45	Penampakan jaringan sel labirin kelenjar antennal juvenil udang windu hasil pengamatan histopatologi pada media bersalinitas 4 ppt dengan waktu pemeliharaan 6 jam (a), 24 jam (b), 96 jam (c) dan 168 jam (d)	142
46	Lokalisasi α-subunit dari enzim Na ⁺ /K ⁺ -ATPase dalam sel-sel labirin kelenjar antennal udang windu <i>Penaeus monodon</i> pada media 25 ppt (a), 37 ppt (b), 13 ppt (c), dan 4 ppt (Bar = 200 µm.	146
47	Sampling contoh kelenjar antennal juvenil (1x1x1 mm.....	149
48	Mikrograf elektron transmisi menunjukkan sel labirin, udang	

windu pada salinitas 4 ppt (a), 13 ppt (b), 25 ppt (c) dan 37 ppt (d). Pembesaran 12000x (scale bar = 500 nm)..... 150

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		halaman
1	Prosedur pengamatan osmolaritas plasma hemolim udang windu, <i>Peneus monodon</i> Fabr.....	183
2	Prosedur Pengukuran Osmolaritas Media Percobaan	186
3	Prosedur pengamatan dan analisis konsentrasi ion dan amonia hemolim juvenil udang windu, <i>Penaeus monodon</i> Fabr. dan pada air media pemeliharaan.....	187
4	Prosedur kerja pengamatan histologi kelenjar antennal juvenil udang windu, <i>Penaeus monodon</i> Fabr.....	189
5	Tahapan persiapan pewarnaan Imunohistokimia.....	194
6	Prosedur pewarnaan imunohistokimia kelenjar antennal juvenil udang windu, <i>Penaeus monodon</i> Fabr.....	196
7	Nilai Parameter Salinitas Air Tambak di Stasiun Maranak, Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau Maros. November 2010 sampai dengan Juni 2011.....	199
8	Nilai Osmolaritas Media Pemeliharaan (mOsm/L) Juvenil Udang Windu pada Penurunan Salinitas dan Waktu yang Berbeda, pada Penelitian Pendahuluan.....	200
9	Nilai Osmolaritas Media Pemeliharaan (mOsm/L) Juvenil Udang Windu pada Peningkatan Salinitas dan Waktu yang Berbeda, pada Penelitian Pendahuluan.....	201

10 Hasil Analisis Regresi Osmolaritas Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu pada Penelitian Pendahuluan.....	202
11 Hasil Analisis Ragam Osmolaritas Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu pada Penelitian Pendahuluan.....	202
12 Nilai Osmolaritas Hemolim (mOsm/L) Juvenil Udang Windu pada Penurunan Salinitas Media Pemeliharaan dengan Waktu yang Berbeda pada Penelitian Pendahuluan.....	203
13 Nilai Osmolaritas Hemolim (mOsm/L) Juvenil Udang Windu pada Peningkatan Salinitas Media Pemeliharaan dengan Waktu yang Berbeda pada Penelitian Pendahuluan.....	204
14 Hasil Analisis Regresi Osmolaritas Hemolim Juvenil Udang Windu pada Penelitian Pendahuluan.....	205
15 Hasil Analisis Ragam Osmolaritas Hemolim Juvenil Udang Windu pada Penelitian Pendahuluan.....	205
16 Nilai Tingkat Kerja Osmotik (TKO) Juvenil Udang Windu pada Penurunan Salinitas Berdasarkan Salinitas dan Waktu, pada Penelitian Pendahuluan.....	206
17 Nilai Tingkat Kerja Osmotik (TKO) Juvenil Udang Windu pada Peningkatan Salinitas berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Pendahuluan.....	

	xx
	207
18 Hasil Analisis Regresi Tingkat Kerja Osmotik Juvenil Udang Windu pada Penelitian Pendahuluan.....	208
19 Hasil Analisis Ragam Tingkat Kerja Osmotik Juvenil Udang Windu pada Penelitian Pendahuluan.....	208
20 Nilai Osmolaritas Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu di Media Hipoosmotik, berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama.....	209
21 Nilai Osmolaritas Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu di Media Hiperosmotik, Berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama	210
22 Nilai Osmolaritas Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu di Media Isoosmotik, Berdasarkan Waktu dan Salinitas pada Penelitian Utama.....	211
23 Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Osmolaritas Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu.....	211
24 Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Osmolaritas Media Pemeliharaan Juvenil Udang wWndu.....	212
25 Uji lanjut beda antar perlakuan waktu terhadap osmolaritas media pemeliharaan juvenil udang windu.....	

	212
26 Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap osmolaritas media pemeliharaan.....	213
27 Nilai Osmolaritas Hemolim Juvenil Udang Windu di Media Hipoosmotik, berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama.....	214
28 Nilai Osmolaritas Hemolim Juvenil Udang Windu di Media Hiperosmotik, berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama.....	215
29 Nilai Osmolaritas Hemolim Juvenil Udang Windu di Media Isoosmotik, berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama.....	216
30 Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Osmolaritas Hemolim Udang Windu.....	216
31 Uji lanjut beda antar perlakuan salinitas terhadap osmolaritas hemolim juvenil udang windu.....	217
32 Uji lanjut beda antar perlakuan waktu terhadap osmolaritas hemolimjuvenil udang windu.....	217
33 Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap osmolaritas hemolim juvenil udang windu.....	218

34	Nilai Tingkat Kerja Osmotik (TKO) Juvenil Udang Windu di Media Hipoosmotik, berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama,.....	219
35	Nilai Tingkat Kerja Osmotik (TKO) Juvenil Udang Windu di Media Hiperosmotik, berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama.....	220
36	Nilai Tingkat Kerja Osmotik (TKO) Juvenil Udang Windu di Media Isoosmotik, berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama.....	221
37	Hasil analisis ragam pengaruh salinitas, waktu, dan interaksi salinitas dan waktu terhadap tingkat kerja osmotik juvenil udang windu.....	221
38	Uji lanjut beda antar perlakuan salinitas terhadap tingkat kerja osmotik juvenil udang windu.....	222
39	Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap tingkat kerja osmotik juvenil udang windu.....	223
40	Nilai Rata-rata Konsentrasi Ion-Ion Hemolim Juvenil Udang Windu pada Media Isoosmotik berdasarkan Salinitas dan Waktu.....	224
41	Nilai Rata-rata Konsentrasi Ion-Ion Hemolim Juvenil Udang Windu pada Media Hipoosmotik berdasarkan Salinitas dan Waktu.....	224
42	Nilai Rata-rata Konsentrasi Ion-Ion Hemolim Juvenil Udang Windu pada Media Hiperosmotik berdasarkan Salinitas dan Waktu.....	225

43	Nilai rata-rata konsentrasi ion-ion media pemeliharaan juvenil udang windu pada media Isoosmotik berdasarkan salinitas dan waktu.....	225
44	Nilai Rata-rata Konsentrasi Ion-Ion Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu pada Media Hipoosmotik berdasarkan Salinitas dan Waktu	226
45	Nilai Rata-rata Konsentrasi Ion-Ion Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu pada Media Hiperosmotik berdasarkan Salinitas dan Waktu.....	227
46	Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Slinitas dan Waktu terhadap Konsentrasi Na^+ Hemolim Juvenil Udang Windu.....	228
47	Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Konsentrasi Na^+ Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu.....	228
48	Uji lanjut beda antar perlakuan salinitas terhadap konsentrasi Na^+ hemolim juvenil udang windu.....	229
49	Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Waktu terhadap Konsentrasi Na^+ Hemolim Juvenil Udang Windu.....	229
50	Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap konsentrasi Na^+ hemolim juvenil udang	

windu.....	230
51 Uji lanjut beda antar perlakuan salinitas terhadap konsentrasi Na^+ media pemeliharaan juvenil udang windu	231
52 Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap konsentrasi Na^+ media pemeliharaan juvenil udang windu.....	232
53 Hasil analisis ragam pengaruh salinitas, waktu, dan interaksi salinitas dan waktu terhadap konsentrasi Cl^- hemolim juvenil udang windu.....	233
54 Analisis ragam pengaruh salinitas, waktu, dan interaksi salinitas dan waktu terhadap konsentrasi Cl^- media pemeliharaan juvenil udang windu.....	233
55 Uji lanjut beda antar perlakuan salinitas terhadap konsentrasi Cl^- hemolimjuvenil udang windu.....	234
56 Uji lanjut beda antar perlakuan waktu terhadap konsentrasi Cl^- hemolim juvenil udang windu.....	234
57 Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap konsentrasi Cl^- hemolim juvenil udang windu.....	235

58	Uji lanjut beda antar perlakuan salinitas terhadap konsentrasi Cl^- media pemeliharaan juvenil udang windu.....	236
59	Uji lanjut beda antar perlakuan waktu terhadap konsentrasi Cl^- media pemeliharaan juvenil udang windu.....	623
60	Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap konsentrasi Cl^- media pemeliharaan juvenil udang windu.....	237
61	Hasil analisis ragam pengaruh salinitas, waktu, dan interaksi salinitas dan waktu terhadap konsentrasi K^+ hemolim juvenil udang windu.....	238
62	Analisis ragam pengaruh salinitas, waktu, dan interaksi salinitas dan waktu terhadap konsentrasi K^+ media pemeliharaan juvenil udang windu.....	238
63	Uji lanjut beda antar perlakuan salinitas terhadap konsentrasi K^+ hemolim juvenil udang windu.....	239
64	Uji lanjut beda antar perlakuan waktu terhadap konsentrasi K^+ hemolimjuvenil udang windu.....	239
65	Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap konsentrasi K^+ hemolimjuvenil udang windu.....	240
66	Uji lanjut beda antar perlakuan salinitas terhadap konsentrasi K^+ media pemeliharaan juvenil udang windu.....	241
67	Uji lanjut beda antar perlakuan waktu terhadap konsentrasi K^+ media pemeliharaan juvenil udang windu.....	241
68	Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap konsentrasi K^+ media pemeliharaan juvenil udang	242

windu.....	
69 Hasil analisis ragam pengaruh salinitas, waktu, dan interaksi salinitas dan waktu terhadap konsentrasi Ca^{2+} hemolim juvenil udang windu.....	243
70 Analisis ragam pengaruh salinitas, waktu, dan interaksi salinitas dan waktu terhadap konsentrasi Ca^{2+} media pemeliharaan juvenil udang windu.....	243
71 Uji lanjut beda antar perlakuan salinitas terhadap konsentrasi Ca^{2+} hemolim juvenil udang windu.....	244
72 Uji lanjut beda antar perlakuan waktu terhadap konsentrasi Ca^{2+} hemolim juvenil udang windu.....	244
73 Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap konsentrasi Ca^{2+} hemolim juvenil udang windu.....	245
74 Uji lanjut beda antar perlakuan salinitas terhadap konsentrasi Ca^{2+} media pemeliharaan juvenil udang windu.....	246
75 Uji lanjut beda antar perlakuan waktu terhadap konsentrasi Ca^{2+} media pemeliharaan juvenil udang windu.....	246
76 Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap konsentrasi Ca^{2+} media pemeliharaan juvenil udang windu.....	247
77 Hasil analisis ragam pengaruh salinitas, waktu, dan interaksi salinitas dan waktu terhadap konsentrasi Mg^{2+} hemolim juvenil udang windu.....	248
78 Analisis ragam pengaruh salinitas, waktu, dan interaksi salinitas dan waktu terhadap konsentrasi Mg^{2+} media pemeliharaan	248

juvenile udang windu.....	
79 Uji lanjut beda antar perlakuan salinitas terhadap konsentrasi Mg^{2+} hemolim juvenil udang windu.....	2.49
80 Uji lanjut beda antar perlakuan waktu terhadap konsentrasi Mg^{2+} hemolim juvenil udang windu.....	249
81 Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap konsentrasi Mg^{2+} hemolim juvenil udang windu.....	250
82 Uji lanjut beda antar perlakuan salinitas terhadap konsentrasi Mg^{2+} media pemeliharaan juvenil udang windu.....	251
83 Uji lanjut beda antar perlakuan waktu terhadap konsentrasi Mg^{2+} media pemeliharaan juvenil udang windu.....	251
84 Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap konsentrasi Mg^{2+} media pemeliharaan juvenil udang windu.....	252
85 Hasil analisis ragam pengaruh salinitas, waktu, dan interaksi salinitas dan waktu terhadap konsentrasi SO_4^{2-} hemolim juvenil udang windu.....	253
86 Analisis ragam pengaruh salinitas, waktu, dan interaksi salinitas dan waktu terhadap konsentrasi SO_4^{2-} media pemeliharaan juvenil udang windu.....	253
87 Uji lanjut beda antar perlakuan salinitas terhadap konsentrasi SO_4^{2-} hemolim juvenil udang windu.....	254
88 Uji lanjut beda antar perlakuan waktu terhadap konsentrasi SO_4^{2-} hemolim juvenil udang windu.....	254

89	Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap konsentrasi SO_4^{2-} hemolim juvenil udang windu.....	255
90	Uji lanjut beda antar perlakuan salinitas terhadap konsentrasi SO_4^{2-} media pemeliharaan juvenil udang windu.....	256
91	Uji lanjut beda antar perlakuan waktu terhadap konsentrasi SO_4^{2-} media pemeliharaan juvenil udang windu.....	256
92	Uji lanjut beda antar perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap konsentrasi SO_4^{2-} media pemeliharaan juvenil udang windu.....	257
93	Data parameter air media pemeliharaan juvenil udang windu pada media isoosmotik berdasarkan salinitas dan waktu,.....	258
94	Data parameter air media pemeliharaan juvenil udang windu pada media hipoosmotik berdasarkan salinitas dan waktu.....	259
95	Data parameter air media pemeliharaan juvenil udang windu pada media hipersomotik berdasarkan salinitas dan waktu.....	261
96	Data kelulusan hidup juvenil udang windu pada berbagai media berdasarkan salinitas dan waktu pemeliharaan.....	263
97	Data mortalitas juvenil udang windu pada berbagai media berdasarkan salinitas dan waktu pemeliharaan.....	264

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) disamping mempunyai nilai gizi yang tinggi juga dikenal sebagai salah satu komoditas udang yang dibudidayakan dan merupakan komoditas asli Indonesia. Budidaya udang windu di tambak masih sangat prospektif dan berkontribusi terhadap peningkatan sumber pendapatan (devisa negara) maupun kesejahteraan masyarakat.

Produksi udang windu Indonesia sejak tahun 2000 mengalami perkembangan yang pesat hingga tahun 2006 mencapai 169.329 ton, namun mengalami penurunan pada tahun 2007 menjadi 157.545 ton. Penurunan ini selain disebabkan oleh timbulnya berbagai macam penyakit yang menyerang udang mulai dari stadia larva sampai dewasa, juga disebabkan parameter lingkungan dengan kualitas air yang memburuk (Tompo *dkk*, 2009).

Berbagai upaya penanggulangan terhadap penyakit yang menginfeksi udang windu di tambak baik penyakit yang disebabkan oleh virus, bakteri, jamur atau parasit telah banyak dilakukan, namun angka kematian udang masih tetap tinggi. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor, misalnya lingkungan hidup udang yang tidak optimal atau kualitas lingkungan yang menurun, menyebabkan menurunnya kekebalan tubuh udang sehingga

mudah terserang penyakit infeksi yang mengakibatkan kondisi fisiologi udang terganggu dan akan mengalami stres.

Salah satu parameter lingkungan yang sering berfluktuasi dan mempengaruhi kelangsungan hidup, konsumsi pakan, metabolisme dan pertumbuhan organisme akuatik adalah salinitas. Ferraris (1987) mengemukakan bahwa salinitas merupakan faktor lingkungan yang berpengaruh langsung pada osmoregulasi dan bioenergetik organisme akuatik dan secara tidak langsung dapat menghambat bekerjanya faktor lain. Demikian pula, dalam lingkungan pembesaran udang, salinitas merupakan salah satu faktor penting, yang mempengaruhi pertumbuhan, kelangsungan hidup dan konsumsi makanan udang (Kumlu *et al*, 1999, 2000).

Meskipun udang windu termasuk organisme air *euryhaline* yang ampuh sebagai *hyper/hypo-osmoregulators* yaitu mampu bertoleransi pada salinitas dengan kisaran yang lebar tanpa mengorbankan proses kehidupan, namun efek osmotik media eksternal dapat mempengaruhi osmoregulasi dan bioenergetik udang, dan ini akan menentukan kemampuan adaptasi udang terhadap perubahan lingkungan eksternalnya untuk tetap bertahan hidup (Lignot *et al.*, 2007). Perubahan salinitas lingkungan dapat menyebabkan stres pada hewan tersebut sehingga berpengaruh pada sistem ketahanan dan pertumbuhannya.

Silva *et al.* (2010) melaporkan bahwa ada kaitan antara titik isotonik salinitas dengan kondisi yang baik bagi kelangsungan hidup dan

pertumbuhan udang penaeid, karena adanya kenyamanan udang secara fisiologis pada kondisi tersebut, sehingga menurunkan energi hasil metabolisme untuk osmoregulasi, dan lebih banyak energi yang digunakan untuk kebutuhan pokok hidup. Untuk bisa beradaptasi dan bertahan hidup dengan baik pada lingkungan dengan salinitas yang berbeda, cairan tubuh udang perlu dijaga dan dipertahankan osmolaritasnya untuk keseimbangan osmotik melalui mekanisme osmoregulasi dan pengaturan konsentrasi ion-ion (Pequeux,1995).

Osmoregulasi merupakan mekanisme penting dari adaptasi yang digunakan oleh kebanyakan krustase termasuk udang windu untuk mengatasi perubahan salinitas. Lignot (2000) mengatakan bahwa kemampuan osmoregulasi dapat digunakan sebagai alat untuk mengevaluasi kondisi fisiologi udang budidaya atau kapasitas ketahanan mereka terhadap stres salinitas lingkungan.

Fluktuasi salinitas pada sistem budidaya khususnya di tambak tradisional (budidaya sederhana) disebabkan beberapa faktor seperti: turunnya hujan lebat secara mendadak atau faktor musim hujan yang berkepanjangan, masuknya air tawar ke lingkungan budidaya, pengaruh pasang surut air laut terhadap tambak budidaya dimana air berasal dari lingkungan estuari dengan salinitas bervariasi, dan sumber air tawar digunakan berasal dari sumur bor yang miskin kandungan ion-ion inorganik yang sangat dibutuhkan dalam osmoregulasi dan metabolisme (Suyanto dan Takarina, 2009).

Untuk menghadapi perubahan lingkungan eksternal terutama fluktuasi salinitas, udang windu membutuhkan strategi adaptasi baik adaptasi fisiologis, adaptasi morfologi, adaptasi behavior, maupun adaptasi biokimia yang mungkin berubah selama tahap perkembangan hidupnya. Adaptasi-adaptasi ini, setidaknya dicapai dengan *ionocytes* yaitu sel-sel yang mengkhususkan diri dalam pertukaran ion melalui aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase (Palacios *et al.*, 2004).

Sodium-potassium adenosine triphosphatase (Na^+/K^+ -ATPase) adalah enzim plasma membrane-asosiasi yang mengkatalisis ATP untuk mentransportasi ion Na^+ dan K^+ , dan sebagai salah satu enzim yang paling penting dalam proses regulasi ion (Lucu and Towle, 2003). Enzim ini sangat penting untuk regulasi ion dan air di ginjal pada ikan (Nebel *et al.*, 2005), dan di tubulus Malphigi pada serangga (Zeiske, 1992; MacVicker *et al.*, 1993; Emery *et al.*, 1998). Lignot *et al.* (2005) dan Khodabandeh *et al.* (2005a, 2005b dan 2005c) telah membuktikan peran Na^+/K^+ -ATPase dalam proses regulasi ion di insang dan di kelenjar antennal pada krustasea.

Peran dan aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase sangat nyata signifikan dengan osmoregulasi dan regulasi ion dari krustase seperti peningkatan Na^+/K^+ -ATPase pada sel epitel branchial chamber dari larva dragonfly *Libellula Lydia* yang menunjukkan partisipasinya dalam osmoregulasi melalui pertukaran aktif ion di sel epitel tersebut (Khodabandeh, 2007), Na^+/K^+ -ATPase meningkat pada insang *Litopenaeus vannamei* ketika di

transfer dari salinitas tinggi ke salinitas rendah karena hilangnya kapasitas osmoregulasi (Huong *et al.* 2010), dan ketika blue crab (*Callinectes sapidus*) di transfer dari salinitas 35 ke 5 ppt. aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase di insang meningkat dua kali lipat

Selain insang, ginjal, kulit dan usus, kelenjar antennal (*antennal gland*) diketahui sebagai organ osmoregulasi dan ekskretori pada krustase yang berperan dalam menjaga volume cairan ekstraseluler dan mengatur konsentrasi ion, nutrisi, dan zat terlarut lainnya (Mantel dan Farmer, 1983 *dalam* Thanh Huong, 2010). Peran kelenjar antennal ini setara dengan ginjal pada organisme vertebrata (Buranajitpirom *et al.*, 2010), yang mengekskresikan sebagian besar produk akhir metabolisme tubuh dan mengatur konsentrasi cairan tubuh.

Sistem ekskretoris dari kelenjar antennal ini berpasangan, dan pasokan hemolim kelenjar antennal terutama berasal dari antenna dan arteri sternum. Kelenjar antennal ini juga berfungsi mentranspor enzim Na^+/K^+ -ATPase dalam mengatur keseimbangan ion di hemolim (Mantel dan Farmer, 1983).

Pengetahuan tentang peran kelenjar antennal pada hewan krustase akuatik masih sangat terbatas, hanya pada jenis-jenis krustase tertentu seperti pada *Homarus gammarus* (Khodabandeh *et al.*, 2005; Charmantier *et al.*, 2005), *Macrobrachium rosenbergii* (Al-Mohsen, 2009); dan pada *Penaeus monodon* (Buranajitpirom *et al.*, 2010),

Sampai saat ini sebagian besar penelitian masih terfokus pada aspek pertumbuhan, kelangsungan hidup dan penyakit yang menginfeksi udang windu, sedangkan penelitian aspek fisiologi khususnya efek stresor terhadap faktor-faktor seluler dari sistem osmoregulasi yang berhubungan dengan adaptasi udang terhadap perubahan lingkungan kurang mendapat perhatian, padahal pengetahuan tentang fisiologi sangat penting dalam memprediksi kinerja pertumbuhan organisme budidaya.

Oleh karena itu, respon fisiologi sistem osmoregulasi udang windu pada salinitas yang berfluktuasi telah dianalisis, sehingga dapat menjawab berbagai permasalahan udang dalam beradaptasi ketika terjadi perubahan salinitas lingkungan melalui proses osmoregulasi dan regulasi ion serta aktivitas enzim Na^+/K^+ ATPase di kelenjar antennal.

B. Rumusan Masalah

Kunci pengelolaan budidaya udang windu yang baik adalah menyediakan kualitas air yang optimum, nutrisi yang baik, sanitasi yang baik, mencegah timbulnya stres, dan densitas pemeliharaan disesuaikan daya dukung (*carrying capacity*). Namun pada kenyataannya, kendala utama yang sering dihadapi dalam kegiatan budidaya udang windu di tambak, yaitu selalu terjadi perubahan suhu, salinitas dan pH secara mendadak pada awal musim penghujan terutama pada tambak yang terletak dekat muara sungai (Poernomo, 1992).

Hasil observasi awal pengamatan fluktuasi salinitas di tambak udang tradisional di Stasiun Maranak, Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros Sulawesi selatan selama 8 bulan (tidak dipublikasi), menunjukkan bahwa fluktuasi salinitas di tambak bervariasi mulai dari salinitas terendah 6 ppt sampai tertinggi 36 ppt. Perubahan penurunan salinitas berkisar mulai dari 1-6 ppt per hari pada waktu tertentu yang terjadi secara perlahan maupun drastis, sedangkan perubahan kenaikan salinitas terjadi secara perlahan mulai dari 1-5 ppt per hari. Fluktuasi salinitas tersebut akan memberi efek osmotik yang dapat berpengaruh langsung terhadap osmoregulasi udang sehingga banyak energi yang dibelanjakan udang untuk beradaptasi dengan salinitas eksternalnya melalui proses osmoregulasi dan hanya sedikit energi yang digunakan untuk pertumbuhan dan aktivitas hidup lainnya.

Perubahan salinitas air diluar ambang batas toleran bagi juvenil udang windu dapat menyebabkan stres. Jika terjadi stres yang intens dan berkepanjangan dapat menimbulkan kondisi patologis, dan pada kondisi ini udang windu sangat rentan terjangkit penyakit yang mematikan bahkan dapat menyebabkan kematian dan kegagalan panen. Selain itu, beberapa permasalahan kematian udang windu di tambak masih belum dapat diatasi secara tuntas, seperti penurunan kualitas lingkungan, perubahan salinitas lingkungan secara mendadak dan belum diketahui dengan tepat kemampuan osmoregulasi udang windu dalam beradaptasi dengan perubahan mendadak kualitas lingkungan

Pada kondisi lingkungan yang hipertonik cairan tubuh udang bersifat hipoosmotik terhadap media eksternalnya, sebaliknya pada kondisi lingkungan yang hipotonik, cairan tubuh udang bersifat hiperosmotik terhadap media eksternalnya. Hal ini menjadi masalah bagi udang yang dipelihara ditambah untuk beradaptasi jika terjadi perubahan salinitas secara mendadak, karena osmolaritas media eksternal belum tentu sesuai dengan osmolaritas cairan tubuhnya.

Untuk bisa beradaptasi, bertahan hidup dan tumbuh dengan baik di lingkungan dengan salinitas yang berbeda tersebut, cairan tubuh udang perlu dijaga dan dipertahankan osmolaritasnya untuk keseimbangan osmotik melalui mekanisme osmoregulasi dan pengaturan konsentrasi ion, ini membutuhkan energi untuk transport aktif pengaturan konsentrasi ion.

Kelenjar antennal (*antennal gland*) adalah salah satu organ yang terlibat dalam fungsi ekskretoris dan pengaturan ion (*ion-regulatory*) pada udang, mengontrol volume hemolim dan terlibat dalam hiporegulasi magnesium dan sulfat hemolim, mengekskresi senyawa organik, reabsorpsi cairan gula dan asam amino dari filtrat utama urin (Riegel dan Cook, 1975; Mantel dan Farmer, 1983) dalam Lin *et al.* (2000). Kelenjar antennal mensupport enzim Na^+/K^+ -ATPase yang sebagai pengangkut (*carrier*) dan biokatalisator dalam proses osmoregulasi udang, dimana enzim ini berperan penting dalam mengatur keseimbangan ion-ion di hemolim (Lin *et al.*, 2000).

Udang windu yang diperhadapkan dengan lingkungan eksternal yang berfluktuasi dan tekanan osmotik yang berbeda akan mengalami ketidakseimbangan antara ion-ion cairan internalnya dengan ion-ion media eksternalnya. Untuk menjaga keseimbangan ini, udang melakukan kerja osmotik yang tinggi melalui osmoregulasi. Proses ini membutuhkan energi untuk melakukan transport aktif dan melibatkan kerja enzim dan peran dari organ-organ osmoregulasi.

Berdasarkan fenomena dan penjelasan diatas, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan, sebagai berikut :

1. Bagaimana tingkat kerja osmotik dan regulasi ion pada hemolim juvenil udang windu, sebagai indikator kondisi respon fisiologis dan stres ketika terjadi perubahan salinitas media pemeliharaan.
2. Apakah perubahan salinitas media berpengaruh terhadap struktur dan ultrastuktur kelenjar antennal juvenil udang windu.
3. Bagaimana respons aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase dalam kelenjar antennal juvenil udang windu ketika terjadi perubahan salinitas media pemeliharaannya.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Menganalisis tingkat kerja osmotik dan regulasi ion pada hemolim udang windu sebagai indikator kondisi fisiologis dan kondisi stres ketika diekspose pada salinitas yg berfluktuasi.

2. Mengevaluasi dan mengkaji respon fisiologis juvenil udang windu pada salinitas yang berfluktuasi melalui perubahan struktur dan ultrastruktur kelenjar antennal udang windu.
3. Menganalisis aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase di kelenjar antennal udang windu sebagai respon fisiologis terhadap perubahan salinitas media pemeliharaan.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini merupakan informasi ilmiah penting tentang respons fisiologi sistem osmoregulasi udang windu dalam beradaptasi pada lingkungan salinitas media yang berfluktuasi. Juga sebagai informasi dasar yang menjadi rekomendasi kepada balai budidaya udang windu dalam kaitannya dengan manajemen salinitas media pemeliharaan.

E. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian “Respon Fisiologi Sistem Osmoregulasi Juvenil Udang Windu, *Penaeus monodon* Fabr. pada Salinitas yang Berfluktuasi” ini meliputi :

- (1) Kemampuan osmoregulasi atau tingkat kerja osmotik dan regulasi ion hemolim juvenil udang windu
- (2) Struktur dan ultrastruktur organ osmoregulasi kelenjar antennal juvenil udang windu.

- (3) Aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase di kelenjar antennal juvenil udang windu

Ruang lingkup penelitian ini didasari atas pemikiran bahwa pengelolaan salinitas media yang berfluktuasi dalam kaitan dengan sistem osmoregulasi diupayakan agar tingkat salinitas media menciptakan kondisi hipertonik, hipotonik dan isotonik terhadap osmotik hemolim juvenil udang windu,

Pengaruh lanjut dari perbedaan kondisi osmotik tersebut akan tercermin dari :

- (1) Tingkat kerja osmotik, regulasi ion hemolim juvenil udang windu.
- (2) Perubahan struktur dan ultrastruktur organ osmoregulasi kelenjar antennal juvenil udang windu
- (3) Aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase di kelenjar antennal juvenil udang windu

F. Definisi dan Istilah (Glosarium)

Beberapa istilah dan definisi yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain :

1. **Osmoregulasi** adalah proses mengatur konsentrasi cairan dan menyeimbangkan pemasukan serta pengeluaran cairan tubuh oleh sel atau organisme hidup. Osmoregulasi juga berfungsi sebagai sarana untuk membuang zat-zat yang tidak diperlukan oleh sel atau organisme hidup.

2. **Osmolaritas**, jumlah osmol per liter larutan (mOsmol/L). Sementara nilai osmolalitas plasma adalah kuantitas ion-ion (kuantitas kimiawi) cairan tubuh hewan akuatik dalam merespon kuantitas ion-ion dalam media hidupnya.
3. **Tingkat kemampuan osmotik** diketahui sebagai kapasitas osmoregulasi, yang didefinisikan sebagai perbedaan antara tekanan osmotik hemolim dan media eksternal, telah diusulkan sebagai indikator kondisi fisiologis dan indikator stres krustasea.
4. **Regulasi Hipertonik** atau **Hiperosmotik**, yaitu mekanisme pengaturan aktif konsentrasi cairan tubuh yang lebih tinggi dari konsentrasi lingkungan.
5. **Regulasi Hipotonik** atau **Hiposmotik**, yaitu mekanisme pengaturan aktif konsentrasi cairan tubuh yang lebih rendah dari konsentrasi lingkungan.
6. **Regulasi Isotonik** atau **Isosmotik**, yaitu mekanisme pengaturan aktif konsentrasi cairan tubuh yang sama dengan konsentrasi lingkungan.
7. **Respon fisiologi** adalah tanggapan terhadap stresor lingkungan yang diaktualisasikan melalui proses fisiologi.
8. **Stres** merupakan suatu kondisi yang dinamis saat satu individu dihadapkan pada peluang, tuntutan, atau sumber daya yang terkait dengan apa yang dihasratkan oleh individu itu dan yang hasilnya dipandang tidak pasti dan penting.

9. **Mitokondria** adalah organel tempat berlangsungnya fungsi respirasi sel makhluk hidup, dengan peran utama sebagai pabrik energi menghasilkan energi dalam bentuk adenosina trifosfat(ATP). Fungsi selular lainnya, seperti metabolisme asam lemak, biosintesis pirimidin, homeostasis kalsium, transduksi sinyal selular dan penghasil energi berupa ATP pada lintasan katabolisme.
10. **Na⁺/K⁺-ATPase** adalah protein transport ion yang sangat sensitif terhadap variasi sifat fisik dan membran pertukaran ion lainnya yang terikat dan terlibat dalam osmoregulasi, dimana protein ini juga dapat dipengaruhi oleh membran komposisi lipid.
11. **Transpor aktif** adalah proses pergerakan atau pemindahan yang menggunakan energi untuk mengeluarkan dan memasukkan ion-ion dan molekul melalui membran sel yang bersifat permeabel dengan tujuan memelihara keseimbangan molekul kecil di dalam sel.

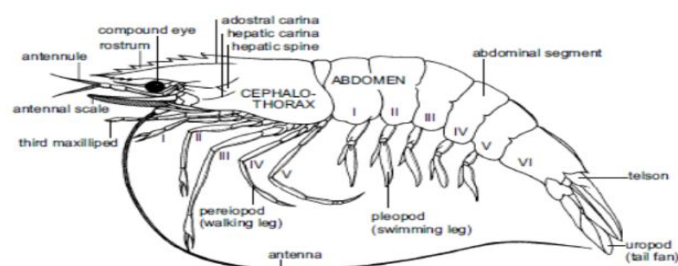
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Biologi udang windu

A. 1. Morfologi dan Anatomi

Morfologi udang penaeid dicirikan oleh cephalothorax dengan karakteristik rostrum yang keras, dan abdomen yang bersegment (Primavera, 1990), Bagian-bagian tubuh ini memiliki anggota tubuh (appendages) dan sangat bervariasi dalam penampilan dan fungsinya (Gambar 1). Di daerah kepala, antennules dan antena melakukan fungsi sensori, sedangkan mandibles atau rahang dan dua pasang maxillae membentuk struktur seperti rahang yang berfungsi dalam pengambilan makanan (Solis, 1988).

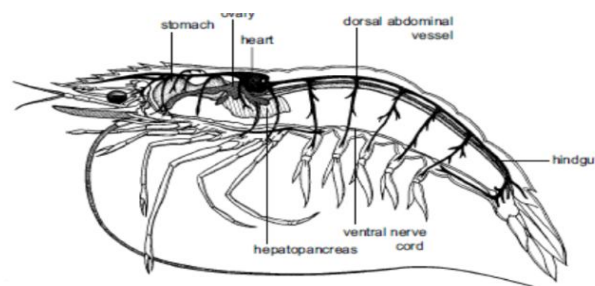


Gambar 1. Penampakan morfologi eksternal udang *Penaeus monodon* Fabr. (Primavera, 1990)

Di daerah dada (thorax), terdapat tiga pasang maxillipeds pertama, dimodifikasi untuk penanganan makanan, dan lima pasang kaki jalan (pereopods), lima pasang kaki renang (pleopods) terletak di perut,

sedangkan pada bagian ujung terdapat ekor (telson) dilengkapi dengan kipas ekor (Bell dan Lightner, 1988; Baily-Brock dan Moss, 1992).

Kebanyakan organ-organ, seperti insang, sistem dan kelenjar pencernaan (hepatopancreas), hati dan jantung berlokasi di cephalothorax, sedangkan sebagian besar otot terkonsentrasi di perut (Gambar 2).



Gambar 2. Penampakan lateral anatomi internal udang *Penaeus monodon* Fabr. betina. (Primavera, 1990).

Berdasarkan morfologi internal, udang penaeid dan arthropoda lainnya memiliki sistem peredaran darah terbuka. Oleh karena itu, darah dan sel-sel darah tersebut masing-masing disebut hemolim dan hemosit. Krustasea memiliki hati dan otot yang terletak di bagian punggung cephalothorax (Bauchau, 1981). Hemolim bergerak dari hati melalui katub pembuluh bercabang, beberapa saat sebelum tiba di sinus tersebar di seluruh tubuh dimana terjadi pertukaran zat. Setelah melewati insang, hemolim kembali ke jantung melalui tiga bukaan yang luas tanpa katub. Bagian terbesar dari cephalothorax udang penaeid ditempati oleh kelenjar pencernaan (*hepatopancreas*), yang terdiri dari diverticula usus. Ruang antara tubulus-tubulus hepatopankreas adalah sinus hemolim. Fungsi

utama dari hepatopankreas adalah penyerapan nutrisi, penyimpanan lipid dan produksi enzim pencernaan (Johnson, 1980). Salah satu katub hemolim yang meninggalkan jantung berakhir di organ limfoid, dimana hemolim disaring, dan organ ini terletak di ventro-anterior hepatopankreas tersebut. Semua hemosit diproduksi dalam jaringan *haematopoietic*. Organ ini tersebar di cephalothorax, tapi terutama hadir di sekitar perut dan di bagian depan dari maxillipeds.

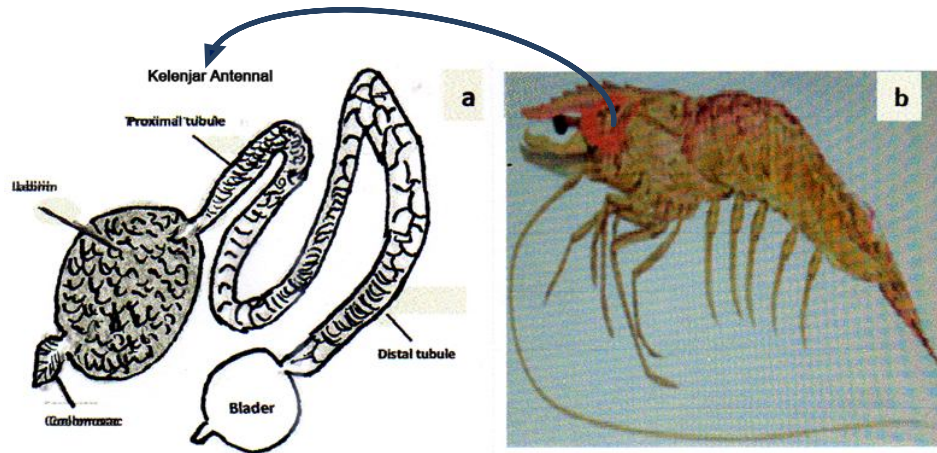
A.2. Kelenjar Antennal

Kelenjar antennal juga dikenal kadang-kadang sebagai kelenjar hijau (*green gland*) yang telah diteliti serta digambarkan sebagai organ ekskresi pada beberapa spesies krustasea seperti pada *Astacus astacus* (Vogt,2002), *Procambarus blandingi* (Peterson and Loizzi, 1973, 1974), *P. clarkii* (Wheatly *et al.*, 2004), *P. leniusculus* (Fuller *et al.*, 1989), dan *A. leptodactylus* (Khodabandeh *et al.*, 2005a dan b).

Kelenjar antennal juga telah dijelaskan dalam spesies krustasea lainnya: seperti blue crab, *C. sapidus* (Johnson, 1980); *Cancer borealis* (Holliday and Miller, 1984), bangsa lobster, *H. gammarus* (Benhke *et al.*, 1990; Bushmann and Atema, 1996b; Dove, 2005; Khodabandeh *et al.*, 2005c), *P. monodon* (Lin *et al.*, 2000).

Ditinjau dari anatomi internal, kelenjar antennal (*antennal gland*) udang terletak di pangkal antenna kedua pada cephalothorax (Bowater, 2008). Kelenjar antennal merupakan satu unit nefron tunggal termasuk di

dalamnya coelomosac atau *end-sac*, labirin, nephridial tubul dan bladder atau kantung kemih dilengkapi dengan *excretory pore* (Gambar 3).

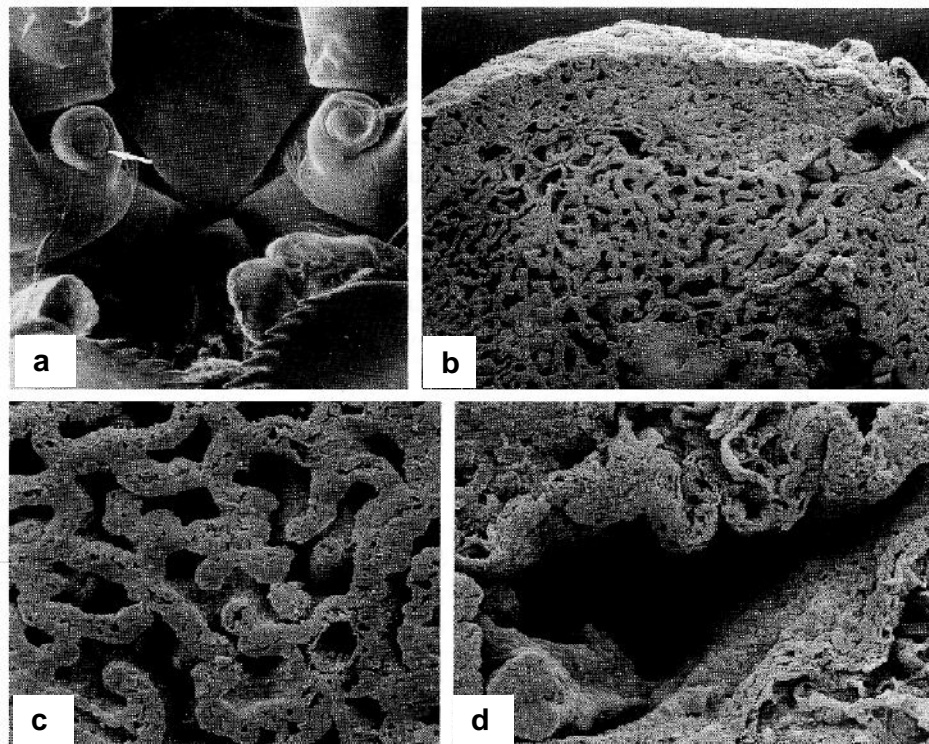


Gambar 3. Kelenjar antennal dan bagian-bagiannya (a). Lokasi kelenjar antennal pada bagian cepalotoraks udang (b)
Sumber: Ilustrasi dari Bowater (2008).

Krustasea dekapoda memiliki sepasang kelenjar antennal bilateral, terletak di dasar setiap antena di daerah ventral anterior cephalothorax. Secara umum, fungsi dari masing-masing kelenjar adalah setara dengan ginjal mamalia, yang berhubungan dengan dua saluran primitif menyebabkan pori ekskretoris terbuka dengan lingkungan eksternal. Setiap kelenjar antennal memiliki bukaan tunggal (*nephropore*) yang terletak dibagian bawah coxae dari antena flagel (Vogt, 2002).

Felgenhauer (1992) mengemukakan bahwa kelenjar antennal pada dekapoda dikenal juga dengan nama kelenjar hijau (*green gland*) atau

kantung kemih (*urinary*) adalah organ ekskresi berpasangan, terletak di dasar antena kedua. Lobang keluar atau pori ekskretoris berada pada coxa antena dan lokasi konstan ini terdapat pada kebanyakan dekapoda, seperti yang ditunjukkan pada penampakan ultrastruktur kelenjar antennal *Procambarus leonensis* hasil *scanning electron microscopies* (SEM) (Gambar 4)



Gambar 4. Penampakan ultrastruktur sistem ekskresi dan osmoregulasi dekapoda.: (a) Pori kemih (panah) di dasar peduncle antennal *Systellaspis* sp. (SEM. 50x; (b-d) dari *Procambarus leonensis*. (b) Wilayah labirin kelenjar hijau, panah menunjukkan daerah yang keluar pada tubulus proksimal (SEM.50x); (c) lapisan rumit sel labirin yang ditunjukkan padaB. (SEM. 450x); (d) Bagian labirin yang mengarah ke proksimaltubulus (SEM.200x). (Felgenhauer, 1992).

Kelenjar antennal umumnya terdiri dari empat komponen, yaitu kantung akhir (*coelomosac*), labirin, tubulus proksimal dan distal (*nephridial canal*), dan kandung kemih (*bladder*).

Beberapa studi krustasea sebelumnya telah memberikan deskripsi morfologi yang berbeda dari kelenjar antennal, tergantung pada apakah krustasea tersebut adalah spesies laut atau air tawar. Beberapa literatur menunjukkan persamaan dan perbedaan dalam menggambarkan aspek morfologi dan fungsional dari kelenjar antennal.

Beberapa penulis melaporkan bahwa kelenjar antennal udang terdiri dari tiga wilayah seperti yang ditemukan dari hasil studi histologi dan fungsi dari kelenjar antennal *Penaeus chinensis* (Xiaoyun *et al.*, 2003; Rinderhagen *et al.*, 2000). Penelitian lain yang menunjukkan bahwa kelenjar antennal sekresi (AGS) terdiri dari empat bagian antara lain oleh Johnson (1980), Vogt (2002), Wheatley *et al.* (2004) dan Shuang-lin dan Nai-cheng (2007).

Dalam beberapa krustasea, terutama spesies udang air tawar dan udang karang, sebuah kanal tubulus nephridial labirin bergabung dengan rongga kandung kemih sementara tubulus nephridial tersebut hilang atau tidak ada dalam spesies krustasea laut seperti pada kepiting (Schmidt-Nielsen *et al.*, 1968; Peterson dan Loizzi, 1974). Tampaknya tubulus nephridial adalah fitur utama yang membedakan antara kedua kelompok krustase ini. Tubulus nephridial di kelenjar antennal pada krustase spesies air tawar bertindak sebagai mekanisme reabsorpsi garam.

Dove (2005) telah menggambarkan kelenjar antennal dari lobster, *Homarus americanus*, yang terdiri dari empat wilayah utama, yaitu coelomosac, labirin, kandung kemih (blader), dan tubular yang terdapat pori ekskretoris. Coelomosac dianggap sebagai zona filtrasi utama, yang analog dengan korteks glomerulus ginjal pada mamalia, dan Labirin dianggap sebagai zona modifikasi sekunder yang analog dengan meduler ginjal. Sementara sebelumnya Behnke *et al.* (1990) mempelajari *Homarus americanus* juga menemukan bahwa kelenjar antennal lobster ini memiliki tiga wilayah utama yaitu coelomosac, labirin dan kantung kemih (blader).

Khodabandeh *et al.* (2005a) melaporkan bahwa kelenjar antennal dari krustasea diyakini memiliki peran yang cukup besar dalam proses osmoregulasi baik dalam spesies laut atau air tawar, seperti lobster yang menghabiskan sebagian besar hidup mereka di air tawar dapat mengelola air dan konsentrasi ion dalam tubuh mereka dengan mengadaptasi tiga mekanisme fisiologis. Ketiga mekanisme tersebut dikemukakan oleh Mantel dan Farmer (1983); Wheatly dan Gannon (1995), dan diringkas oleh Khodabandeh *et al.* (2005a) sebagai: (1) permeabilitas rendah ion dan mencegah invasi air, (2) serapan aktif ion dari makanan dan oleh ruang branchial epitel ion jaringan transportasi (3) produksi urin hipotonik melalui ekskretoris kelenjar antennal.

A. 3. Distribusi dan Daur Hidup

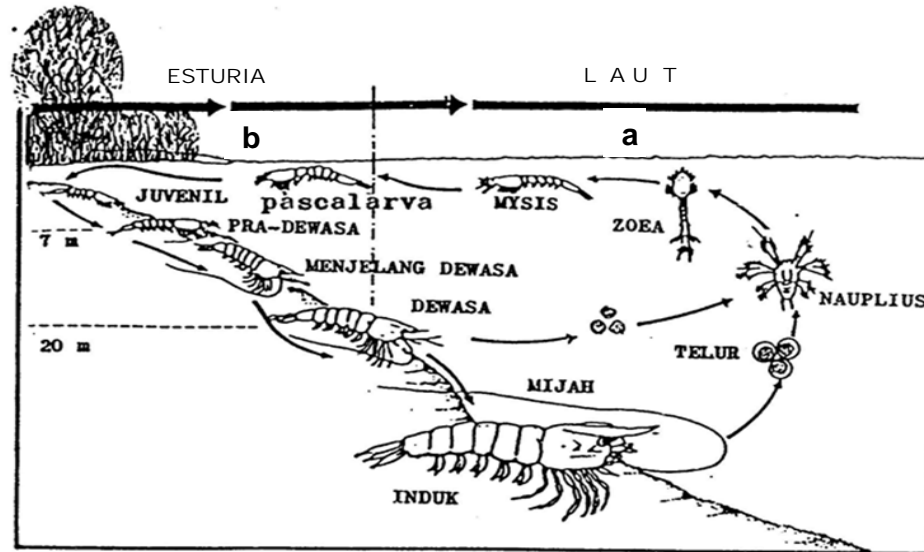
Udang Penaeide terdistribusi secara luas di seluruh dunia baik di daerah tropis maupun sub-tropis. Hampir semuanya adalah laut meskipun

beberapa diketahui menghabiskan bagian dari kehidupan mereka di air payau dan bahkan di air tawar. Khususnya udang windu, *Penaeus monodon*, Fabr. dijumpai di seluruh wilayah Indo-Pasifik, mulai dari Taiwan, ke timur Tahiti, ke selatan Australia dan ke arah barat Afrika. Secara alamiah, juvenil memilih daerah pantai perairan payau, lingkungan estuari dan bakau. Sebagian besar udang dewasa bermigrasi ke daerah lepas pantai dengan salinitas yang lebih tinggi, dimana perkawinan dan reproduksi terjadi (Rosenberry, 2001). Pada stadia larva selalu mendiami permukaan air yang kaya plankton di daerah lepas pantai, dengan bermigrasi ke pesisir selama perkembangan.

Kemampuan adaptasi udang penaeid dengan lingkungan yang bervariasi adalah spesifik dan ditentukan oleh sejumlah faktor evolusi yang menyebabkan udang ini akan terdistribusikan ke lingkungan perairan dengan gradient yang berbeda (Castille dan Lawrence, 1981, Claybrook, 1983) dalam Britoa *et al*, (2000). Hal ini menunjukkan bahwa karakteristik tersebut dapat dikaitkan dengan keterbatasan dan mekanisme fisiologi yang berhubungan dengan keseimbangan osmotik yang mempengaruhi metabolisme energik, tekanan osmotik, dan akhirnya pertumbuhan.

Daur hidup penaeid mencakup beberapa tahapan berbeda yang ditemukan dalam berbagai habitat. Motoh (1985) menggambarkan daur hidup udang windu di alam (Gambar 5), yaitu stadia dewasa (induk), telur dan larva awal merupakan fase hidup di laut dengan media bersalinitas tinggi. Pada stadia ini, udang berada di dalam lingkungan media dengan

osmolaritas baik yang mendekati isosmotik dengan cairan internalnya. Sebaliknya pada fase di estuaria, yaitu stadia pascalarva dan pra-dewasa,



media hidup udang pada kondisi yang berubah osmolaritasnya sebagai akibat tidak stabilnya salinitas di estuaria.

Gambar 5. Daur hidup udang windu, *Penaeus monodon* Fabr. di alam.

- (a) Fase di laut dengan polihalim (hiper – isosmotik) dan
 - (b) Fase di estuaria dengan media miksohalin (hipo – isosmotik)
- Sumber : Motos (1985).

B. Metabolisme

Metabolisme adalah segala proses reaksi biokimiawi yang terjadi di dalam tubuh organisme yang meliputi anabolisme dan katabolisme. Dalam proses ini organisme mendapat, mengubah dan memakai senyawa kimia dari sekitarnya untuk mempertahankan kelangsungan hidup. Anabolisme dibedakan dari katabolisme dalam beberapa hal. Anabolisme merupakan proses sintesis molekul kimia kecil menjadi lebih besar,

sedangkan katabolisme adalah proses penguraian molekul besar menjadi kecil. Anabolisme adalah proses yang membutuhkan energi sedangkan katabolisme melepaskan energi. Anabolisme merupakan reaksi reduksi, sedangkan katabolisme adalah reaksi oksidasi. Hasil akhir metabolisme seringkali merupakan senyawa pemula untuk proses katabolisme (Wirahadikusumah. 1985).

Perubahan salinitas media dapat mempengaruhi laju metabolisme dan tingkah laku udang windu. Peningkatan laju metabolisme ditandai dengan peningkatan laju konsumsi oksigen dan penurunan aktivitas mencari pakan. Selain itu, terjadi perubahan respirasi sebagai bentuk respon penyesuaian metabolik terhadap tekanan osmotik dan pengaturan keseimbangan ion-ion terhadap cairan ekstraseluler (Vernberg 1983).

Raven dan Johnson (1986) mengemukakan bahwa semua energi yang diperlukan untuk anabolisme dan katabolisme berasal dari hasil proses oksidasi zat-zat makanan dalam sel. Tingkat metabolisme ini dapat ditaksir secara tidak langsung yaitu dengan mengukur tingkat konsumsi oksigen yang dipergunakan dalam proses oksidasi. Penentuan tingkat konsumsi oksigen merupakan suatu teknik pengujian yang biasa digunakan untuk menaksir laju metabolisme. Konsumsi oksigen dapat digunakan sebagai pendekatan tingkat metabolisme yang praktis karena jumlah panas yang dihasilkan untuk setiap liter oksigen yang digunakan dalam metabolisme hampir konstan terlepas dari apa yang teroksidasi (protein, karbohidrat atau lemak) dan dapat dikonversikan ke dalam nilai

energi. Taksiran metabolisme ini juga penting dalam kajian bioenergetika karena merupakan suatu bagian yang penting dari persamaan neraca energi (Schmidt-Nielsen 1990; Lemos dan Phan 2001).

Tingkat konsumsi oksigen dipengaruhi oleh dua faktor yaitu faktor eksternal dan faktor internal. Faktor eksternal yang berpengaruh adalah salinitas, konsentrasi oksigen terlarut, suhu, cahaya, status makanan dan karbondioksida. Faktor internal adalah spesies, stadia perkembangan, aktivitas, jenis kelamin, reproduksi dan molting. Jika organisme berada pada medium tekanan parsial oksigennya lebih rendah dari lingkungan (ambient), maka untuk mencukupi kebutuhan oksigennya dilakukan pemompaan air yang lebih besar melalui peningkatan frekuensi pergerakan operculum. Khusus pada ikan, peningkatan CO_2 lebih besar pengaruhnya pada peningkatan gerakan operculum dalam respirasi dibandingkan dengan kandungan oksigen (Kumlu *et al.* 2001; Verslycke dan Janssen 2002; Villareal *et al.* 2003). Adaptasi lingkungan untuk hidup, termasuk kisaran salinitas yang lebar melalui efisiensi osmoregulasi dan fisiologi respirasi (*hyper-hypo-osmoregulator*). Mekanisme adaptasi ini adalah mengkonsumsi energi. Perubahan metabolisme energi secara umum akan mempengaruhi karakteristik kehidupan organisme selanjutnya seperti pertumbuhan dan reproduksi (Verslycke dan Janssen 2002). Selanjutnya dijelaskan bahwa adaptasi lingkungan untuk kehidupan krustasea, termasuk kisaran salinitas yang lebar melalui efisiensi osmoregulasi dan fisiologi respirasi (*hyper-hipo-osmoregulator*), dimana

mekanisme ini terjadi dengan mengkonsumsi energi. Perubahan metabolisme energi secara umum, akan mempengaruhi aktifitas kehidupan selanjutnya dari organisme seperti pertumbuhan dan daya tahan hidup.

C. Karakteristik Media

Perubahan salinitas media dan tahap perkembangan dalam siklus hidup udang windu, menempatkan pengaturan proses fisiologis sebagai penentu utama kelangsungan hidup dan pertumbuhannya. Menurut Spivak (2000), kondisi optimal yang dibutuhkan untuk mendukung pertumbuhan tiap spesies sangat spesifik dan juga berbeda pada setiap tahap dari siklus hidupnya. Hal ini terlihat pada stadia nauplius dari *Penaeus merguensis* yang memperlihatkan toleransi lebih rendah terhadap perubahan salinitas dibanding pada stadia mysis (Zacharia dan Kakati, 2004; Kumlu *et al.*, 2000).

Karakteristik media yang optimal mendukung perkembangan dan pertumbuhan udang windu mulai dari stadia larvasampai dengan dewasa yang menurut beberapa kajian adalah: suhu berkisar antara 28-31°C dan salinitas 5–25 ppt (Puzon and Villalonga, 1991); pH antara 7,5-8,5 dan oksigen terlarut 5-8 ppm (Pillay, 1990); dan amoniak lebih kecil dari 0,1 ppm (Chen and Lei, 1990). Menurut Spivak (2000), kondisi optimal yang dibutuhkan untuk mendukung pertumbuhan tiap spesies sangat spesifik dan juga berbeda pada setiap tahap dari siklus hidupnya. Hal ini terlihat pada stadia nauplius dari *Penaeus merguensis* yang memperlihatkan

toleransi lebih rendah terhadap perubahan salinitas dibanding pada stadia mysis (Zacharia dan Kakati, 2004; Kumlu *etal.*, 2000).

Perolehan nilai kelarutan oksigen saturasi secara teoritis dengan menggunakan formula *Knudsen*, didapatkan nilai kelarutan oksigen antara 7,0 ppm sampai dengan 7,5 ppm; untuk media dengan suhu minimal 28 dan maksimal 31°C serta pada salinitas 16 ppt. Berdasarkan proses yang sama, terlihat kecenderungan terjadinya penurunan kelarutan oksigen saturasi dengan naiknya suhu dan salinitas media. Pengaruh perubahan suhu terhadap kelarutan oksigen saturasi dalam air jauh lebih besar, dibanding pengaruh perubahan salinitas. Melihat kondisi saturasi kelarutan oksigen pada suhu dan salinitas yang disarankan, maka dapat dikatakan bahwa persyaratan media dengan kandungan oksigen terlarut di atas 5 ppm akan terpenuhi. Berdasarkan hasil kajian Chien (1992), kandungan oksigen terlarut media untuk pertumbuhan udang windu disarankan lebih besar dari 5 ppm, dan kandungan oksigen terlarut yang lebih kecil dari 4 pm akan mengganggu pertumbuhannya.

Lebih lanjut Cheng *et al.* (2003) mengatakan bahwa rendahnya kandungan oksigen terlarut dapat menyebabkan kondisi hipoksia pada krustase, yang pada gilirannya akan mendorong mekanisme adaptasi spesifik, misalnya penurunan laju metabolisme, modifikasi keseimbangan asam-basa dari hemolim, terjadinya perubahan pada kemampuan

mengikat hemosianin, osmolaritas hemolim dan perubahan konsentrasi ion dalam tubuh.

Perubahan pH yang drastis terhadap organisme yang hidup di perairanpayau, akan menyebabkan terganggunya perkembangan embrio, tingkat penetasan telur dan perubahan struktur morfologi (Cheng *et al.* 2003). Ketidak-sempurnaan organ tubuh udang, akan sangat berpengaruh terhadap kemampuannya untuk melakukan adaptasi terhadap perubahan lingkungan (Boyd and Fast, 1992). Karenanya kisaran pH 7,0–9,0, baik bagi kehidupan udang windu, sedangkan pH < 4 >10 dapat mematikan udang windu. Chien (1992) juga menyarankan kisaran pH yang baik bagi pertumbuhan udang windu adalah 7,5 – 8,5.

D. Salinitas dan Kapasitas Elektrolit

Elektrolit adalah mineral yang memiliki banyak fungsi dalam tubuh termasuk menjaga keseimbangan air, membantu kontraksi otot-otot dan membantu mengirimkan impuls saraf (Inoue *et al.*, 2002). Garam mineral ketika berada dalam bentuk cairan sel, baik seluruhnya maupun sebagian berbentuk ion elektron, yaitu kation dan anion. Kation dibentuk oleh metal (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , dan lainnya), sedangkan anion dibentuk oleh residu asam (Cl^- , HCO_3^- , SO_4^{2-} , H_2PO_4^-).

Salinitas dapat dinyatakan sebagai konsentrasi total dari semua ion yang terlarut di dalam air (kation dan anion), dimana ion-ion yang terlarut ini menentukan sifat osmotik dari air. Semakin besar jumlah ion yang

terkonsentrasi di dalam air, semakin tinggi tingkat salinitas dan kepekatan osmolar larutan, sehingga tekanan osmotik media makin membesar.

Ion-ion yang dominan menentukan tekanan osmotik air laut adalah Na^+ dan Cl^- dengan konsentrasi 30,61 dan 55,05 % dari total konsentrasi ion-ion terlarut (Nybakken, 1990). Komposisi ion di dalam air laut selalu tetap meskipun salinitas berubah-ubah, dimana komposisi ion utama penentu salinitas air laut adalah Klor (55,04%), Natrium (30,61%), Sulfat (7,68%), Magnesium (3,69%), Kalsium (1,16%), Kalium (1,10%), sedangkan ion-ion yang jarang antara lain Asam Borat dan Stronsium (0,71%).

Pengaturan kation sangat penting artinya, karenanya perubahan konsentrasi suatu kation dapat mempengaruhi fungsi organ-organ lain (Austgenet *al.*, 2001), seperti Kalium (K^+), dapat mempengaruhi potensial dari membran saraf atau dapat menyebabkan kelumpuhan, Natrium (Na^+), juga dapat menyebabkan kelumpuhan, Kalsium (Ca^+), disamping dapat menyebabkan kelumpuhan juga dapat mengatur permeabilitas atau peningkatan permeabilitas, dan Magnesium (Mg^+) dapat menekan susunan saraf.

Pengaturan konsentrasi natrium (Na^+) atau sodium dianggap paling penting, karena hampir 90% dari kation-kation pengaturan ekstraseluler (*extracellular*) terdiri atas kation natrium. Di dalam tubuh hewan natrium diperoleh dalam sistem pencernaan dan diekskresi dalam urin (Willmer *et al.* 2000). Dalam jaringan tubuh konsentrasi natrium jarang berubah,

karena air selalu bergerak untuk mengkompensasinya. Di perairan natrium merupakan kation penting yang mempengaruhi keseimbangan seluruh kation. Hampir semua perairan alami mengandung natrium dengan kadar bervariasi antara 1 mg/l hingga ribuan mg/l. Kadar natrium di perairan laut dapat mencapai 10.500 mg/l atau lebih, di perairan tawar alami kurang dari 50 mg/L (Effendi, 2003).

Kalsium (Ca^{2+}) merupakan ion yang paling banyak ditemukan di dalam tubuh sekitar 99% terdapat di struktur kerangka. Sumber kalsium pada udang dapat berasal dari pakan dan media hidupnya (Deshimaru, *et.al*, 1978). Kalsium dalam tubuh udang berperan sebagai (1) pembentuk eksoskeleton, (2) pengatur pembekuan darah, (3) pengatur denyut jantung, (4) pengatur fungsi tubuli ginjal, (5) pengatur ototsaraf untuk bekerja secara normal, (6) pengatur aktivitas beberapa jenis enzim, dan (7) sebagai pengatur permeabilitas sel (Lockwood, 1967 *dalam* Deshimaru, 1978). Ditegaskan juga oleh Tortora dan Derirckson (2009), kalsium sangat penting untuk aktivitas otot dan saraf, sebagai ko-faktor bagi enzim dan sebagai pembawa signal kedua (*second messenger intersellular*).

Di perairan, kalsium sangat dipengaruhi oleh reaksi kimia yang melibatkan karbondioksida yaitu gas yang mudah terlarut ke dalam perairan, baik secara langsung karena terbawa air hujan maupun melalui respirasi tumbuhan dan hewan akuatik dan hasil proses dekomposisi bahan organik (Effendi, 2003). Selanjutnya dikatakan bahwa perairan

yang miskin akan kalsium biasanya juga miskin akan kandungan ion-ion lain yang sangat dibutuhkan oleh organisme akuatik. Padahal kalsium termasuk unsur yang esensial bagi semua makhluk hidup, dan hewan akuatik membutuhkan kalsium untuk pertumbuhannya (Cole, 1988).

Kalium (K^+) atau potasium merupakan kation yang dominan (98%) ada di cairan intrasel atau *intracellular fluid* (ICF). Kalium dalam cairan ekstrasel atau *extracellular fluid* (ECF) tergantung dari penyerapan dalam sistem pencernaan dan diekskresi dalam urin (Willmer *et al.*, 2000). Jika konsentrasi kalium dalam ECF menurun, akan menyebabkan kelemahan otot dan menurunkan nafsu makan hewan, sebaliknya jika konsentrasi kalium dalam ECF meningkat, menyebabkan gangguan jantung.

Effendi (2003) mengemukakan bahwa kalium adalah salah satu unsur alkali utama di perairan dan terdapat dalam bentuk ion atau berikatan dengan ion lain membentuk garam yang mudah larut, dan sedikit sekali membentuk persipitasi. Akan tetapi Cole (1988) menyatakan bahwa kalium cenderung membentuk *micas* yang bersifat tidak larut. Kondisi ini menyebabkan kadar kalium di perairan lebih sedikit dibanding dengan kadar natrium. Kadar kalium pada air laut mencapai 380 mg/l, sedangkan pada perairan air tawar biasanya kurang dari 10 mg/l (Effendi, 2003).

Magnesium (Mg^{2+}) merupakan kation yang sebagian besar terletak di kerangka tubuh, sisanya di ICF (Willmer *et al.*, 2000). Dikatakan bahwa fungsi magnesium bagi tubuh hewan yaitu sebagai kofaktor untuk enzim.

Jika kadar magnesium berlebihan akan mengakibatkan kondisi hewan melemah, sebaliknya jika kadar magnesium kurang menyebabkan kejang-kejang. Magnesium cukup berlimpah pada perairan alami dan bersama dengan kalsium, magnesium merupakan penyusun utama kesadahan. Magnesium bersifat lebih mudah larut daripada kalsium, tidak toksik bahkan menguntungkan bagi fungsi hati dan sistem saraf (Effendi, 2003). Akan tetapi Cole (1988) mengemukakan bahwa kadar $MgSO_4$ yang berlebihan dapat mengakibatkan anesthesia pada organisme vertebrata dan avertebrata. Kadar magnesium pada perairan alami bervariasi antara 1–100 mg/L, pada perairan laut mencapai 1000 mg/L.

Klorida (Cl^-) adalah anion yang paling melimpah di ECF. Dalam tubuh hewan, klorida selalu ditemukan bersama-sama dengan natrium. Jika kadar klorida meningkat di ECF akan mengakibatkan asidosis metabolik, sebaliknya jika klorida menurun akan mengakibatkan alkalosis metabolik (Willmer *et al.*, 2000). Di perairan, kadar klorida bervariasi menurut iklim. Pada perairan di wilayah yang beriklim basah, kadar klorida biasanya kurang dari 10 mg/L, sedangkan pada perairan di wilayah kering, kadar klorida mencapai ratusan mg/L (Effendi, 2003). Kadar klorida yang tinggi, misalnya pada air laut, yang diikuti oleh kadar kalsium dan magnesium yang tinggi pula dan dapat meningkatkan sifat korositas air. Klorida tidak bersifat toksik bagi makhluk hidup, bahkan berperan dalam pengaturan tekanan osmotik sel.

Dalam media pembenihan udang, pengaruh totalitas ion terlarut atau salinitas tersebut mempunyai arti penting, baik terhadap sifat fisik-kimia air maupun terhadap benih udang. Pengaruh ini berkaitan dengan efek osmotik yang ditimbulkan secara langsung maupun tidak langsung terhadap proses perkembangan dan pertumbuhan udang itu sendiri. Pada lingkungan dengan salinitas yang lebih tinggi (hiperosmotik) maka udang cenderung untuk meminum banyak air kemudian insang dan permukaan tubuh udang membuang natrium klorida, artinya sel-sel khusus yang disebut sel klorida secara aktif mengangkut Cl^- keluar, dan Na^+ mengikutinya secara pasif.

E. Homeostasis dan Osmoregulasi

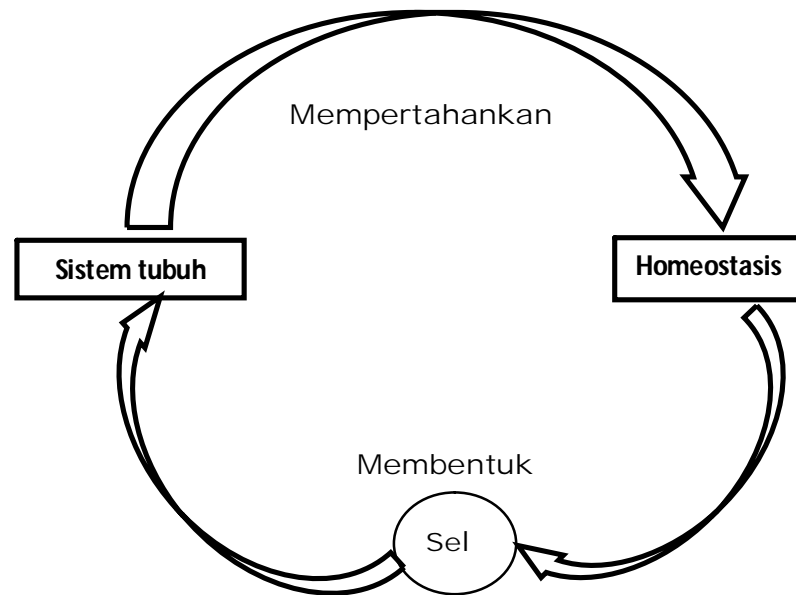
Lingkungan eksternal berpeluang menyajikan tantang terbesar yang harus dihadapi oleh hewan teristimewa hewan akuatik, karena secara umum lingkungan eksternal sangat tidak konstan atau berubah-ubah. Perubahan lingkungan eksternal baik suhu, salinitas, pH dan lainnya, akan memberikan efek terhadap cairan tubuh hewan akuatik yang menjadi penyusun lingkungan internal. Jika terjadi perubahan yang besar atau drastis akan berdampak kepada keseluruhan sistem fisiologi hewan sehingga sangat beresiko bagi kelangsungan hidupnya. Oleh sebab itu hewan semaksimal mungkin harus mempertahankan kondisi lingkungan internalnya agar tidak berubah. Keseluruhan absolut hewan untuk mempertahankan kondisi internalnya dalam keadaan konstan dikenal sebagai homeostasis (Schnidt - Nielsen, K. 1997).

Homeostasis adalah suatu keadaan komposisi kimia dan fisiokimia yang konstan pada medium internal organisme. Homeostasis sebagai manifestasi keberadaan sejumlah faktor biologis yang konstan seperti indikasi kuantitatif, karakteristik suatu organisme pada kondisi normal (Sherwood, 2001).

Organisme multisel yang kompleks seperti hewan akuatik dapat hidup di lingkungan yang berubah-ubah karena mempunyai kemampuan mempertahankan keadaan lingkungan dalam atau internalnya (*millieu interieur*). Hal ini akan melindungi sel-sel yang letaknya di dalam tubuh organisme itu dari perubahan lingkungan luar sekitarnya (*millieu exterieur*) sehingga dapat menjamin kelangsungan hidup sel-sel tubuh organisme tersebut. Ini sesuai dengan pernyataan Bernard (1859) dalam Singgih dan Setiadji (2004) bahwa semua sel suatu organisme memerlukan suatu lingkungan konstan atau stabil.

Dengan mempertahankan lingkungan internal yang relatif stabil, organisme dapat hidup bebas di lingkungan eksternal yang sangat bervariasi. Upaya mempertahankan keadaan lingkungan internal dan eksternal yang stabil ini dikenal sebagai homeostasis yang artinya tetap konstan, yang dapat diilustrasikan seperti pada Gambar 6). Homeostasis menurut Sherwood (2001) merupakan suatu keadaan yang stabil yang dipelihara oleh semua proses aktif dalam tubuh dalam mengantisipasi perubahan proses fisiologis. Oleh karena itu, homeostasis menjadi salah satu konsep yang paling penting dalam biologi, merujuk pada ketahanan

atau mekanisme pengaturan kesetimbangan lingkungan internal dinamis (tubuh organisme) yang konstan (Sherwood, 2001).



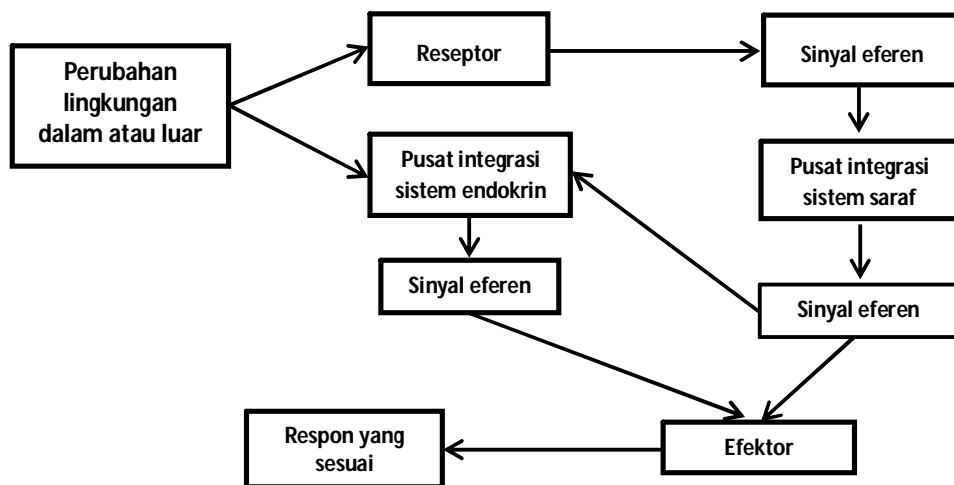
Gambar 6. Hubungan sel, sistem-sistem tubuh dan homeostasis (modifikasi dari Sherwood, 2001)

Bidang fisiologi dapat mengklasifikasikan mekanisme homeostasis sebagai pengaturan dalam organisme dan umpan balik yang terjadi pada setiap organisme (Singih dan Setiadji, 2004). Sehubungan dengan hal ini, dikemukakan empat postulat yang mendasari homeostasis yaitu :

1. Peran sistem saraf dalam mempertahankan kesesuaian lingkungan internal dengan kehidupan.
2. Adanya kegiatan pengendalian yang bersifat tonik.
3. Adanya pengendalian yang bersifat antagonistik.
4. Suatu sinyal kimia dapat mempunyai pengaruh yang berbeda di jaringan tubuh yang berbeda.

Selain itu ada beberapa parameter yang diatur secara homeostatik yaitu faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi sel dan yang dibutuhkan sel, serta adanya sekresi internal (Singgih dan Setiadji, 2004).

Silverthorn (2001) mengemukakan bahwa dalam melakukan homeostasis, tubuh harus senantiasa memantau adanya perubahan-perubahan nilai berbagai parameter, lalu mengkoordinasikan respons yang sesuai, sehingga perubahan yang terjadi dapat diredam. Untuk itu sel-sel tubuh harus mampu berkomunikasi satu dengan lainnya. Komunikasi antar sel ini merupakan media yang menopang pengendalian fungsi sel atau organ tubuh. Pengendalian yang paling sederhana terjadi secara lokal (*intrinsik*), yaitu yang dilakukan dengan komunikasi antar sel yang berdekatan.



Gambar 7. Pengendalian jarak jauh melalui sistem endokrin dan sistem saraf. (dimodifikasi dari Silverthorn, 2001)

Pengendalian jarak jauh (*ekstrinsik*) lebih kompleks dan dimungkinkan melalui refleks yang dapat melibatkan sistem saraf maupun sistem endokrin, yaitu pengaturan umpan balik (*feedback control*) untuk keseimbangan (Gambar 7). Pengaturan untuk keseimbangan ini tidak hanya melalui umpan balik saja, tetapi dapat bersifat ke depan (*feedforward control*) yang memungkinkan tubuh bisa mengantisipasi perubahan yang akan datang.

Homeostasis ini pada dasarnya adalah untuk menstabilkan cairan di sekitar sel-sel organisme multisel yaitu cairan ekstrasel (CES), yang merupakan interface antara sel dan lingkungan luar.

Sel-sel tubuh selain harus selalu basah, harus pula mengandung zat-zat terlarut tertentu (*solute*) dan dalam kadar yang tertentu pula demi kelangsungan proses-proses dalam sel. Oleh karena itu cairan ekstrasel yang harus dipertahankan melalui homeostasis adalah : kadar nutrien, kadar O₂ dan CO₂, kadar sisa metabolisme, pH, kadar air, garam dan elektrolit lainnya, suhu, volume dan tekanan.

Daya tahan hidup organisme dipengaruhi oleh keseimbangan osmotik antara cairan tubuh dengan media lingkungan hidupnya, dan pengaturan osmotik itu dilakukan melalui mekanisme osmoregulasi (Affandi dan Tang, 2002). Mekanisme ini dapat dinyatakan sebagai pengaturan keseimbangan total konsentrasi elektrolit yang terlarut dalam air media hidup organisme. Jadi osmoregulasi adalah proses mengatur konsentrasi cairan dan menyeimbangkan pemasukan serta pengeluaran

cairan tubuh oleh sel atau organisme hidup. Proses osmoregulasi diperlukan karena adanya perbedaan konsentrasi cairan tubuh dengan lingkungan sekitarnya (Ferraris, 1987).

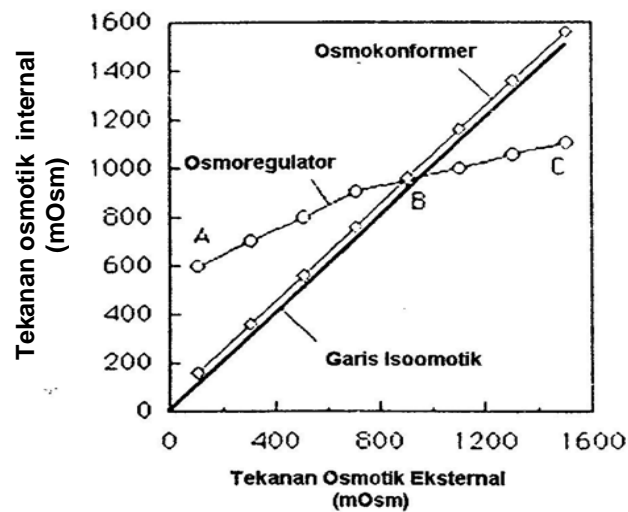
Berdasarkan konsep ini, maka Affandi dan Tang (2002) menggolongkan organisme air menjadi dua katagori sehubungan dengan mekanisme fisiologisnya dalam rangka menghadapi tekanan osmotik air media, yaitu :

1. Osmokonformer, adalah organisme air yang secara osmotik labil dan mengubah-ubah tekanan osmotik cairan tubuhnya untuk menyesuaikan dengan tekanan osmotik air media hidup.
2. Osmoregulator, adalah organisme air yang secara osmotik stabil (mantap), selalu berusaha mempertahankan cairan tubuhnya pada tekanan osmotik yang relatif konstan, tidak perlu harus sama dengan tekanan osmotik air media hidupnya.

Dengan demikian organisme osmoregulator melakukan strategi yaitu melakukan ruaya ke media yang sesuai dengan tekanan osmotik internalnya.

Syafei (2007) memberi suatu gambaran yang menampilkan osmotik osmokonformer dan osmoregulator dari krustasea dalam bentuk grafik (Gambar 8). Dimana organisme osmokonformer maupun osmoregulator melakukan strategi ruaya ke media yang sesuai dengan tekanan osmotik internalnya dalam rangka menjaga keseimbangan osmotik mereka melalui mekanisme regulasi osmotik. Konsep osmoregulasi adalah suatu regulasi

ionik pada tingkat molekuler. Proses seluler ini terjadi pada lapisan jaringan dan diikuti dengan kontrol terhadap proses hormonal. Regulasi aliran molekul antara lingkungan dan cairan hemolim pada krustase dapat terjadi pada sel epitel yang terdapat di insang, integumen, *antennal gland*, dan saluran pencernaan.



Keterangan: A = Kelompok hyperosmoregulator
 B = Kelompok isoosmoregulator
 C = Kelompok hypoosmoregulator

Gambar 8. Grafik osmotik krustase tipe osmokonformer dan osmoregulator

Sumber: Syafei (2007)

Sehubungan dengan mekanisme regulasi, Panikkar (1951) dalam Affandi dan Tang (2002) membedakan tiga pola regulasi yaitu : (1) Regulasi hipertonik atau hiperosmotik, yaitu pengaturan secara aktif konsentrasi tubuh hewan yang lebih tinggi dibandingkan konsentrasi media. (2) Regulasi hipotonik atau hipoosmotik, yaitu pengaturan secara aktif konsentrasi cairan tubuh yang lebih rendah dibandingkan konsentrasi

media. (3) Regulasi isotonik atau isoosmotik, yaitu bila kerja osmotik dilakukan pada keadaan konsentrasi cairan tubuh sama dengan konsentrasi media.

Osmoregulasi pada organisme akuatik bergantung pada transpor aktif ion-ion melalui pompa elektrogenik pada membrane seluler (Alvares *et al.* 2004). Lebih ditegaskan oleh Dutka dan Lamb (2007) bahwa proses regulasi di tingkat sel diatur melalui mekanisme pompa natrium-kalium (pompa Na^+/K^+). Untuk proses ini diperlukan sejumlah energi sesuai dengan rentang beda konsentrasi ion pada media yang membutuhkan sejumlah adenosin trifosfat (ATP) dan melepas adenosin difosfat (ADP).

Regulasi ion dan osmotik dapat terjadi melalui dua mekanisme utama yang berbeda (Péqueux 1995, Augusto *et al.*, 2007) yaitu (1) dengan mempertahankan osmolaritas cairan ekstrasel tanpa harus mendekati isosmotik pada salinitas media dan (2) menjaga kemantapan osmolaritas cairan intrasel dengan tetap isosmotik dengan cairan ekstraselnya. Kedua mekanisme tersebut dilakukan dengan cara mengatur volume air di dalam cairan ekstrasel serta mengatur pertukaran ion antara cairan intrasel dan ekstrasel. Duerr dan Ahearn (1996) mengatakan bahwa transportasi dalam regulasi ion media ke cairan hemolim krustase, meliputi beberapa kation seperti ion natrium (Na^+) dan ion kalsium (Ca^{2+}); dan beberapa anion, yaitu ion klorida (Cl^-) dan ion bikarbonat (HCO_3^-).

Krustase yang diperhadapkan dengan kondisi salinitas yang bervariasi seperti salinitas yang rendah, akan berupaya menahan kehilangan ion Na^+ dan Cl^- dengan cara transpor aktif mengambil Na^+ dari media melalui aktifitas enzim Na^+/K^+ -ATPase. Enzim Na^+/K^+ -ATPase adalah protein pada membrane sel yang berperan sebagai pendorong dalam pompa ion, pengemban (karier) dan biokalisator (Mantel dan Farmer, 1983; Wilder *et al.*, 2009; Mananes *et al.*, 2002). Aktifitas enzim Na^+/K^+ -ATPase ini ditentukan oleh ketersediaan asam lemak bebas (FFA) dan asam lemak bebas (FFA) ini meningkatkan aktifitas Na^+/K^+ -ATPase dalam upaya menekan stres salinitas (Palacios *et al.*, 2004).

Cheng dan Liao (1986) melaporkan bahwa sesuai dengan respon osmotik, udang windu termasuk tipe osmoregulator, dimana kemampuan osmoregulasinya sangat bergantung kepada stadia hidup dan tingkat salinitas media yang berfluktuasi. Agar dapat hidup dan tumbuh dengan layak pada kedua tipe lingkungan tersebut, cairan tubuh udang perlu dijaga dan dipertahankan baik konsentrasi ion maupun osmolaritasnya.

Pada kondisi lingkungan yang hipertonik, cairan tubuh udang bersifat hipoosmotik terhadap media hidupnya. Oleh sebab itu, air dari cairan tubuh udang cenderung untuk bergerak ke luar secara osmosis (Mantel dan Farmer, 1983). Dalam kondisi tersebut, udang akan berusaha mempertahankan osmolaritas cairan tubuh agar cairan internal tidak keluar dari selnya dan juga mencegah agar cairan urin tidak lebih pekat pada hemolimnya. Karena udang mengekstrak H_2O dari media

dengan cara minum air atau memasukkan air melalui insang dan kulit (saat ganti kulit). Air dan ion terlarut diabsorpsi di dalam saluran pencernaan. Kelebihan ion, terutama Na^+ dan Cl^- yang diambil dari hemolim akan dikeluarkan oleh organ ekskresi seperti insang dan kelenjar antennal melalui sel-sel epitel (*salt secreting epithelium*), sehingga diperoleh air bebas ion untuk pembentukan urin dan keseimbangan osmotik cairan tubuh udang. Pengaturan keseimbangan ion tersebut dilakukan dengan cara transport aktif yang memerlukan sejumlah energi yang berasal dari ATP (Adenosin trifosfat) (Mantel dan Farmer, 1983; Verslycke dan Jansen, 2002).

Pada kondisi lingkungan yang hipotonik, cairan tubuh udang bersifat hiperosmotik terhadap media eksternalnya. Pada kondisi tersebut, air dari media cenderung menembus masuk ke dalam tubuh melalui insang, usus dan kulit (saat ganti kulit). Ion-ion cenderung berdifusi ke luar tubuh dan cairan internal akan terancam kekurangan ion melalui ekskresi. Untuk mengatasi hal itu, udang akan berusaha mempertahankan kemantapan osmolaritas cairan tubuh dengan mekanisme regulasi hiperosmotik, yaitu dengan cara meningkatkan absorpsi ion (garam) dari media eksternal melalui insang dan usus dan menghasilkan urin yang hipoosmotik melalui organ ekskresi (kelenjar antennal) (Gilles dan Pequeux, 1983; Mantel dan Farmer, 1983). Pada kenyataannya, ada hubungan antara permeabilitas krustase dekapoda dengan salinitas (Rainbow dan Black, 2001). Dengan demikian adaptasi fisiologis dalam permeabilitas pada salinitas rendah

mengurangi pengambilan dan pengeluaran air, kehilangan garam-garam dan dibutuhkan sejumlah energi untuk pengambilan ion.

F. Hormon dan Enzim dalam Osmoregulasi

Komponen yang terlibat dalam proses osmoregulasi adalah : (1) Kendali hormonal (organ X atau kelenjar sinus dan organ pericardial), (2) Protein pada membran sel yang berperan sebagai sistem pompa ion, pengemban (*carrier*) dan biokatalisator (enzim Na^+/K^+ -ATPase), serta energi (ATP) untuk transpor aktif (Mantel dan Farmer, 1983; Anggoro, 1992; Wilder *et al.*, 2009; Mananes *et al.* 2002).

Menurut Zairin (2003), hormon berperan penting mulai dari mengatur konsentrasi glukosa, natrium, kalium, dan air di dalam darah dan cairan interstisial, sampai pengaturan reproduksi. Kerja hormon menyerupai kerja syaraf, yaitu mengontrol dan mengatur keseimbangan kerja organ-organ di dalam tubuh, namun, kontrol kerja syaraf lebih cepat dibanding dengan kontrol hormon (Guyton, 2000).

Beberapa hormon yang telah diketahui berperan dalam osmoregulasi seperti badan stanius memiliki fungsi sebagai kelenjar endokrin yang sekresi sekresinya diduga ikut dalam proses penyesuaian tekanan osmotik lingkungan dengan tekanan osmotik cairan tubuh pada ikan atau dalam proses osmoregulasi. Hormon tiroid mempengaruhi sistem dan fungsi syaraf dan proses osmoregulasi. Neurosekresi dari hypothalamus (*oxytocyn* dan *vasetocyn*) disimpan dan dikeluarkan oleh

neurohypofise, dimana hormone ini berperan dalam osmoregulasi dan reproduksi (Zairin.2003),

Beberapa kelenjar hormon, produk sekresi dan fungsinya secara khusus pada proses osmoregulasi yang yang dikemukakan oleh Zairin. (2003), dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kelenjar Hormon, produk sekresi dan Fungsinya pada proses Osmoregulasi Hewan Air (Zairin, 2003)

Kelenjar Hormon	Produk Sekresi	Organ Target	Fungsi
	Oksitosin	Insang, Ginjal	Osmoregulasi, kontraksi otot licin
Neurohipofisis	Argonin vasotosin, Isotosin	Pembuluh darah	Osmoregulasi, kontraksi otot licin
Kelenjar Interrenal	Kortisol, Kotikosteron	Usus, ginjal, insang	Respon stress, Osmoregulasi
Sistem Renin-Angiotensin	Angiotensin	Ginjal	Mengatur tekanan darah, membantu adaptasi dari air tawar ke air laut

Semua hormon yang terlibat dalam osmoregulasi tersebut dapat dikelompokkan menjadi dua bagian. *Pertama*, kelompok hormon yang lambat bekerja tetapi cepat memberikan pengaruh dan diduga bertanggung jawab untuk mempertahankan sistem osmoregulasi dan

yang termasuk dalam kelompok ini adalah growth hormone (GH) dan prolaktin. *Kedua* adalah kelompok hormon yang cepat bekerja tetapi lambat memberikan pengaruh. Kerja kelompok hormon ini memungkinkan respon yang cepat terhadap perubahan salinitas lingkungan. Hormon yang termasuk dalam kategori ini adalah angiotensin II (ANG II), urotensin II (U II), arginin vasotosin (AVT).

Sedangkan organ-organ tubuh yang berperan sebagai tempat berlangsungnya osmoregulasi adalah insang, saluran pencernaan, integumen (kulit) dan organ ekskresi kelenjar antennal (Gilles dan Pequeux, 1983). Kelenjar antennal di krustasea adalah organ ekskretoris penting yang fungsi utamanya adalah untuk menghilangkan limbah metabolisme, mengatur dan mengontrol regulasi osmotik di hemolim (Vogt, 2002).

Secara umum, masing-masing bagian pada kelenjar antennal ini secara fungsional setara dengan fungsi ginjal mamalia. Namun dalam perbandingan fisiologis antara kelenjar antennal dari krustasea dan ginjal mamalia, Behnke *et al.* (1990) dalam Al-Mohsen (2009) melaporkan bahwa baik kerja dari kelenjar antennal dan ginjal pada prinsipnya sama tetapi kelenjar antennal secara struktural kurang kompleks. Ginjal mamalia terdiri dari banyak unit nefron tunggal yang masing-masing berkontribusi terhadap keseluruhan filtrasi dan reabsorpsi, sementara kelenjar antennal di krustasea tidak memiliki tingkat kompleksitas.

Selanjutnya Buranajitpirom *et al.* (2010) mengemukakan bahwa Na^+/K^+ -ATPase merupakan salah satu enzim dalam osmoregulasi yang berperan sebagai pembawa dan biokatalisator. Peningkatan aktivitas enzim ini terjadi semata-mata atau lebih eksklusif di dalam kelenjar antennal dari pada di insang, saluran pencernaan dan organ lainnya, karena kelenjar antennal yang berfungsi mensupport enzim di dalamnya untuk mengatur keseimbangan ion di hemolim. Dan untuk pengaturan keseimbangan ion tersebut dibutuhkan sejumlah energi yang berasal dari Adenosin Tri-phospat (ATP).

Peterson dan Lozzi (1974) *dalam* Buranajitpirom *et al* (2010) melaporkan bahwa sel-sel labirin kelenjar antennal hewan dekapoda secara struktural dan fungsional sebanding dengan sel-sel epitel tubulus pada ginjal vertebrata yaitu memainkan peran kunci dalam reabsorpsi air dan regulasi ion Na^+ melalui aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase dan sangat tergantung dari ATP. Na^+/K^+ -ATPase yang merupakan salah satu enzim yang paling penting dalam proses regulasi ion (Lucu dan Towle, 2003). Enzim ini sangat penting untuk regulasi ion dan air di ginjal pada ikan (Venturini *et al*, 1992; Nebel *et al*, 2005), di insang dan kelenjar antennal pada krustasea (Lignot *et al*, 2005;. Khodabandeh *et al*, 2005a, b dan c.) dan di tubulus Malphigi pada serangga (Zeiske, 1992; Mac Vicker *et al*, 1993; Emery *et al*, 1998).

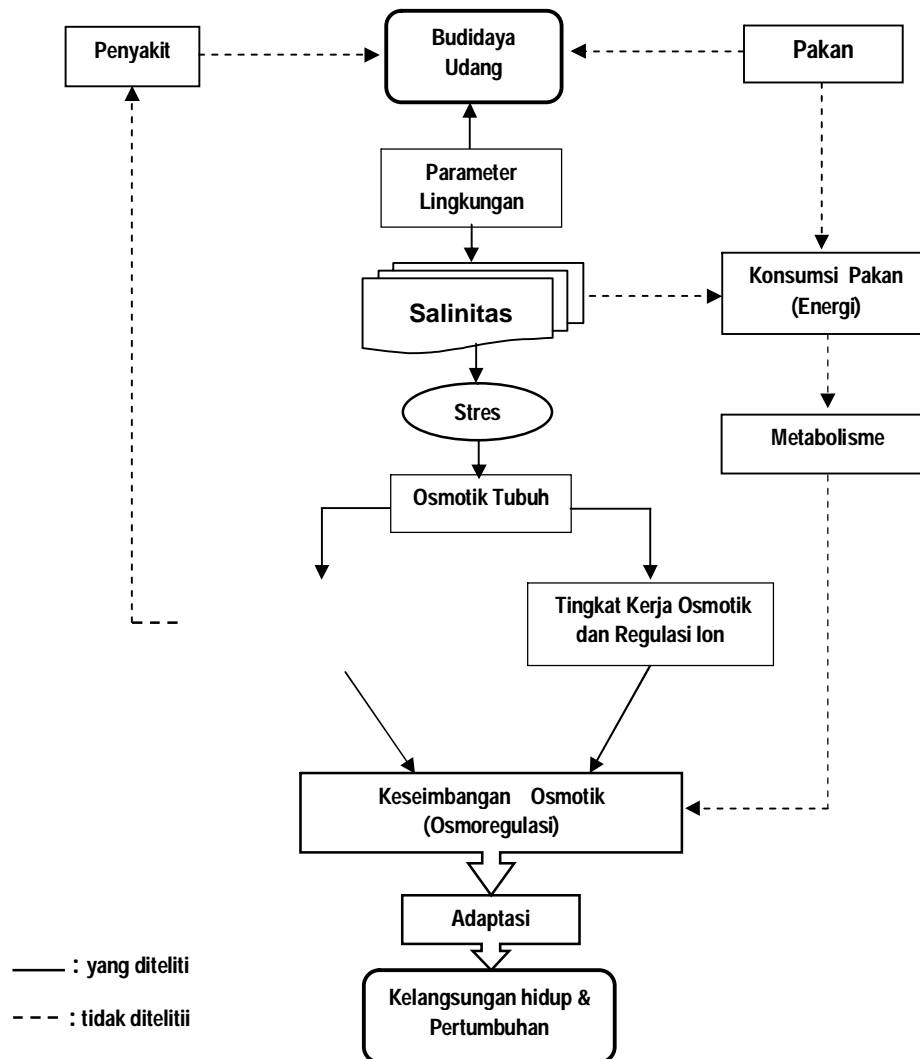
Fungsi dan aktivitas Na^+/K^+ -ATPase telah diamati dalam beberapa krustasea dan insekta dan telah terbukti penting untuk fungsi ekskretoris

dan osmoregulatori (Anstee dan Bell, 1975; Farmer *et al*, 1981; Peacock, 1981; Nicolson, 1993; Emery *et al*, 1998) dalam Buranajitpirom *et al*. (2010). Fungsi dan aktivitas Na^+/K^+ -ATPase ini juga telah diamati dalam beberapa krustasea dan insekta dan telah terbukti penting untuk fungsi ekskretoris dan osmoregulatori (Anstee dan Bell, 1975; Farmer *et al*, 1981; Peacock, 1981; Nicolson, 1993; Emery *et al*, 1998) dalam Buranajitpirom *et al*. (2010). Chung dan Lin (2006) menyatakan bahwa peningkatan aktivitas Na^+/K^+ -ATPase pada insang posterior kepiting *Scylla paramamosain* di salinitas 5 ppt signifikan lebih tinggi di banding dengan kepiting pada salinitas 25 dan 45 ppt, menunjukkan bahwa insang posterior memainkan peran paling penting dalam osmoregulasi dalam media salinitas rendah.

Selain itu hasil analisis immunoflorescence dari aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase signifikan sangat nyata berperan dalam osmoregulasi melalui pertukaran aktif ion pada branchial chamber larva dragonfly *Libellula Lydia* (Khodabandeh, 2007). Demikian juga Huong *et al*. (2010) melaporkan bahwa aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase dalam insang *Litopenaeus vannamei* meningkat ketika udang di transfer ke salinitas yang lebih rendah, karena hilangnya kapasitas osmoregulasi ketika udang dipindahkan langsung dari salinitas tinggi ke salinitas rendah.

G. Kerangka Konseptual

Berdasarkan penjelasan-penjelasan dan landasan teori yang telah dikemukakan di atas, maka dapat dibangun kerangka konseptual dari penelitian ini seperti yang diilustrasikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Skema Kerangka Konseptual

H. Hipotesis Penelitian

1. Fluktuasi salinitas media pemeliharaan berpengaruh pada tingkat kerja osmotik (TKO) dan regulasi ion hemolim juvenil udang windu.
2. Fluktuasi salinitas media pemeliharaan berpengaruh pada perubahan struktur dan ultrastuktur kelenjar antennal juvenil udang windu.
3. Salinitas media pemeliharaan yang berfluktuasi akan berpengaruh pada aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase di kelenjar antennal juvenil udang windu.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode observasi dan eksperimental laboratorium melalui dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan meliputi pengamatan fluktuasi salinitas air di tambak budidaya udang dilanjutkan dengan pengamatan osmolaritas juvenil udang windu pada beberapa perubahan level salinitas pada skala laboratorium, yaitu osmolaritas media pemeliharaan, osmolaritas hemolim, dan tingkat kerja osmotik juvenil udang windu. Penentuan perlakuan level salinitas pada penelitian pendahuluan ini didasarkan pada :

1. Hasil observasi terhadap fluktuasi salinitas air pada tambak budidaya udang, dengan memperhatikan batas salinitas tertinggi (batas atas), dan terendah (batas bawah) dan periode waktu perubahannya.
2. Titik isoosmotik udang windu yaitu 750 mOSm kg^{-1} ekuivalen dengan 25 ppt (Chen dan Liao, 1986; Ferraris *et al.* (1987) *dalam* Brito *et al.*, 2000).

Perlakuan salinitas pada penelitian pendahuluan ini terdiri dari kelompok A untuk penurunan salinitas, terdiri dari 5 level yaitu A1 (25ppt) (salinitas awal), A2 (25-19ppt), A3 (25-13ppt), A4 (13-7ppt) dan A5 (7-4ppt). Dan kelompok B untuk peningkatan salinitas yang terdiri dari 5

level yaitu B1 (25-31ppt), B2 (31-35ppt), B3 (25-37ppt), B4 (37-39ppt) dan B5 (39-41ppt). Pengambilan sampel dilakukan 3 kali dengan waktu pengamatan 24 jam dan 48 jam pemeliharaan udang.

Tahap penelitian utama dilakukan pada skala laboratorium. Untuk mengamati respon fisiologi sistem osmoregulasi juvenil udang windu terhadap perubahan salinitas media dan dalam waktu pemeliharaan yang berbeda. Perlakuan pada tahap penelitian utama ini dirancang untuk dapat membandingkan output sebagai respon atau konsekuensi adanya hubungan sebab akibat (kausal). Sumber penyebab yang ditetapkan disini adalah salinitas media. Kualitas air lainnya dan ketersediaan pakan diupayakan memadai (terkontrol). Selain itu, perubahan waktu sebagai waktu pemeliharaan yang mempengaruhi kemampuan adaptasi juvenile udang pada perubahan salinitas media.

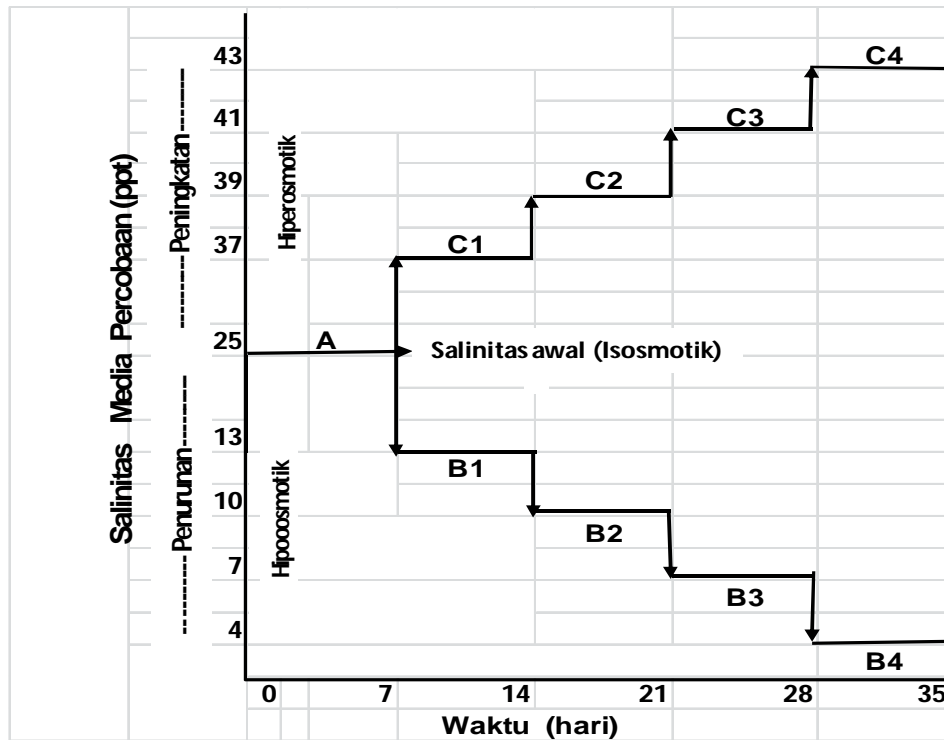
Analisis respon adaptasi juvenil udang windu terhadap perubahan salinitas media percobaan menggunakan rancangan percobaan petak terpisah dalam waktu (*split plot in time*) dengan aplikasi rancangan acak lengkap (RAL) (Mattjik dan Sumertajaya, 2006). Percobaan petak terpisah dalam waktu (*split plot in time*) ini menggunakan dua faktor yaitu faktor salinitas media pemeliharaan udang, terdiri atas 9 level termasuk salinitas awal sebagai control dan faktor waktu pemeliharaan udang yang terdiri atas 4 level. Kombinasi level dari kedua faktor ini menghasilkan 36 perlakuan, masing-masing diulang 3 kali.

Salinitas media pemeliharaan juvenil udang pada penelitian utama diarahkan agar dapat menciptakan kondisi hiperosmotik, hipoosmotik dan isoosmotik terhadap tekanan osmotik cairan tubuh udang.

Penentuan level salinitas perlakuan dan waktu pemeliharaan juvenil udang pada penelitian utama ini didasarkan pada beberapa faktor, yaitu :

- Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa juvenil udang windu pada media bersalinitas 25-13 ppt; 7-4 ppt dan 25-37 ppt yang dipelihara selama 24 jam maupun 48 jam memiliki nilai tingkat kerja osmotik yang jauh dari nilai 1 dibanding pada media lainnya, mengindikasikan bahwa juvenil udang melakukan kerja osmotik yang tinggi untuk keperluan osmoregulasi pada media-media tersebut, menyebabkan kondisi yang tidak nyaman untuk kehidupan juvenil.
- Pengendalian salinitas di tambak budidaya udang tidak boleh berubah (naik maupun turun) >5ppt per hari, karena perbedaan salinitas >2ppt secara mendadak di tambak dapat menyebabkan udang stres bahkan mati (Suyanto dan Takarina, 2009).

Berdasarkan faktor-faktor di atas, maka salinitas media percobaan dirancang dengan beberapa level salinitas, yaitu media hiperosmotik (>25ppt), isoosmotik (=25ppt) sebagai salinitas awal dan hiposmotik (<25ppt). Dengan demikian perubahan salinitas yang dirancang adalah salinitas 4, 7, 10, 13ppt (hipoosmotik), 25ppt (isoosmotik sebagai salinitas awal), dan 37, 39, 41, dan 43ppt (hiperosmotik). Skema perubahan salinitas seperti pada Gambar 10.



Keterangan : A = Isosmotik (salinitas awal);

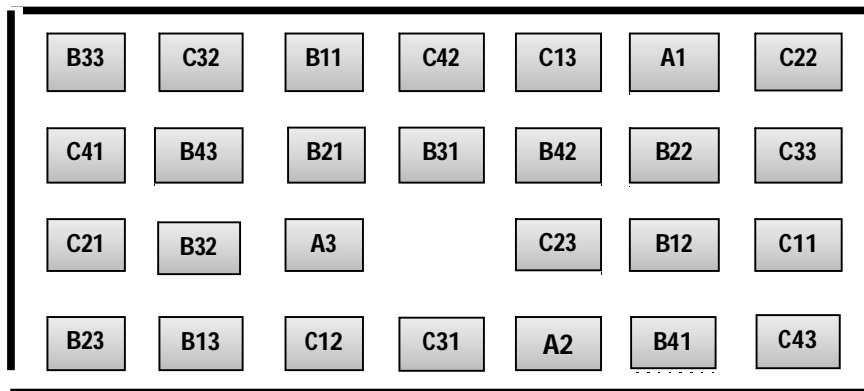
B = Hiposmotik (penurunan salinitas, yaitu B1=25-13ppt, B2=13-10ppt, B3=10-7ppt, B4=7-4ppt);

C = Hiperosmotik (peningkatan salinitas, yaitu C1=25-37ppt, C2=37-39ppt, C3=39-41ppt, C4=41-43ppt).

Pengamatan parameter dilakukan pada setiap perlakuan salinitas dan waktu pemeliharaan (6, 24, 96 dan 168 jam) selama 7 hari.

Gambar 10. Skema perubahan salinitas media percobaan

Cara pengacakan perlakuan salinitas terhadap unit-unit percobaan menggunakan Pola Rancangan Acak lengkap (Gambar 11) dan dilakukan bertahap sesuai waktu pengamatan, yaitu salinitas sebagai anak petak diacak terlebih dahulu terhadap unit percobaan, kemudian faktor waktu yang ditempatkan secara bertahap pada setiap level salinitas.



Keterangan : = Wadah Percobaan = Bak kayu berisi air

Gambar 11. Skema Peletakan unit-unit percobaan dengan pengacakan menggunakan Pola Rancangan Acak Lengkap.

Hasil pengacakan unit-unit eksperimen pada gambar 12 dapat dijelaskan sebagai berikut : A1, A2, A3 (salinitas 25ppt ulangan 1,2,3); B11,B12,B13 (salinitas 25-13ppt ulangan 1,2,3); B21, B22, B23 (salinitas 13-10ppt ulangan 1,2,3); B31, B32, B33 (salinitas 10-7ppt ulangan 1,2,3); B41,B42,B43 (salinitas 7-4ppt ulangan 1,2,3); C11,C12,C13 (salinitas 25-37ppt ulangan 1,2,3); C21, C22, C23 (salinitas 37-39ppt ulangan 1,2,3); C31,C32,C33 (salinitas 39-41ppt ulangan 1,2,3); C41, C42, C43 (salinitas 41-43ppt ulangan 1,2,3).

Model linear dari rancangan percobaan dalam penelitian ini dapat dituliskan sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_{ik} + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

dimana :

Y_{ijk} adalah nilai pengamatan pada salinitas taraf ke-I waktu taraf ke-j dan ulangan ke-k;

(μ, α_i, β_j) merupakan komponen aditif dari rata-rata, pengaruh utama waktu dan pengaruh utama salinitas;

$(\alpha\beta_{ij})$ merupakan komponen interaksi dari salinitas dan waktu;

δ_{ik} pengaruh acak dari waktu yang menyebar normal dan

ε_{ijk} pengaruh acak dari salinitas yang menyebar normal.

Bentuk hipotesis yang diuji dalam rancangan ini adalah :

a. Pengaruh waktu:

$H_0 : \alpha_1 = \dots = \alpha_a = 0$ (waktu tidak berpengaruh terhadap respon yang diamati)

$H_1 : \alpha_1 = \dots = \alpha_a \neq 0$ (paling sedikit ada satu i yang memberikan pengaruh)

b. Pengaruh salinitas :

$H_0 : \beta_1 = \dots = \beta_b = 0$ (salinitas tidak berpengaruh terhadap respon yang diamati)

$H_1 : \beta_1 = \dots = \beta_b \neq 0$ (paling sedikit ada satu j yang memberikan pengaruh)

c. Pengaruh interaksi salinitas dan waktu :

$H_0 : (\alpha\beta)_{11} = (\alpha\beta)_{12} = \dots = (\alpha\beta)_{ab} = 0$ (interaksi salinitas dengan waktu tidak berpengaruh terhadap respon yang diamati)

$H_1 : (\alpha\beta)_{11} = (\alpha\beta)_{12} = \dots \neq 0$ (paling sedikit ada sepasang (i,j) yang memberikan pengaruh)

Parameter yang diamati dan diukur dalam penelitian utama ini adalah tingkat kerja osmotik, konsentrasi ion-ion inorganik, kelangsungan hidup juvenil udang, aktivitas enzim $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$, karakteristik morfologi struktur dan ultrastruktur kelenjar antennal, serta parameter fisika kimia air media pemeliharaan juvenil udang windu.

B. Waktu dan Lokasi

Penelitian ini berlangsung selama 19 bulan, terdiri atas 9 bulan penelitian pendahuluan meliputi pengamatan fluktuasi salinitas di tambak budidaya udang, termasuk 3 bulan pemeliharaan gelondongan udang windu di tambak sampai ukuran juvenil calon hewan uji eksperimen, dan eksperimen hatchery tahap pendahuluan. Kemudian penelitian utama. 10 bulan yaitu eksperimen hatchery di Stasiun Penelitian Pengembangan Daerah Sulawesi Selatan, di kecamatan Cupu, Kabupaten Barru selama, yang dilanjutkan dengan analisis laboratorium pada beberapa laboratorium, yaitu:

- Analisis osmolaritas (hemolim juvenil udang windu dan media pemeliharaan) di Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau Maros, Sulawesi Selatan
- Analisis konsentrasi ion in-organik (hemolim yuvenil dan media pemeliharaan) di Laboratorium Balai Pengkajian Teknologi Pertanian, Maros, Sulawesi Selatan, dan di laboratorium Kualitas Air, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Histologi biasa dan histopatologi kelenjar antennal dilakukan di Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, di Bogor dan di Laboratorium Balai Verteriner, Makassar
- Analisis Imunohistokimia terhadap aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase kelenjar antennal dilakukan di Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

- Analisis ultrastruktur kelenjar antennal udang windu di Laboratorium Transmission Electron Microscopy (TEM), Lembaga Eijkman, Jakarta.

C. Bahan dan Peralatan Penelitian

C 1. Bahan

- ❖ *Hewan Uji* : Udang windu *Penaeus monodon* Fabr. gelondongan ukuran 1-1,5 g sebanyak 2000 ekor diperoleh dari panti benih windu, di desa Tambua, Maros, Sulawesi Selatan, selanjutnya ditebar di tambak semi intensif dengan luas 728 m² bersalinitas 35 ppt milik Stasiun Penelitian Balitbangda Propinsi Sulawesi Selatan di Kupa, Kabupaten Barru. Pemeliharaan dilakukan sampai ukuran 11-14 gram. Juvenil udang windu dipindahkan ke bak penampungan volume 1000L yang diisi dengan air bersalinitas 25ppt volume 600L yang dilengkapi dengan aerator. Proses aklimatisasi selama 7 hari bertujuan untuk mengadaptasikan juvenil udang pada salinitas awal (25ppt) yang akan digunakan sebelum diberi perlakuan. Sebanyak 240 juvenil udang untuk uji perlakuan dan 160 untuk stok cadangan dengan tujuan substitusi jika terjadi mortalitas saat sampling, sehingga total juvenil yang digunakan sebanyak 400 ekor.
- ❖ *Pakan* : Pakan yang digunakan adalah pakan komersil jenis Comfeed Shrimp dengan kandungan 35% protein. Jumlah pakan dengan presentase 10% dari bobot tubuh per hari dan frekuensi pemberian 2 kali sehari yaitu pada pagi hari (jam 06.00) dan pada sore hari (jam

18.00) dengan dosis yang sama selama aklimatisasi, penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

- ❖ *Air dan Media Percobaan* : Air laut bersalinitas 34-35 ppt diambil dari laut sekitar dengan mengevaporasi, ditampung di bak penampung. Air tawar diperoleh dengan mendestilasi air sumur bor yang ada di laboratorium. Sedangkan air media percobaan dalam penelitian ini disediakan untuk beberapa level salinitas yaitu 4, 7, 10, 13, 25, 37, 39, 41, dan 43 ppt. Untuk mendapatkan media percobaan sesuai perlakuan salinitas yang dibutuhkan (<35 ppt) diperoleh melalui teknik pengenceran air laut dengan air tawar. Pengenceran media perlakuan berpedoman pada rumus :

$$S2 = \frac{a \times S1}{n \times a}$$

Dimana :

- S2 = tingkat salinitas yang diinginkan (ppt)
- S1 = tingkat salinitas air laut yang akan diencerkan (35 ppt)
- a = volume air laut yang diencerkan (L)
- n = volume air tawar yang perlu ditambahkan (L)

Untuk salinitas >35 ppt didapatkan dengan menambah sejumlah garam dapur ke air laut. Sebelum digunakan, campuran air laut dan air tawar tersebut diaerasi selama 24 jam dengan tujuan menjenuhkan oksigen terlarut.

- ❖ *Bahan lainnya* (untuk analisa osmolaritas, konsentrasi ion, histologi, imunohistokimia, dan TEM) : Larutan anticoagulant (anti pembekuan hemolim), Larutan fiksatif (Paraformaldehyde 4%), haematoxylin dan

eosin, entelan, xylen. alkohol 70%, 80%, 90%, 100%, aquadest, paraffin. asam campur ($\text{HClO}_4 : \text{HNO}_3 : \text{HCl} = 6 : 6 : 1$). antibodi primer yaitu ATPase, antibody sekunder *Trekkie Universal Link*, larutan phospat buffer saline, larutan DW/milique, larutan fiksatif TEM (Glutaraldehyde 25%) untuk fikssi sampel kelenjar antennal.

C. 2. Peralatan Penelitian

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi :

- a) Wadah percobaan yang digunakan adalah akuarium dengan ukuran 50 cm x 35 cm x 40 cm sebanyak 36 buah.
- b) Bak kayu (4 x 4 m) sebanyak 2 buah sebagai wadah peletakan akuarium.
- c) Bak fiber-glas (1000 L) untuk peyimpanan stok juvenil udang windu, dan bak fiber ukuran 500 L untuk menampung stok media percobaan
- d) Tandon penampung air laut dan air tawar masing-masing satu buah, tersedia di hatchery Balitbangda, Barru, Sulawesi Selatan.
- e) Blower satu buah yang akan digunakan sebagai sumber aerasi.
- f) Aerator sebanyak jumlah satuan percobaan, bak aklimtisasi. bak stok air media percobaan, tandon air tawar dan air laut.
- g) Peralatan untuk pengukuran parameter fisika kimia air media antara lain hand-refractometer, termometer air raksa, pH-meter, DO-meter, serta timbangan digital Sartorius, gelas ukur dan botol sampel..
- h) Peralatan untuk pembedahan (*disecting set*), mikroskop binokuler, gelas objek dan penutupnya.

- i) Tabung endof (1,5 dan 2 ml) untuk penyimpanan sampel kelenjar antennal, sampel hemolim, dan sampel air media pemeliharaan.
- j) Disposable syringe dengan jarumnya (1 ml) sebagai alat untuk mengambil hemolim juvenil udang..
- k) Peralatan untuk analisa osmolaritas, histologi, konsentrasi ion, analisa imunohistokimia dan analisa mikroskop electron transmisi yang telah tersedia di setiap laboratorium.

D. Teknik Sampling dan Prosedur Pengumpulan Data

D. 1. Metode Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan dalam wadah akuarium kaca ukuran 50x35x40 cm, kapasitas \pm 50L sebanyak 36 buah yang dilengkapi dengan aerator. Juvenil udang windu yang digunakan sudah melalui aklimatisasi di tebar ke akuarium bersalinitas 25 ppt (salinitas awal) dengan kepadatan 10 individu setiap akuarium.

Perubahan salinitas media dilakukan sesuai waktu pengamatan, terdiri dari peningkatan salinitas yaitu 25 \rightarrow 37 \rightarrow 39 \rightarrow 41 \rightarrow 43 ppt, dan penurunan salinitas yaitu 25 \rightarrow 13 \rightarrow 10 \rightarrow 7 \rightarrow 4 ppt. dengan waktu pengamatan adalah 6 jam, 24 jam, 96 jam dan 168 jam. Perubahan salinitas dengan cara menggantikan air media baru sebanyak 95-100% untuk setiap level salinitas. Pengelolaan kualitas media eksperimen dilakukan melalui sifonisasi dan pergantian air (50%) sekali sehari pada pagi hari untuk level salinitas yang sama. Jenis pakan dan cara

pemberian pada pemeliharaan juvenil udang sama seperti pada aklimatisasi.

D.2. Teknik dan Prosedur Pengumpulan data

Untuk mencapai tujuan penelitian ini, maka telah dilakukan pengamatan dan percobaan dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. Pengamatan Parameter Fisika Kimia Media Percobaan

Parameter fisika kimia yang diamati dalam percobaan adalah suhu, pH, oksigen terlarut (DO) dengan pengukuran sekali tiap pagi hari sebelum pergantian air pada unit-unit percobaan. Data dicatat, ditabulasi dan diinterpretasi secara deskriptif.

2. Kelangsungan Hidup Juvenil Udang

Peubah ini ditentukan berdasarkan nilai kelangsungan hidup juvenil udang. Banyaknya juvenil udang yang hidup dimonitor (dihitung) untuk setiap pelakuan salinitas dan waktu pemeliharaan sejak awal sampai akhir percobaan. Tingkat kelangsungan hidup udang uji di hitung dengan menggunakan rumus yang dikemukakan Huynh dan Fotedar (2004), yaitu:

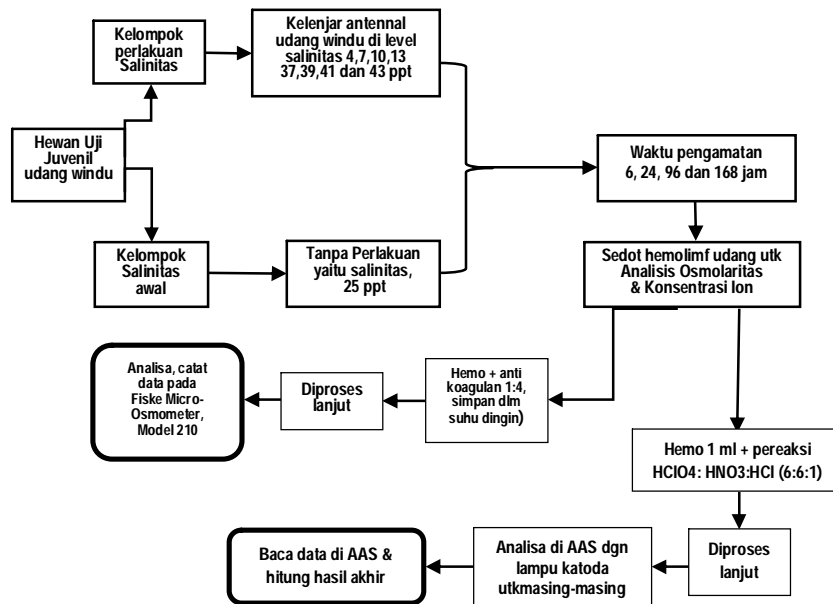
$$TKH = \frac{N_t}{N_0} \times 100$$

dimana, TKH adalah kelangsungan hidup udang uji (%), N_0 adalah jumlah udang uji pada awal percobaan (ekor), dan N_t adalah jumlah udang uji yang hidup pada akhir percobaan (ekor).

3. Analisis Osmolaritas

Karakteristik hemolim yang dikaji dalam penelitian ini adalah tingkat kerja osmotik (*osmotic capacity*) juvenil udang windu. Untuk menentukan tingkat kerja osmotik yang dialami juvenil udang windu, diukur juga osmolaritas media. Tingkat kerja osmotik ditentukan dari perbandingan antara nilai osmolaritas hemolim juvenil udang dan osmolaritas media percobaan (Lignot *et al*, 2000).

Pengamatan osmolaritas (hemolim dan media) diukur pada setiap perlakuan salinitas dan di semua level waktu. Sampel hemolim udang diambil dari 1 sampai 2 juvenil, menggunakan syringe dengan jarum ukuran 1 cc/mL dengan cara menyedotnya dari ruas kedua abdomen. Sampel hemolim yang diambil segera dicampur dengan larutan antikoagulan untuk mencegah pembekuan dengan konsentrasi 1 : 4 (0,2 mL hemolim dan 0.8 mL antikoagulan), ditampung di dalam tabung ependof volume 1,5 mL, didinginkan dan diproses lanjut sesuai prosedur pengukuran osmolaritasnya (Lampiran 1), dengan prosedur pengamatan seperti pada Gambar 12. Sedangkan pengukuran osmolaritas media percobaan, yaitu dengan penurunan titik beku cairan pelarut ($\Delta T^{\circ}\text{C}$) dengan kadar Cl^{-} (klorinitas) larutan yang dapat dinyatakan dengan rumus Brahtz (Wheaton, 1977) (Lampiran 2).



Gambar 12. Prosedur pengamatan osmolaritas dan analisis konsentrasi ion hemolimf juvenil udang windu.

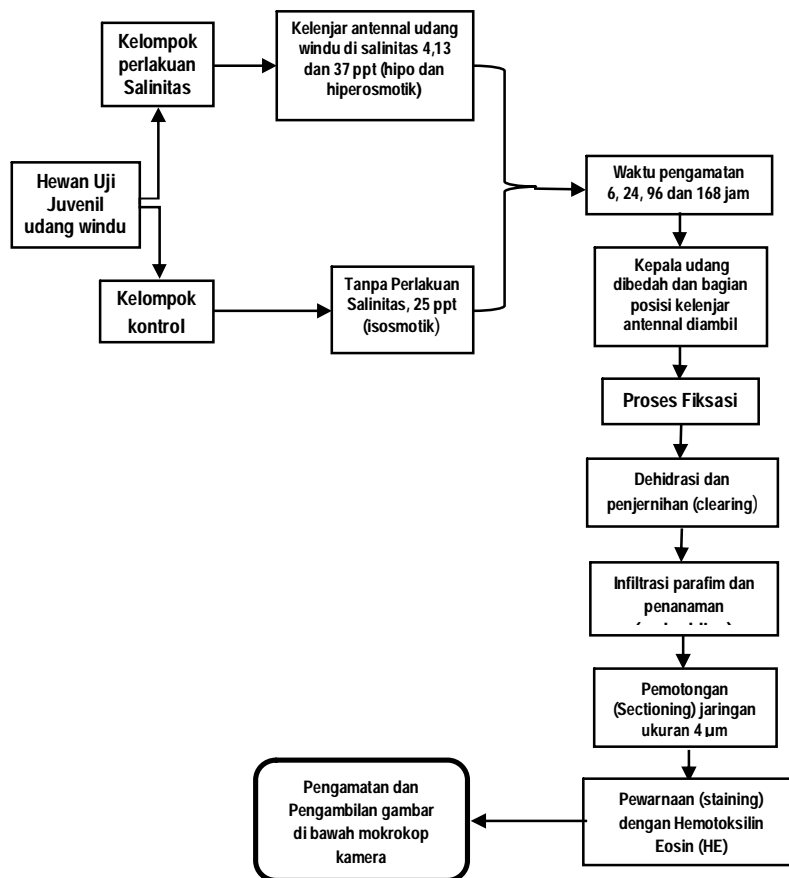
4. Analisis Konsentrasi Ion

Konsentrasi ion yang diukur dalam penelitian ini adalah ion-ion osmoregulasi di hemolimf udang maupun di media percobaan yaitu natrium (Na^+), kalsium (Ca^{2+}), kalium (K^+), magnesium (Mg^{2+}), klorida (Cl^-), dan sulfat (SO_4^{2-}). Pengambilan sampel hemolimf untuk analisis ion sama seperti untuk pengamatan osmolaritas, namun volumenya lebih banyak yaitu 1 mL dan tanpa campuran larutan koagulan (Gambar 12), dengan prosedur analisis pada Lampiran 3.

5. Pengamatan Histologi Kelenjar Antennal

Sampel kelenjar antennal juvenil udang yang digunakan untuk pengamatan histologi dan pemeriksaan histopatologi adalah udang yang

berada pada media A (25ppt), B1 (13 ppt), B4 (4ppt) dan C1 (37 ppt), mewakili media isoosmotik, hipo dan hiperosmotik. Prosedur pengamatan histologi dan histopotologi kelenjar antennal juvenil udang windu, disajikan pada gambar 13 dan Lampiran 4.



Gambar 13. Prosedur pengamatan histologi kelenjar antennal juvenil udang windu.

Pengambilan kelenjar antennal juvenil udang windu merupakan tahapan awal dari serangkaian kegiatan histologi, dimulai dengan pembedahan pada kepala udang sesuai posisi letaknya kelenjar antennal

menurut petunjuk pengamatan ultrastruktur sistem osmoregulasi dan ekskresi pada dekapoda umumnya dan khususnya pada lobster *Procambarus leonensis* (Felganhaver, 1992).

Sebanyak 5 kelenjar antennal juvenil udang diambil dari setiap perlakuan untuk pengamatan histologi dan histopatologi, dimulai dengan pembuatan sediaan histologi berupa reparat jaringan. Kelenjar antennal yang dibedah langsung difiksasi dengan larutan fiksatif paraformaldehide 4% yang terdiri atas :formalin 40%, CaCl₂ anhidrous 10% dan aquades dengan perbandingan 1:1:8. Dilanjutkan dengan proses dehidrasi, penjernihan (*clearing*), infiltrasi, penanaman dan pencetakan blok (*embedding*), pemotongan (*sectioning*) dan pewarnaan (*staining*).

6. Analisis Imunohistokimia

Analisis imunohistokimia dilakukan untuk mendeteksi keberadaan dan aktifitas enzim Na⁺/K⁺-ATPase di dalam sel atau jaringan kelenjar antennal juvenil udang windu dengan menggunakan prinsip reaksi atau ikatan antara antigen dengan antibodi. Antibodi primer yang digunakan adalah ATPase tipe Mab, grade Supernatant dan isotype IgG dengan clone no. 9E 150 (pengenceran 1:200). Sedangkan antibodi sekunder adalah Trikkie Universal Link. Metode yang digunakan dalam analisis imunohistokimia ini adalah *Streptavidin – Biotin Method*.

Lima udang masing-masing diambil dari perlakuan A (25ppt), B1 (25-13ppt), B4 (7-4ppt) dan C1 (25-37ppt) dalam waktu pemeliharaan 96 jam. Bagian kepala diambil, karapas dilepas dan seluruh cephalothorax

direndam dalam larutan fiksatif. Pembuatan sediaan kelenjar antennal juvenil udang untuk analisa imunohistokimia sama seperti untuk pengamatan histologi, namun berbeda pada pewarnaan (*staining*).

Pewarnaan imunohistokimia ini melalui beberapa tahapan, yaitu

- Tahapan persiapan pewarnaan, terdiri atas :
 - a. Preparasi objek gelas
 - b. Persiapan coating obyek gelas dengan Neufron (agen penempel)
 - c. Penempelan preparat irisan

Proses tahapan persiapan pewarnaan imunohistokimia secara rinci disajikan pada Lampiran 5.

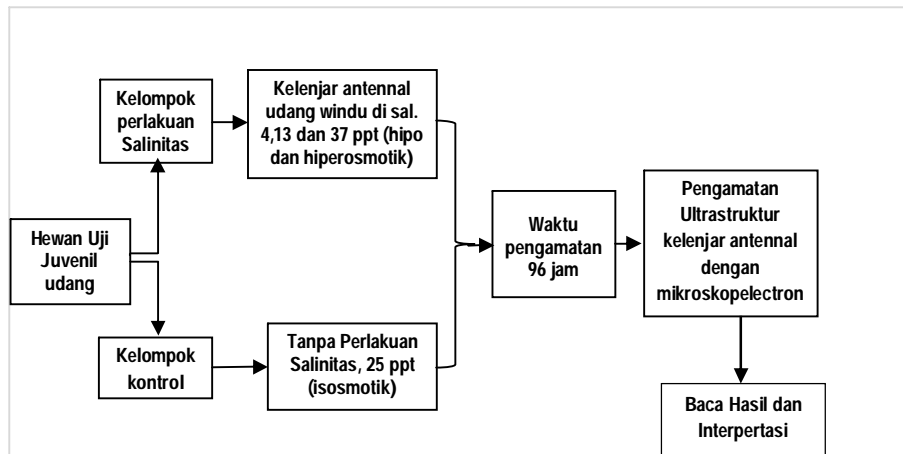
- Tahapan pewarnaan yaitu melakukan pewarnan pada preparat irisan yang dimulai dengan Deparafinisasi – Rehidrasi – penghilangan Peroksidase Endogen – pencucian – inkubasi dalam Normal Serum – pencucian – pemberian Biocare's Background Sniper – pencucian – pemberian antibodi primer : ATPase (1 : 200) – pencucian – pemberian antibodi sekunder : Trikie Universal Link – pencucian – pemberian Avidin-HRP (label) - pencucian Visualisasi dengan BAD (3.3-Diamonobenzidine) – pencucian – Counterstain dengan Hemotoksilin – Dehidrasi – Mounting dan akhirnya sediaan histoogi siap diamati di bawah mikroskop dan direkam dengan menggunakan camera. Prosedur pewarnaan imunohistokimia disajikan pada Lampiran 6.

7. Pengamatan mikroskop elektron transmisi

Pengamatan mikroskop elektron transmisi ditujukan untuk mengamati ultrastruktur kelenjar antennal udang windu di berbagai level

salinitas yang berbeda. Kelenjar antennal udang windu yang diamati dengan mikroskop elektron transmisi ini dilakukan secara *in vitro*.

Untuk pengamatan dengan mikroskop elektron transmisi digunakan satu kelenjar antennal yang diambil dari udang pada masing-masing media perlakuan A (25 ppt), B1 (25-13 ppt), B4 (7-4ppt) dan C1 (25-37ppt) dalam waktu pengamatan 96 jam. Prosedur pengamatan mikroskop elektron transmisi seperti pada gambar 14.



Gambar 14. Prosedur pengamatan dan analisa ultrastruktur kelenjar antennal udang windu menggunakan mikroskop elektron transmisi.

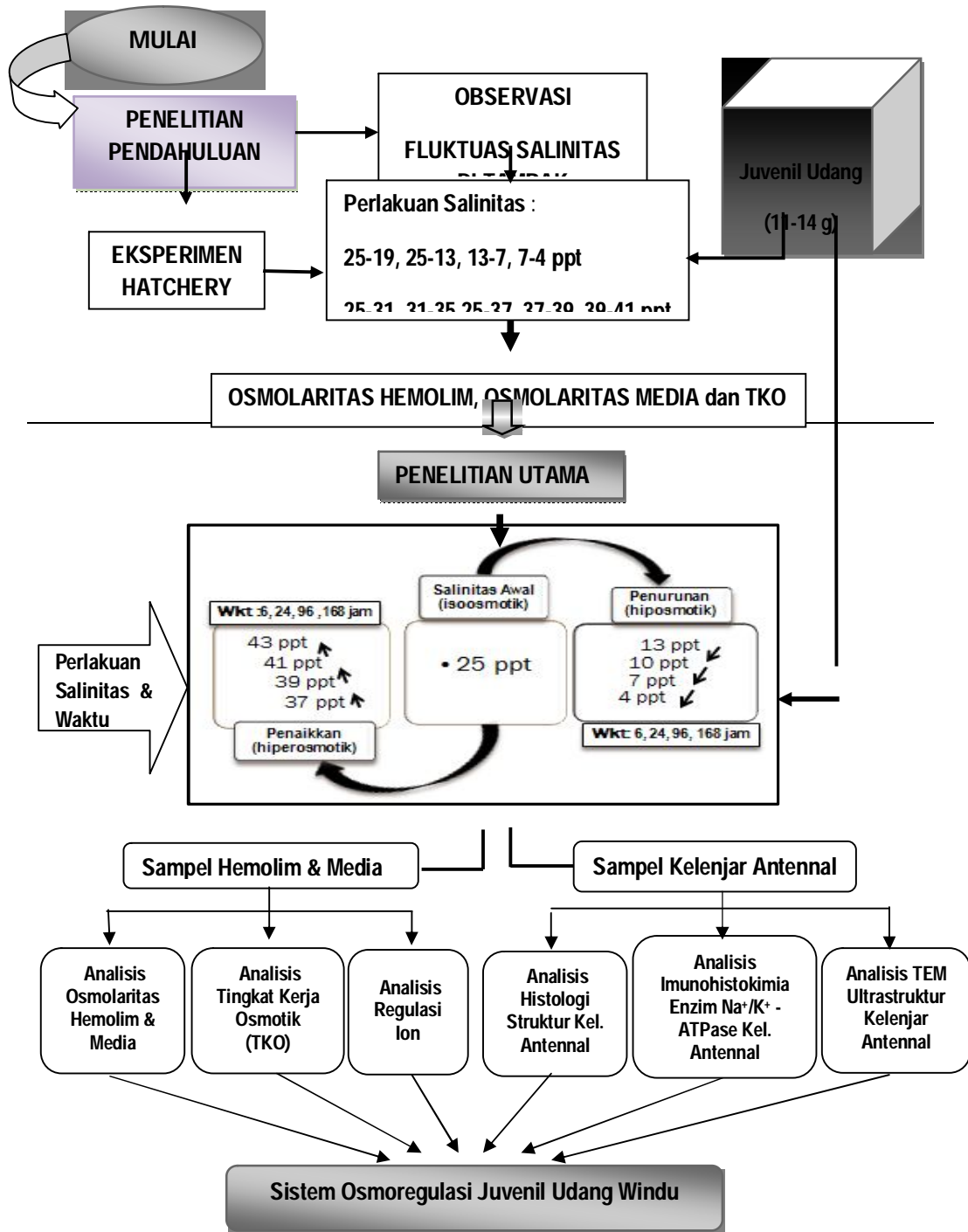
Udang dalam kondisi yang segar dibedah untuk mengeluarkan kelenjar antennal. Kelenjar antennal dipotong dengan ukuran 1x1x1 mm sebagai sampel dan difiksasi dengan larutan fiksatif glutaraldehyde 2,5% dalam buffer fosfat 0,15 M Millonig's atau dalam buffer natrium cacodylate 0,1 M selama 24 jam (semalam) dengan pH 7,4 pada suhu kamar, disesuaikan dengan 1030 mOsmol/kg NaCl untuk menghindari kejutan osmotik. Sampel kelenjar antennal difiksasi, kemudian dibilas dengan

buffer fosfat saline (PBS) tiga kali (masing-masing 5 menit). Jaringan difiksasi (postfixed) lagi dengan 0,5 OsO₄%, dikeringkan (*dehydrated*) melalui serangkaian etanol bertingkat, dibersihkan dengan propilen oksida, dan akhirnya diproses untuk ditanamkan (*embedding*) dalam resin 812 Epon. Bagian yang sedikit tebal ($\pm 0,5 \mu\text{m}$ tebal) dipotong (*section*) dan diwarnai dengan toluidin biru (*toluidine blue*) sebelum dipasang pada slide dan dilihat di bawah mikroskop cahaya Nikon. Bagian Ultra yang tebal (50-70 nm tebal) dipasang pada grid tembaga 200 mesh dan diwarnai dengan asetat uranil (*uranyl acetate*) dan timah sitrat (*lead citrate*) sebelum observasi dengan sebuah Hitachi Tecnai 20 transmisi elektron mikroskop (TEM) yang dioperasikan pada 80 kV.

E. Analisis Data

Analisis statistik yang digunakan untuk menganalisis respon atau pengaruh perubahan salinitas dan waktu terhadap tingkat kerja osmotik, regulasi ion inorganik media dan ion hemolim juvenil udang windu, digunakan Analisis Varians (ANOVA) dengan bantuan Program SAS (*Statistic Analysis System*) aplikasi MINITAB dan jika perlakuan berpengaruh, pengujian dilanjutkan dengan uji lanjut Uji Tukey (Steel and Torrie, 1981). Untuk mengetahui hubungan antar beberapa parameter yang diamati menggunakan uji korelasi regresi pada tingkat kepercayaan 95%. (Steel dan Torrie, 1981). Aktivitas enzim Na⁺/K⁺-ATPase, morfologi struktur dan ultrastruktur kelenjar antennal udang windu serta parameter fisika kimia media diamati dan dijelaskan secara deskriptif.

Alur pelaksanaan penelitian seperti pada Gambar 15 di bawah ini.



Gambar 15. Bagan Alur Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil yang diperoleh dari penelitian tahap pendahuluan dan pada penelitian utama dibahas secara berurutan sebagai berikut :

A. Penelitian Pendahuluan

A.1. Fluktuasi Salinitas di Tambak Udang

Keberlanjutan budidaya tambak sangat tergantung pada kondisi kualitas lingkungan perairan. Kondisi lingkungan perairan yang berbeda mempengaruhi kondisi kualitas lingkungan, baik secara fisika, kimia maupun biologi. Salinitas merupakan parameter dari sifat fisik-kimia lingkungan suatu perairan, selain suhu, pH, substrat dan lain-lain (Brett, *et al.*, 1979). Salinitas mempunyai peran penting dan memiliki ikatan erat dengan kehidupan organisme perairan termasuk udang, dimana secara fisiologis salinitas berkaitan erat dengan penyesuaian tekanan osmotik udang tersebut (Anggoro *et al.*, 2008).

Pengamatan fluktuasi salinitas di tambak telah dilakukan di tambak budidaya udang di Stasiun Maranak, Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros, Sulawesi selatan. Data salinitas diukur setiap hari selama 8 bulan (bulan November 2010 sampai dengan Juni 2011). Hasil pengamatan salinitas (Lampiran 7) menunjukkan bahwa salinitas air tambak budidaya udang di stasiun Maranak secara harian sangat

berfluktuasi. Penurunan salinitas air tambak sampai 6 ppt, sedangkan peningkatan salinitas mencapai 36 ppt. Penurunan salinitas berkisar dari 1 sampai 6 ppt per hari, sedangkan kenaikan salinitas yaitu 1 sampai 5 ppt per hari. Salinitas yang berfluktuasi ini diakibatkan karena terjadi turunnya hujan deras dan cuaca panas yang silih berganti selama pengambilan data salinitas.

Taslihan *dkk.* (2005) menyatakan bahwa fluktuasi salinitas pada tambak budidaya dapat disebabkan oleh: (1) pengaruh musim panas dan musim hujan yang berkepanjangan, (2) masuknya air tawar ke tambak, (3) terjadi air pasang surut di laut, (4) penggunaan sumber air laut di tambak yang berasal dari lingkungan estuari yang salinitasnya berfluktuatif, dan (5) sumber air tawar berasal dari sumur bor yang miskin kandungan ion-ion organik yang sangat dibutuhkan dalam osmoregulasi dan metabolisme biota budidaya.

Musim panas yang berkepanjangan menyebabkan makin besar tingkat penguapan air tambak, maka salinitasnya tinggi, sebaliknya makin besar curah hujan pada musim penghujan, maka salinitas air tambak akan rendah. Banyak sedikitnya sungai yang bermuara ke laut akan mempengaruhi fluktuasi salinitas di perairan estuari dan secara langsung mengakibatkan terjadi fluktuasi salinitas air tambak saat terjadi pasang surut di laut. Pemasukan dan pengeluaran air tambak di stasiun Maranak, Maros sangat bergantung pada pasang surut di laut. Oleh karena itu pasang surut sangat penting bagi kegiatan budidaya tambak tersebut.

Fluktuasi salinitas dan parameter kualitas air lainnya di tambak udang menjadi permasalahan bagi para petani budidaya udang karena udang sebagai biota budidaya akan dapat hidup dan tumbuh normal bila dipelihara pada kondisi lingkungan yang baik dan nyaman. Artinya, lingkungan hidup udang berada pada kondisi nilai parameter yang optimum untuk pertumbuhan serta dalam keadaan stabil atau tidak terjadi perubahan yang drastis selama proses budidaya. Perubahan lingkungan secara drastis akan menyebabkan energi yang digunakan untuk proses adaptasi udang terhadap lingkungan lebih banyak, mengakibatkan pertumbuhan menjadi rendah dan udang berada pada kondisi lemah sehingga mudah terserang penyakit (Suyanto dan Takarina, 2009).

Terkait dengan terjadi fluktuasi parameter lingkungan termasuk fluktuasi salinitas, maka pemilihan lokasi untuk pembangunan tambak menjadi sangat penting. Pemilihan lokasi untuk tambak budidaya udang sangatlah mutlak dilakukan demi terpenuhinya persyaratan teknis baik dari segi lingkungan maupun dari segi fisik/lahan. Boyd (1992), mengemukakan bahwa pembangunan tambak pada umumnya dipilih di daerah sekitar pantai, khususnya yang mempunyai atau dipengaruhi oleh sungai besar, sebab banyak petambak beranggapan, bahwa dengan adanya air payau akan memberikan pertumbuhan ikan/udang yang lebih baik dibanding air laut murni. Selain itu adanya pasang surut di wilayah pantai, karena pada umumnya sumber air yang dibutuhkan untuk seluruh kegiatan budidaya di tambak tergantung dari sumber ini.

Lebih lanjut Adiwidjaya *dkk.* (2004), menyarankan untuk memperkecil fluktuasi parameter lingkungan di tambak, perlu di terapkan teknologi budidaya udang sistem tertutup dengan standar prosedur operasional. Beberapa persyaratannya antara lain: a) konstruksi tambak kedap air; b) harus ada petak pembesaran, tandon biofilter, tandon endapan, tandon karantina/treatment; c) air media pemeliharaan steril (standar air baku); d) pengelolaan air dan lumpur secara periodik; e) pengendalian oksigen (oksigen minimal pagi hari >3,5 ppm); f) pengendalian pH dan alkalinitas harian (tidak lebih dari 0,5).

Sehubungan dengan kondisi tersebut di atas, maka setiap standar prosedur dalam proses produksi pada budidaya udang harus mengikuti kaidah dan prinsip budidaya tambak yang baik dan benar sesuai dengan kondisi lingkungan. Monitoring dan pengelolaan salinitas serta parameter lingkungan lainnya pada tambak budidaya udang menjadi hal penting.

A. 2. Kemampuan Osmoregulasi

Pengamatan tingkat kerja osmotik juvenil udang windu pada penelitian pendahuluan ini dilakukan, ditujukan untuk mempelajari kemampuan osmolaritas juvenil udang windu pada level salinitas media yang berbeda, dan hasilnya akan digunakan dalam menentukan perlakuan salinitas media pemeliharaan pada penelitian utama.

Untuk mengetahui kemampuan osmoregulasi juvenil udang dilakukan pengamatan dan pengukuran nilai osmolaritas media,

osmolaritas hemolim, selanjutnya tingkat kerja osmotik juvenil udang. Pengamatan dilakukan selama 24 dan 48 jam pemeliharaan saat perubahan salinitas yaitu penurunan salinitas (A1 = 25 ppt; A2 = 25-19 ppt; A3 = 25-13 ppt; A4 = 13-7;ppt, A5 = 13-4 ppt) dan menaikkan salinitas (B1 = 25-31 ppt; B2 =31-35 ppt;, B3 = 25-37 ppt; B4 = 37-39 ppt; B5 = 37-41 ppt).

Nilai osmolaritas media pemeliharaan juvenil udang windu yang diamati pada perubahan salinitas baik penurunan maupun kenaikan dengan waktu pemeliharaan disajikan pada Tabel 2 dan 3, dan data selengkapnya pada Lampiran 8 dan 9.

Tabel 2. Nilai osmolaritas media pemeliharaan juvenil udang windu pada penurunan salinitas media pemeliharaan

Waktu	Rerata + SD Nilai Osmolaritas Media (mOsm/L)				
	25ppt	19ppt	13ppt	7ppt	4ppt
24 jam	688 ± 8.9	563 ± 46.1	472 ±16.5	354 ± 37.2	232 ±18.2
48 jam	703 ± 28.4	595 ± 30.6	349 ±28.2	278 ± 62.3	255 ±10.6

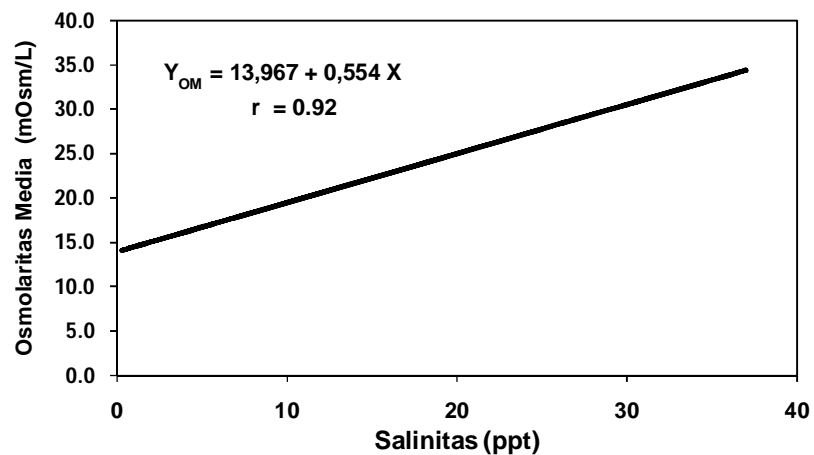
Tabel 3. Nilai osmolaritas media pemeliharaan juvenil udang windu pada menaikkan salinitas media pemeliharaan

Waktu	Rerata + SD Nilai Osmolaritas Media (mOsm/L)				
	31ppt	35ppt	37ppt	39ppt	41ppt
24 jam	617 ± 15.7	1074 ± 65.5	1171 ± 29.6	1037 ± 37.1	1152 ±84.4
48 jam	1083 ±16.6	1109 ±10.6	1115 ± 6.7	1148 ±12.7	1169 ±12.8

Nilai osmolaritas media tertinggi (1171±29.6 mOsm/L), diperoleh pada salinitas 37 ppt, waktu 48 jam, dan nilai terendah (232±18.2 mOsm/L) terdapat pada salinitas 4 ppt, waktu 24 jam). Terlihat bahwa

nilai osmolaritas media mengecil seiring dengan penurunan salinitas dan membesar seiring dengan peningkatan salinitas.

Peningkatan nilai osmolaritas media berkorelasi positif dengan peningkatan salinitas media pemeliharaan ($r=0,92$) dengan persamaan $Y_{OM} = 13,967 + 0,554 X$. Persamaan regresi ini mengekspresikan adanya korelasi yang positif dan kuat antara peningkatan salinitas media pemeliharaan dengan peningkatan osmolaritas media dan sebaliknya (Gambar 16 dan Lampiran 10).



Gambar 16. Grafik hubungan salinitas dengan osmolaritas media pemeliharaan udang

Demikian juga hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa salinitas media memberikan pengaruh yang nyata ($P<0.05$) terhadap osmolaritas media pemeliharaan juvenil udang windu (Lampiran 11).

Hal ini dapat dipahami karena sifat osmotik air berasal dari seluruh elektrolit yang larut dalam air tersebut, dengan demikian semakin tinggi salinitas, semakin besar konsentrasi elektrolit, sehingga tekanan osmotik

media semakin tinggi. Dapat dikatakan bahwa semakin besarnya konsentrasi ion terlarut di dalam media, akan semakin tinggi tingkat kepekaan osmolaritas larutan, sehingga menyebabkan makin besarnya tekanan osmotik media (McConnaughey dan Zottoly, 1983).

Nilai osmolaritas hemolim juvenil udang windu yang diamati pada perubahan salinitas baik penurunan maupun kenaikan terkait dengan waktu pemeliharaan disajikan pada Tabel 4 dan 5, data selengkapnya pada Lampiran 12 dan 13.

Tabel 4. Nilai osmolaritas hemolim juvenil Udang windu pada penurunan salinitas media pemeliharaan

Waktu	Rerata + SD Nilai Osmolaritas Hemolim (mOsm/L)				
	25ppt	19ppt	13ppt	7ppt	4ppt
24 jam	691 ± 17.1	544 ± 79.2	461 ± 67.5	422 ± 34,0	409 ± 52.8
48 jam	700 ± 17.3	624 ± 58.2	602 ± 12.8	536 ± 16.6	567 ± 45.4

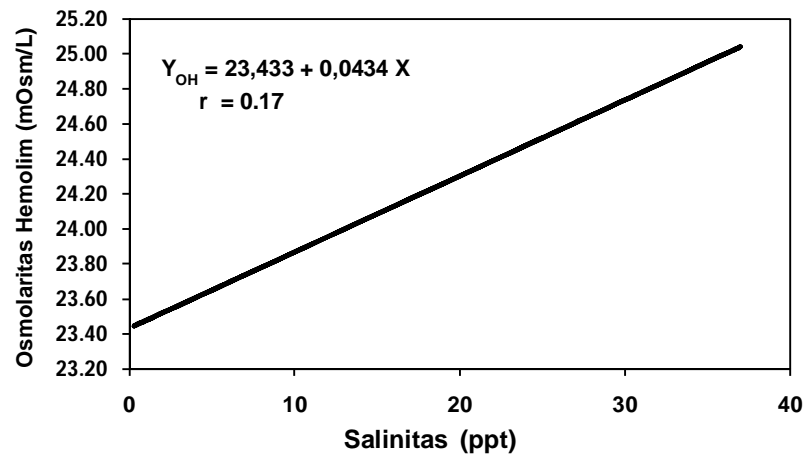
Tabel 5. Nilai osmolaritas hemolim juvenil Udang windu pada kenaikan salinitas media pemeliharaan

Waktu	Rerata + SD Nilai Osmolaritas Hemolim (mOsm/L)				
	31ppt	35ppt	37ppt	39ppt	41ppt
24 jam	599 ± 69.4	455 ± 28.9	453 ± 72.4	485 ± 35.3	455 ± 20.1
48 jam	687 ± 11.3	674 ± 13.9	659 ± 39.7	658 ± 11.4	617 ± 22.6

Osmolaritas hemolim juvenil udang windu saat penurunan salinitas terlihat sedikit berfluktuasi dan cenderung menurun seiring dengan menurunnya salinitas baik pada waktu 24 maupun 48 jam pemeliharaan (Tabel 4 dan 5). Nilai osmolaritas hemolim tertinggi (700 ± 17.3 mOsm/L),

diperoleh pada juvenil udang yang berada pada salinitas 25 ppt dan waktu 48 jam, dan terendah (409 ± 52.8 mOsm/L) terdapat pada juvenil di salinitas 4 ppt dan waktu 24 jam. Ternyata juvenil udang windu yang dipelihara selama 24 jam memiliki nilai osmoraritas lebih kecil dari nilai osmolaritas hemolim juvenil udang pada 48 jam. Kondisi yang sama berlaku juga ketika peningkatan salinitas media pemeliharaan, ini mengindikasikan bahwa osmolaritas hemolim juvenil udang meningkat seiring lamanya waktu pemeliharaan.

Terdapat hubungan yang positif antara salinitas media dan osmolaritas hemolim hasil analisis regresi (Gambar 17 dan Lampiran 14). mengikuti persamaan regresi $Y_{OH} = 23,433 + 0,0434X$ dengan nilai koefisien hubungan kecil ($r=0,17$), dan lereng yang rendah ($b=0,043$), mengindikasikan osmolaritas hemolim juvenil hanya sedikit dipengaruhi oleh salinitas media.



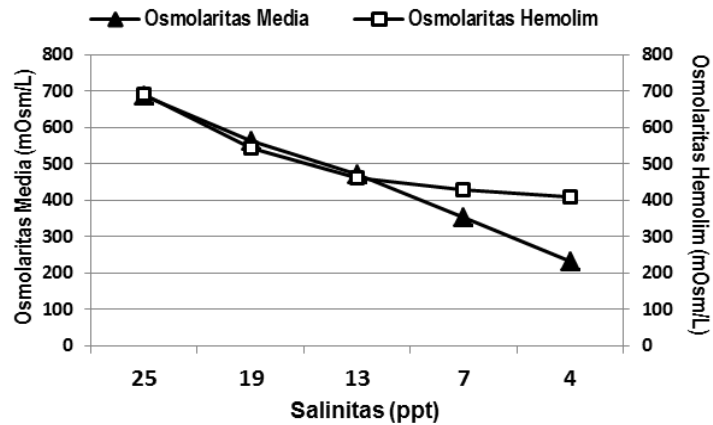
Gambar 17. Grafik hubungan salinitas dengan osmolaritas hemolim juvenil udang windu

Kondisi seperti ini juga dilaporkan oleh Franklin *et al.* (1992), bahwa ada hubungan linear positif yang signifikan antara osmolaritas plasma dari flounder euryhaline *P. Orbignyana* dengan osmolalitas ambient air namun, hanya sedikit pengaruhnya karena lereng yang ditemukan sangat rendah ($b=0,041$). Menurutny, ketidakseimbangan osmotik ini dianggap sebagai gejala dari 'non-adaptasi'.

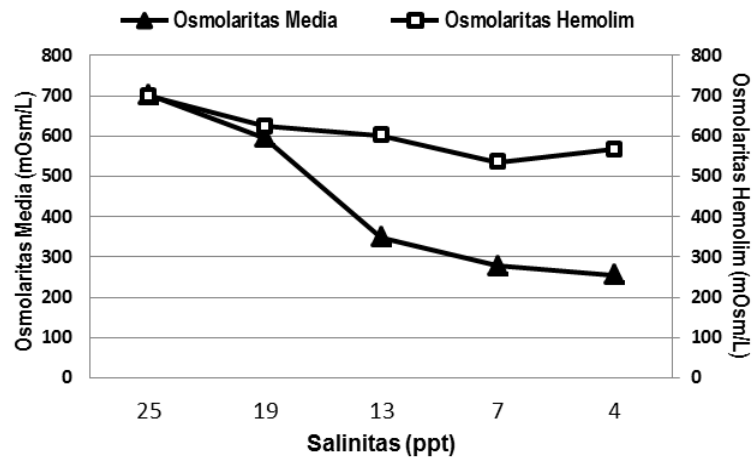
Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa salinitas media memberikan pengaruh yang nyata ($P<0.05$) terhadap osmolaritas hemolim juvenil udang windu (Lampiran 15). Namun Lightner (1996) mengemukakan bahwa nilai osmolalitas hemolim juvenil udang windu tidak selamanya dipengaruhi oleh salinitas air, pada salinitas yang sama, namun diakibatkan juga oleh gangguan eksternal lainnya yang menyebabkan kondisi stress fisiologi udang, sehingga nilai osmolalitas hemolimy akan menurun. Hal lain yang berpeluang untuk menyebabkan terjadinya penurunan tingkat osmolalitas juvenil udang windu adalah diduga tingginya kelarutan ion-ion dalam media pemeliharaan sebagai efek dari sekresi juvenil udang windu yang berlebihan dalam merespon intervensi densitas tinggi (Lignot *et al*, 2000).

Terdapat perbedaan besar antara nilai osmolaritas hemolim juvenil dengan nilai osmolaritas media yang diamati selama pengamatan baik pada saat penurunan maupun saat peningkatan salinitas media (Gambar 18, 19, 20 dan 21). Perbedaan nilai osmolaritas hemolim jvenil udang dan

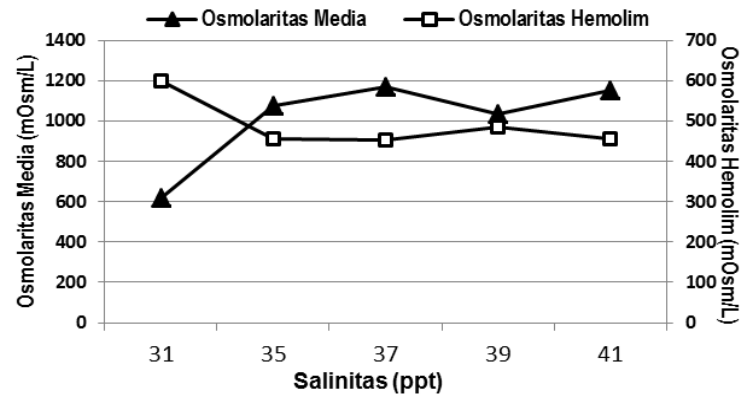
osmolaritas media tersebut akan menentukan tingkat kerja osmotik dari juvenil udang windu.



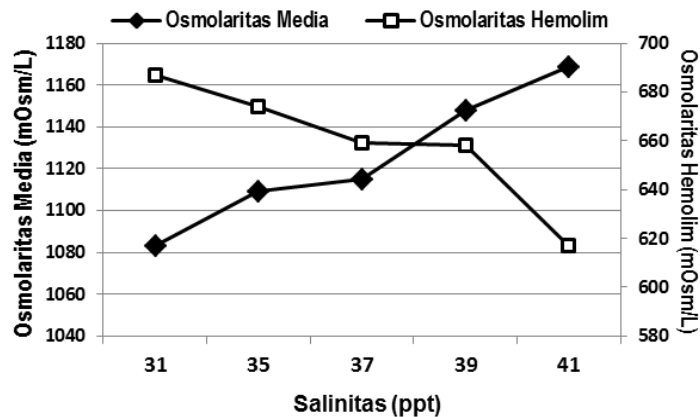
Gambar 18. Grafik plot rata-rata nilai osmolaritas media dan hemolim juvenil udang windu pada penurunan salinitas media selama 24 jam pemeliharaan



Gambar 19. Grafik plot rata-rata nilai osmolaritas media dan hemolim juvenil udang windu pada penurunan salinitas media selama 48 jam pemeliharaan



Gambar 20. Grafik plot rata-rata nilai osmolaritas media dan osmolaritas hemolim juvenil udang windu pada kenaikan salinitas media selama 24 jam pemeliharaan

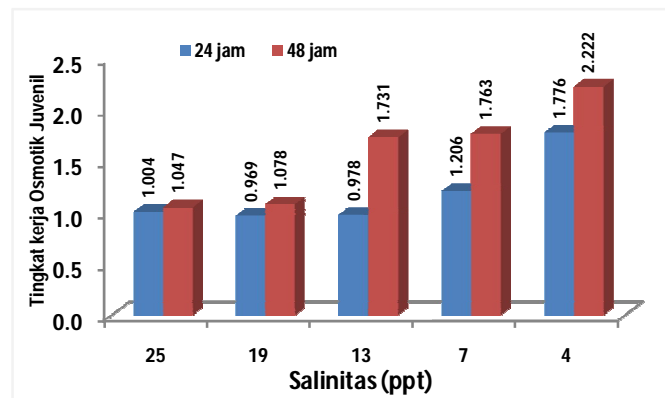


Gambar 21. Grafik plot rata-rata nilai osmolaritas media dan osmolaritas hemolim juvenil udang windu pada kenaikan salinitas media selama 48 jam pemeliharaan

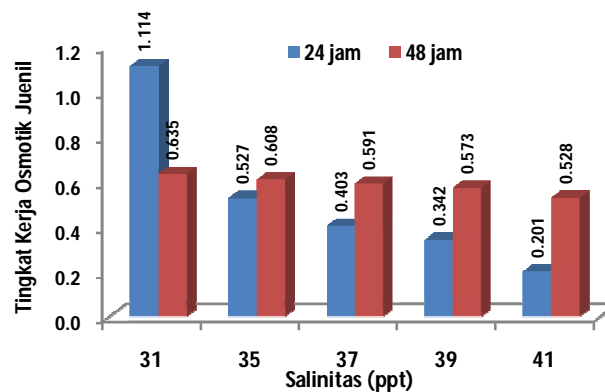
Hasil pengukuran osmolaritas hemolim juvenil udang windu dan osmolaritas media dalam penelitian pendahuluan ini menunjukkan bahwa juvenil udang windu adalah organisme osmoregulator, yaitu organisme yang mempunyai mekanisme faali untuk menjaga kemantapan *milieu*

interieur-nya dengan cara mengatur osmolaritas (kandungan garam dan air) pada cairan internalnya (Mantel dan Farmer, 1983).

Tingkat kerja osmotik merupakan kemampuan osmoregulasi yang diperlukan untuk mengetahui dan mengevaluasi kondisi fisiologi udang pada salinitas yang berbeda yang didefinisikan oleh Charmantier *et al.* (1989) sebagai perbedaan antara tekanan osmotik hemolim udang dan osmolaritas media eksternal, pada salinitas tertentu. Hasil evaluasi tingkat kerja osmotik pada penelitian pendahuluan terlihat pada Gambar 22 dan 23, dan data selengkapnya pada Lampiran 16 dan 17.



Gambar 22. Kurva nilai Tingkat Kerja Osmotik juvenil udang windu pada penurunan salinitas media pemeliharaan



Gambar 23. Kurva nilai Tingkat Kerja Osmotik juvenil udang windu pada penaikan salinitas media pemeliharaan

Nilai tingkat kerja osmotik juvenil udang windu tertinggi terjadi saat penurunan salinitas yaitu salinitas 4 ppt dan waktu 48 jam dengan nilai sebesar $2,22 \pm 0,32$ (Gambar 22), dan nilai terendah terjadi ketika salinitas dinaikan yaitu pada salinitas 41 ppt pada 24 jam dengan nilai sebesar $0,201 \pm 0,015$ (Gambar 23).

Pada kondisi lingkungan dengan salinitas rendah (hiposmotik), cairan tubuh juvenil udang bersifat hiperosmotik terhadap media eksternalnya. Nilai osmolaritas haemolim juvenil udang dan osmolaritas media pada salinitas 4 ppt sebesar 409 dan 232 mOsm/L (24 jam) sementara 567 dan 255 mOsm/L (48 jam) yang menunjukkan perbedaan nilai osmolaritas yang besar (Gambar 18 dan 19). Demikian pula pada kondisi lingkungan yang hiperosmotik, misalnya pada salinitas 41 ppt diperoleh nilai osmolaritas hemolim juvenil udang dan osmolaritas media sebesar 455 dan 1152 mOsm/L (24 jam) sebesar 617 dan 1169 mOsm/L (48 jam) yang menunjukkan perbedaan yang besar pula (Gambar 20 dan 21), mengakibatkan juvenil udang berada pada kondisi ketidakseimbangan osmotik hemolim dengan osmotik media eksternalnya

Untuk mengatasi hal itu, juvenil udang akan berusaha mempertahankan kemantapan osmolaritas cairan tubuh melalui mekanisme regulasi hiperosmotik, yaitu dengan cara meningkatkan absorpsi ion (garam) dari media eksternal melalui insang dan usus serta

menghasilkan urin yang hiposmotik melalui organ ekskresi (kelenjar antenna) dan sebaliknya juvenil udang harus mengeluarkan sejumlah kelebihan ion (garam) dari dalam tubuhnya melalui urine yang hiperosmotik (Gilles dan Pequeux, 1983; Mantel dan Farmer, 1983). Pada kondisi ini, juvenil udang membutuhkan energi dalam jumlah yang besar untuk kinerja osmotik.

Pada lingkungan isosmotik yaitu pada salinitas 25 ppt nilai osmolaritas hemolim juvenil dan media yang diperoleh sebesar 691 dan 688 mOsm/L (24 jam dan 48 jam) sebesar 700 dan 703 mOsm/L, menunjukkan perbedaan yang sangat kecil (Gambar 18 dan 19), sehingga nilai tingkat kerja osmotik yang diperoleh adalah 1.004 dan 1.047 (Gambar 22). Nilai tingkat kerja osmotik ini mendekati 1 artinya juvenil udang windu mempunyai regulasi isoosmotik (Ferraris *et al.*, 1986), dimana energi yang dibutuhkan untuk kinerja osmotik lebih sedikit.

Chen *et al.* (1995), mengatakan bahwa tingkat kerja osmotik minimum dapat dicapai apabila udang hidup pada media yang tidak jauh dari kondisi isoosmotik (TKO=1). Sebaliknya jika berada pada media yang jauh dari titik isosmotik, udang akan mengalami gangguan fisiologis karena terjadi ketidakseimbangan osmotik, menyebabkan beban kerja osmotik juvenil udang meningkat sehingga energi hasil metabolisme lebih banyak digunakan untuk proses osmoregulasi.

Peningkatan nilai tingkat kerja osmotik juvenil udang windu berkorelasi positif dengan perubahan salinitas media maupun waktu

pemeliharaan ($r=0,92$) dengan persamaan regresi $Y_{TKO} = 1.5655 - 0,0231X_1 + 0.0130X_2$. Persamaan regresi ini menunjukkan pola kuadratik dan mengekspresikan adanya korelasi yang positif dan kuat antara peningkatan salinitas media pemeliharaan dengan tingkat kerja osmotik juvenil udang windu (Lampiran 18). Demikian pula hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa salinitas media memberikan pengaruh yang nyata ($P<0.05$) terhadap tingkat kerja osmotik juvenil udang windu (Lampiran 19)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa juvenil yang berada pada salinitas rendah (4 ppt) memperlihatkan kerja hiperosmotik, dengan nilai tingkat kerja osmotik yang meningkat (Gambar 22), sedangkan ketika berada pada salinitas tinggi (41 ppt) memperlihatkan kerja hiposmotik dengan nilai tingkat kerja osmotik rendah (Gambar 23).

Seperti yang ditemukan pada *P. chinensis*, memperlihatkan hiperosmotik atau regulasi hipertonik pada salinitas yang lebih rendah dan hiposmotik atau regulasi hipotonik pada salinitas tinggi (Castille dan Lawrence, 1981; Ferraris *et al.*, 1986). Media yang terlalu hipotonik serta kerja hiperosmotik yang terlalu besar atau sebaliknya dapat menghambat kemampuan juvenil beradaptasi dengan perubahan salinitas lingkungan sehingga menyebabkan stres

Menurut Verslycke dan Janssen (2002), bahwa ketika organisme ditempatkan pada medium yang tekanan osmotik yang lebih tinggi atau tekanan osmotik yang rendah, proses yang membutuhkan energi terjadi

untuk memelihara tekanan osmotik internal agar tetap konstan atau seimbang. Apabila energi untuk aktivitas osmoregulasi meningkat maka energi untuk pertumbuhan menurun sehingga akan menurunkan laju pertumbuhan (Nurjana, 1986).

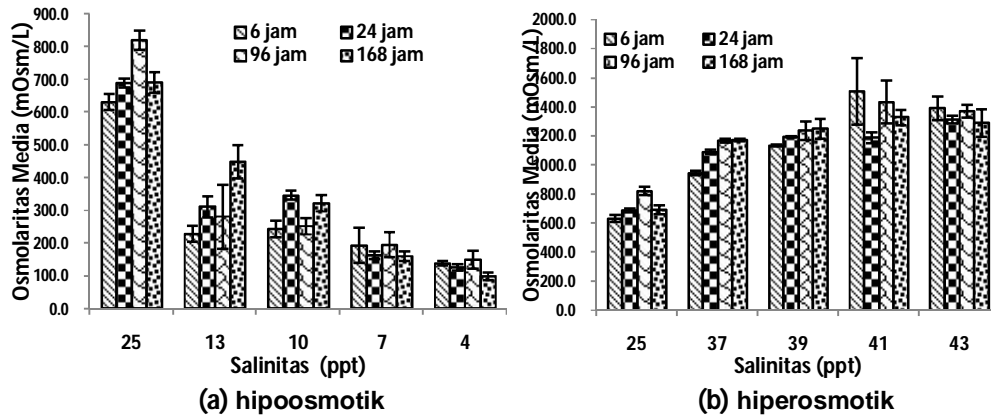
Dari hasil pengamatan pada penelitian pendahuluan dan kajian-kajian yang telah dikemukakan diatas, maka dapat disimpulkan bahwa perubahan salinitas lingkungan menyebabkan juvenil udang windu berada dalam kondisi yang tidak stabil dan secara fisiologis terganggu sehingga melakukan kerja osmotik yang tinggi yang memerlukan banyak energi untuk melakukan proses osmoregulasi. Oleh karena itu perlu dilakukan analisis lanjut yang lebih dalam sehubungan dengan respon fisiologis juvenil udang windu terhadap perubahan salinitas meliputi pengaturan ion-ion serta peran enzim dan kerja organ osmoregulasi dalam rangka adaptasi terhadap perubahan salinitas lingkungan.

B. Penelitian Utama

B. 1. Pengaruh Salinitas pada Osmoregulasi Udang Windu

1. Osmolaritas Media dan Osmolaritas Hemolimf

Hasil pengukuran nilai osmolaritas media (OM) pemeliharaan juvenil udang windu pada media hipoosmotik dan media hiperosmotik berdasarkan salinitas, waktu dan interaksi salinitas waktu ditunjukkan pada Gambar 24, data selengkapnya pada Lampiran 20, 21 dan 22.



Gambar 24 Plot rata-rata nilai osmolaritas media percobaan berdasarkan interaksi salinitas dan waktu pemeliharaan yang berbeda, (a) pada media hipoosmotik dan (b) media hiperosmotik.

Nilai osmolaritas media menurun ketika perubahan penurunan salinitas dari media isosmotik (25 ppt) ke hiposmotik (13, 10, 7, dan 4 ppt) berdasarkan salinitas maupun interaksi waktu dan salinitas, namun terlihat berfluktuasi berdasarkan waktu di setiap level salinitas (Gambar 24a), sebaliknya meningkat ketika salinitas meningkat (Gambar 24b). Kondisi ini mengindikasikan bahwa osmolaritas media mengecil pada salinitas rendah atau media bersifat hipoosmotik dan membesar pada salinitas

yang tinggi atau media hiperosmotik. Nilai osmolaritas media tertinggi sebesar 1508.0 ± 58.64 mOsm/L, berada pada media hiperosmotik (salinitas 41 ppt dan waktu 6 jam), sedangkan terendah sebesar 98.67 ± 12.22 mOsm/L pada media hipoosmotik (salinitas 4 ppt, waktu 168 jam) (Gambar 24 ; Lampiran 20 dan 21). Kenyataannya, pada salinitas yang lebih rendah (13,10,7 dan 4 ppt) atau media yang bersifat hiposmotik, nilai osmolaritas media lebih kecil dibandingkan dengan media yang lebih pekat (37, 39, 41, dan 43 ppt) atau media yang bersifat hiperosmotik.

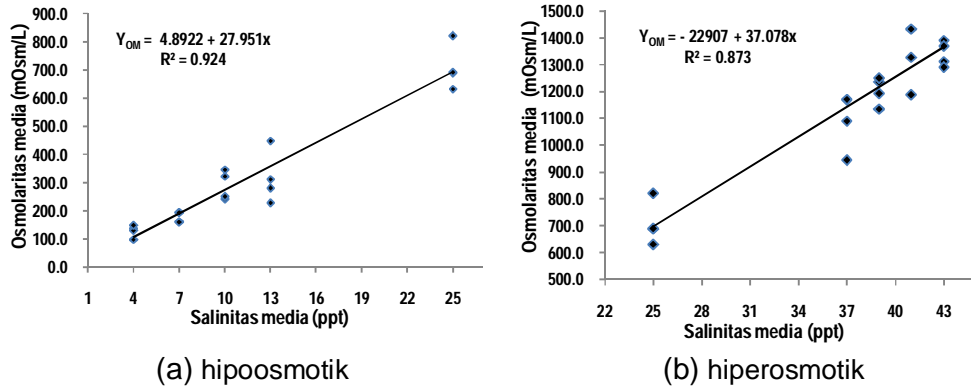
Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan salinitas, waktu pemeliharaan maupun interaksi salinitas dan waktu sangat nyata ($P < 0.01$) mempengaruhi nilai osmolaritas media pemeliharaan (Lampiran 23), dengan nilai $R^2 = 0.988$. Kenyataan ini mengindikasikan bahwa 98.8% keragaman osmolaritas media ditentukan oleh salinitas, waktu dan interaksi kedua faktor tersebut dan hanya 1,2% yang dipengaruhi oleh faktor lain. Lebih dipertegas lagi dengan hasil analisis uji beda lanjut Tukey ($\alpha = 0.5$), bahwa terdapat perbedaan antar perlakuan salinitas kecuali pada media hipoosmotik yaitu salinitas 4 ppt tidak berbeda dengan 7 ppt dan salinitas 10 ppt tidak berbeda dengan 13 ppt, sementara pada media hiperosmotik salinitas 41 ppt tidak berbeda dengan 43 ppt. Terlihat bahwa perlakuan salinitas pada media hipoosmotik berbeda dengan hiperosmotik dan juga dengan isoosmotik (Lampiran 24). Berdasarkan waktu, perlakuan 6, 24 dan 168 jam tidak berbeda namun ketiganya

berbeda dengan 96 jam (Lampiran 25). Sedangkan interaksi antara perlakuan salinitas dan waktu menunjukkan media hipoosmotik berbeda dengan isosmotik, juga berbeda dengan hiperosmotik, kecuali salinitas 13 ppt, 168 jam (media hipoosmotik) tidak berbeda dengan salinitas 25 ppt, 6 jam (media isoosmotik), dan salinitas 25 ppt, 24,96,168 jam (isoosmotik) tidak berbeda dengan salinitas 37 ppt, 6 jam (hiperosmotik) (Lampiran 26).

Kenyataan menunjukkan bahwa osmolaritas media makin membesar dengan peningkatan salinitas, diakibatkan oleh peningkatan konsentrasi ion-ion terlarut dalam media dan tingkat kerja osmolaritas udang windu selama percobaan. Menurut McConnaughhey dan Zottoly (1983) bahwa sifat osmotik air berasal dari seluruh elektrolit yang larut dalam air tersebut, dengan demikian semakin tinggi salinitas, semakin besar konsentrasi elektrolit, sehingga tekanan osmotik media semakin tinggi. Dapat dikatakan bahwa semakin besarnya konsentrasi ion terlarut di dalam media, akan semakin tinggi tingkat kepekaan osmolaritas larutan, sehingga menyebabkan makin besarnya tekanan osmotik media.

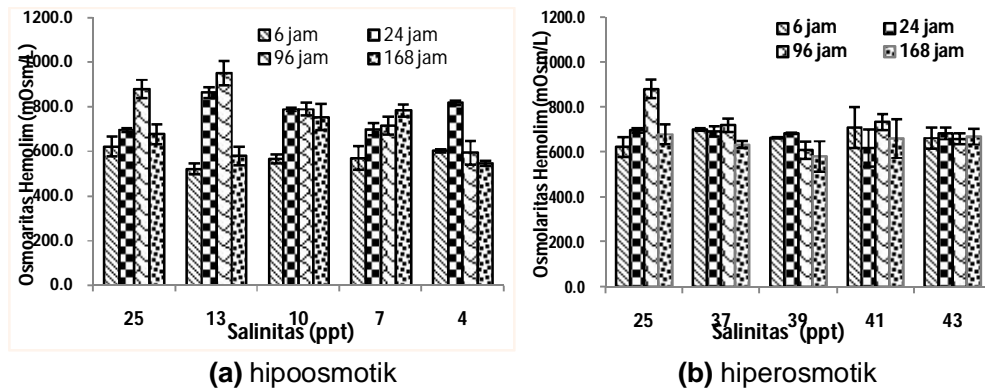
Hal ini terbukti dengan adanya hubungan yang positif dan kuat antara salinitas media (X) dengan osmolaritas media pemeliharaan udang windu (Y_{OM}) baik pada media hiposmotik ($r^2=0.92$), mengikuti persamaan $Y_{OM} = 4.8922 + 27.951 X$ dan pada media hiperosmotik yang memiliki nilai $r^2=0.87$ dengan persamaan regresi $Y_{OM} = - 22907 + 37.078 X$ (Gambar 25). Persamaan regresi yang diperoleh menunjukkan bahwa

salinitas sangat berpengaruh terhadap osmolaritas media saat diturunkan atau dinaikkan.



Gambar 25. Hubungan salinitas dengan osmolaritas media pemeliharaan juvenil udang windu, (a) media hipoosmotik dan (b) media hiperosmotik.

Hasil pengukuran nilai osmolaritas hemolim (OH) juvenil udang windu pada media hipoosmotik dan media hiperosmotik berdasarkan salinitas, waktu dan interaksi salinitas waktu ditunjukkan pada Gambar 26, dan data selengkapnya pada Lampiran, 27, 28 dan 29.



Gambar 26. Plot rata-rata nilai osmolaritas hemolim udang windu berdasarkan interaksi salinitas dan waktu pengamatan berbeda, (a) pada media hipoosmotik; (b) media hiperosmotik.

Nilai osmolaritas hemolim (OH) juvenil udang windu tertinggi ditemukan pada juvenil udang di media hipoosmotik (salinitas 13 ppt pada 96 jam) yaitu 953 ± 54.03 mOsm/L, dan nilai terendah pada juvenil di media hipoosmotik juga (salinitas 13 ppt dan 168 jam) yaitu 524.00 ± 24.88 mOsm/L (Gambar 26 dan Lampiran 27).

Nilai konsentrasi osmolaritas hemolim juvenil udang windu yang terlihat pada Gambar 25 sangat berfluktuasi baik berdasarkan salinitas maupun waktu teristimewa pada media hipoosmotik. Kenyataan ini juga dibuktikan dengan hasil analisis keragaman yang menunjukkan bahwa salinitas, waktu maupun interaksi kedua faktor ini sangat nyata ($P < 0.01$) mempengaruhi nilai osmolaritas hemolim udang windu, dengan nilai $R^2 = 0.835$ (Lampiran 30). Ini berarti 83.5% keragaman osmolaritas hemolim juvenil udang windu ditentukan oleh salinitas, waktu dan interaksi kedua faktor tersebut dan sisanya dipengaruhi oleh faktor lain di luar model.

Hasil uji beda lanjut Tukey ($\alpha = 0.5$) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan antar perlakuan salinitas pada media isoosmotik (25 ppt) dengan hipoosmotik, namun berbeda dengan hiperosmotik khususnya salinitas 41 dan 43 ppt. Demikian pula perlakuan salinitas pada media hiposmotik (10 dan 13 ppt) berbeda dengan semua level salinitas pada media hiperosmotik (Lampiran 31). Perlakuan waktu 24 dan 96 jam tidak berbeda namun berbeda dengan 6 dan 168 jam (Lampiran 32).

Sementara interaksi salinitas dan waktu pemeriharaan menunjukkan perbedaan sangat bervariasi antar perlakuan (Lampiran 33).

Fluktuasi osmolaritas hemolim ini berkaitan dengan mekanisme osmoregulasi yang dilakukan juvenil ketika berada dalam kondisi ketidakseimbangan osmotik akibat fluktuasi salinitas media dan juvenil selalu berusaha melakukan adaptasi fisiologis baik pada media hiposmotik maupun pada media hiperosmotik.

Sejalan dengan hasil beberapa penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa fluktuasi osmolaritas hemolim udang berkaitan dengan mekanisme osmoregulasi yang dilakukan udang ketika berada pada kondisi media dengan salinitas yang berbeda, seperti yang dibuktikan oleh Lignot *et al.* (1999), menyatakan bahwa osmolaritas hemolim udang *P. stylostris* yang dipelihara di tambak, berfluktuasi sesuai atau mengikuti waktu.

Beberapa penelitian lain juga menunjukkan bahwa dibutuhkan waktu untuk menstabilkan konsentrasi hemolim udang jika terjadi fluktuasi salinitas lingkungannya seperti *Penaeus setiferus* membutuhkan waktu 3 sampai 4 hari untuk menstabilkan hemolimnya ketika ditransfer ke salinitas yang berbeda (Castille dan Lawrence, 1981); untuk *P. indicus* minimal 48 jam (Diwan dan Laxminarayana, 1989); untuk *P. dourarum* lebih besar dari 24 jam (Burse dan Lane, 1971), dan udang *P. monodon* 24 sampai 48 jam (Diwan *et al.* 1989). Selanjutnya dikatakan bahwa umumnya ketika udang ditransfer ke salinitas yang berbeda, ada

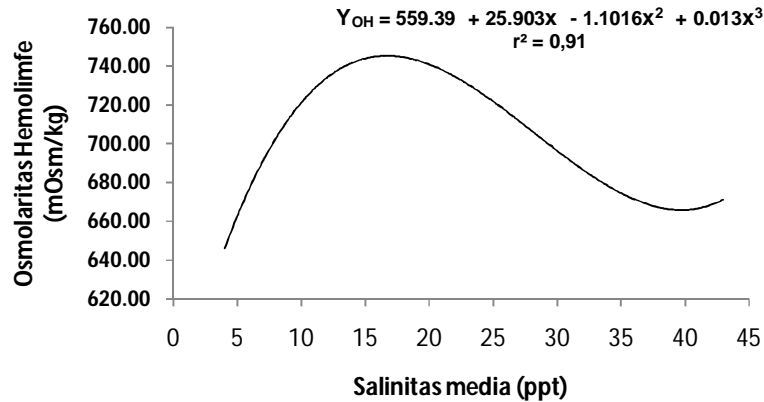
perubahan yang cepat dalam konsentrasi osmolaritas hemolim dan untuk mencapai ekuilibrium yang stabil hewan membutuhkan waktu.

Perubahan salinitas media menyebabkan fluktuasi osmolaritas hemolim juvenil udang windu yang mengakibatkan juvenil berada dalam kondisi ketidakseimbangan osmotik, sehingga juvenil berusaha melakukan adaptasi fisiologis. Karena perubahan salinitas berpengaruh terhadap osmolaritas media pemeliharaan, yang secara langsung berpengaruh terhadap fluktuasi konsentrasi ion-ion dalam media yang penting dalam proses osmoregulasi seperti natrium dan klorida. Terkait pula dengan proses molting (walaupun tidak diteliti dalam penelitian ini) yang dalam hubungannya dengan pertumbuhan udang itu sendiri, dimana ion-ion inorganik dibutuhkan untuk proses molting teristimewa ion kalsium.

Sejalan dengan yang kemukakan oleh Chen *et al.* (1995), bahwa osmolaritas hemolim dari *Penaeus chinensis* secara linier berhubungan dengan osmolaritas eksternal. Fenomena yang sama juga ditemukan pada udang *P. stylirostris* (Lemaire *et al.* 2002) dan *P. laticulatus* (Huynh dan Fotedar, 2004). Jadi osmolaritas hemolim sangat dipengaruhi oleh salinitas media dan ini ditunjukkan dengan analisa hubungan antara salinitas media dengan konsentrasi hemolim juvenil udang windu.

Hubungan antara salinitas media (X) dan konsentrasi osmolaritas hemolim juvenil udang (Y_{OH}) pada semua media, terlihat terdapat suatu hubungan yang positif dan sangat kuat berpolakan kubik, mengikuti

persamaan $Y_{OH} = 559.39 + 25.903 X - 1.1016 X^2 + 0.013 X^3$, dengan koefisien korelasi $r^2=0.91$ (Gambar 27).

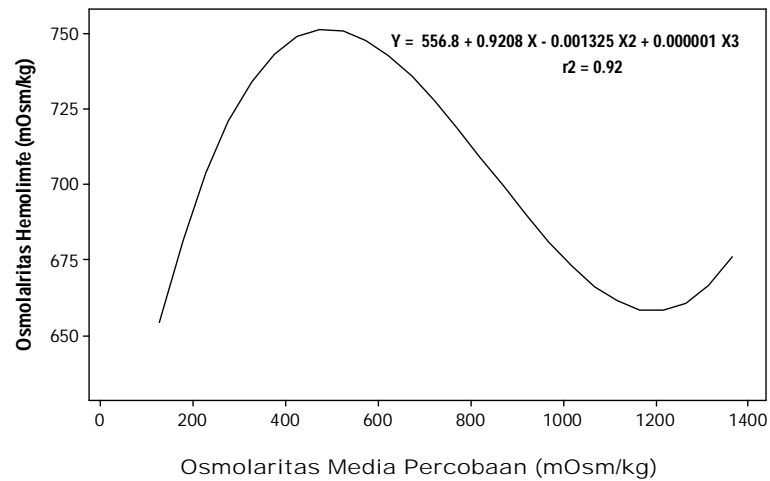


Gambar 27. Hubungan salinitas media dengan osmolaritas hemolimfe udang windu

Salinitas berhubungan erat dengan osmoregulasi hewan air, apabila terjadi penurunan salinitas secara mendadak dan dalam kisaran yang cukup besar, maka akan menyulitkan hewan dalam pengaturan osmoregulasi tubuhnya sehingga hewan dapat mengalami gangguan fisiologi bahkan dapat menyebabkan kematian. Disamping itu, salinitas air merupakan variabel yang berpengaruh langsung terhadap osmolalitas media dan osmoregulasi hewan air (Anggoro, 2000).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ada korelasi antara osmolaritas hemolimfe juvenil udang windu ini dengan osmolaritas media, yang dibuktikan dengan hasil analisis korelasi, yang memperlihatkan suatu hubungan yang positif dan kuat antara osmolaritas media (X) dan osmolaritas hemolimfe udang (Y) yang berpolakan kubik (Gambar 28), mengikuti persamaan $Y = 5568 + 0.9208 X - 0.01325 X^2 + 0.000001 X^3$,

($r^2=0.92$) (Gambar 28). Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan atau penurunan osmolaritas media sangat mempengaruhi konsentrasi osmolaritas hemolim juvenil udang windu.



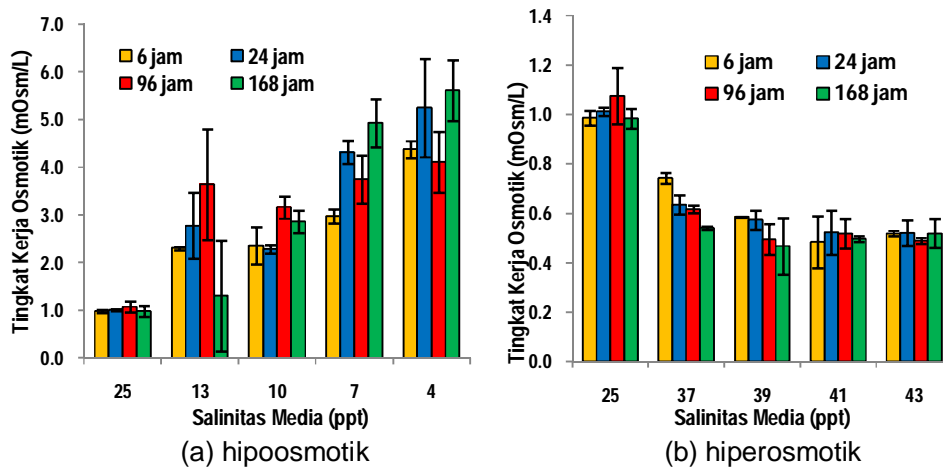
Gambar 28. Hubungan osmolaritas media pemeliharaan dengan osmolaritas hemolim juvenil udang windu

Terjadinya peningkatan atau penurunan osmolaritas hemolim juvenil udang berkaitan dengan mekanisme osmoregulasi yang dilakukan udang untuk beradaptasi dengan perubahan salinitas media eksternalnya. Sejalan dengan itu, Lignot *et al.* (1999), Huynh dan Fotedar (2004), menegaskan bahwa osmoregulasi merupakan mekanisme adaptasi lingkungan yang penting bagi organisme akuatik khususnya krustase. Fenomena yang sama diperoleh Ferraris *et al.* (1986), Diwan *et al.* (1989), Chen and Lin (1994), Chen and Chia (1997), Lemaire *et al.* (2002), Huynh and Fotedar (2004), Souters *et al.* (2006), dan Tantulo and Fotedar (2007), pada krustase *Penaeus monodon*, *P. stylolostris*, *P. laticulatus* dan

Scylla serrata, yang osmolaritasnya meningkat dengan peningkatan salinitas media.

2. Tingkat Kerja Osmotik dan Regulasi Ion

Tingkat kerja osmotik yang dialami juvenil udang windu diperoleh dari perbandingan antara osmolaritas media eksternal dan osmolaritas cairan tubuh (hemolim) juvenil udang windu. Nilai tingkat kerja osmotik juvenil udang windu disaji pada Gambar 29 dan Lampiran 34, 35 dan 36.



Gambar 29. Tingkat kerja osmotik (TKO) juvenil udang windu berdasarkan salinitas media dan waktu pemeliharaan yang berbeda, pada (a) media hypoosmotik dan (b) media hiperosmotik

Rerata nilai tingkat kerja osmotik juvenil udang windu tertinggi terjadi pada media hypoosmotik (salinitas 4 ppt, waktu 24 jam) yaitu 6.572 ± 1.24 mOsm/L, dan terendah adalah media hiperosmotik (salinitas 39 ppt, waktu 168 jam) yaitu $0,467 \pm 0,07$ mOsm/L. Dari hasil pengukuran osmolaritas hemolim juvenil udang windu, osmolaritas media dan nilai tingkat kerja osmotik yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa udang

windu adalah organisme osmoregulator, yaitu organisme yang mempunyai mekanisme faali untuk menjaga kemantapan *milieu interieur*-nya dengan cara mengatur osmolaritas (kandungan garam dan air) pada cairan internalnya (Mantel dan Farmer, 1983).

Hasil analisis tingkat kerja osmotik juvenil udang windu pada Gambar 29 memperlihatkan adanya perbedaan tingkat kerja osmotik udang ketika terjadi penurunan salinitas atau udang berada pada media hiposmotik, dan ketika terjadi peningkatan salinitas atau udang berada pada media hiperosmotik, maupun ketika udang berada pada media sekitar media isoosmotik. Nilai tingkat kerja osmotik ini mengindikasikan bahwa juvenil udang windu bersifat hiperosmotik ketika berada pada media bersalinitas rendah (hiposmotik) dan bersifat hiposmotik bila berada pada media bersalinitas tinggi (hiperosmotik). Pada media di luar dan jauh dari kisaran isoosmotik (media salinitas 25 ppt), juvenil udang windu memiliki kinerja osmotik yang tinggi untuk keperluan osmoregulasinya.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa salinitas media dan interaksi salinitas dan waktu pemeliharaan memberi pengaruh yang sangat nyata ($p < 0.01$) terhadap tingkat kerja osmotik udang, namun waktu tidak nyata ($p > 0.05$) mempengaruhi tingkat kerja osmotik udang windu (Lampiran 37) dengan nilai $R^2 = 0,962$, artinya keragaman tingkat kerja osmotik udang windu sebagian besar (96.2%) ditentukan oleh salinitas maupun interaksi antara salinitas dan waktu.

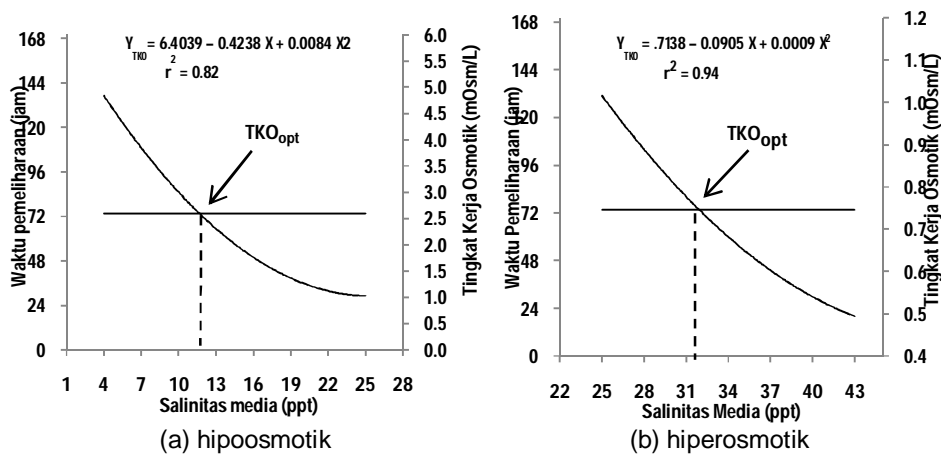
Keragaman tingkat kerja osmotik juvenil udang windu ini menunjukkan bahwa salinitas maupun interaksi salinitas dan waktu memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap kehidupan juvenil udang yang dibudidayakan. Hal ini berarti juvenil udang tersebut selalu berusaha untuk membuat keseimbangan tekanan osmotik tubuhnya dengan media hidupnya melalui mekanisme osmoregulasi. Dalam proses pengaturan osmotik dalam tubuh, semakin tinggi maupun semakin rendah salinitas media semakin tinggi beban kerja juvenil udang. Untuk menyeimbangkan tekanan osmolaritas (media dan hemolim) maupun menyeimbangkan kandungan elektrolit (media dan hemolim), jadi energi yang terbuang kearah kinerja osmotik lebih besar.

Hasil uji lanjut Tukey ($\alpha=0.05$), menunjukkan bahwa perlakuan salinitas pada media isoosmotik tidak berbeda dengan media hiperosmotik, namun berbeda dengan media hipoosmotik. Kemudian pada media hipoosmotik terlihat salinitas 10 dan 13 ppt tidak berbeda namun berbeda dengan salinitas 7 dan 4 ppt, sementara salinitas 7 ppt berbeda dengan 4 ppt (Lampiran 38). Berdasarkan interaksi salinitas dan waktu terlihat bahwa untuk semua level salinitas dan waktu pada media isoosmotik tidak berbeda dengan media hiperosmotik, namun kedua media ini berbeda dengan perlakuan interaksi salinitas dan waktu pada media hipoosmotik (Lampiran 39).

Hubungan interaksi salinitas media dan waktu pemeliharaan dengan tingkat kerja osmotik udang windu memperlihatkan hubungan dengan pola

kuadratik baik pada media hipoo smotik maupun pada media hiperosmotik (Gambar 30). Hubungan yang ditunjukkan dengan persamaan regresi yaitu $Y_{TKO} = 6.4039 - 0.4238 X + 0.0084X^2$ ($r^2=0.82$) untuk media hipoosmotik dan $Y_{TKO} = .7138 - 0.0905 X + 0.0009 X^2$ ($r^2=0.94$). Nilai korelasi ini menunjukkan suatu hubungan yang positif dan sangat kuat pada kedua media, terutama pada media hiperosmotik.

Hasil analisa tingkat kerja osmotik juvenil udang windu berdasarkan Interaksi perlakuan salinitas dan waktu juvenil udang windu yang di plot dalam suatu grafik (Gambar 30), memperlihatkan titik perpotongan antara salintas dan waktu, yang mengindikasikan titik tingkat kerja osmotik optimum (titik TKO_{opt}) dari level salinitas maupun waktu pemeliharaan baik pada media hipoosmotik (Gambar 30a) maupun pada media hiperosmotik (Gambar 30b).



Gambar 30. Hubungan interaksi salinitas media dan waktu pemeliharaan dengan tingkat kerja osmotik juvenil udang windu pada (a) media hipoosmotik dan (b) media hiperosmotik.

Dari Gambar 30 ini dapat dijelaskan bahwa pada media

hiposmotik, kisaran salinitas <13 ppt dan >72 jam waktu pemeliharaan akan menjadi ancaman bagi kehidupan juvenil udang karena nilai tingkat kerja osmotik juvenil bertambah besar menjauh dari titik isoosmotik (TKO=1), mengindikasikan ketidakseimbangan osmotik antara hemolim juvenil dan media. Demikian pula pada media hiperosmotik kisaran salinitas >31 ppt dan >72 jam waktu pemeliharaan akan menjadi ancaman bagi kehidupan juvenil.

Walaupun udang windu termasuk organisme akuatik eurihalin yang memiliki kemampuan untuk menjaga lingkungan internalnya dengan cara mengatur osmolaritas (kandungan garam dan air) pada cairan internalnya, namun kenyataan dari hasil penelitian ini menunjukkan ketika terjadi perubahan salinitas media, maka juvenil udang berusaha untuk mempertahankan keseimbangan cairan tubuhnya. Dalam kondisi seperti ini sejumlah besar energi digunakan untuk keperluan osmoregulasinya, sehingga hanya sedikit pembelanjaan energi bagi kebutuhan hidup pokok, dan ini berdampak negatif terhadap pertumbuhan dan kelangungan hidup juvenil udang.

Sifat osmotik dari salinitas media bergantung ada seluruh ion yang terlarut di dalam media tersebut. Ion-ion utama yang menentukan osmolaritas media adalah Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , dan SO_4^{2-} . Hasil pengukuran konsentrasi ion-ion hemolim juvenil udang dan ion-ion media pemeliharaan pada berbagai tingkat perubahan salinitas dan waktu

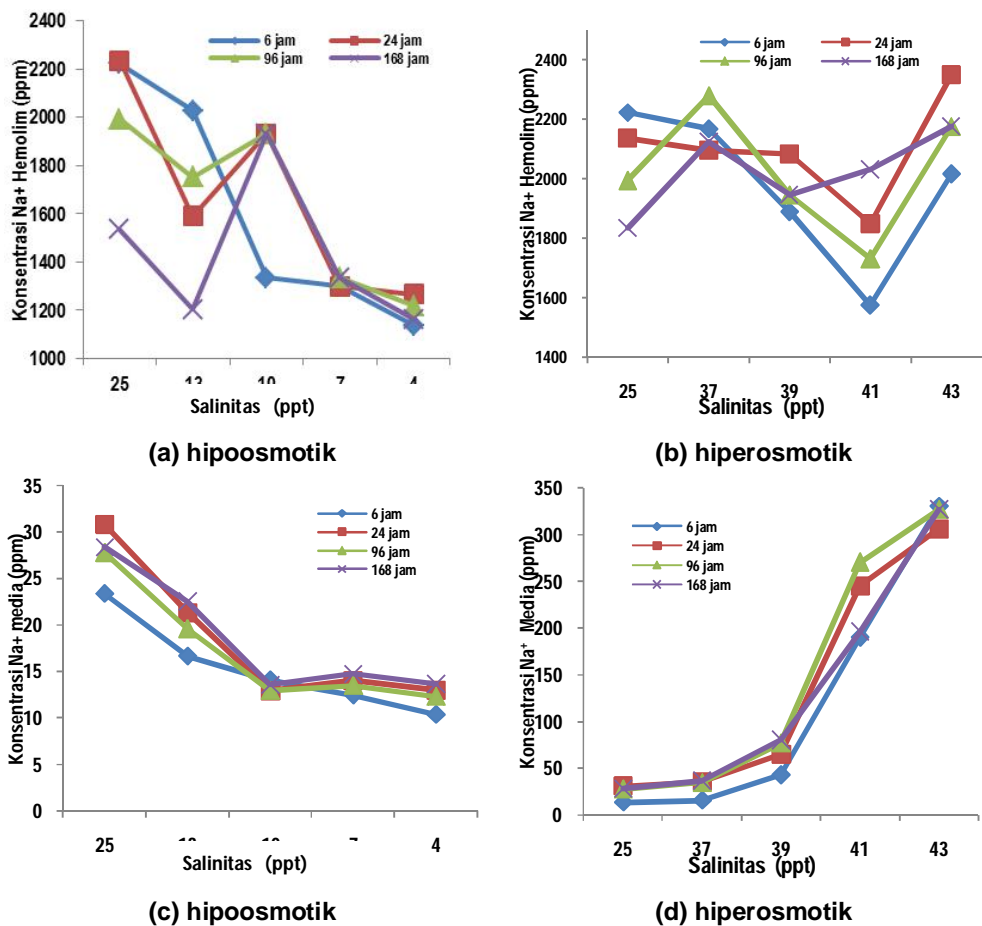
pemeliharaan disajikan pada Gambar 31, 32, 33, 34 35 36, dan data selengkapnya pada Lampiran 40, 41, 42, 43, 44 dan 45.

Ketika salinitas media diturunkan dari media bersifat isoosmotik (salinitas 25 ppt) ke media hiposmotik (salinitas 13, 10, 7 dan 4 ppt), terjadi penurunan konsentrasi ion-ion hemolim, dengan waktu pemeliharaan berfluktuasi dengan pola yang bervariasi. Sementara konsentrasi ion-ion hemolim meningkat ketika salinitas media dinaikkan dari media isoosmotik (salinitas 25 ppt) ke media hiperosmotik (salinitas 37, 39, 41, 43 ppt), yang memperlihatkan pola yang bervariasi juga.

Hasil pengukuran konsentrasi ion konsentrasi Na^+ hemolim juvenil tertinggi adalah 2278.19 ppm berada pada juvenil di media hiperosmotik (salinitas 37 ppt dan 96 jam), dan konsentrasi terendah adalah 1162.19 ppm berada pada juvenil di media hipoosmotik (salinitas 4 ppt dan 168 jam). Sementara konsentrasi Na^+ media tertinggi adalah 330.338 ppm, terdapat pada juvenil di media hiperosmotik (salinitas 41 ppt dan 6 jam), dan terendah adalah 12.316 ppm terdapat pada juvenil di media hiposmotik, yaitu pada salinitas 4 ppt dan 96 jam (Gambar 31).

Pada media hiposmotik, konsentrasi Na^+ hemolim menurun ketika penurunan salinitas dari 25 ke 13 ppt dan terjadi pada semua level waktu pemeliharaan, dan meningkat lagi ketika salinitas diturunkan dari 13 ke 10 ppt di semua level waktu kecuali pada waktu 6 jam (Gambar 31a). Pada media hiperosmotik konsentrasi Na^+ hemolim meningkat pada salinitas 37 ppt, selanjutnya menurun seiring dengan peningkatan salintas pada

salinitas 41 ppt (Gambar 31b). Sedangkan konsentrasi Na^+ media menurun ketika terjadi penurunan salinitas pada media hiposmotik dan meningkat seiring dengan naiknya salinitas pada media hiperosmotik. (Gambar 31c dan 31d).



Gambar 31. Rata-rata konsentrasi Na^+ hemolim dan Na^+ media pemeliharaan udang windu berdasarkan salinitas dan waktu. (a) Na^+ hemolim pada media hiposmotik; (b) Na^+ hemolim pada media hiperosmotik; (c) Na^+ media pada media hiposmotik dan (d) Na^+ media pada media hiperosmotik.

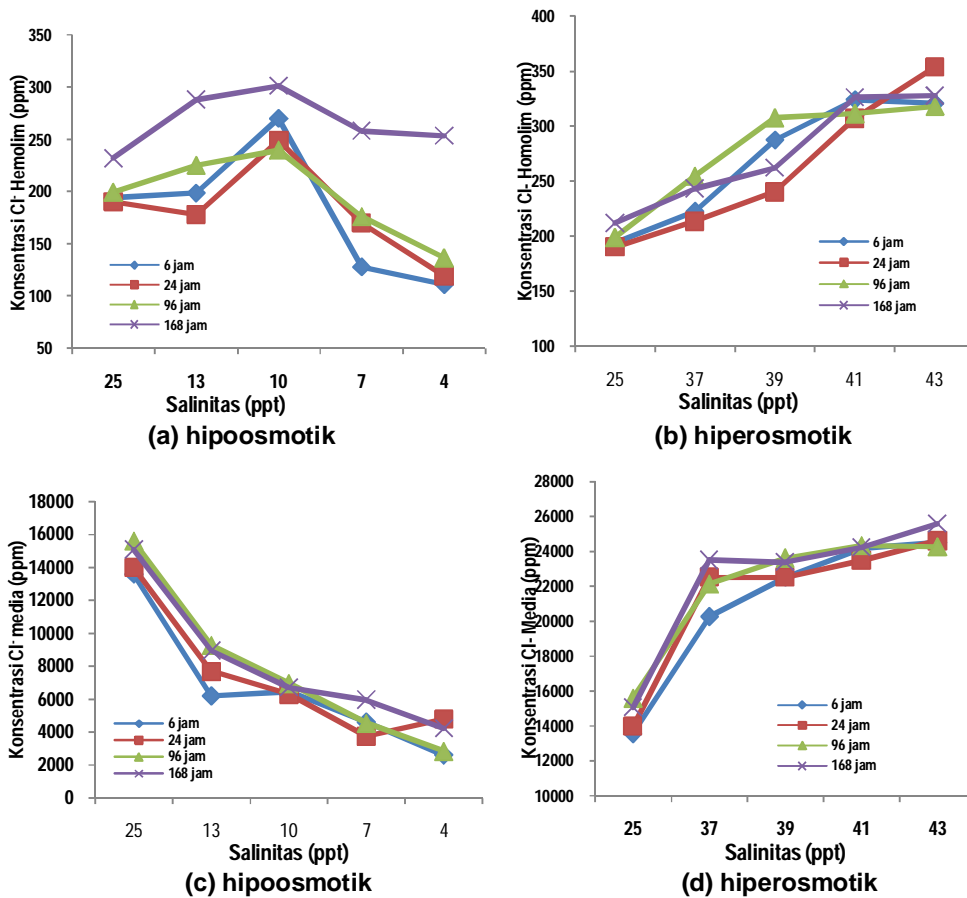
Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa salinitas, waktu pemeliharaan dan interaksi kedua faktor berpengaruh sangat nyata

($P < 0.01$) terhadap konsentrasi Na^+ hemolim udang maupun konsentrasi Na^+ medium, kecuali faktor waktu pemeliharaan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap konsentrasi Na^+ medium pemeliharaan (Lampiran 46 dan 47). Perolehan hasil analisis keragaman ini menunjukkan bahwa ketika udang windu berada pada salinitas rendah atau pada media hipoosmotik, konsentrasi Na^+ hemolim berfluktuasi dan cenderung menurun, sebaliknya ketika terjadi perubahan peningkatan salinitas atau pada media hiperosmotik, Na^+ hemolim berfluktuasi dan cenderung meningkat. Selain itu, peningkatan salinitas media berkontribusi meningkatkan Na^+ media, dan penurunannya seiring dengan penurunan salinitas media di semua level waktu. Hasil uji lanjut Tukey ($\alpha = 0.05$) terhadap konsentrasi Na^+ hemolim maupun Na^+ media memperlihatkan tidak ada perbedaan antar perlakuan salinitas dan interaksi salinitas dan waktu dari udang yang berada di media hiposmotik, dan juga pada media hiperosmotik. Hasil uji Tukey selengkapnya disajikan pada Lampiran 48, 49 dan 50 untuk Na^+ hemolim juvenil udang, sedangkan untuk Na^+ media disaji pada Lampiran 51 dan 52.

Nilai konsentrasi Cl^- hemolim tertinggi (353.412 ppm) diperoleh pada media hiperosmotik yaitu salinitas 43 ppt dalam waktu 24 jam, dan Cl^- terendah (110.86 ppm) terdapat pada media hipoosmotik, yaitu salinitas 4 ppt dalam 6 jam pemeliharaan. Sedangkan konsentrasi Cl^- media tertinggi (25608.8 ppm) diperoleh pada media hipoosmotik, yaitu 43 ppt dengan

waktu 168 ppm dan terendah (2399.5 ppm) yang diperoleh pada media hipoosmotik, yaitu salinitas 4 ppt dengan waktu 96 jam.

Konsentrasi Cl^- hemolim berfluktuasi dan cenderung menurun seiring dengan penurunan salinitas media untuk sama waktu kecuali waktu 168 jam, dan cenderung naik seiring dengan peningkatan salinitas media (Gambar 32a, b, c, d).



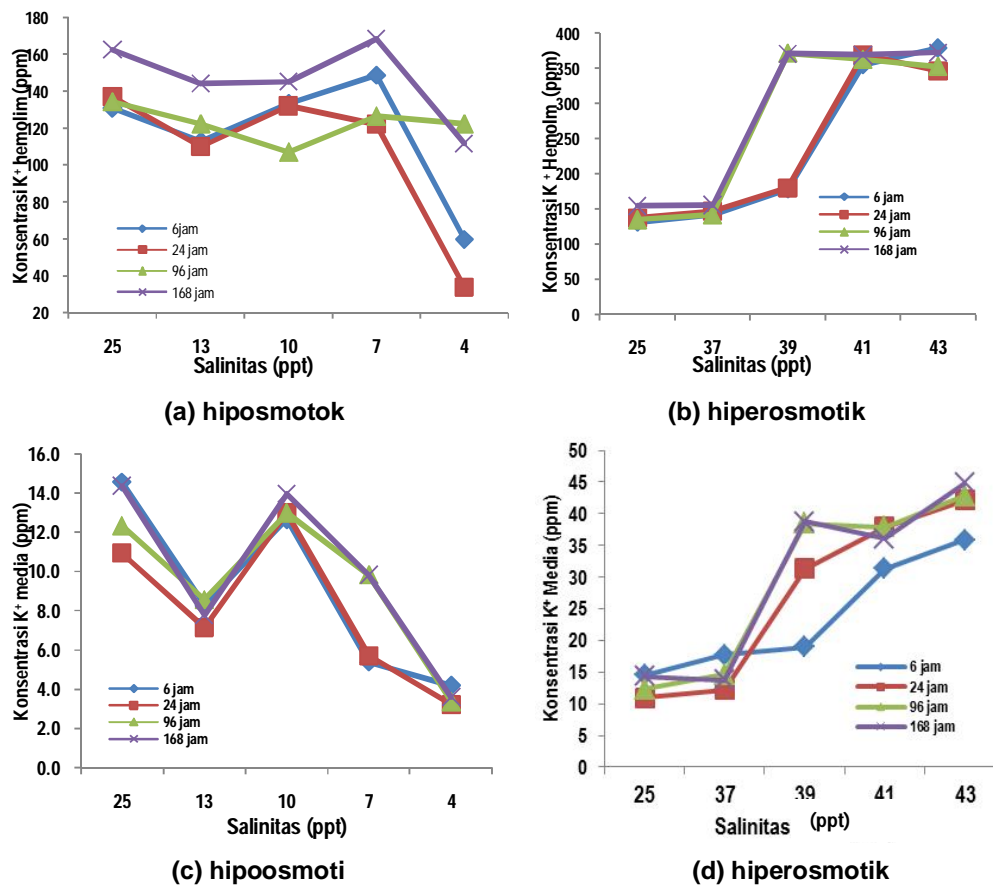
Gambar 32. Rata-rata konsentrasi Cl^- hemolim dan Cl^- media pemeliharaan udang windu berdasarkan salinitas dan waktu. (a) Cl^- hemolim pada media hipoosmotik; (b) Cl^- hemolim pada media hiperosmotik; (c) Cl^- media pada media hipoosmotik dan (d) Cl^- media pada media hiperosmotik.

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan salinitas, waktu dan interaksi antara kedua faktor berpengaruh sangat nyata ($p < 0.01$) terhadap konsentrasi Cl^- hemolim, sementara salinitas dan waktu sangat nyata ($p < 0.01$) mempengaruhi konsentrasi Cl^- media pemeliharaan, sementara interaksi antara kedua faktor perlakuan tidak berpengaruh nyata ($P > 0.05$) (Lampiran 53 dan 54). Keragaman konsentrasi Cl^- hemolim adalah 76.8% dan Cl^- media pemeliharaan sebesar 99.1%, menunjukkan bahwa sebagian besar konsentrasi Cl^- di hemolim dan di media dipengaruhi oleh faktor salinitas, waktu dan interaksi salinitas dan waktu pemeliharaan.

Dari hasil uji beda lanjut Tukey ($\alpha = 0.05$) untuk faktor waktu, terlihat bahwa tidak ada perbedaan antar perlakuan waktu (6, 24 dan 96 jam) terhadap konsentrasi Cl^- hemolim namun berbeda dengan waktu 168 jam (Lampiran 55, 56, 57). Sementara terdapat perbedaan antara perlakuan salinitas dan waktu pemeliharaan pada media hipoosmotik dan di salinitas tinggi atau media hiperosmotik (Lampiran 58, 59, 60).

Nilai konsentrasi Kalium (K^+) hemolim tertinggi (372.158 ppm) diperoleh pada udang di media hiperosmotik, yaitu salinitas 43 ppt, waktu 6 jam dan terendah (33.767 ppm) diperoleh pada media hipoosmotik, yaitu salinitas 4 ppt dan waktu 24 jam. Sedangkan konsentrasi K^+ media tertinggi (44.8014 ppm) diperoleh pada media hiperosmotik yaitu pada salinitas 43 ppt, waktu 168 jam dan terendah (3.2232 ppm) pada media hipoosmotik yaitu salinitas 4 ppt dengan waktu 96 jam. Terlihat

konsentrasi K^+ cenderung menurun dengan menurunnya salinitas pada semua waktu pemeliharaan kecuali pada salinitas 10 dan 7 ppt dan meningkat sesuai dengan peningkatan salinitas media kecuali pada udang yang dipelihara selama 168 jam pada salinitas 37 ppt yang menurun drastis (Gambar 33a).



Gambar 33. Rata-rata konsentrasi K^+ hemolim dan K^+ media pemeliharaan udang windu berdasarkan salinitas dan waktu. (a) K^+ hemolim pada media hipoosmotik; (b) K^+ hemolim pada media hiperosmotik; (c) K^+ media pada media hipoosmotik dan (d) K^+ media pada media hiperosmotik.

Demikian juga konsentrasi K^+ pada media hipoosmotik yang menurun seiring dengan penurunan salinitas dan semakin membesar dengan peningkatan salinitas media, kecuali pada salinitas 10 ppt terjadi peningkatan konsentrasi K^+ hemolim untuk semua waktu pemeliharaan (Gambar 33b).

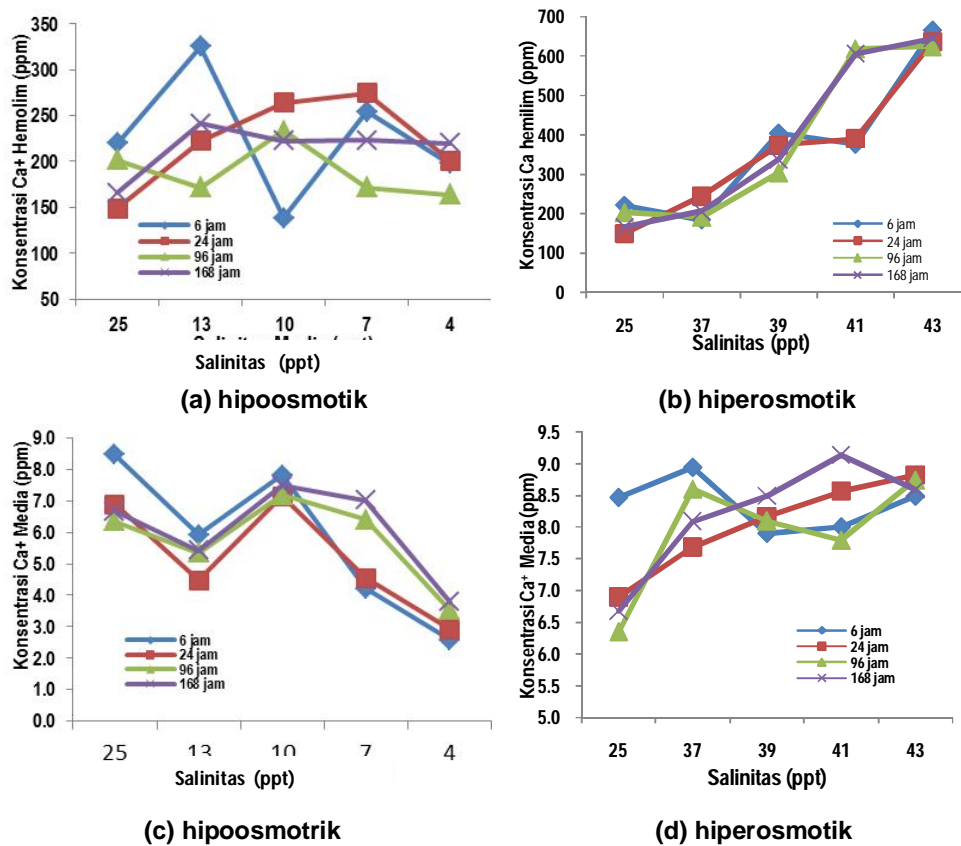
Semua nilai konsentrasi K^+ hemolim maupun K^+ media sangat nyata ($P < 0.01$) dipengaruhi oleh perlakuan salinitas, waktu pemeliharaan maupun intreraksi antara kedua faktor tersebut (Lampiran 61 dan 62).

Keragaman konsentrasi K^+ hemolim adalah 95.4 % dan K^+ media pemeliharaan sebesar 97.7%, menunjukkan bahwa sebagian besar konsentrasi K^+ di hemolim dan di media dipengaruhi oleh faktor salinitas, waktu dan interaksi salinitas dan waktu pemeliharaan. Hasil analisis uji lanjut Tukey ($\alpha = 0.05$) memperlihatkan adanya perbedaan antar perlakuan salinitas, waktu pemeliharaan maupun interaksi salinitas dan waktu terhadap konsentrasi K^+ hemolim maupun K^+ media pemeliharaan (Lampiran 63, 64, 65, 66, 67, dan 68).

Rata-rata nilai konsentrasi kalsium (Ca^{2+}) hemolim udang windu yang berada pada media bersalinitas rendah (hipoosmotik) ketika penurunan salinitas menunjukkan trend yang berfluktuasi dan cenderung menurun juga dalam waktu pemeliharaan, dan meningkat mengikuti kenaikan salinitas media (Gambar 34a dan 34b).

Nilai konsentrasi Ca^{2+} hemolim tertinggi (644.247ppm) diperoleh pada media hiperosmotik yaitu pada salinitas 43 ppt dalam waktu 168 jam,

dan konsentrasi Ca^{2+} hemolim terendah (149.145 ppm) terdapat pada media isoosmotik, yaitu pada salinitas 25 ppt dalam 24 jam pemeliharaan. Sedangkan konsentrasi Ca^{2+} media tertinggi (9.1281 ppm) diperoleh pada media hiperosmotik, yaitu pada salinitas 43 ppt dengan waktu 168 jam dan terendah (2.5749 ppm) diperoleh pada media hipoosmotik, yaitu pada salinitas 4 ppt dengan waktu 6 jam.



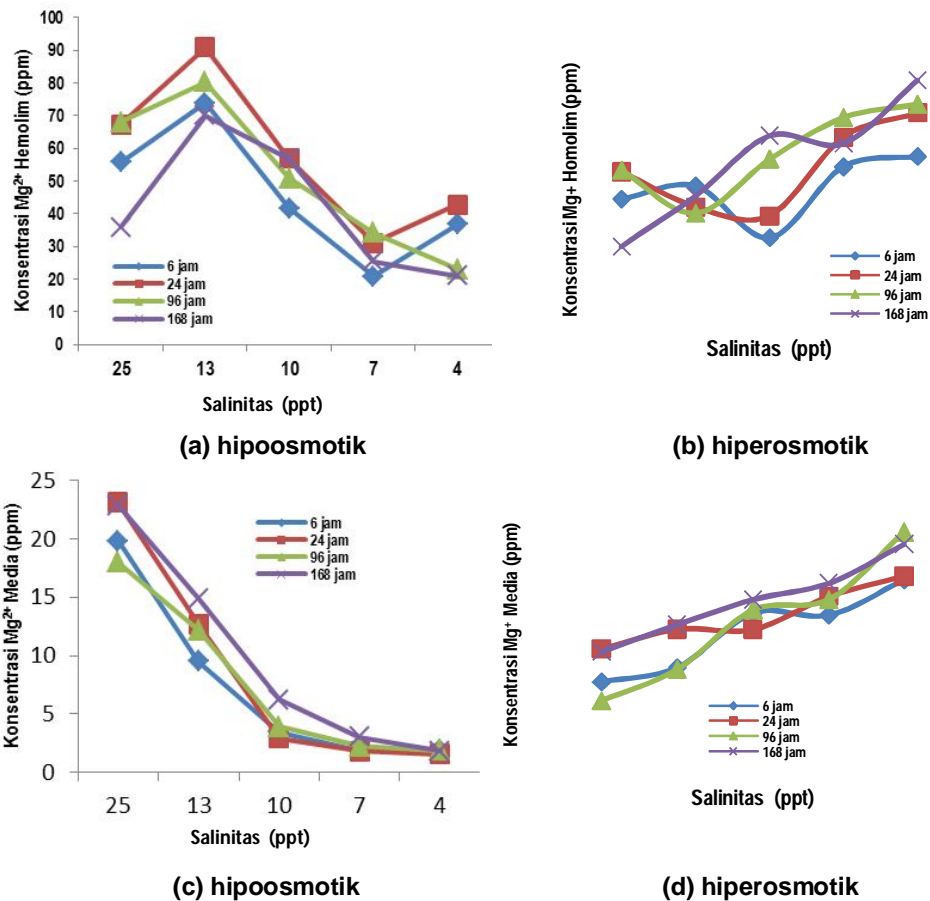
Gambar 34. Rata-rata konsentrasi Ca^{2+} hemolim dan Ca^{2+} media pemeliharaan udang windu berdasarkan salinitas dan waktu. (a) Ca^{2+} hemolim pada media hipoosmotik; (b) Ca^{2+} hemolim pada media hiperosmotik; (c) Ca^{2+} media pada media hipoosmotik dan (d) Ca^{2+} media pada media hiperosmotik.

Kenyataan ini mengindikasikan bahwa ketika udang berada pada medium hiposmotik, konsentrasi Ca^{2+} hemolim menurun dan meningkat ketika udang berada pada media hiperosmotik. Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa salinitas sangat nyata ($0 < 0.01$) mempengaruhi konsentrasi Ca^{2+} hemolim dan waktu tidak berpengaruh nyata ($P > 0.05$), sedangkan interaksi salinitas dan waktu pemeliharaan berpengaruh nyata ($P < 0.05$) (Lampiran 69).

Selanjutnya, waktu nyata ($p < 0.05$) mempengaruhi konsentrasi Ca^{2+} media sedangkan salinitas maupun interaksi salinitas dan waktu sangat nyata ($p < 0.01$) berpengaruh terhadap konsentrasi Ca^{2+} media (Lampiran 70). Keragaman konsentrasi Ca^{2+} baik di hemolim (87.4%), maupun Ca^{2+} media (93.6%), sebagian besar ditentukan oleh faktor salinitas, waktu maupun interaksi salinitas dan waktu pemeliharaan. Berdasarkan hasil analisis uji lanjut Tukey ($\alpha = 0.05$) terlihat adanya perbedaan perlakuan salinitas, waktu pemeliharaan maupun interaksi salinitas dan waktu terhadap konsentrasi Ca^{2+} hemolim udang antar media hiposmotik dengan di media hiperosmotik, sedangkan tidak terlihat adanya perbedaan antar perlakuan di dalam media hiposmotik maupun di dalam media hiperosmotik (Lampiran 71, 72, 73, 74, 75, 76).

Nilai konsentrasi Mg^{2+} hemolim tertinggi (105.721 ppm) diperoleh pada media hiperosmotik yaitu salinitas 43 ppt dalam waktu 168 jam, dan konsentrasi Mg^{2+} hemolim terendah (21.039 ppm) terdapat pada media hiposmotik, yaitu pada salinitas 4 ppt dalam 24 jam pemeliharaan.

Sedangkan konsentrasi Mg^{2+} media tertinggi (34.749 ppm) diperoleh pada media hiperosmotik, yaitu pada salinitas 43 ppt dengan waktu 168 ppm dan terendah (1.5583 ppm) diperoleh pada media hipoosmotik, yaitu pada salinitas 4 ppt dengan waktu 24 jam.



Gambar 35. Rata-rata konsentrasi Mg^{2+} hemolim dan Mg^{2+} media pemeliharaan udang windu berdasarkan salinitas dan waktu. (a) Mg^{2+} hemolim pada media hipoosmotik; (b) Mg^{2+} hemolim pada media hiperosmotik; (c) Mg^{2+} media pada media hipoosmotik dan (d) Mg^{2+} media pada media hiperosmotik.

Nilai konsentrasi magnesium (Mg^{2+}) hemolim udang windu sangat berfluktuasi seiring dengan fluktuasi salinitas (Gambar 35a dan 35b) baik ketika terjadi penurunan salinitas ke media hipoosmotik maupun kenaikan

salinitas ke media hiperosmotik. Sebaliknya konsentrasi Mg^{2+} media menurun ketika terjadi penurunan salinitas dari meningkat seiring peningkatan salinitas dari salinitas awal (Gambar 35c dan 35d).

Nilai konsentrasi magnesium (Mg^{2+}) hemolim udang windu sangat berfluktuasi seiring dengan fluktuasi salinitas (Gambar 35a) baik ketika terjadi penurunan ke media dengan salinitas yang lebih rendah (hiposmotik) maupun terjadi kenaikan ke media dengan salinitas yang lebih tinggi (hiperosmotik). Sebaliknya konsentrasi Mg^{2+} media menurun seiring dengan turunannya salinitas dari media isoosmotik (25 ppt) ke hiposmotik dan meningkat seiring peningkatan salinitas dari media isoosmotik (25 ppt) ke media hiperosmotik (Gambar 35b).

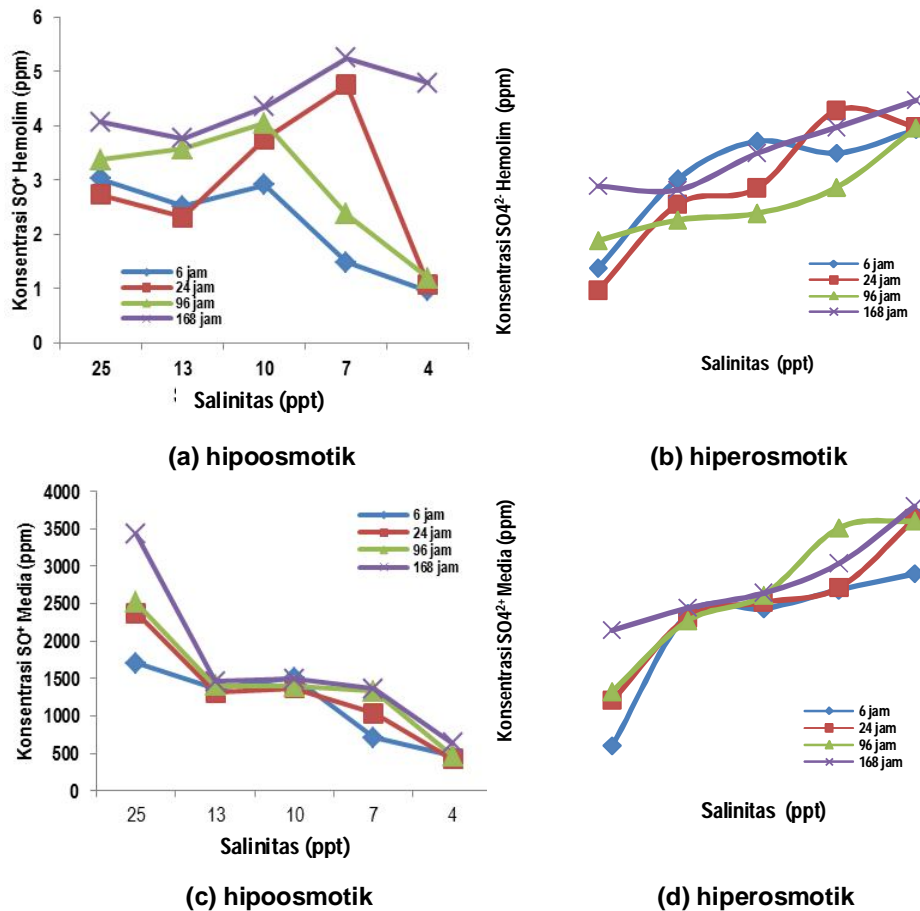
Salinitas, waktu dan interaksi salinitas dan waktu pemeliharaan secara signifikan sangat nyata ($P < 0.01$) mempengaruhi konsentrasi Mg^{2+} hemolim maupun Mg^{2+} media pemeliharaan udang windu, dengan nilai R^2 hemolim = 0.837 dan R^2 media = 0.986, yang artinya sebesar 83.7% keragaman Mg^{2+} hemolim dan 98.6% keragaman Mg^{2+} media dapat dijelaskan oleh salinitas, waktu, dan interaksi kedua faktor tersebut dan sisanya dijelaskan oleh faktor lain di luar model ini (Lampiran 77 dan 78).

Selanjutnya hasil uji lanjut Tukey ($\alpha = 0.05$) terhadap perlakuan interaksi salinitas dan waktu pemeliharaan terhadap Mg^{2+} hemolim dari udang pada media hiposmotik, terlihat perlakuan salinitas 4, 7, 10, 25 dan 37 ppt tidak berbeda nyata namun berbeda nyata dengan 13 ppt dan lainnya. Sedangkan pada media hiperosmotik, salinitas 43, 41, 39 ppt

tidak berbeda nyata, namun berbeda dengan salinitas 37 ppt dan lainnya (Lampiran 79, 80, 81). Demikian juga uji beda lanjut perlakuan interaksi salinitas dan waktu terhadap Mg^{2+} media, salinitas 4, 7, 10 secara nyata tidak berbeda namun berbeda dengan 13 ppt dan perlakuan lainnya. Perlakuan 43, 41, 39, 37 tidak berbeda, namun berbeda nyata dengan perlakuan salinitas 25 dan lainnya (Lampiran 82, 83 dan 84).

Plot interaksi salinitas media dan waktu pemeliharaan terhadap rata-rata konsentrasi SO_4^{2-} hemolim, dan konsentrasi SO_4^{2-} media percobaan udang windu, menunjukkan suatu trend yang berfluktuasi mengikuti perubahan salinitas media (Gambar 36).

Pada Gambar 36, terlihat nilai konsentrasi SO_4^{2-} hemolim tertinggi (5.1792 ppm) diperoleh pada media hiperosmotik yaitu pada salinitas 43 ppt dalam waktu 168 jam, dan konsentrasi SO_4^{2-} hemolim terendah (0.9554 ppm) terdapat pada media hiposmotik, yaitu pada salinitas 4 ppt dalam 6 jam pemeliharaan. Sedangkan konsentrasi SO_4^{2-} media tertinggi (5268.32 ppm) diperoleh pada media hiperosmotik, yaitu pada salinitas 43 ppt dengan waktu 168 jam dan terendah (419.34 ppm) diperoleh pada media hiposmotik, yaitu pada salinitas 4 ppt dengan waktu 24 jam.



Gambar 36. Rata-rata konsentrasi SO_4^{2-} hemolim dan SO_4^{2-} media pemeliharaan udang windu berdasarkan salinitas dan waktu: (a) SO_4^{2-} hemolim pada media hipoosmotik; (b) SO_4^{2-} hemolim pada media hiperosmotik; (c) SO_4^{2-} media pada media hipoosmotik dan (d) SO_4^{2-} media pada media hiperosmotik.

Pada media hipoosmotik, konsentrasi SO_4^{2-} hemolim meningkat cukup tinggi pada perlakuan salinitas 10 ppt untuk semua waktu pemeliharaan dan terus meningkat pada salinitas 7 ppt kecuali pada waktu pemeliharaan 6 dan 96 jam menurun. Sementara pada media hiperosmotik, konsentrasi SO_4^{2-} meningkat seiring dengan meningkatnya salinitas media (Gambar 36a dan 36b). Sedangkan konsentrasi SO_4^{2-}

media menurun ketika terjadi penurunan salinitas dari meningkat seiring dengan peningkatan salinitas dari salinitas awal (Gambar 36c dan 36d).

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa salinitas, waktu dan interaksi salinitas dan waktu pemeliharaan berpengaruh sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap konsentrasi SO_4^{2-} hemolim maupun SO_4^{2-} media pemeliharaan udang windu, dengan nilai R^2 hemolim = 0.819 dan R^2 media = 0.987, yang artinya sebesar 81.9% keragaman SO_4^{2-} hemolim dan 98.7% keragaman SO_4^{2-} media dapat dijelaskan oleh salinitas, waktu, dan interaksi kedua faktor tersebut dan sisanya dijelaskan oleh faktor lain di luar model ini (Lampiran 85 dan 86).

Selanjutnya dari hasil uji beda lanjut Tukey ($\alpha = 0.05$) perlakuan interaksi salinitas dan waktu pemeliharaan terhadap SO_4^{2-} hemolim udang, terdapat perbedaan antar perlakuan baik pada media hipoosmotik maupun pada media hiperosmotik (Lampiran 87, 88, 89). Namun berdasarkan perlakuan waktu pemeliharaan, terlihat waktu 6, 24, dan 96 jam tidak berbeda nyata namun berbeda nyata dengan waktu 168 jam. Sedangkan uji beda lanjut perlakuan interaksi salinitas dan waktu terhadap SO_4^{2-} media, perlakuan salinitas 13, 10, 7 dan 4 ppt secara nyata tidak berbeda namun berbeda dengan salinitas 25 ppt dan perlakuan lainnya. Salinitas 25 ppt (6 jam) dan 25 ppt (24 jam) tidak berbeda namun berbeda nyata 35 ppt (96 jam) dan 25 ppt (168 jam). Sementara perlakuan 37, 39, dan 41 (6 dan 24 jam) tidak berbeda, namun berbeda

nyata dengan 41 (96 dan 168 jam) dengan perlakuan lainnya (Lampiran 90, 91, 92).

Secara umum konsentrasi ion-ion hemolim udang maupun ion-ion media pelakuan berfluktuasi ketika terjadi perubahan salinitas dengan lamanya waktu pemeliharaan. Kenyataannya, salinitas media mempengaruhi konsentrasi ion-ion (Na^+ , Cl^- , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , dan SO_4^{2-}) hemolim juvenil udang windu maupun ion-ion media pemeliharaannya. Terlihat sebagian besar konsentrasi ion-ion hemolim juvenil ini berfluktuasi meningkat dengan peningkatan salinitas media, dan menurun ketika terjadi penurunan salinitas media. Semua ion-ion hemoim baik yang ada media hipoosmotik maupun pada media hiperosmotik, responnya berpolakan kubik.

Hasil penelitian ini didukung oleh beberapa penelitian sebelumnya yang membuktikan bahwa ada hubungan yang erat antara konsentrasi ion-ion hemolimfe krustase-dekapoda dengan fluktuasi salinitas media eksternalnya. Hasil percobaan pada kepiting bakau (Chen dan Chia, 1997), menunjukkan bahwa konsentrasi ion-ion hemolimnya menurun ketika dipindahkan dari salinitas 24 ppt ke 14 ppt, sementara yang dipindahkan dari salinitas 14 ppt ke 34 dan 44 ppt mengalami peningkatan. Hal ini disebabkan karena dalam media encer, udang windu berada dalam kondisi hiperegulasi terhadap media eksternalnya, dimana ion-ion secara pasif cenderung berdifusi ke luar tubuh dan cairan internal akan terancam kekurangan ion. Dalam kondisi seperti itu, juvenil udang

akan menyerap ion-ion dari media eksternal melalui organ osmoregulasi dan ekskresi untuk mengatur konsentrasi cairan dalam hemolimfe sebagai kompensasi kehilangan garam-garam. Sementara itu dalam media pekat atau media bersalinitas tinggi, juvenil udang windu berada dalam kondisi hiporegulasi, dimana ion-ion cenderung bergerak ke dalam tubuh dan dalam kondisi seperti itu, kelebihan ion akan dikeluarkan melalui insang dan urin (Mananes *et al.* 2002; dan Palacios *et al.* 2004).

Terlihat ion kalsium (Ca^{2+}) berkorelasi positif dengan osmolaritas hemolim juvenil udang windu ($r^2=0.79$). Kondisi ini patut terjadi, mengingat selama percobaan juvenil udang windu mengalami molting pada beberapa media percobaan terutama pada salinitas 43 ppt (pengamatan visual), yang membutuhkan sejumlah besar kalsium. Selain mempengaruhi konsentrasi kalsium, diduga proses molting ini juga mempengaruhi kemampuan osmolaritas juvenil udang ini yang terlihat pada media bersalinitas tinggi, tingkat kerja osmotik atau kemampuan osmoregulasi sangat rendah atau jauh dari titik isoosmotik. Seperti yang dikemukakan oleh Haefner (1969) dalam Castile *et al.* (1980) bahwa kemampuan osmoregulasi dalam dekapoda dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti sex, suhu, waktu aklimatisasi, ukuran, stadia dari siklus hidup dan siklus molting.

Selain itu, Wilder *et al* (2009) mempelajari omolaritas hemolim dan konsentrasi ion kalsium dalam kaitan dengan organisasi kutikula pada *Macrobrachium rosenbergii* dalam siklus molting, melaporkan bahwa

konsentrasi ion kalsium secara signifikan lebih rendah di hemolim dari pada di kutikula, hepatopankreas, atau di otot. Namun, kalsium di hemolim dapat digunakan untuk osmoregulasi, penyimpanan atau untuk transfer ke jaringan lain, dan hal ini yang menyebabkan kalsium hemolim udang berfluktuasi. Li dan Cheng (1012) menyatakan bahwa keseimbangan kalsium hemolim *Litopenaeus vannamei* dipengaruhi oleh siklus molting dan fluktuasi salinitas ambien. Selanjutnya dikatakan bahwa kalsium diserap dari lingkungan eksternal, digunakan untuk termineralisasi kutikula *L. vannamei*, dan disimpan dalam hemolim dan hepatopankreas. Hemolim dan sel epitel hepatopancreatic *L. vannamei* memiliki saluran kalsium dan berfungsi dalam transportasi kalsium.

Dalam osmoregulasi terlihat adanya hubungan antara ion-ion osmoregulasi satu dengan lainnya. Adanya hubungan antar ion-ion ini dalam rangka menciptakan keseimbangan terkait dengan fungsinya masing-masing pada spesies krustase dekapoda. Diketahui bahwa ion Na^+ dan Cl^- merupakan kontributor utama pada pengaturan osmolaritas hemolim dan permeabilitasnya yang menjadi terpusat pada ketahanan gradient salinitas. Ion Mg^{2+} menstabilkan struktur ATP dalam reaksi enzim yang membutuhkan ATP. Ion K^+ merupakan elektrolit intraselluler atau selluler kation yang mempengaruhi tekanan osmose, dan dalam hubungannya dengan ion Na^+ dan Cl^- di luar sel menyebabkan adanya potensial muatan dalam dinding sel yang memungkinkan terjadinya impuls syaraf, denyut jantung dan lain-lain. Ion Ca^{2+} memegang peran yang

sangat vital dalam mengatur fungsi sel dan syaraf serta berperan dalam pembentukan karapas dan pergantian kulit (Linder, 1992; Catacutan, 2002; Lucu dan Towle, 2003).

B. 2. Kualitas Media dan Pengaruh Salinitas terhadap Kelangsungan Hidup

1. Kualitas air media

Kualitas media pemeliharaan yang terdiri dari beberapa peubah fisika dan kimia air, berperan sebagai penentu kelayakan habitat bagi kehidupan udang windu. Pengamatan terhadap peubah fisika dan kimia air selama percobaan ini adalah suhu, kandungan oksigen terlarut, kemasaman (pH) air, dan amonia. Nilai parameter kualitas air media selama percobaan ini disajikan pada Tabel 6. Data parameter fisika kimia media pemeliharaan juvenil udang windu disaji pada Lampiran 93, 94, 95.

Tabel 6. Nilai parameter fisika kimia media pemeliharaan juvenil udang windu, selama percobaan

Salinitas Media (ppt)	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	pH	Oksigen terlarut (mg/l)
4	28.10 ± 0.2	7.58 ± 0.3	4.35 ± 0.6
7	28.26 ± 0.3	7.04 ± 0.1	4.29 ± 0.5
10	28.05 ± 0.2	7.05 ± 0.2	4.17 ± 0.4
13	28.05 ± 0.2	7.23 ± 0.5	4.47 ± 0.5
25	28.19 ± 0.3	7.35 ± 0.5	4.57 ± 1.0
37	28.08 ± 0.3	7.39 ± 0.3	4.28 ± 0.4
39	28.10 ± 0.2	7.28 ± 0.3	4.29 ± 0.4
41	28.19 ± 0.2	7.36 ± 0.2	4.26 ± 0.4
43	28.10 ± 0.2	7.28 ± 0.2	4.23 ± 0.3

Rentang nilai suhu media pemeliharaan selama percobaan berkisar antara 28.05 ± 0.2 - 28.26 ± 0.3 °C. Menurut Boyd (1999), udang windu dapat hidup pada suhu $25-30$ °C dan pada suhu 35 °C udang bisa mati. Kemudian Manik dan Mintarjo (1983) *dalam* Team (2007) melaporkan bahwa suhu optimum untuk budidaya udang windu adalah $26-31$ °C, dimana suhu 32 °C dapat menyebabkan udang stress sedangkan pada suhu 35 °C dapat mengakibatkan kematian (Manik dan Mintarjo, 1983 *dalam* Team, 2007). Selain itu, Jackson dan Burford (2003) mengemukakan bahwa suhu optimum untuk pertumbuhan udang penaeide adalah $28-33$ °C. Mengacu pada pernyataan-pernyataan tersebut, maka dapat dikatakan bahwa suhu media pemeliharaan juvenil udang windu selama percobaan mendukung kelangsungan hidup dan pertumbuhan yang optimum. Hasil pantauan memperlihatkan bahwa kecenderungan peningkatan dan penurunan suhu terjadi pada media dengan salinitas yang lebih encer.

Kandungan oksigen terlarut (DO) merupakan faktor pembatas dalam mendukung optimalisasi kehidupan organisme perairan. Oksigen terlarut dalam air dipengaruhi oleh suhu, salinitas, tekanan parsial, gas-gas di dalam air dan udara, kandungan senyawa yang mudah teroksidasi di dalam air (Chien, 1992). Selama penelitian, rentang kandungan oksigen terlarut pada media percobaan berkisar antara 4.17 ± 0.4 - 4.29 ± 0.5 mg/l, nilai tertinggi pada perlakuan salinitas 25 dengan waktu 6 jam dan terendah pada salinitas 4 ppt dengan waktu 96 jam. Menurut kajian Boyd dan Fast

(1992), kandungan oksigen terlarut yang baik untuk pertumbuhan udang berkisar dari 3.5 mg/l sampai saturasi, dan jika lebih kecil dari 3.5 mg/l dapat mengakibatkan kematian, sedangkan menurut Chein (1992), kandungan oksigen terlarut untuk pertumbuhan udang sebaiknya lebih besar dari 4,0 mg/L. Tingkat kelarutan oksigen makin besar pada salinitas rendah. Hal ini sesuai dengan kaidah hubungan antara kelarutan gas dengan salinitas, yang menyatakan bahwa kelarutan gas (O_2) akan rendah pada tingkat salinitas tinggi atau sebaliknya (Parsons *et al.* 1984). Dengan demikian dapat dikatakan kandungan oksigen terlarut selama percobaan dipandang mampu mendukung kelangsungan hidup dan pertumbuhan optimal udang windu.

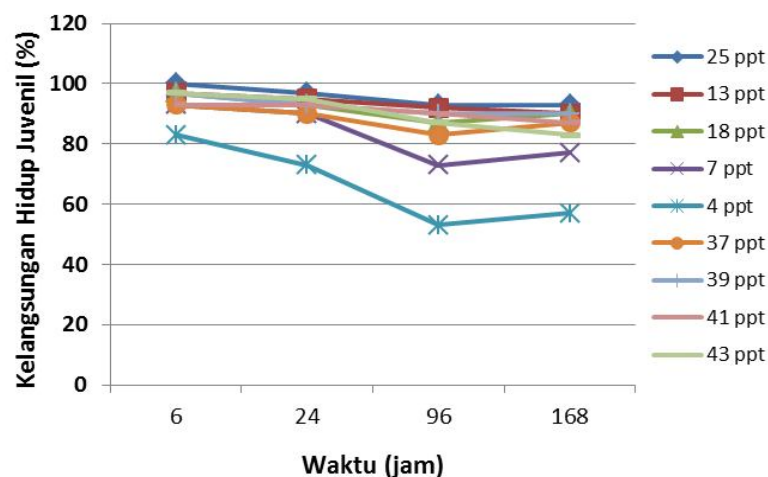
Derajat kemasaman (pH), yaitu logaritma negatif dari kadar ion hidrogen (H^+), merupakan indikator kemasaman serta kebasaaan air (Boyd, 1990). Nilai pH penting untuk dipertimbangkan, karena dapat mempengaruhi proses dan kecepatan reaksi kimia di dalam air serta reaksi biokimia di dalam tubuh udang. Selain itu nilai pH berlaku sebagai indikator adanya kelarutan bahan toksik pada media pemeliharaan.

Hasil pemeriksaan pH air media selama percobaan menunjukkan bahwa semuanya bersifat alkalis, dengan nilai terendah 7.04 ± 0.1 diperoleh pada salinitas 7 ppt dan nilai tertinggi 7.58 ± 0.3 pada salinitas 4 ppt. Nilai pH ini cukup stabil, tetapi cenderung meningkat pada salinitas tinggi. Boyd and Fast (1992) mengemukakan nilai pH yang baik untuk kehidupan dan pertumbuhan udang berkisar antara 7.0–9.0. Jika nilai pH

lebih kecil dari 4 dan lebih besar dari 10 dapat menyebabkan kematian udang, sedangkan menurut Chien (1992) nilai pH 7.5-8.5 baik untuk pertumbuhan udang. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa pH air media dalam percobaan ini berada pada kondisi yang cukup baik untuk mendukung kelangsungan hidup dan pertumbuhan udang windu.

2. Tingkat Kelangsungan Hidup

Hasil pengamatan kelangsungan hidup juvenil udang windu selama percobaan disajikan pada Gambar 37. Tingkat kelangsungan hidup tertinggi (100%) terdapat pada juvenil udang windu yang berada pada media bersalinitas 25 ppt (isoosmotik) dengan waktu 6 jam.



Gambar 37. Kelangsungan hidup juvenil udang windu pada berbagai salinitas media dan waktu pemeliharaan yang berbeda.

Tingkat kelangsungan hidup juvenil udang tertinggi pada salinitas 25 ppt menggambarkan bahwa salinitas (media isoosmotik) mendukung kelangsungan hidup juvenil udang windu secara optimal. Pada kondisi ini,

juvenil udang memiliki nilai tingkat kemampuan osmotik sekitar 1 (kondisi isoosmotik), dimana juvenil udang memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menghadapi stres osmotik sehingga tetap eksis untuk hidup. Sedangkan kelangsungan hidup juvenil udang yang paling rendah terdapat pada media hipoosmotik (salinitas 4 ppt) dan waktu pemeliharaan 96 jam yaitu 53%. Jika ditelaah lebih lanjut, ternyata kematian juvenil udang terjadi lebih banyak pada media hipoosmotik atau bersalinitas rendah (7 dan 4 ppt) dengan waktu pemeliharaan yang lebih lama dibanding dengan juvenil yang berada pada media bersalinitas tinggi (Lampiran 96). Ini disebabkan karena juvenil udang bersifat hiperosmotik jika berada pada media yang hipoosmotik dan sebaliknya jika berada pada media hiperosmotik maka udang bersifat hipoosmotik, sehingga juvenil udang harus memiliki kemampuan adaptasi dengan beban kerja osmotik yang tinggi karena berada pada ketidak seimbangan osmotik yang dapat menyebabkan juvenil udang stres. Hal ini mengindikasikan bahwa pada media bersalinitas rendah juvenil udang windu memiliki kemampuan yang rendah dalam menghadapi stres osmotik, seperti yang jelas terlihat dari perbedaan gradien dari osmolaritas hemolim juvenil udang dan osmolaritas media dalam penelitian ini.

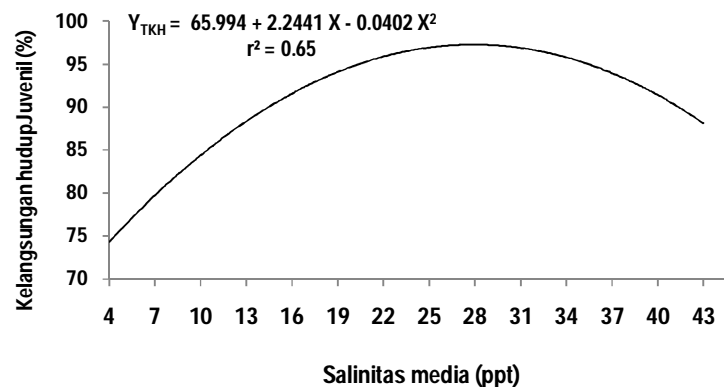
Sejalan dengan hasil penelitian oleh Silva (2010) tentang pengaruh salinitas terhadap kelangsungan hidup, pertumbuhan, konsumsi pakan dan osmolaritas hemolim udang *Farfatepenaeus subtilis*, menunjukkan bahwa tidak ada kematian udang pada salinitas tinggi (25–35 ppt) selama

96 jam pemeliharaan dengan kelangsungan hidup 100%, dan salinitas yang mematikan adalah ≤ 12 ppt. Bobot akhir pada salinitas 25 ppt secara signifikan lebih tinggi dibanding salinitas lainnya sedangkan berat terendah pada salinitas 5 ppt, nilai konsumsi pakan tertinggi pada salinitas 25-35 ppt dan terendah pada salinitas 5 ppt, selain itu pertumbuhan yang baik terjadi lebih tinggi dari titik isoosmotik yaitu pada salinitas di atas 25 ppt.

Dalam penelitian ini, juvenil udang yang berada pada media dengan salinitas 25 ppt memiliki tingkat kerja osmotik berada di sekitar titik isoosmotik (1.018 ± 0.012 mOsm/L). Pada kondisi ini udang mengalami kenyamanan fisiologis sehingga menurunkan pembelanjaan energi untuk aktivitas osmoregulasi dalam rangka homeostasis, dengan demikian tersedia porsi energi lebih banyak untuk pertumbuhan dan kegiatan hidup lainnya. Kondisi ini juga ditemui pada krustase lainnya yaitu kepiting bakau yang dipelihara pada berbagai salinitas (Karim, 2005), yang menunjukkan bahwa salinitas sangat nyata mempengaruhi kelangsungan hidup, laju pertumbuhan bobot spesifik harian dan pertumbuhan lebar karapaks kepiting. Pada salinitas 25 ppt tingkat kerja osmotik kepiting paling rendah, sementara tingginya konsumsi pakan dan retensi nutrient pada salinitas tersebut menyebabkan banyaknya nutrient yang terdeposit dalam menunjang pertumbuhan.

Salinitas merupakan salah satu faktor abiotik penting yang mempengaruhi tingkat kelangsungan hidup organisme akuatik termasuk

udang. Oleh sebab itu, perlunya penentuan salinitas optimum yang sesuai dengan kebutuhan organisme untuk mendukung kelangsungan hidupnya. Hubungan salinitas media (X) dengan tingkat kelangsungan hidup (Y_{TKH}) juvenil udang windu berpola kuadrat (Gambar 38).



Gambar 38. Hubungan salinitas media dengan kelangsungan hidup juvenil udang windu

Berdasarkan persamaan regresi yang diperoleh dapat diprediksi bahwa tingkat kelangsungan hidup juvenil udang maksimum berada pada salinitas 27.91 ppt. Kurva yang berpolakan kuadratik tersebut menunjukkan bahwa tingkat kelangsungan hidup juvenil udang windu akan mencapai maksimum pada salinitas optimum dan selanjutnya akan mengalami penurunan bila di luar kisaran salinitas optimum.

Presentase kelangsungan hidup ditentukan oleh banyaknya kematian juvenil udang selama percobaan. Ada beberapa faktor yang diduga dapat menyebabkan kematian juvenil udang di media percobaan, di antaranya adalah : (1) kualitas air yang tidak layak, (2) hadirnya hama dan penyakit, (3) pakan yang tidak tepat jenis serta ukurannya, (4)

penangan yang kurang baik pada saat pengamatan, serta (5) stres osmotik dari media perlakuan.

Ditinjau dari aspek kualitas air dalam penelitian ini, kondisinya cukup baik dan tingkat kelayakannya relatif seragam pada semua media percobaan. Dengan demikian dugaan kematian karena jeleknya kualitas air tidak terbukti. Demikian pula dengan dugaan hama dan penyakit, peluang terjadinya relatif kecil karena wadah dan media percobaan selalu terkontrol dan dilakukan pergantian air dengan air media baru yang sudah disiapkan sebelumnya dengan frekuensi pergantian air sekali setiap hari selama percobaan. Dari aspek pakan, dapat dilihat bahwa pakan yang diberikan telah sesuai dengan jumlah dan frekuensi pemberian yang sudah tepat. Hal ini terlihat pada saat sebelum pemberian pakan diamati sisa-sisa pakan pada wadah-wadah percobaan, ternyata tidak ada pakan yang tersisa yang tertinggal di dalam wadah percobaan yang akan merangsang hadirnya bakteri atau jamur yang akan menimbulkan penyakit pada udang. Selanjutnya, bila ditinjau dari penangan percobaan, dapat diketengahkan bahwa kegiatan pengambilan contoh hemolimfe udang dilakukan dengan sangat hati-hati, sehingga pengaruhnya relatif kecil. Dari telaah tersebut dapat dinyatakan bahwa terjadinya kematian juveni udang semata-mata disebabkan oleh pengaruh osmotik media perlakuan.

Rendahnya tingkat kelangsungan hidup organisme akibat perubahan salinitas merupakan refeksi kehilangan kapasitas organisme tersebut pada perubahan osmotik, perubahan konsentrasi natrium dan klorida yang

merupakan kontributor utama osmolaritas pada lingkungannya. Kenyataan pada penelitian ini menunjukkan konsentrasi natrium dan klorida meningkat seiring dengan peningkatan salinitas media, menyebabkan peningkatan osmolaritas media pemeliharaan (Gambar 31 dan 32), mengakibatkan osmolaritas hemolim berfluktuasi seiring dengan peningkatan nilai osmolaritas media.

B. 3. Respon Antennal terhadap Perubahan Salinitas

Kelenjar antennal (*antennal gland*) pada udang yang juga dikenal dengan nama kelenjar hijau (*green gland*) dalam udang karang, adalah organ ekskresi utama udang (Al-Mohsen, 2009). Kelenjar antennal krustasea diyakini memiliki peran yang cukup besar dalam proses osmoregulasi baik dalam spesies laut maupun spesies air tawar.

Beberapa studi pada krustase sebelumnya telah memberikan deskripsi morfologi kelenjar antennal yang berbeda, tergantung apakah krustasea tersebut adalah spesies laut atau spesies air tawar, dengan menunjukkan persamaan dan perbedaan dalam menggambarkan aspek morfologi dan fungsional dari kelenjar antenal. Beberapa penulis melaporkan bahwa kelenjar antennal terdiri dari tiga wilayah sementara yang lain menemukan empat. Namun dari perbandingan dengan jenis krustase lainnya, diketahui bahwa kelenjar antennal udang terdiri dari 3 bagian: kandung kemih, labirin dan coelomosac, namun anatomi masih kurang dijelaskan dalam udang penaeid (Bell dan Lightner, 1988; Fingerman, 1992 *dalam* Al-Mohsen, 2009).

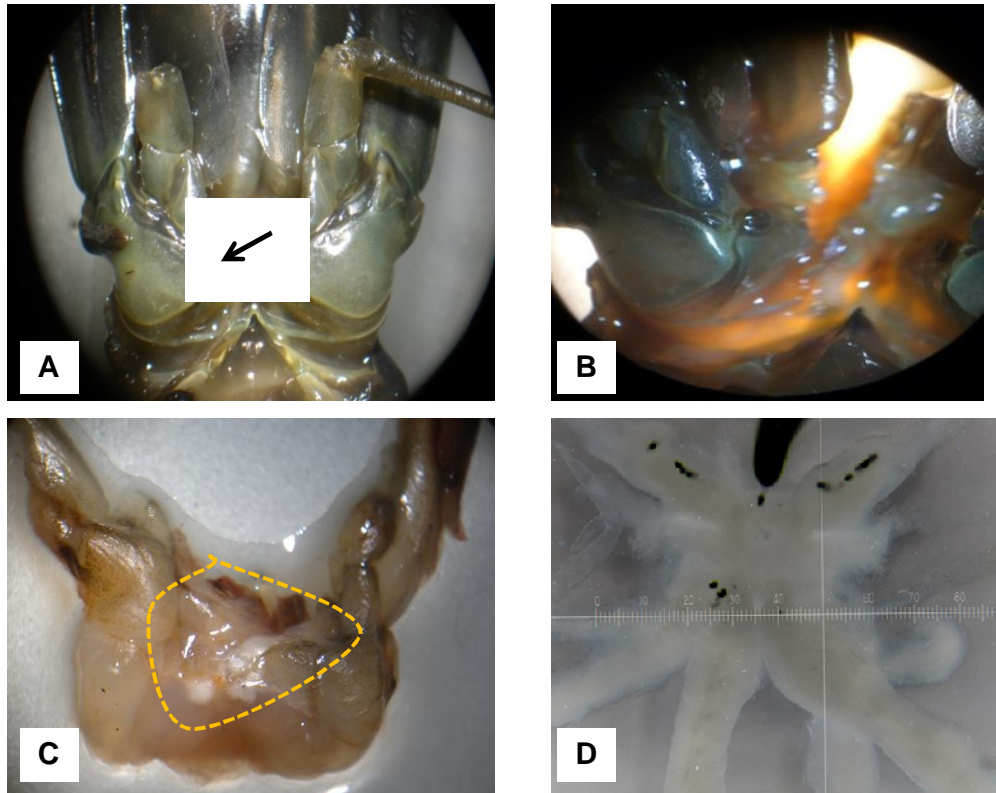
Peran yang cukup besar dari kelenjar antennal dalam proses osmoregulasi dapat dilihat pada lobster air tawar yang menghabiskan sebagian besar hidup mereka di air tawar dapat mengatur konsentrasi air dan ion dalam tubuh mereka dengan mengadaptasi tiga mekanisme fisiologis yang diringkaskan Khodabandeh *et al.* (2005a) sebagai berikut : (1) permeabilitas ion yang rendah dan mencegah invasi air, (2) aktif menyerap ion dari makanan, kemudian melalui epitel pada ruang ruang branchial, ion ditransportasi ke jaringan, (3) memproduksi urin hipotonik melalui ekskretoris kelenjar antennal (Riegel, 1963, 1966; Mantel dan Petani, 1983; Wheatly dan Gannon, 1995 *dalam* Khodabandeh *et al.* 2005a).

Berdasarkan fungsi kelenjar antennal yang dikemukakan di atas, maka dipastikan akan terjadi perubahan morfologi dari kelenjar antennal juvenil udang windu ketika diperhadapkan dengan perubahan lingkungan khususnya fluktuasi salinitas media pemeliharaan. Untuk mengamati perubahan morfologi kelenjar antennal akibat perubahan salinitas media eksternal pemeliharaan, dilakukan melalui pengamatan histologi dan histopatologi, ekspresi enzim Na⁺/K⁺ATPase pada kelenjar antennal, dan pengamatan ultrastuktur kelenjar antennal melalui analisa mikroskop elektron transmisi (TEM).

1. Pengamatan Histologi Kelenjar Antennal

Histologi dibutuhkan untuk mempelajari sel-sel kelenjar antennal juvenile udang dengan memperlihatkan bentuk dan lapisan yang sangat

beragam yang dimulai dengan pembuatan sediaan histologi berupa preparat pada kaca objek sehingga data bisa diamati di bawah mikroskop.



Gambar 39. Lokasi kelenjar antennal pada bagian kepala udang windu, (A) *urinary pore* (→tempat kelenjar antennal bermuara; (B) bukaan kepala udang ke arah posisi letak kelenjar antennal; (C) kelenjar antennal yang masih menyatu dengan kelenjar lainnya dan otot daging; (D) kelenjar antennal setelah dilepaskan dari otot daging. Pembesaran 40 x.

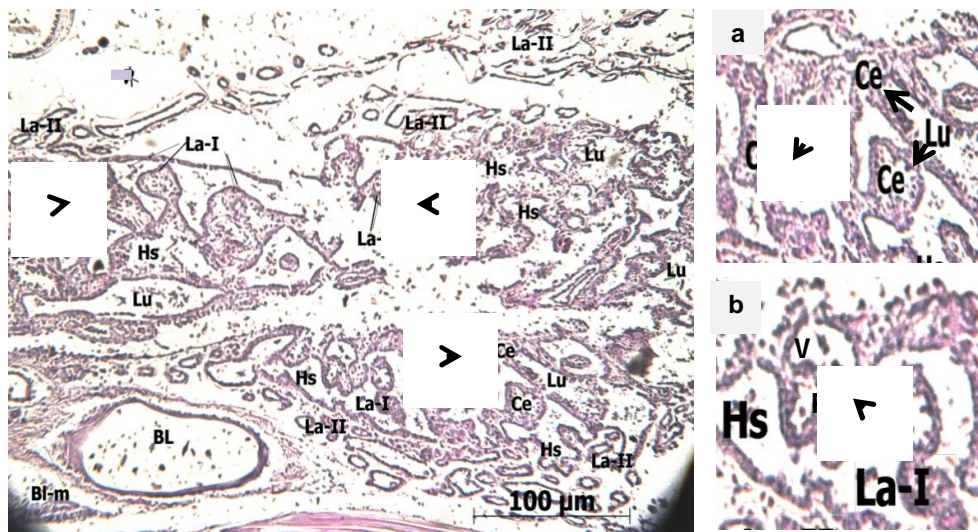
Pengambilan kelenjar antennal juvenil udang windu (Gambar 39) merupakan tahapan awal dari serangkaian kegiatan histologi, dimulai dengan pembedahan pada kepala udang sesuai posisi letaknya kelenjar antennal menurut petunjuk pengamatan ultrastruktur sistem osmoregulasi

dan ekskresi pada dekapoda umumnya dan khususnya pada lobster *Procambarus leonensis* (Felganhauer, 1992).

Kelenjar antennal udang adalah pasangan organ ekskretori, terletak di dasar antenna kedua dengan lubang ekskretoris (*urinary pore*) pada coxa antenna. Proses pembedahan untuk pengamatan kelenjar antennal udang windu dalam penelitian ini seperti pada Gambar 39. Oleh karena ukuran kelenjar antennal udang windu cukup kecil, agak lunak sehingga mudah hancur, dan cepat mengalami autolisis setelah kematian udang, maka segera diambil setelah dibedah, difiksasi dalam keadaan segar, yang bertujuan selain mencegah kerusakan jaringan, juga untuk mengawetkan sehingga kondisi jaringan sedikit banyak mendekati keadaan aslinya. Pada Gambar 39, kelenjar antennal pada udang windu ini letaknya berdekatan agak menyatu dengan beberapa kelenjar lainnya di bagian kepala seperti kelenjar dari organ-organ sensoris lainnya dan juga bersama dengan pusat saraf yang semuanya terletak pada anterior cephalotorax. Dengan demikian untuk membuat sediaan histologi, bagian anterior cephalothorax dimana terdapat kelenjar antennal diambil dan segera difiksasi di dalam larutan paraformaldehyde 4%, kemudian diproses sesuai dengan prosedur histologi.

Struktur morfologi kelenjar antennal udang windu disajikan pada Gambar 40. Kelenjar antennal udang windu dipisahkan dengan jelas menjadi dua kompartemen utama; yaitu coelomosac (Ce) berisi sel-sel podocit dan labirin mengandung sel-sel lapisan berbentuk tabung. Sel

podocit dalam coelomosac memiliki inti heterochromatic yang terletak baik di bagian basal atau di tengah sel, dan sitoplasma heterogen terdiri dari dua zona ditandai dengan jelas, yaitu, zona padat di sekitar inti dan vakuola yang terlihat seperti zona dalam sisa sitoplasma (Gambar 40 inset b).



Gambar 40 Mikrograf struktur morfologi kelenjar antennal udang windu. La-I = sel labirin tipe I, La-II = sel labirin tipe II, Ce = coelomosac, Lu = lumen, Hs = haemolimph space, BL = bladder (kantong kemih), BL m = bladder membrane, P = podocyte, V = vakuola, > (kepala panah) = inti. Pewarnaan HE. Bar = 100 µm

Vogt (2002) menggambarkan kelenjar antennal dari udang karang *A. Astacus*, mengemukakan bahwa coelomosac merupakan tempat pembentukan urin primer setelah ultrafiltrasi dari hemolim.

Terkadang hubungan antara ruang interpodocytic labirin dan lumen (Gambar 40 inset a, mata panah), menunjukkan aliran fluida dari coelomosac ke tubular lumen labirin seperti yang dilaporkan sebelumnya

di Lobster (Ueno dan Inoue 1996). Coelomosac ini dikelilingi oleh satu baris dari lapisan tabung ke sel labirin dan terkadang dipisahkan oleh ruang hemolim (*space hemolympathic*).

Ada dua jenis sel labirin yang berbeda yaitu sel labirin tipe-I (La-I) yang adalah suatu sel cuboidal yang terletak di pinggiran radikal coelomosac, sedangkan sel labirin tipe-II (La-II) adalah sel kolumnar rendah ditemukan di sepanjang tubulus distal ke coelomosac, yang teramati dalam penelitian ini juga (Gambar 40 dan 40 insert b). Terdapat sel-sel epitel yang melapisi bagian dalam coelomosac, labirin maupun tubulus, dari sel-sel epitel ini berfungsi dalam transport dan mengabsorpsi bahan-bahan yang terfiltrasi.

Telah dikemukakan oleh beberapa penulis menyatakan bahwa fungsi utama coelomosac sebagai tempat mekanisme terjadinya filtrasi dan reabsorpsi bahan seperti protein, selanjutnya dari filtrat dan sekresi zat lain diteruskan ke dalam lumen. Mereka melaporkan bahwa ada dua sub-daerah dibedakan, labirin I yang memiliki sel berperan untuk memindahkan cairan isotonik melintasi epitel dan labirin II yang mungkin terlibat dalam transportasi isotonik dan tampaknya lebih aktif dalam pengambilan endocytic dan pencernaan intraseluler molekul besar seperti protein ((Mantel dan Farmer, 1983 ; Wheatly dan Gannon, 1995 *dalam* Khodabandeh *et al.*, 2005a).

Holliday dan Miller (1984) menunjukkan bahwa hemolim yang dibawa oleh arteri antennal melalui coelomosac di kelenjar antennal

krustasea dimana hemolim disaring secara ultra di bawah tekanan arteri di dinding coelomosac ke lumennya. Kemudian, cairan yang saring meninggalkan coelomosac dan diteruskan ke labirin melalui sebuah lubang di dinding anteriornya. Pada sel-sel epitel di labirin, urin dipisahkan dari hemolim yang menuju ke seluruh jaringan. Mereka melaporkan bahwa sekitar 60 dan 70% dari urin primer diserap dalam perjalanan dari labirin ke kandung kemih dan berakhir dengan hemolim hampir isoosmotik.

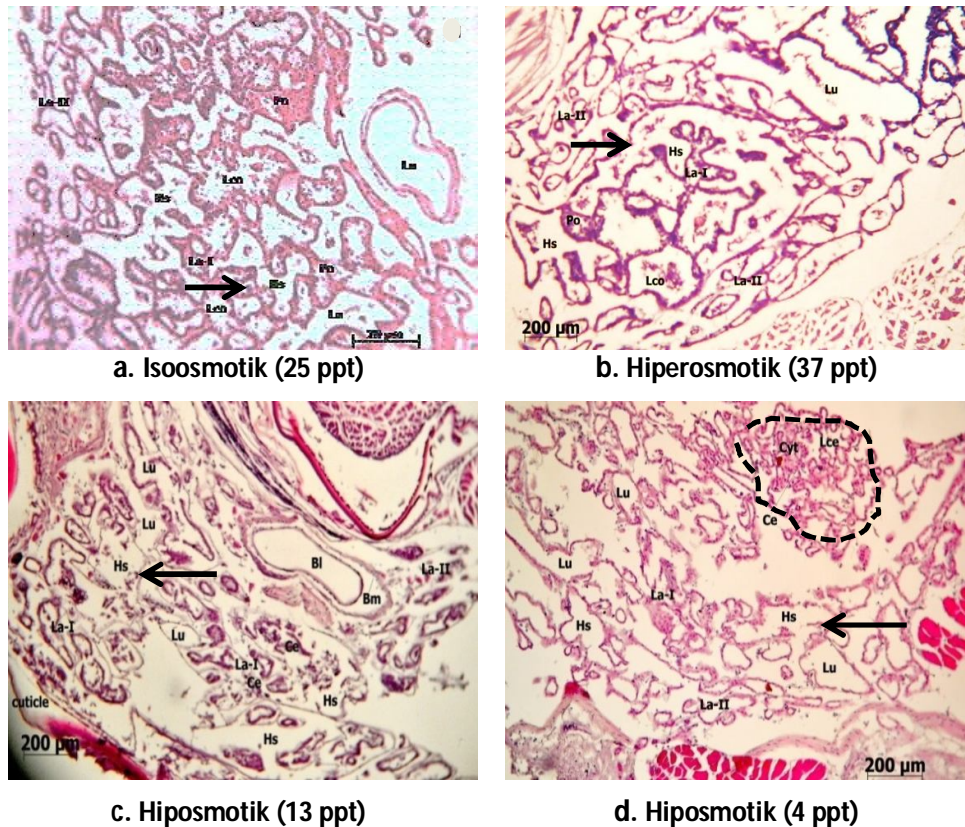
Diketahui bahwa sel-sel epitel sama dengan sel-sel podosit pada organ branchial dan juga sama dengan sel-sel podosit pada glomerular nefron ginjal vertebrata (Ueno dan Inoue, 1996). Pada vertebrata podosit adalah [sel renal](#) di dalam [kapsula Bowman](#) yang letaknya berderet mengelilingi [pembuluh darah kapiler glomerulus](#). Demikian juga pada kelenjar antennal dekapod podosit merupakan sel-sel coelmosac, terletak berderet mengelilingi epitel labirin yang dipastikan mempengaruhi filtrasi.

Ueno dan Inoue (1996) melaporkan bahwa podosit dalam lobster dewasa berbentuk pipih memanjang dan memiliki berbagai ukuran vesikel dalam sitoplasma. Pengamatan SEM menunjukkan "blebs" sebagai bagian kepala yang memanjang dari podosit, saling mendorong satu sama lain ke dalam ruang kemih dan juga memiliki proyeksi panjang yang saling terhubung satu sama lain melalui celah membran. Celah yang terbentuk di antara deretan podosit yang berada di atas [membran dasar sel epitel labirin,](#) berfungsi sebagai filtrasi awal dan melewatkan [molekul kecil](#) seperti [air](#), [glukosa](#) dan [ion garam](#). Secara struktur dan fungsi, sel-sel

epitel labirin memainkan peran kunci dalam regulasi air dan ion Na^+ melalui pengaturan aktifitas $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ (Buranajitpirom *et al*, 2010) dan terlibat dalam reabsorpsi gula (Vogt, 2002) karena adanya glikogen dalam epitel labirin.

Selain itu, Wheatly dan Gannon (1995) melaporkan bahwa 90 - 95% dari elektrolit diserap di kelenjar antennal. Distal tubulus nephridial adalah situs utama dari reabsorpsi ion (Vogt, 2002). Tidak ada atau sangat sedikit glukosa yang ditemukan dalam urin dan hanya sejumlah kecil asam amino dapat ditemukan dalam urin tetapi konsentrasi mereka selalu jauh lebih rendah daripada di hemolim. Ini menunjukkan bahwa sebagian besar gula diserap di kelenjar antennal (suatu tempat antara coelomosac dan kandung kemih) tapi situs tertentu dari proses ini belum teridentifikasi.

Hasil pengamatan histologi dengan pewarnaan Haemotoxylin dan Eosin struktur morfologi kelenjar antennal juvenil udang windu pada media hipoosmotik (salinitas 4 dan 13 ppt), media isoosmotik (25 ppt) dan media hiperosmotik (37ppt) setelah 96 jam pemeliharaan, ditampilkan pada Gambar 41



Gambar 41. Mikrograf labirin kelenjar antennal udang windu pada media bersalinitas (a) 25 ppt; (b) 37 ppt; (c) 13 ppt dan (d) 4 ppt. Cs = coelomosac dengan sel-sel podosit (Po) yang padat yang selalu berkontraksi pada 4 ppt, La-I = labirin I, La-II = labirin 2, Hs = haemolymph space lebih luas pada 4 ppt dan 37 ppt, Cyt = cytoplasma, Lu = lumen, Lco = lumen coelomosac. Pewarnaan HE. Bar = 200 µm

Pada Gambar 41 terlihat ada perbedaan struktur morfologi antara kelenjar antennal juvenil udang di media hiposmotik dan hiperosmotik, seperti :

- Coelomosac yang merupakan struktur seperti kista terisi dengan sitoplasma dan sel-sel podosit yang padat dan dikelilingi oleh suatu membrane yang membatasi dan satu baris lapisan tubulus dari sel-sel labirin tipe I (la-I) yang terdapat pada kelenjar antennal udang di

media salinitas 4 ppt. dan kondisi ini tidak nampak jelas pada media lainnya. Sel-sel podosit pada coelomosac langsung berkontraksi ketika juvenil secara mendadak berada pada salinitas rendah, membuat ruang pada membrane basal menyempit sehingga mempengaruhi filtrasi dan penyerapan material (garam dan ion) yang dibutuhkan, mengakibatkan juvenil kehilangan keseimbangan osmotik karena terjadi penyempitan pada ruang membrane tersebut sehingga juvenil udang membutuhkan banyak energi untuk memompa air dan garam ion untuk keseimbangan osmotik. Jika kondisi ini berlangsung dalam waktu yang lama akan menyebabkan juvenil udang lemah, stres bahkan bisa mati. Sejalan dengan hasil pengamatan tingkat kelangsungan hidup juvenil dalam penelitian ini yang menunjukkan tingkat kelangsingan hidup jevenil yang rendah yang mengindikasi mortalitas juvenil yang tinggi pada media hiposmotik (4 ppt).

- Selain itu, pada media salinitas 4 ppt, sel labirin tipe-II (Ia-II) merupakan garis tubulus yang letaknya jauh dari coelomosac, sehingga untuk melakukan fungsi penyerapan air, ion, dan material lainnya dibutuhkan energi yang lebih tinggi dibanding dengan juvenil pada media salinitas lainnya. Seperti yang dikemukakan oleh Xiaoyun *et al.* (2003), bahwa tubulus dalam labirin sesuai fungsinya mampu menyerap air, ion dan molekul besar, mengatur tekanan osmotik dan aktif mengeluarkan produk-produk limbah. Sel-sel epitel tubulus

nephridial ini juga memainkan peran penting dalam pembentukan urin yang sangat osmotik.

- Ruang hemolim (*haemolymph space* = Hs) terlihat lebih lebar dan lumen labirin (Lu) yang terisi padat dengan sitoplasma lebih besar pada juvenil pada media 4 dan 37 ppt dibanding kedua media lainnya (13 dan 25 ppt). Pada media tersebut juvenil udang berada pada kondisi osmotik yang tidak seimbang yang menyebabkan stres osmotik pada juvenil udang dan jika hal ini terjadi secara intens akan berpeluang untuk hadirnya penyakit patogen yang akan berdampak pada kematian.

Wheatly dan Gannon (1995) mengemukakan bahwa podosit berperan penting dalam regulasi [GFR](#) (*glomerulus filtration rate*) pada vertebrata. Ketika adanya stressor (perubahan lingkungan), terjadi [kontraksi](#) pada podosit secara langsung, celah di antara podosit menjadi menutup, dan akan menurunkan laju filtrasi pada glomerulus (GFR) sebab berkurangnya area filtrasi. Kenyataan ini di temui dalam penelitian ini, pada sel labirin mengandung sitoplasma dengan sel-sel podosit yang padat. Ketika terjadi perubahan salinitas (penurunan salinitas ke 4 ppt), sel-sel podosit yang padat berkontraksi sehingga mempengaruhi filtrasi.

Hasil pengamatan histologi terhadap kelenjar antennal juvenil udang windu ini dibuktikan juga dengan dengan hasil pengamatan histopatologi yaitu mendeteksi adanya komponen patogen yang bersifat infeksi melalui pengamatan secara mikro anatomi yang didasarkan pada reaksi

perubahan jaringan. Pemeriksaan histopatologi dilakukan terhadap parameter biologis yaitu dengan mengamati perubahan-perubahan abnormal pada tingkat jaringan. Penentuan tingkat kerusakan yang didasarkan pada perubahan sel-sel dan jaringan dari kelenjar antennal juvenil udang windu dengan mengikuti skoring yang dibuat sesuai petunjuk umum dalam analisa histopatologi hewan dan berdasarkan modifikasi dari prosedur patologi dan penyakit pada budidaya udang penaeid (Lightner, 1996). dengan kategori sebagai berikut :

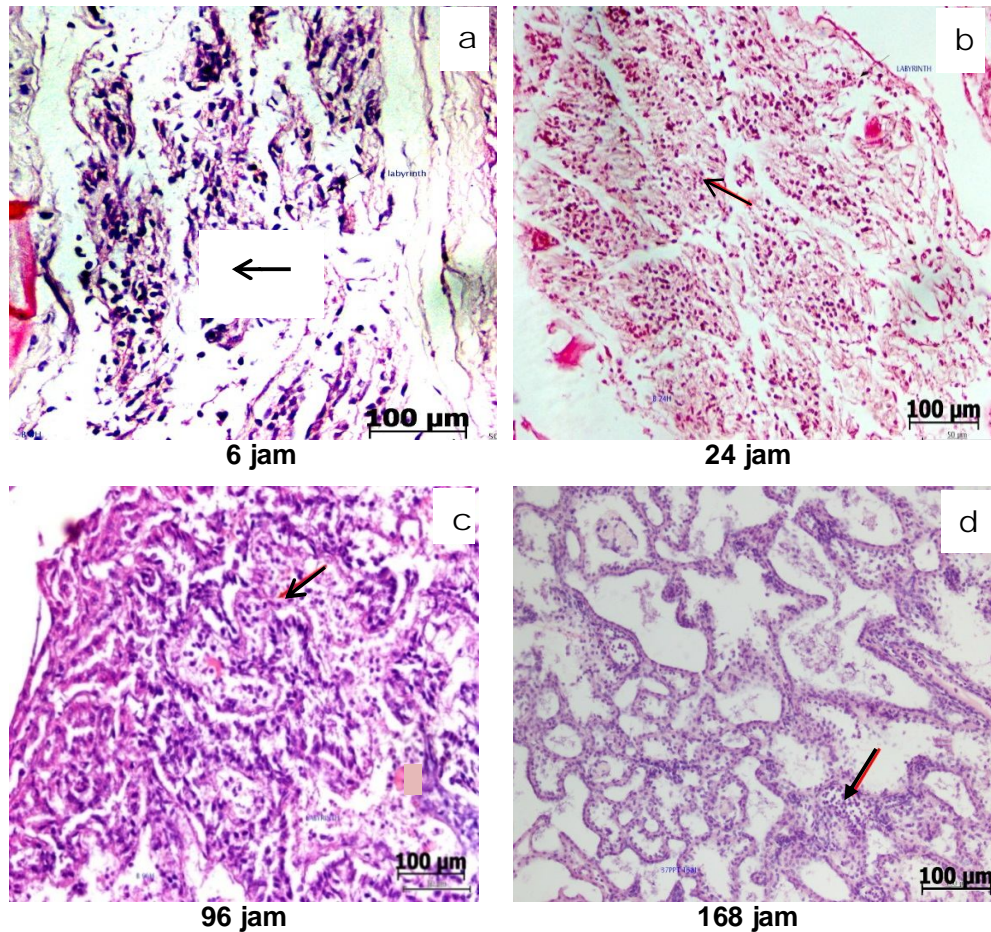
- 0 = tidak ada perubahan ada jaringan,
- 1 = edema yaitu terjadi pembengkakan pada beberapa bagian jaringan
- 2 = edema, necrotic mild yaitu pembengkakan pada banyak jaringan
- 3= necrotic multifocal moderat, mulai ada atropi yaitu merusakkan tingkat sedang pada jaringan yang terjadi pada beberapa tempat tertentu, dan mengarah pada pengecilan ukuran jaringan
- 4= atropi, nekrotik diffuse yaitu terjadi pengecilan sel pada jaringan dan merusakkan sel secara menyeluruh
- 5 = autolysis kerusakan sel jaringan secara menyeluruh.

Sama seperti histologi biasa, pengamatan histopatologi difokuskan hanya pada sel-sel labirin kelenjar antennal juvenil udang windu pada media hipoosmotik (salinitas 4 dan 13 ppt), media isoosmotik (salinitas 25 ppt), dan media hiperosmotik (salinitas 37 ppt), dan hasil analisis disajikan pada Tabel 7 dan dan pada Gambar 42, 43, 44 dan 45.

Tabel 7. Perubahan jaringan sel labirin kelenjar antennal udang windu hasil pengamatan histopatologi berdasarkan skoring

Perlakuan		Skoring	Penampakan perubahan morfologi
Salinitas (ppt)	Waktu (Jam)		
25 (isosmotik)	6	0	Tidak ada perubahan jaringan
	24	1	Edema
	96	2	Edema necrotic mild
	168	2	Edema necrotic mild
37 (Hiposmotik)	6	1	Edema
	24	1	Edema
	96	2	Edema, necrotic mild
	168	3	Necrotic multifocal moderat
13 (Hiposmotik)	6	3	Necrotik multifocal, mulai atrofi
	24	3	Necrotik multifocal, mulai atrofi
	96	4	Necrotik diffus,
	168	4	Necrotik diffus,
4 (Hiposmotik)	6	3	Necrotik multifocal
	24	4	Necrotik diffuse
	96	4	Necrotik diffus, atrofi
	168	-	Autolisis

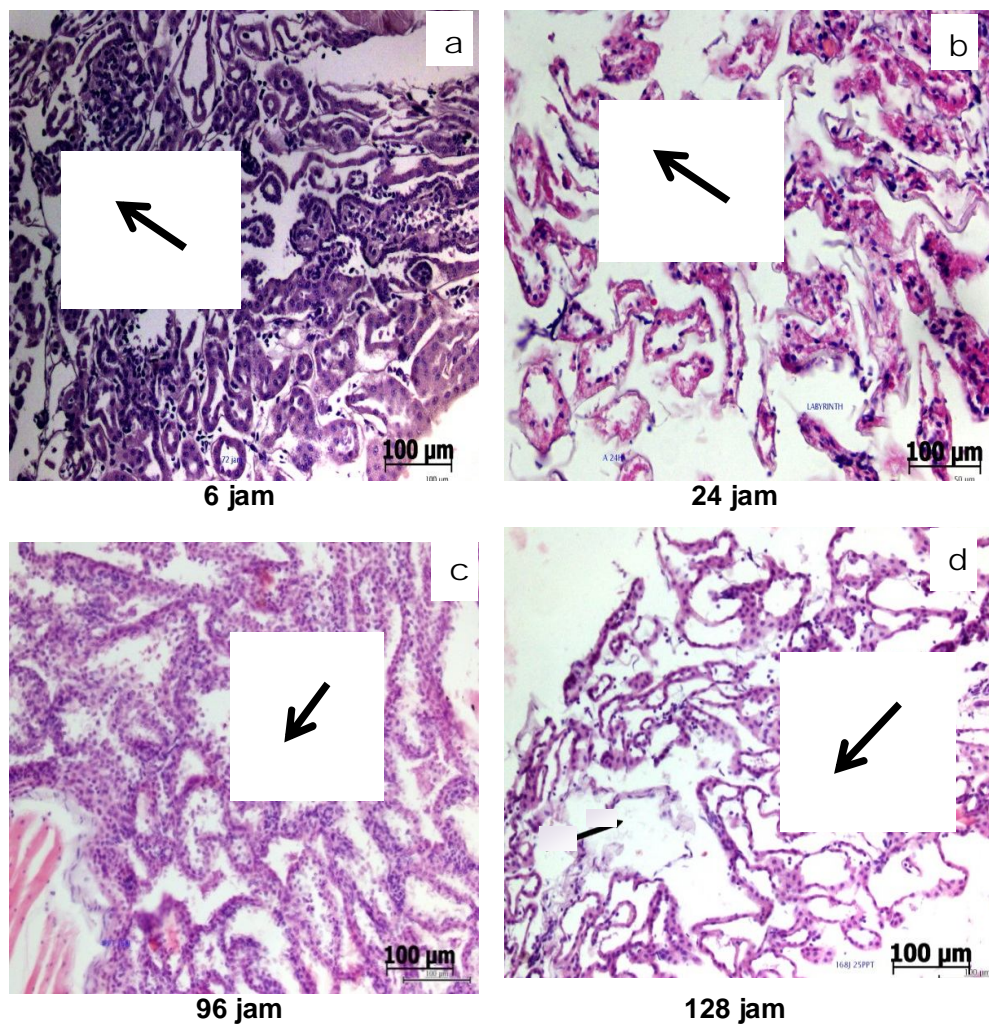
Sel-sel labirin kelenjar antennal juvenil udang windu nampaknya mengalami perubahan struktur jaringan dengan berbagai kategori berdasarkan level salinitas dan waktu pemeliharaan. Sel-sel labirin kelenjar antennal juvenil udang pada media bersalinitas 37 ppt dalam waktu pemeliharaan 6 jam terlihat mengalami pembengkakan pada bagian tertentu (edema) (Gambar 42).



Gambar 42. Histopatologi sel labirin kelenjar antennal juvenil udang windu pada media (37 ppt) dengan waktu pemeliharaan (a) 6 jam, (b) 24 jam, (c) 96 jam. (d) 168 jam. Pewarnaan HE. Bar = 100 µm. Pembengkakan lebih tinggi (waktu 96 dan 168 jam) dan terjadi penebalan basal membrane (168 jam).

Pembengkakan di sini dimaksudkan adalah perluasan atau pengembangan lumen coelomosac dan penebalan pada basal membran. Kondisi ini meningkat pada pemeliharaan 24 jam pada media 37 ppt, dan terjadi di beberapa bagian jaringan namun masih dalam kategori ringan. Selanjutnya pada pemeliharaan 96 dan 168 jam mulai terjadi kerusakan sedang di beberapa tempat tertentu pada sel-sel jaringan labirin (edema multylocal mild).

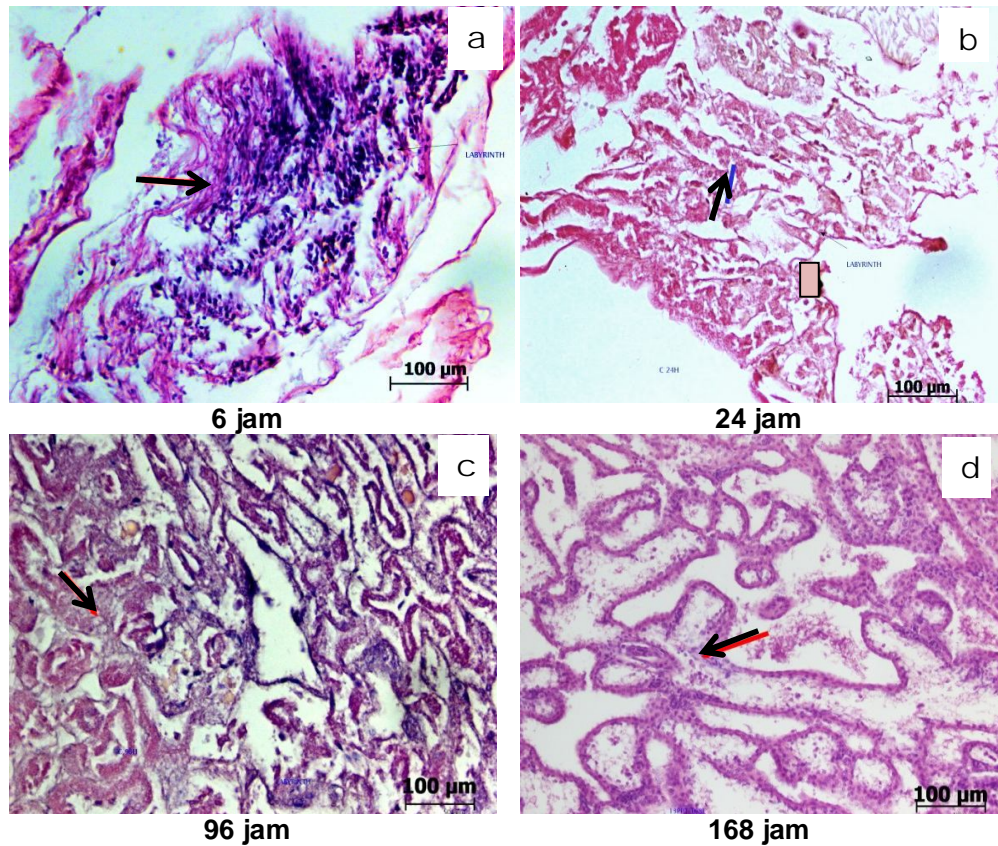
Gambar 42 memperlihatkan hasil analisis histopatologi coelomesac dan labirin kelenjar antennal juvenil udang windu pada media hiperosmotik (salinitas 37 ppt) berdasarkan waktu pemeliharaan, menunjukkan bahwa telah terjadi edema (setelah 6 jam), edema necrotic mild (24 jam), edema multifocal (96 jam) dan neucrotik multifocal.



Gambar 43. Histopatologi sel labirin kelenjar antennal juvenil udang windu pada media 25 ppt dengan waktu pemeliharaan 6 jam (a), 24 jam (b), 96 jam (c) dan 168 jam (d). Pewarnaan HE. Bar = 100 µm

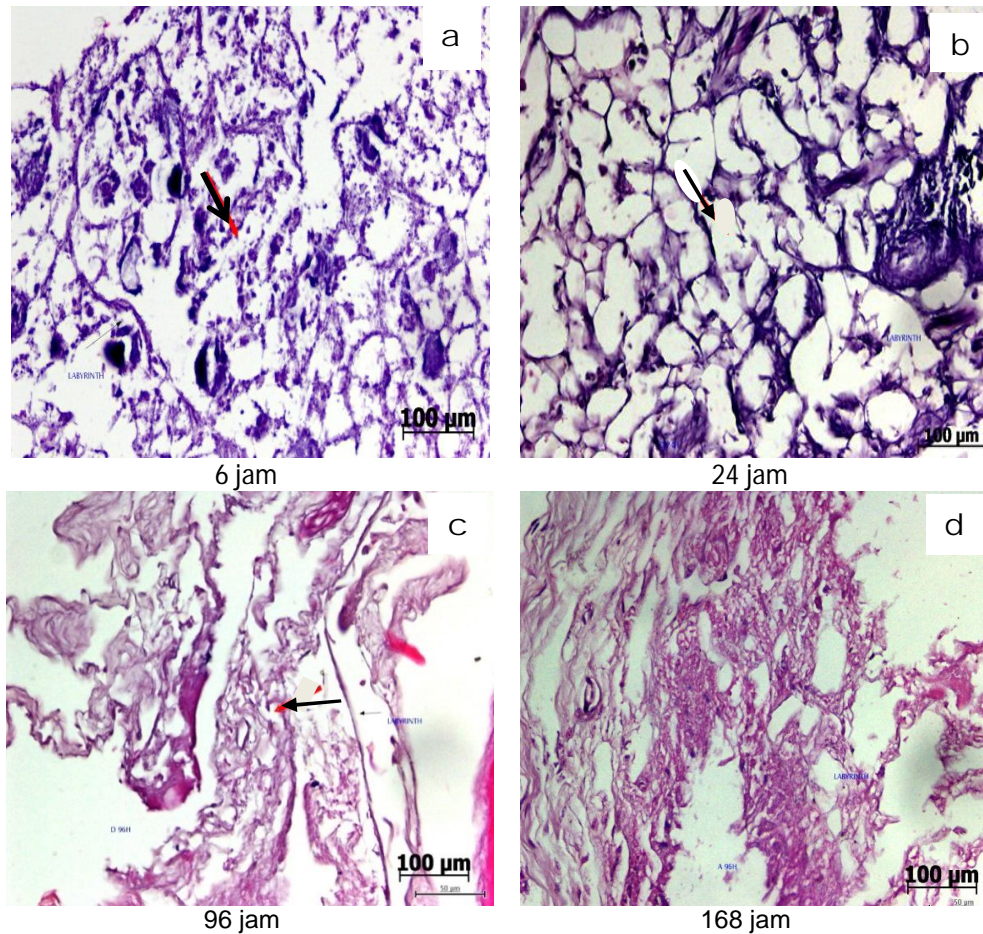
Kondisi kelenjar antennal juvenil udang pada media bersalinitas 25 ppt dengan waktu pemeliharaan 6 dan 24 jam menunjukkan terjadi pembengkakan dan perluasan ruang hemolim (*haemolymph space*) (Gambar 43). Hasil analisis histopatologi coelomesac dan labirin kelenjar antennal juvenil udang windu pada media isoosmotik (salinitas 25 ppt) berdasarkan waktu pemeliharaan), menunjukkan bahwa setelah 6 jam dipelihara terlihat terjadi pembengkakan pada beberapa bagian jaringan tertentu. Bahkan setelah 24, 96 dan 168 jam pemeliharaan terjadi pembengkakan di beberapa jaringan tertentu.

Kemudian udang yang berada pada media bersalinitas 13 ppt selama 6 dan 24 jam menunjukkan mulai terjadi kerusakan di beberapa tempat pada sel labirin khususnya pada coelomosac, sementara pada 96 dan 168 jam telah mengalami necrotic diffuse yang dapat dikatakan mengalami kerusakan sel secara menyeluruh (Gambar 44). Hasil analisis histopatologi coelomesac dan labirin kelenjar antennal juvenil udang windu pada media hiposmotik (salinitas 13 ppt) berdasarkan waktu pemeliharaan, menunjukkan bahwa telah terjadi necrotic multifocal setelah 6 jam; necrotic multifocal mulai atrofi setelah 24 jam; dan necrotic diffuse setelah 96 dan 168 jam pemeliharaan juvenil udang.



Gambar 44. Penampakan jaringan sel labirin kelenjar antennal juvenil udang windu hasil pengamatan histopatologi pada media hiposmotik (13 ppt) dengan waktu pemeliharaan 6 jam (a), 24 jam (b), 96 jam (c) dan 168 jam (d)

Hasil analisis histopatologi coelomesac dan labirin kelenjar antennal juvenil udang windu pada media hiposmotik (salinitas 4 ppt) berdasarkan waktu pemeliharaan. Gambar 45 menunjukkan bahwa terjadi necrotic multifocal setelah 6 jam; necrotic diffuse setelah 24 jam; necrotic multifocal mulai atrofi setelah 96 jam; dan autolysis yaitu kerusakan tinggi pada jaringan setelah 168 jam juvenil udang windu dipelihara.



Gambar 45. Penampakan jaringan sel labirin kelenjar antennal juvenil udang windu hasil pengamatan histopatologi pada media hiposmotik (salinitas 4 ppt) dengan waktu pemeliharaan 6 jam (a), 24 jam (b), 96 jam (c) dan 168 jam (d)

Berdasarkan hasil pengamatan histopatologi kelenjar antennal juvenil udang windu ini terlihat bahwa lama waktu pemeliharaan turut mempengaruhi kondisi juvenil udang windu ketika terjadi perubahan salinitas teristimewa terjadi penurunan salinitas rendah. Ini mengindikasikan bahwa perubahan salinitas dan lama pemeliharaan dapat mempengaruhi imun, sehingga pada media bersalinitas rendah, udang memiliki peluang yang lebih besar terinfeksi penyakit pathogen

dibanding dengan juvenil udang yang berada pada media bersalinitas tinggi. Yu *et al.* (2003) mengatakan bahwa salinitas mempengaruhi respon imun udang *Marsupennaeus japonicus*, dimana udang yang berada jauh di luar salinitas awal, menunjukkan semakin lemah respon kekebalan tubuh mereka. Untuk itu sehubungan dengan imun, Baliao (2000) mengusulkan salinitas yang ideal untuk budidaya udang adalah 15-25 ppt.

Demikian pula yang telah dibuktikan oleh Liu *et al.* (2006) pada udang *Fenneropenaeus chinensis*, yang menyatakan bahwa perubahan salinitas akut lebih besar dari 4 ppt dalam waktu satu jam dapat menyebabkan replikasi WSSV yang cepat dan penurunan kekebalan terhadap penyakit pada udang tersebut. Peinado-Guevara dan Lopez-Meyer (2006) membuktikan bahwa fluktuasi suhu dan salinitas yang mendadak akibat hujan lebat berkontribusi meningkatkan *viral load* terhadap udang di Meksiko, bahkan mengakibatkan kematian 80%. Sedangkan Yusuf dan Philip (2007) menyatakan bahwa salinitas stres akut lebih signifikan pada salinitas rendah dari pada salinitas tinggi, yang mempengaruhi kompetensi imuno *Penaeus monodon* dan mengakibatkan peningkatan kerentanan terhadap infeksi WSSV.

Berdasarkan hasil pengamatan histopatologi kelenjar antennal pada media salinitas dan waktu yang berbeda yang didukung oleh penjelasan-penejelasan beberapa literatur di atas, dapat dipastikan juvenil udang windu akan mudah terserang penyakit pada media hiposmotik (salinitas rendah) seiring dengan lamanya waktu pemeliharaan menyebabkan

juvenile udang berada pada kondisi yang tidak stabil, sehingga juvenil udang mengalami kelemahan tubuh akibat stres osmotik, yang berdampak pada kelangsungan hidup dan pertumbuhan bahkan kematian.

2. Imunohistokimia dengan Antibodi terhadap Subunit α Na^+/K^+ -ATPase

Imunohistokimia adalah suatu metode untuk mendeteksi keberadaan molekul atau berbagai macam komponen yang terdapat di dalam sel atau jaringan dengan menggunakan prinsip reaksi atau pengikatan antara bahan aktif (antigen) pada sisi aktif yang spesifik oleh suatu anti-bahan aktif yang dikenal sebagai antibodi. Antigen adalah molekul protein besar yang bergabung dengan polisakrida (glikoprotein) yang merupakan substrat induktor antibody.

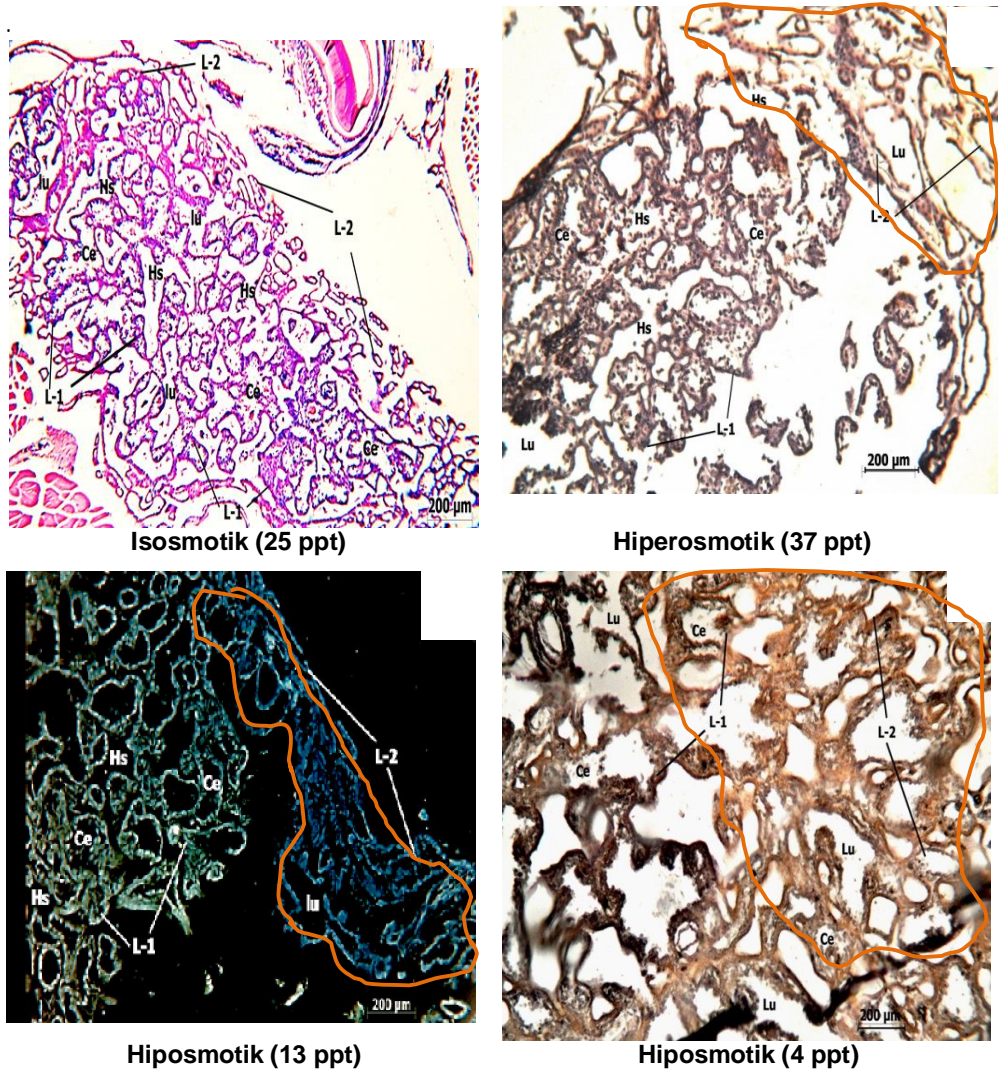
Imunohistokimia yang digunakan dalam penelitian ini dimaksudkan untuk mempelajari dan menganalisis aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase kelenjar antennal udang windu di level salinitas yang berbeda dengan menggunakan metode tidak langsung (*indirect method*). Antibodi primer yang digunakan untuk analisa enzim Na^+/K^+ -ATPase kelenjar antennal udang windu ini bertipe Mab, grade supernatant dan isotype IgG dengan clone no. 9E 150 (Charmantier, 2005).

Pewarnaan imunohistokimia melibatkan proses pengikatan antara antigen dengan antibodi dalam memperoleh warna spesifik struktur sel atau komponen yang terdapat dalam sel kelenjar antennal udang. Reaksi yang ditimbulkan dapat diamati dengan mikroskop cahaya, dan pada

umumnya memberikan gambaran kuantitatif maupun kualitatif dari intensitas produk warna yang terbentuk. Pewarnaan imunohistokimia terhadap kelenjar antennal juvenil udang windu di berbagai salinitas ditampilkan pada Gambar 46.

Hasil Penampakan pewarnaan imnohistokimia kelenjar antennal udang windu pada Gambar 46 ini menunjukkan warna coklat dengan intens lebih tinggi pada sel labirin di media bersalinitas 4 ppt (d) , diikuti pada media 37 ppt (b) dibanding kelompok pada media 13 ppt (c). Warna coklat pada sel-sel labirin menunjukkan reaksi positif dari aktivitas enzim $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$.

Selain itu, terlihat warna coklat lebih pekat pada labirin tipe dua (L-2) dibanding labirin tipe satu (L-1) juvenil udang baik pada media bersalinitas 4, 13 maupun 37 ppt. Hal ini mengindikasikan bahwa sel-sel labirin tipe dua yang berbentuk kolumnar berhubungan dengan tubulus nepridial, dimana proses filtrasi dan absorpsi terjadi pada epitel dinding lumen dari tubulus tersebut. Dengan demikian pada daerah tersebut terjadi aktivitas enzim yang tinggi.



Gambar 46. Lokalisasi α -subunit dari enzim Na^+/K^+ -ATPase dalam sel-sel labirin kelenjar antennal udang windu *Penaeus monodon* pada media 25 ppt (a), 37 ppt (b), 13 ppt (c), dan 4 ppt (d). Ekspresi enzim Na^+/K^+ -ATPase (warna coklat) lebih tinggi pada sel-sel epitel pada labirin (L-1 dan L-2) dengan lumen labirin (lu) lebih besar pada media 4 ppt (d) dibanding media lainnya (a, b, c).

Hasil analisa menunjukkan bahwa padamedia hiposmotik, udang melakukan pengambilan ion-ion secara aktif, sehingga menyebabkan hilangnya ion-ion terutama ion natrium dengan difusi. Jika urine tidak dapat dibuat hipotonik terhadap cairan tubuh, maka ion akan hilang

melalui jalur ini dan kelenjar antennal melakukan fungsinya untuk mereabsorpsi ion dari cairan ekskresi untuk mengurangi kehilangan ini. Proses ini berjalan melalui transport aktif dengan peran pompa natrium, dan manifestasi enzimatik pompa natrium adalah Na^+/K^+ ATPase. Enzim ini diperlukan untuk melakukan fungsi sel yang tepat karena membantu menjaga gradien ion melintasi membran sel sehingga terjadi membran potensial dan keseimbangan osmotik sel. Proses ini membutuhkan banyak energi yang diperoleh dari adenosin trifosfat (ATP) yang terdapat di sel sehingga dianggap sebagai sumber tenaga sel yang dihasilkan oleh pompa Na^+/K^+ ATPase.

Selain itu, pada salinitas rendah, tingkat osmotik media pemeliharaan udang menurun dan ini mempengaruhi osmolaritas hemolim udang, sehingga terjadi ketidakeimbangan osmotik menyebabkan udang melakukan kerja osmotik yang tinggi pada kondisi salinitas tersebut untuk menciptakan homeostasis. Homeostasis yang dilakukan secara berlebih merupakan upaya yang dikembangkan untuk mencapai adaptasi melalui perubahan metabolisme. Dalam kondisi stres, dipastikan kemampuan juvenil udang untuk mengatur permeabilitas sel menurun, sehingga mobilisasi ion antar sel dengan lingkungan tidak terkontrol, menyebabkan tingkat osmolalitas hemolim udang menurun yang mengakibatkan ketidakseimbangan osmotik antar hemolim dan media pemeliharaan.

Ketidakeimbangan osmotik yang terus berlanjut karena stres merupakan suatu pembelanjaan energi yang signifikan dalam memenuhi

kebutuhan untuk mencapai resistensi dan kompensasi. Seperti yang dijelaskan oleh Buranajitpirom *et al.* (2010) bahwa ekspresi dan aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase pada kelenjar antennal berkorelasi dengan kondisi fisiologi juvenil udang windu dan lingkungan sekitarnya. Pada salinitas rendah ekspresi dan aktivitas enzim meningkat. Selanjutnya dinyatakan bahwa adaptasi udang windu pada salinitas yang berbeda merupakan fungsi ekskresi dari kelenjar antennal, namun dalam kondisi juvenil udang windu stres diduga kemampuan untuk mengatur hal ini terganggu. Untuk itu dibutuhkan pengelolaan media pemeliharaan juvenil udang yang baik dalam memelihara kondisi homeostasis sehingga banyak energi dapat disalurkan untuk pertumbuhan udang.

3. Ultrastruktural Kelenjar Antennal Udang Windu

Kelenjar antennal juvenil udang windu yang diamati dan dianalisa secara ultrastruktur dalam penelitian ini berasal dari juvenil yang dipelihara selama 96 jam pada salinitas 4, 13, 25 dan 37 ppt.

Contoh kelenjar antennal yang digunakan harus dalam keadaan segar dengan ukuran potongan yang sangat kecil (1x1x1 mm) dan langsung difiksasi sesuai prosedur (Gambar 47).

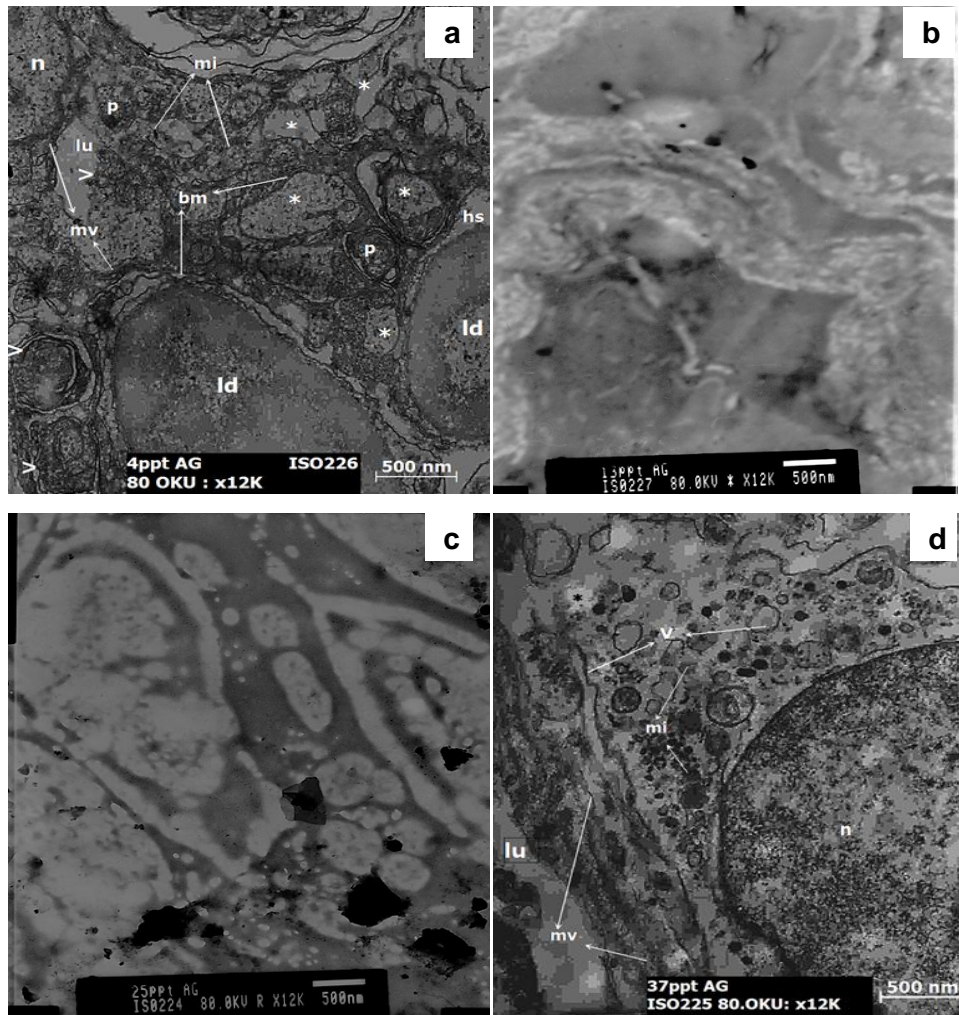
Hasil analisis TEM kelenjar antennal udang windu pada salinitas yang berbeda disaji pada Gambar 48



Gambar 47 :
 Sampling contoh
 kelenjar antennal
 juvenil udang windu
 (1x1x1 mm)

Contoh kelenjar antennal yang digunakan harus dalam keadaan segar dengan ukuran potongan yang sangat kecil (1x1x1 mm) dan langsung difiksasi sesuai prosedur (Gambar 47).

Hasil analisis TEM kelenjar antennal udang windu pada salinitas yang berbeda disajikan pada Gambar 48. Gambar 48 menunjukkan bahwa terlihat banyak ruang vakuola dari sel podosit dengan luas antar podosit dengan celah filtrasi relatif lebih sempit pada tubul labirin di salinitas rendah atau media hiposmotik (4 ppt) dibanding salinitas tinggi atau media hiperosmotik (37 ppt). Demikian pula karakteristik unik dari sel labirin pada salinitas rendah (4ppt) yang terlihat pada Gambar 48a adalah mereka yang memiliki mikrovili apikal dan sejumlah mitokondria tersusun dalam basal membrane yang berlipat (*membrane basal infolding*) yang disebut pergoresan basal.



Gambar 48. Mikrograf elektron transmisi menunjukkan sel labirin udang windu pada salinitas (a) 4 ppt, (b) 13 ppt, (c) 25 ppt dan (d) 37 ppt. Sejumlah zona atau ruang seperti vakuola bening transparan berisi cairan encer dari sel podosit (★) di basal membrane (bm) mengandung sitoplasma “blebs” ➤ dan lipid droplet (ld) pada salinitas 4 ppt yang tidak t pada salinitas 37 ppt, mitokondria (mi), mikrovili (mv), nucleus (n), lumen labirin (lu), vesikula (v). Pembesaran 12000x (scale bar = 500 nm)

Jumlah sitoplasma dengan “blebs” (kepala panah putih) yang terlihat dalam lumen labirin menyebabkan ruang yang relatif sempit yang tidak terdeteksi pada kelenjar antennal juvenil udang di Sementara hasil

pengamatan pada salinitas 25 dan 13 ppt tidak terdeteksi organel-organel dari kelenjar antennal udang windu. Ada beberapa kemungkinan penyebab seperti sampling kelenjar antennal yang kurang tepat, atau kelenjar antennal dari udang pada media tersebut belum berkembang dengan baik sehingga tidak terdeteksi ketika dianalisa.

Selain itu terlihat struktur yang menyerupai lipid droplet (ld) yaitu tetesan lipid pada sel yang diduga dapat mengganggu proses filtrasi dan reabsorpsi sehingga menyebabkan kelemahan pada udang di salinitas rendah. Kondisi ini tidak terlihat pada udang di salinitas tinggi.

Eroschenco (2010) mengatakan bahwa mikrovili adalah struktur nonmotil yang berkembang di permukaan apical sel epitel ginjal dengan fungsi utama adalah mengabsorpsi nutrient dari filtrat glomerulus di ginjal. Jadi fungsi mikrovili pada kelenjar antennal udang ini sama dengan pada ginjal yaitu absorpsi. Sedangkan Pelipatan (*infolding*) membrane sel basal dan lateral yang dalam hanya terlihat dengan mikroskop elektron. Lipatan ini dijumpai di sel-sel tubuh tertentu, dengan fungsi utamanya adalah mengangkut ion menembus membrane sel. Sel-sel di tubulus labirin secara selektif mengabsorpsi komponen yang bernutrisi dari filtrat di epitel labirin dan menyimpannya dalam tubuh. Pada saat yang sama, sel-sel ini membuang produk sisa metabolik yang tidak berguna seperti urea. Karena sel-sel ini mengangkut banyak ion menembus membrannya, sel-sel ini memerlukan banyak energi, yang dihasilkan oleh pompa $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ yang terikat pada sel membrane basal dan lateral yang

berlipat dan untuk melakukan fungsi vital ini, banyak energi kimia yang diperlukan. Oleh karena itu banyak mitokondria yang terletak di lipatan membrane basal ini secara terus menerus memasok sel dengan sumber energi (ATP) yang menggerakkan pompa untuk mengangkut ion menembus membrane sel.

Hasil analisa TEM pada Gambar 48 ini juga memperlihatkan struktur inti dengan kromatin yang tersebar merata, mitokondria, dan vesikula pada kelenjar antennal juvenil udang pada media bersalinitas tinggi (37 ppt). Vesikula merupakan salah satu bagian penting dari sel adalah organel sel kecil dalam sel berupa kantung membran kecil, tertutup yang menyimpan dan berfungsi mengangkut zat ke dan dari satu sel ke sel lain dan dari satu bagian sel ke yang lain. Untuk menjalankan fungsi vesikula ini dibutuhkan sejumlah energi. Kondisi ini tidak ditemukan pada kelenjar antennal juvenil di salinitas yang lain.

Sementara hasil pengamatan pada salinitas 25 ppt dan 13 ppt tidak terdeteksi organel-organel dari kelenjar antennal udang windu. Ada beberapa kemungkinan penyebab seperti sampling kelenjar antennal yang kurang tepat, atau kelenjar antennal dari udang pada media tersebut belum berkembang dengan baik sehingga tidak terdeteksi ketika dianalisa. Seperti yang dinyatakan oleh Schmidt-Nielsen *et al* (1968); Peterson dan Loizzi (1974) dalam Al-Mohsen (2009) yang mendeskripsi morfologi kelenjar antennal baik pada krustase air tawar maupun krustase air laut, mengatakan bahwa krustase spesies air tawar memiliki struktur kelenjar

antennal lebih lengkap dan jelas daripada spesies air laut, Morfologi kelenjar antennal krustase air laut agak rumit dengan beberapa komponen yang menyatu bahkan tidak memiliki beberapa komponen.

Sel labirin dalam kelenjar antennal secara struktur dan fungsional sebanding dengan lapisan sel epitel ginjal pada vertebrata. Sel ini dikenal memainkan peran kunci dalam reabsorpsi air dan ion natrium melalui ATP yang terikat dengan aktivitas Na^+/K^+ ATPase (Peterson dan Lozzi, 1974) Oleh karena itu, perubahan struktural sel labirin termasuk peningkatan membrane basal infolding dan jumlah mitokondria di pegoresan basal, memungkinkan peningkatan transport aktif ion.

B. 4. Pembahasan Umum

Sebagaimana kebanyakan udang penaide lainnya, udang windu *Penaeus monodon* Fabr. mengalami beberapa tahap perkembangan dalam siklus hidupnya disertai fluktuasi salinitas di tambak budidaya menempatkan pengaturan proses fisiologis sebagai penentu utama respon adaptasi, kelangsungan hidup dan pertumbuhannya

Fluktuasi salinitas media lewat efek osmotiknya yang diperoleh dalam penelitian ini mempengaruhi konsentrasi osmolaritas hemolim dan juga menentukan kemampuan osmoregulasi (TKO) juvenil udang. Nilai TKO yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa juvenil udang windu berada dalam ketidakseimbangan osmotik sehingga udang melakukan regulasi hiperosmotik ketika berada di salinitas rendah, artinya

udang berusaha mengeluarkan kelebihan konsentrasi cairan dari tubuh . Sebaliknya juvenil udang melakukan regulasi hipoosmotik ketika terjadi peningkatan salinitas Untuk mempertahankan homeostasis osmotik dari hemolim hipertonic, air berlebihan harus ditarik dari hemolim dan dibuang dari tubuh tanpa kehilangan elektrolit dan sebaliknya untuk keseimbangan hemolim hioosmtik juvenil udang memasukkan air sebanyak-banyaknya dari media ke dalam tubuh. Mekanisme ini terjadi melalui mekanisme pengaturan osmotik dan ion.

Tingginya tingkat kerja osmotik pada media hiposmotik (4ppt) menyebabkan udang stress dan mengalami kematian, ini ditandai dengan rendahnya kelangsungan hidup juvenil udang (SR=53%).yang diperoleh.

Tantulo dan Fotedar (2006) menyatakan bahwa osmolalitas plasma juvenil udang windu akan semakin meningkat secara linear seiring dengan peningkatan salinitas. Namun menurut Joseph dan Philip (2007), nilai osmolalitas plasma juvenil udang windu tidak selamanya dipengaruhi oleh salinitas air, pada salinitas yang sama, namun kondisi fisiologi udang stres akibat gangguan eksternal lainnya, maka nilai osmolalitas plasmanya akan menurun. Fakta ini terjadi dalam penelitian ini, dimana osmolaritas hemolim berfluktuasi sesuai fluktuasi salinitas dan waktu pemeliharaan.

Tekanan yang dialami oleh juvenil udang windu sebagai efek dari fluktuasi salinitas dikontrol oleh sistem saraf pusat yang memerintahkan sel neurosekretori untuk memproduksi hormon sel neurosekretori yang berperan dalam osmoregulasi (Braga dan Higa, 2000) antara lain mampu

menghambat dan merangsang organ x dalam memproduksi hormon untuk merespon perubahan lingkungan. Selain itu mengontrol proses metabolisme dan kontraksi jantung yang pada akhirnya akan mempengaruhi nafsu makan dan kadar metabolit dalam darah. Apabila kadar metabolit dalam darah tidak sesuai dengan kebutuhan juvenil udang untuk kelangsungan metabolisme normal, dapat menyebabkan udang stres.

Stres yang dialami dapat menurunkan nafsu makan yang sampai batas tertentu dapat berpengaruh negatif terhadap retensi energi dan pertumbuhan juvenil udang windu. Walaupun dalam penelitian ini tidak dianalisa pertumbuhan juvenil udang, namun sesuai dengan definisi stress menurut Wolffrom (2004) adalah suatu keadaan dimana keseimbangan atau *homoestasis* udang terancam atau terganggu oleh faktor internal atau eksternal, atau kondisi dimana organisme tidak mampu lagi memelihara fisiologi normal akibat berbagai faktor. Selain itu homeostasis yang dilakukan secara berlebih merupakan upaya yang dikembangkan untuk mencapai adaptasi melalui perubahan metabolisme. Dalam kondisi stres, diduga kemampuan untuk mengatur permeabilitas sel menurun, sehingga mobilisasi ion antar sel dengan lingkungan tidak terkontrol, menyebabkan tingkat osmolalitas menurun.

Hal lain yang berpeluang untuk menyebabkan terjadinya penurunan tingkat osmolaritas juvenil udang windu adalah diduga tingginya kelarutan ion-ion dalam media pemeliharaan sebagai efek dari sekresi juvenil udang

windu yang berlebihan dalam merespon intervensi perubahan salinitas. (Ferraris, 1986). Konsentrasi ion-ion media pemeliharaan yang diperoleh dalam penelitian ini secara linear meningkat seiring peningkatan salinitas. Nilai konsentrasi Na^+ terendah (12.361 ppm) terdapat pada media hiposmotik (4ppt) 6 jam dan meningkat sampai tertinggi (330.338 ppm) terdapat pada media hiperosmotik (43 ppt), pada 168 jam. begitu juga terjadi pada ion-ion media lainnya.

Kenyataan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada media hipoosmotik terjadi penurunan konsentrasi ion-ion hemolim juvenil yang berfluktuasi berdasarkan waktu, saat terjadi perubahan salinitas dan sebaliknya meningkat pada media hiperosmotik di semua level waktu.

Selain itu terjadi ketidakseimbangan konsentrasi ion-ion hemolim juvenil dan ion-ion media pemeliharaan. Konsentrasi ion-ion hemolim umumnya lebih besar dari di media kecuali ion Cl^- dan SO_4^{2-} . Padahal secara fisiologis ion-ion ini diketahui sangat berfungsi bagi tubuh, seperti Na^+ mengatur jumlah air dalam tubuh dan mempertahankan fungsi yang tepat dari sistem saraf, otot, dan sistem lainnya. K^+ bertanggung jawab untuk mengatur fungsi otot dan sangat penting dalam fungsi neuron atau saraf. Konsentrasi K^+ yang ekstrim (yang tinggi atau rendah) dapat menyebabkan kelemahan saraf yang bisa berakibat fatal atau kematian udang. Cl^- membantu menjaga keseimbangan cairan tubuh normal Kirschner (2004).

Pengaturan ion-ion ini dilakukan di tingkat sel oleh aktifitas enzim N^+/K^+ -ATPase, dan penelitian ini membuktikan bahwa pada media hiposmotik atau salinitas yang rendah (4ppt), terlihat kerja aktivitas enzim N^+/K^+ -ATPase tinggi pada sel-sel labirin kelenjar antennal dengan mengekspresikan warna coklat yang pekat. Péqueux (1995), Charmantier (1998) juga (Torres *dkk.* 2007), mengemukakan bahwa kegiatan enzim N^+/K^+ -ATPase terkonsentrasi khusus dalam pengaturan ion di sel dan jaringan. Hasil analisa imunohistokimia memperlihatkan bahwa enzim N^+/K^+ -ATPase sebagian besar ditemukan di dalam sel labirin kelenjar antennal juvenil udang windu dalam penelitian ini, seperti yang di temui oleh Péqueux (1995), Charmantier (1998), Torres *dkk.* (2007) yaitu di dalam insang, kelenjar antennal sebagai organ-organ osmoregulasi.

Suatu bukti eksperimen yang diperoleh dalam penelitian ini menjelaskan bahwa adaptasi juvenil udang windu *Panaeus monodon* yang baik terjadi pada media hipoosmotik (salinitas 25 ppt) karena ada keseimbangan osmotik antara hemolim dan media yang dirunjukkan dengan tingkat kerja osmotik mendekati nilai 1. Selain itu terlihat struktur sel-sel labirin kelenjar antennal juvenile yang lebih normal pada media 25 pt dibanding media lainnya, seperti yang ditemi pada media hipoosmotik (salinitas 4 ppt) yang menunjukkan beberapa perubahan bahkan merusakkan struktur.

Hasil pengamatan histopatologi telah membuktikan bahwa kelenjar antennal juvenil udang windu yang berada pada media bersalinitas 4 ppt

dengan waktu pemeliharaan 6 dan 24 telah mengalami kerusakan sel di beberapa tempat yang mengarah kepada kerusakan di banyak tempat, dan pada 96 jam pemeliharaan terlihat kerusakan sel pada jaringan dan mengalami pengecilan/pengerutan, bahkan pada pemeliharaan 168 jam, kelenjar antennal juvenil udang telah mengalami kerusakan (autolisis). Oleh karena itu, perubahan morfologi kelenjar antennal pada udang yang dipelihara di salinitas 4 ppt akan meningkatkan fungsi penyaringan tubular yang terlibat dalam pengaturan osmolaritas hemolim (Lin *et al* 2000).

Secara fisiologis, proses ini dilengkapi oleh peningkatan aktivitas dari enzim Na^+/K^+ -ATPase, yang tergantung pada ATP (Towle *et al* 2001; Lucu dan Towle 2003). Memang, bukti eksperimental menunjukkan aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase (intensitas pewarnaan antibodi melalui imunohistokimia) tampaknya lebih jelas pada udang yang dipelihara di salinitas 4 ppt dengan intensitas warna coklat yang tinggi, meskipun tidak secara signifikan berbeda dari yang di kelompok juvenil udang di salinitas lainnya, karena tidak diuji secara kuantitatif.

Perubahan ultrastruktural dari sel-sel labirin terbukti juga dari hasil analisa mikroskop elektron transmisi yaitu adanya penambahan atau peningkatan basal membran yang berlipat (*infolding*) dan jumlah mitokondria di pergoresan basal kemungkinan menunjukkan transportasi aktif ion yang tinggi seperti yang dijelaskan pada lobster (Khodabandeh *et al* 2005b). Salah satu temuan dari hasil analisa mikroskop elektron transmisi ini yaitu ada substansi berupa tetesan-tetesan lemak (*lipid*

droplet) yang hadir pada sel labirin kelenjar antennal juvenil udang pada salinitas rendah (4 ppt) secara tak terduga atau tidak diharapkan, dan perlu kajian lanjut dari fenomena ini.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Kemampuan osmoregulasi juvenil udang windu sangat nyata dipengaruhi oleh perubahan salinitas media, maupun interaksi salinitas dan waktu pemeliharaan.
2. Media isoosmotik yaitu 25 ppt merupakan salinitas yang terbaik bagi udang windu karena nilai tingkat kerja osmotik tidak jauh dari nilai 1, sehingga hanya sedikit energi untuk pengaturan ion dan ada keseimbangan konsentrasi ion hemolin dan media, walaupun berfluktuasi sesuai lama diekspose.
3. Salinitas rendah berpengaruh terhadap perubahan struktur sel-sel labirin kelenjar antennal yaitu terjadi pengecilan sel-sel pada jaringan labirin (*atropi, nekrotic diffuse*) dan bahkan merusakkan sel secara menyeluruh (*autolysis*), sehingga mengganggu aktifitas filtrasi dan penyerapan material dalam rangka keseimbangan osmotik.
4. Ekspresi dan aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase pada kelenjar antennal juvenil udang windu berkorelasi dengan perubahan salinitas media. Semakin rendah salinitas media, semakin tinggi aktivitas enzim yang diekspresikan dengan intensitas warna coklat pekat pada sel-sel labirin juvenil udang windu.

B. Saran

1. Dalam budidaya udang windu, disarankan menggunakan salinitas media yang dapat dikontrol yaitu salinitas 25 ppt.
2. Perlu penelitian lanjutan tentang respon fisiologi adaptasi udang windu terhadap lingkungan eksternal dikaitkan dengan stadia perkembangan udang windu termasuk proses molting.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiwidjaya, D. D. Sulistinarto, E. Sutikno, I.K. Ariawan, Triyono, Herman. 2004. Budidaya udang sistem tertutup yang berkelanjutan dan ramah lingkungan. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau. Departemen Kelautan dan Perikanan. Jepara. 38 p.
- Affandi, R., D. S. Syafei, M.P. Raharjo dan Sulistiono. 1992. Fisiologi Ikan "Pencernaan". Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Affandi, R. dan Tang, U.M. 2002. Fisiologi Hewan Air. Penerbit Universitas Riau Press. Pekanbaru. 221 hal.
- Alvares, A. L., Racotta, I. S., Arjona, O. and Poalacios, E. 2004. Salinity stress test as a predictor of survival during growout in Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture* 237 : 237 – 249.
- Al-Mohsen, I. 2009. *Macrobrachium rosenbergii* (de Man 1879): The Antennal Gland and The Role of Pheromones In Mating Behaviour. Dissertation. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland. 272 p.
- Allan, G. L. and Maguire, G. B. 1991. Lethal levels of low dissolved oxygen and effects of short-term oxygen stress On subsequent growth of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 94: 27– 37
- Anggoro,S. 1992. Efek Osmotik Berbagai Tingkat Salinitas Media Terhadap Daya Tetas Telur dan Vitalitas Larva Udang Windu, *Penaeus monodon* FABRICIUS. Disertasi. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 230 hal.
- Anggoro, S., Subandiyono and T. Supratno. 2008. Teknik domestikasi udang liar, udang jahe (*Metapenaeus elegans*) Asal Segara Anakan melalui optimalisasi media dan pakan. Laporan Penelitian RISTEK. LPPM, Undip, Semarang. 147 halaman.
- Anstee, J.H. and Bell, D.M. 1975. Relationship of the Na⁺/K⁺-activated ATPase and fluid production by malpighian tubules of *Locusta migratoria*. *J. Insect Physiol.*, 21: 1779-1784.

- AOAC. 1990. Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists. 15th eds. Arlington VA: Association of Official Analytical Chemists.
- Augusto A, Greene L.J, Laure H.J, McNamara J.C. 2007. The ontogeny of isosmotic intracellular regulation in the diadromous, freshwater palaemonid shrimps, *Macrobrachium amazonicum* and *M. olfersi* (Decapoda). *J Crustac Biol* 27:626–634
- Austgen, L., Bowen, R.A., Rouge, M. 2001. Pathophysiology of the digestive system. Colorado State University. <http://arbl.cvmbs.colostate.edu/hbooks>.
- Baily-Brock, J.H. and Moss, S.M. 1992. Penaeid taxonomy, biology and zoogeography. In: Fast, A. W. and Lester, L. J. (editors). *Marine shrimp culture: principles and practices*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 9-28.
- Baliao D., 2000. Environment-friendly schemes in intensive shrimp Farming. SEAFDEC AQD, ISBN 971-8511-46-6.
- Bauchau, A.G. 1981. Crustaceans. In: Ratcliffe N. A. and Rowley, A. F. (editors). *Invertebrate blood cells*. Academic Press, London and New York, pp. 385-420.
- Bell, T.A. and Lightner, D.V. 1988. *A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, 114 pp.
- Benhke, R. D. Wong, R. K. Huse, S. M. Reshkin, S. J. and Ahearn, G. A. 1990. Proline transport by brush-border membrane vesicles of lobster antennal glands. *American Physiological Society, Renal Physiology*, 258 (2): 311 – 320.
- Binns, R., Peterson, A. J. 1969. Nitrogen excretion by the splny lobster *Fasused wardsi* (Hutton), the role of the antennal gland. *Biol. Bull. mar. biol. Lab. Woods Hole* 136: 147-153
- Bouaricha, N. Charmantier-Daures, M., Trilles, J.P. and Charmantier G. 1994. Ontogeny of Osmoregulatory Structures In The Shrimp *Penaeus Japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Biol. Bull.* 186, 29-40.
- Boyd, C .E., 1982. *Water quality management for pond fish culture*. Elsevier Scientific Publishing Company, Nederland.

- Boyd, C. E. 1990. Water Quality in Ponds for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University, Alabama. 482 p.
- Boyd, C.E. and Fast A.W. 1992. Pond monitoring and management. In: A.W. Fast and L.J. Lester (eds). Marine shrimp culture principle and practice. Elsevier Science Publishing Comp. Inc, New York.
- Boyd C E, Massaut L, Weddig LJ. 1999. Towards Reducing Environmental Impacts of Pond Aquaculture. INFOFISH International: 2: 27-33.
- Bowater, R. 2008. Anatomy of Shrimps. Suatu Ilustration. Source: Illustration © State of Queensland, Department of Primary Industries and Fisheries.
- Braga D. C, Mori E, Higa K. T. 2000. Central oxytocin modulates exercise-induced Tachycardia. AJP – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, Vol.278
- Brett, J.R. 1979. Environmental factors and growth, In: W.S. Hoar, D.J. Randall, and J.R. Brett, (Eds.) Fish Physiology. Volume VIII. Academic Press, New York. Pp. 559-675
- Briggs, M., Simon, F.S., Subasinghe, R., Phillips, M. 2004. Introduction and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the Pacific. FAO-UN. Bangkok.
- Britoa, R., Chimallo, M.E. and Rosab, C. 2000. Effect of salinity in survival, growth and osmotic of early juvenile of *Farfantepenaeus brasiliensis* (decapoda penaeide). J. of Experimental Marine Biology & Ecology. 244: 253-263.
- Brock, J.A. and Main, K. L. 1994. A guide to the common problems and diseases of cultured *Penaeus vannamei*. The World Aquaculture Society, Louisiana State University, Baton Rouge, 242 pp.
- Brusca, R.C. and Brusca, G.J. 1990. Invertebrates. Sinauer Associates, Inc., Massachusetts, 922 pp.
- Buranajitpirom, D., Asuvapongpatana, S., Weerachatanukul, W., Wongpraset, K., Namwong, W., Poltana, P., and Withyachumnarkul, B. 2010. Adaptation of the Black Tiger, *Penaeus Monodon*, to different salinities through an excretory function of the Antennal Gland. Cell Tissue Res. 340:481-489.

- Burse, C.R., Lane, C.E., 1971. Ionic and protein concentrations changes during the molt cycle of *Penaeus duorarum*. *Comp. Biochem. Physiol.* 112B, 258–263.
- Bushmann, P. J. and Atema, J. 1996b. Nephropore rosette glands of the lobster *Homarus americanus*: possible sources of urine pheromones. *Journal of Crustacean Biology*, 16 (2): 221 – 231.
- Castille, J. R. and Lawrence, A. L. 1981. A comparison of osmotic, sodium, and chloride concentrations between Urine and hemolymph of *Penaeus setiferus* (L.) and *Penaeus stylirostris* Stimpson. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol.70A: 525-528.
- Catacutan, M. R. 2002. Growth and body composition of juvenile mud crab, *Scylla serrata*, fed different dietary protein and lipid levels and protein to energy ratio. *Aquaculture* 208: 113-123
- Cavalli, R.O., Berghe, E.Vanden., Lavens, P., Thuy, N.T.T.T., Wille, M., and Sorgeloos, P. 2000. Ammonia toxicity as criterion for the evaluation of larval quality in the prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Comp. Biochem. Physiol. Part C.* 125: 333-343
- Chang, E.S. 1992. Endocrinology. In: Fast, A.W. and L.J. Lester. (editors). *Marine shrimp culture: Principles And Practices*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 53-91.
- Chang CF, Su MS, Chen HY, Liao IC. 2003. Dietary β -1,3-glucan effectively improves immunity and survival of *Penaeus monodon* challenged with white spot syndrome virus. *Fish and Shellfish Immunology* 15:297-310
- Charmantier, D., Thuet, M.P. Charmantier,G., and Trilles, J.P. 1988. Tolérance à la salinité et osmorégulation chez les post-larves de *Penaeus japonicus* et *Penaeus chinensis*. Effet de la température. *Aquat. Living Resour.* 1, 267–276.
- Charmantier, G., Charmantier-Daures, M., Bouaricha, N., Thuet, P., Aiken, D.E., Trilles, J.-P., 1988. Ontogeny of osmoregulation and salinity tolerance in two decapod crustaceans: *Homarus americanus* and *Penaeus japonicus*. *Biol. Bull.* 175, 102–110.

- Charmantier, G., Haond, C., Lignot, J.H., and Charmantier-Daures, M. 2001. Ecophysiological adaptation to salinity throughout a life cycle: Review In Homarid Lobsters. *J. Exp Biol* 204:967–977.
- Charmantier, D. 2005. Ultrastructural Studies and Na⁺,K⁺-ATPase Immunolocalization in the Antennal Urinary Glands of the Lobster *Homarus gammarus* (Crustacea, Decapoda). *J. Histochemistry and Cytochemistry*. 53 no. 10 : 1203-1214.
- Chen, J.H. and Liao, I.C. 1986. The effect of salinity on the osmotic and ionic concentrations in the hemolymph of *Penaeus monodon* and *Penaeus penicillatus*. p: 633 – 634. In J. L. Maclean, L. B. Dizon and L. V. Hosillos, eds. The first Asian Fisheries Forum, Asian Fish. Soc., Manila.
- Chen, J.C., Chia, P.G. 1997. Osmotic and ionic concentrations of *Scylla serrata* (Forsk.) subjected to different salinity levels. *Comp Biochem Physiol*. 17A(2):239-244.
- Chen, J.C., Nan, F.H., Cheng, S.Y., Sheen, S.S. 1993. Effects of ambient ammonia on ammonia-N and protein concentrations in hemolymph and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 98: 203-208
- Chen, J.C., Chen, C.T., and Cheng, S.Y. 1994. Nitrogen excretion and changes of hemocyanin, protein and free amino acid levels in the hemolymph of *Penaeus monodon* exposed to different concentrations of ambient ammonia-N at different salinity levels. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 110:85-94.
- Chen, J.C., and Kou, Y.Z. 1992. Effects of ammonia on growth and molting of *Penaeus japonicus* juveniles. *Aquaculture* 104: 249-260.
- Chen JC, Lei SC. 1990. Toxicity of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* juveniles. *J. World Aquacult. Soc.* 21, 300–306.
- Chen, J.C., Lin, M.N., Ting, Y.Y., Lin, J.N. 1995. Survival, haemolymph osmolality and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles acclimated to different salinity and temperature levels. *Comp. Biochem. Physiol. A* 110, 253–258.

- Chen, J.C., and Lin, L.L. 1994. Osmolality and chloride concentration in the haemolymph of sub adult *P. chinensis* subjected to different salinity. *Aquaculture* 125: 167-174
- Chen, J.C., and Lin, J.N. 1998. Osmotic concentration and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles reared at different salinity and temperature levels. *Aquaculture* 164, 173–181.
- Chen, J.C., Kou, Y. Z., 1993. Accumulation of ammonia in the haemolymph of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Aquaculture* 109:177-185.
- Chien, Y.H. 1992. Water quality requirements and management for marine shrimp culture. Proceeding of the special session on shrimp farming. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA USA.
- Cheng, J., Liao, I., 1986. The effect of salinity on the osmotic and ionic concentrations in the hemolymph of *Penaeus monodon* and *P. penicillatus*. In: Maclean, J.L., Dizon, L.B., Hosillos, L.V. Eds., The First Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, pp. 633–636.
- Cheng, W., Chen, J.C. 2002. Study on the oxyhemocyanin, deoxyhemocyanin, oxygen affinity and acid-base balance of *Mersupenaeus japonicus* following exposure to combined elevated nitrite. *Aqua Toxicol.* 61: 181-193.
- Cheng, W., Liu, C.H. and Kuo, C.M. 2003. Effects of dissolved oxygen on hemolymph parameter of freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture* : 220 : 843-856.
- Chu Chen, J and S, Cheng, 2002. Studies on haemocyanin and haemolymph protein levels of *Penaeus japonicus* based on sex, size and moulting cycle. : comparative biochemistry : 106, Issue 2,; 293-296.
- Chung, K.F. and Lin, H.C. 2006. Osmoregulation and Na,K-ATPase expression In osmoregulatory organs of *Scylla paramamosain*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 144, 48–57
- Corteel, M. 2013. White Spot Syndrome Virus Infection in p. Vannamei and M.rosenbergii: Experimental Studies On Susceptibility To

Infection and Disease. Dissertation. Ghent University, Belgium
283 p.

Deshimaru, O. 1979. Introduction to the artificial diets for prawn *Penaeus monodon*. *Aquaculture* : 1:115-133.

Deshimaru O, Kuroki K, Sakomoto S, Yone Y. 1978. Absorption of labeled calcium ^{45}Ca by prawns from seawater. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 44: hlm.975-977.

Diwan, A.D., Laxminarayana A. 1989. Osmoregulatory ability of *Penaeus indicus* H Milne Edwards in relation to varying salinities. *Proc. Indian Acad. Sci. (Anim. Sci.)*, Vol. 98, No.2,: 105-111.

Dove, A. D. M. 2005. Ultrastructural features of excretory calcinosis in the lobster, *Homarus americanus* Milne-Edwards. *Journal of Fish Disease*, 28: 313 – 316.

Duangsuwan, P., Phoungpetchara, I., Tinikul, Y., Poljaroen, J., Wanichanon, C., Sobhon, P. 2008. Histological and three dimensional organizations of Lymphoid tubules in normal Lymphoid organ of *Penaeus monodon*. *Fish and Shellfish Immunology* 24:426-435

Duerr JM, Ahearn GA. 1996. Characterization of a basolateral electroneutral Na^+/H^+ antiporter in atlantic lobster (*Homarus americanus*) hepatopancreatic epithelial vesicles., *J.Exp. Biol.* 199: 643-651

Dutka, T.L. and Lamb, G.D. 2007. Na^+ - K^+ pumps in the transverse tubular system of skeleton muscle fibers preferentially use ATP from glycolysis. *Am. J Physiol. Cell Physiol* 293 : C967-C977.

Effendi. 2003. *Survey Hidrografi Pantai*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Emery, A.M., Billingsley, P.F. Read, P.D. and Djamgoz, M.B.A. 1998. Insect Na^+ , K^+ -ATPase. *J. Insect Physiol.*, 44: 197-209.

Eroschenko, V. P. 2010. *Atlas Histologi Difiore dengan Korelasi Fungsional*. Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta. EGC. 552 hlm.

- FAO. 2011. *Penaeus monodon* (Fabricus, 1798). FAO, Fisheries and Aquaculture Department. http://www.fao.org/fishery/cultured/species/Penaeus_monodon/en. Accessed 22 Januari 2012.
- Ferraris, R.P., Estepa, F.D.P., Ladja, J.M. De Jesus, E.G. 1986. Effect of salinity on the osmotic, chloride, total protein and calcium concentraion In the hemolymph of the prawn, *Penaeus monodon* Fabricius. *Comp Biochem Physiol* 83A (4): 701-708.
- Felgenhauer. 1992. *Microscopic Anatomy of Invertebrates Decapod Crustacea*. Wiley-Liss, inc.10 : 45-75.
- Fuller, E.G., Highison, G.J., Brown,F.,and Bayer, C. 1989. Ultrastructure of the crayfish antennal gland revealed by Scanning and Transmission Electron Microscopy combined with Ultrasonic Microdissection. *J Morphol* 200:9–15.
- Gilles and Pequeux, A. 1983. Interaction of Chemical and Osmotic Regulation With The Environment, p: 109 – 177. In F. J. Vernberg and W. B. Vernberg, eds. *The biology of crustacea. Vol. 8 : Environmental Adaptations*. Academic Press, New York.
- Gomez-Jimenes, S., Gonzales-Felix, M.L., Perez-Valazquez, M., Trujillo-Villalba, D.A., Esquerra-Brauer, I.R. and Barraza-Guardado, R. 2005. Effect of dietary protein level in growth, survival and ammonia efflux rate of *Litopenaeus vannamei* (Bone) raised In A zero water ezchange Culture System. *Aqua Res* 36:834-840.
- Hadim, E., I. Djawad dan M.Y. Karim, 2001. Kondisi glikogen dalam hati juvenil ikan bandeng (*Chanos Chanos Forskall*) yang dibantu. *Lab Ekotoksikologi dan Fisiologi Biota Laut, FIKP-UNHAS, Makassar*.
- Harris, R. R., Andrews, M. B. 1985. Total NPS pool and ammonia net efflux rate change in *Carcinus maenas* during acclimation to low environmental salinity. *Comp. Biochem. Physiol.* 82A: 301-308.
- Hagerman, L., Sondergaard, T., Weile, K., Hosie.D..Uglow, R. F. 1990. Aspects of blood physiology and ammonia excretion in *Nephropsnor vegicus* under hypoxia.*Comp. Biochem. Physiol.* 97A: 51-60.

- Holliday, C. and Miller, D. 1984. Cellular mechanisms of organic anion transport in crustacean renal tissue. *Amer. Zool.*, 24: 275 – 284.
- Humason, G. L. 1967. *Animal Tissue Techniques*. 2nd edition. W. H. Freeman and Company. San Fransisco. Pp. 163-166
- Huong, D.T.T., Safiah, Jasmani.,Vidya, Jayasankar., Marcy, and Wilder. 2010. Na/K-ATPase activity and osmo-ionic regulation in adult whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* Exposed To Low Salinities. *Aquaculture* 304 : 88–94
- Huynh, M.S. and Fotedar, R. 2004. Growth, survival, hemolymph, osmolality and organosmotic indices of the westrnkng prawn (*Penaeus laticulatus* Kihinouye, 1896) reared at different salinities. *Aquaculture* 234: 601-604.
- Ilyas, S., Cholic, F., Poernomo, A., Ismael, W., Rabegnatar, I.N.S., Arifudin, R., Koesoemadinata, S., Danakusumah, E., Partasasmita, S. 1987. *Petunjuk Teknis bagi Pengoperasian Unit Usaha Pembenihan (Hatchery) Udang windu*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Imsland, A.K., Gunnarsson, S., Foss, A., and Stefansson S.O. 2003. Gill Na⁺,K⁺-ATPase activity, plasma chloride and osmolality in juvenile Turbot (*Scophthalmus maximus*) reared at different temperatures and salinities. *Aquaculture* 218: 671–683.
- Inoue, Y., T. Osawa, A. Matsui, Y. Asai, Y. Murakami, T. Matsui, and H. Yano. 2002. Changes of serum mineral concentration in horses during exercise. *Asian Aust. J. Anim. Sci.* 15(4): 531–536.
- Jackson, C.J. and Burford, M.A. 2003. The effects of temperature and salinity on growth and survival of larval shrimp *Penaeus semisulcatus* (decapoda: penaeidea). *Journal of Crustacean Biology*, 23(4): 819–826.
- Johnson, P.T. 1980. *Histology of the Blue Crab Callinectes sapidus*. New York, Praeger.
- Joseph A. and Philip, R. 2007. Acute salinity stress alters the haemolymph metabolic profile of *Penaeus monodon* and reduces

immunocompetence to white spot syndrome virus infection. *Aquaculture*, 272:87-97.

Kamiso, Tauhid dan Coco. 2009. Peranan dan Upaya Mensukseskan Produksi Udang Nasional. Direktorat Kesehatan Ikan dan Lingkungan, DKP, Jakarta. dit_kesehatanikan@dkp.co.id

Karim, Y.M. 2005. Kinerja Pertumbuhan Kepiting Bakau Betina (*Scylla serrate* Forsskal) pada Berbagai Salinitas Media dan Evaluasinya pada Salinitas Optimum dengan Kadar Protein Pakan Berbeda. Disertasi. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.135 hal.

Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2011. Indonesian fisheries statistic index 2009. <http://www.kkp.go.id> Accessed 7 Juni 2011.

Kierman, J.A. Histological and Histochemical Method: Theory and Practice. 2nd edition.Pergamon Press. Pp. 170-197.

Khodabandeh, S.G., Charmantier, C., Blasco, E., Grousset, and Charmantier- Daures, M. 2005a. Ontogeny of the Antennal Glands in the Crayfish, *Astacus leptodactylus* (Crustacea, Decapoda): Anatomical and cell differentiation. *Cell Tissue Res* 319:153–165

Khodabandeh, S. G., Charmantier, C., and Charmantier-Daures, M. 2005b. Ultrastructural Studies and Na⁺/K⁺-ATPase Immunolocalization in the antennal urinary glands of the lobster *Homarus gammarus* (Crustacea, Decapoda). *J Histochem Cytochem* 53:1203–1214.

Khodabandeh, S.G., Charmantier C., and Charmantier-Daures, M. 2005c. Immuno-localization of Na⁺,K⁺-ATPase in various tissues during the embryonic and post embryonic development of the Lobster *Homarus gammarus* (Crustacea, Decapoda). *J. Crust. Biol.*, (in press).

Khodabandeh, S. 2007. Ultrastructure and osmoregulatory function of the branchial chamber in the larvae of Dragonfly, *Libellula lydia*(Odonata). *J. Agric. Sci. Technol.* 9: 119-127

Kieman, J. A. 1990. Histological and Histochemical Method: Theory and Practice. 2nd edition. Pergamon Press. Pp. 170-197.

- Kitabayashi, K., H.Kurata, K. Shudo, K. Nakamura and S.Ishikawa. 1971. Studies of formula feed for kuruma prawn on the relationship among glukosamin, phosphorus and calcium. Bulletin of Tukairegional Fisheries Rasearch Laboratory 65;91-107
- Kumlu, M., O.T. Eroldogan., M. Aktas.1999. The effect of salinity on larval growth, survival and development of *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeidae). Isr J Aquac-Bamidgeh 51:114–121.
- Kumlu, M., Eroldogan, O.T., and Aktas, M. 2000. Effects of temperature and salinity on larval growth, survival and development of *Penaeus semisulcatus*. Aquaculture 188: 167.
- Kumlu, M., Eroldogan, O.T., Saglamtimur, B. 2001. Effects of salinity and added substrates on growth and survival of *Metapenaeus monoceros* (Decapoda Penaeidae) post larvae. Aquaculture 196:137-143.
- Lee, W.C., Chen, J.C. 2003. Hemolymph ammonia, urea and uric acid levels and nitrogenous excretion of *Mersupenaeus japonicus* at different salinity levels. J. Exp Mar Biol Ecol. 288: 39-49.
- Lee, C., Zhang, X., Kwan, W.F. 1996. Electro-myographic and mecha-nomyographic characteristics of neuromuscular Block By magnesium sulphate In The Pig. Br J Anaesth 76:278–283
- Lemaire, P., Bernard, E., Martinez-Paz, J.A. and Chim, L. 2002. Combined effect of temperature and salinity on osmoregulation of juvenile and sub adult *Penaeus stylirostris*. Aquaculture 209, 307–317.
- Lemos, D., Phan, V.N., and Alvares, G. 2001. Growth, Oxygen Consumption, Ammonia Excretion, Biochemical Composition And Energy Content Of *Farfantepenaeus paulensis* (Crustacea Decapoda: Penaeidae). Marine Biol 138:985–997.
- Li CH, Yeh ST, Chen JC. 2008. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* following vibrio alginolyticus injection. Fish and Shellfish Immunology 25:853-860
- Li CH, Yeh ST, Chen JC. 2008. The Immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* following vibrio alginolyticus injection. Fish and Shellfish Immunology 25:853-860

- Li, Ch.H and Cheng, S.Y. 2012. Variation of calcium levels in the tissues and hemolymph of *Litopenaeus vannamei* at various molting Stages and salinities. *Journal of Crustacean Biology* 32:101-108.
- Liao, I.C., Murai, T. 1986. Effect of dissolved oxygen, temterature and salinity on the oxygen consumption of the grass shrimp, *Penaeus monodon*. In: Maclean, J.L., Dizon, L.B., Hosilos, L.V. (eds). *The first Asian Fisheriesfoum*. Asian Fisheries Society, Manila : 641-646.
- Lightner, D. V. 1996. *A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedur for diseases of cultured Penaeid Shrimp*. The World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisiana. USA
- Lignot, J.H., Cochard, J.C, Soyez, C., Lemaire, P, Charmantier, G. 1999. Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 170: 79-92
- Lignot, J.H., Springs-Pierrot, C., and Charmantier, G. 2000. Osmoregulatory capacity as tool in monitoring the physiologycal condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture* 191 : 209 – 245.
- Lignot, J.H., Susanto, G.N., Charmantier-Daures, M. and Charmantier, G. 2005. Immunolocalization of Na⁺, K⁺-ATPase in the Branchial Cavity during the early development of the Crayfish *Astacus leptodactylus* (Crustacea, Decapoda). *Cell Tissue Res.*, 319: 331-339.
- Lignot, J.H., Cochard, J.C., Soyez, C., Lemaire, C., and Charmantier, G. 2007. Osmoregulatory capacity according to nutritional status, molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* 170 : 79 – 92.
- Lin, S.C., Liou, C.H. Cheng, J.H. 2000. The role of the antennal glands in ion and body volume regulation of cannulated *Penaeus monodon* reared in various salinity conditions. *Comp Biochem Physiol* 127:121–129
- Linder, M. C. 1992. *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme*. Parakkasi A, penerjemah. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari : *Nutritional Biochemistry and Metabolism*.

- Liu C H, Chen J C. 2004. Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to vibrio alginolyticus. *Fish and Shellfish Immunology* 16: 321-334.
- Liu, B., Yu, Z., Song, X., Guan, Y., Jian, X., He, J. 2006. The effect of acute salinity change on white spot syndrome (WSS) outbreaks in *Fenneropenaeus chinensis*. *Aquaculture*, 253:163-170.
- Lucu, Č. And Towle, D.W. 2003. Na⁺K⁺-ATPase in gills of aquatic crustacea. *Comp. Biochem Physiol. A* 135, 195–214.
- Luvizotto-Santos, R., Lee, J.T., Branco, Z.P., Bianchini A., and Nery, L.E.M. 2003. Lipids as energy source during salinity acclimation in the euryhaline crab *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Crustacea-Grapsidae). *J. Exp Zool* 295 A : 200–205
- Mananes, A.A.L., Meligeni, C.D., Goldemberg, A.L. 2002. Response to environmental salinity of Na⁺-K⁺ATPase in individual gills of the euryhaline crab *Cyrtograpsu sanguolatus*. *J Exp Mar Biol Ecol.* 274: 75-85.
- Mangum, C. M., Silverthorne, S. U., Harris, J. L., Towle, D. W., KraU, A. R. 1976. The relationship between blood pH, ammonia excretion and adaptation to low salinity in the blue crab *Callinectes sapidus*. *J, exp. Biol.* 195:129-137
- Mantel, L. H. and Farmer, L. L. 1983. Osmotic and ionic regulation. In: Mantel, L. H. (Ed.), *The Biology of Crustacea. Internal Anatomy and Physiological Regulation*, Vol. 5. Academic Press, New York, pp. 53–161.
- MacVicker, J.A.K., Billingsley, P.F. and Djamgoz, M.B.A. 1993. ATPase activity in the midgut of the mosquito, *Anopheles stephensi*: Biochemical Characterization of Oubain-sensitive and Oubain insensitive Activities. *J. Exp. Biol.*, 174: 165-183.
- Mattjik, A.A., and Sumertajaya, M. 2000. *Perancangan Percobaan Dengan Aplikasi SAS dan Minitab*. Jilid I. IPB Press, Bogor. 326 hal.
- McConnaughey, B.H., Zottoli, R. 1983. *Introduction to Marine Biology*. London : Moscy Co.

- Motoh, H. 1985. Biology and ecology of *Penaeus monodon*. p : 27 -36. In. J. Taki. Primavera and J. A. Liobrera, eds. Proceedings of the first International Conference on the culture of Penaeid Prawns / Shrimps. Aquaculture Department. SEAFDEC, Iloilo.
- Nebel, C., Nègre-Sadargues, G., Blasco, C. and Charmantier, G. 2005. Morphofunctional ontogeny of the urinary system of the European Sea Bass *Dicentrarchus labrax*. *Ana. Embryol.*, 209: 193-206.
- Nicolson, S.W. 1993. The ionic basis of fluid secretion in insect Malpighian Tubules: Advances in the last ten Years. *J. Insect Physiol.*, 39: 451-458.
- Nybakken, J.W. 1990. Biologi Laut Suatu Pendekatan Ekologis. Eidman, H.M., Koesobiono, Bengen, D.G., Hutomo, M, Sukardjo, S., penerjemah. Jakarta PT Gramedia. Terjemahan dari : Marine Biology and Ecological Approach.
- Palacios, E.A., Bonilla, D., Luna, I.S. Racotta. 2004. Survival, Na⁺/K⁺-ATPase and lipid responses to salinity challenge in fed And Starved White Pacific Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Post larvae. *Aquaculture* 234:497–511.
- Parsons, T.R., Maita Y., and Lalli, C.M. 1984. A Manual Of Chemical And Biological Methods For Sea Water Analysis. Pergamon Press, Oxford. 173 p.
- Peacock, A.J. 1981. Distribution of Na⁺,K⁺-ATPase activity in the mid- and hindguts of adult *Glossina morsitans* and *Sarcophaga nodosa* and the hind-gut of *Bombyx mori* larvae. *Comp. Biochem Physiol.*, 69a: 133-136.
- Peinado-Guevara, M. and Lopez-Meyer, M. 2006. Detailed monitoring of white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp commercial ponds in Sinaloa, Mexico by nested PCR. *Aquaculture*, 251:33-45.
- Péqueux, A. 1995. Osmotic regulation in crustaceans. *J Crust Biol* 15: 1–60.
- Peterson, D. R. and Loizzi, R. F. 1973. Regional cytology and cytochemistry of the cray fish kidney tubule. *Journal of Morphology*, 141: 133 – 146.

- Peterson, D.R, Loizzi, R.F. 1974. Ultrastructure of the crayfish kidney, coelomosac, labyrinth, and nephridial canal. *J Morphol* 142:241–264
- Pillay, T.V.R. 1990. *Aquaculture, Principles and Practics*. Fishing News Books, Italy.
- Piyatirtitivorakul, S. 2007. Nutrition and Feeding of Black Tiger Prawn, *Penaeus monodon*. a Review Study in Thailand, departemen of marine science, Faculty of Science, Chulalongkorn University Bangkok.
- Poernomo, A. 1992. Pemilihan Lokasi Tambak Udang Berwawasan Lingkungan. Seri Pengembangan Hasil Penelitian No. PHP/KAN/PATEK/004/1992
- Primavera, J.H. 1990. External and internal anatomy of adult Penaeid Prawns/Shrimps. SEAFDEC, Aquaculture Department, The Philippines, Poster.
- Puzon, A.G. and Villalnga, K.A.D. 1991. Water Temperature and Salinity. *Aqua tech*.
- Rainbow, P.S., Black, W.H. 2001. Effect of changes in salinity on the apparent water permeability of three crabs species: *Carcinus meanas*. *Erocheirsinensis* and *Necorapuber*. *J Exp Mar Biol Ecol*. 264 : 1-13
- Raven, P.H. and Johnson, G.B. 1986. *Biology*. New York: Times Mirror/ Mosby College Publishing.
- Regnault, M. 1987. Nitrogen excretion in marine and freshwater-water Crustacea. *Biol. Rev.* 62: 1-24
- Rinderhagen, M., Ritterhoff, J. and Zauke, Gerd-Peter. 2000. Crustaceans as Bioindicators. In: *Biomonitoring of Polluted Water—Reviews on Actual Topics* (A. Gerhardt, ed.), Trans Tech Publications – Scitech Publications, Environmental Research Forum, 9: 161 – 194.
- Riegel, J.A. 1963. Micropuncture studies of chloride concentration and osmotic pressure in the Crayfish Antennal Gland. *J Exp Biol* 40:487–492.

- Riegel, J. A. And Cook, M.A. 1975. Recent Studies Of Excretion In Crustaceans. *Fortschr Zool* 23:48–75.
- Rosenberry, B. 2001. World Shrimp Farming 2000. Shrimp News International, San Diego, 324 pp.
- Rowe, C.L. 2002. Differences in maintenance energy expenditure by two estuarine Shrimp (*Palaemonetes pugio* and *P. vulgaris*) that may permit and culture of *Penaeus Monodon*. SEAFDEC, Brackish water aquaculture information system. Aquaculture Department Southeast Asian Fisheries Development Center, partitioning of habitats by salinity. *Comp Biochem Physiol* 132A: 341-351.
- Rosas, C., Cuzon, G., Taboada, G., Pascual, C., Gaxiola, G., and Van Wormhoudt A. 2002. Effect of dietary protein and energy levels on growth, oxygen consumption, haemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* (Boone) and *L. Setiferus* (Linne) juveniles (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Aquaculture* 32: 531-547
- Sang, H.M.and Fotedar, R. 2004. Growth, survival, haemolymph osmolality and organosomatic indices of the Western King Prawn (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896) reared at different salinities. *Aquaculture*. Volume 234, Issues 1-4, 3 May 2004, Pages 601-614.
- Schmidt-Nielsen, B., Gertz, K.H., Davis, L.E. 1968. Excretion and Ultrastructure of the antennal gland of the Fiddler Crab *Uca Mordax*. *J Morphol* 125:473–96.
- Schmidt-Nielsen K. 1990. *Animal Physiology : Adaptation and Environment*. Third wdition. 4thed. New York: Cambridge University Press.
- Sherwood, L. 2001. *Human physiology : from cell to systems*. 4th ed. St. Paul : West Publishing Company. p. 1-15.
- Shuang-lin, Z. and Nai-cheng, J. 2007. Microstructure and ultrastructure of antennal gland of *Penaeus monodon*. *Journal of Zhejiang University (Science Edition)*, 34: 91 – 95.

- Silva, E.N., Calazans, M., Soares, R., and Peixoto, S. 2010. Effect of salinity on survival, growth, food consumption and haemolymph osmolality of the Pink Shrimp *Farfatepenaeus subtilis* (Perez-Fafante, 1967). *Aquaculture*. 629148.
- Silverthorn, D.U. 2001. *Human physiology : An integrated approach*. 2th ed. Upper Saddle River, NJ; Prentice-Hall Inc; p 6-7, 165-180.
- Solis, N.B. 1988. *Biology and Ecology*. In: *Biology Tigbauan*, Iloilo, pp. 3-15.
- Somanath, B., Palavesam, A., Lazarus, S., and Ayyappan, M. 2000. Influence of nutrient sources on pearl spot, *etroplus suratensis* (Bloch). *Naga* 23 (2): 15-17.
- Spivak E,D. 2000. Effect of salinity on embryos of two southwestern atlantic estuarine grapsid crab species cultured in vitro. *J. Crust. Biol.* 20 (4), 647-656
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1981. *Principles and Procedures Of Statistics, A Biometrical Approach*. Second edition. McGraw-Hill Internat. Book Co., Tokyo. 633 p.
- Sumeru, S.U. dan E.K.Kontara. 1987. *Teknik pembuatan Pakan Udang* . INFIS Manual Seri N0.50:1-18.
- Suyanto, S.R., Takarina, E.P. 2009. *Panduan budidaya udang windu*. Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta. 212 hal.
- Syafei, S.T. 2006. *Pengaruh Beban Kerja Osmotik Terhadap Kelangsungan Hidup, Lama Waktu Perkembangan Larva Dan Potensi Tumbuh Pascularva Udang Galah*. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. 191 hal.
- Tacon, A.G.J. 1993. *Feed ingredient for warm waterfish : Fish meal and processed feedstuffs*. FO-UN, Rome
- Tantulo, U. and Fotedar, R., 2007. Comparison Of Growth, osmoregulatory capacity, ionic regulation and Organosomatic indices of Black Tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798) juveniles reared in potassium fortified inland saline water and ocean water at different salinities. *Aquaculture* 258,594-405.

- Team, 2007. Penerapan Best Management Practice Pada Budidaya Udang Windu (*Penaeus Monodon* Fabricius) Terus menerus. Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara. Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Teshima, S and A. Kanazawa. 1971. Biosynthesis of sterols in the lobster, *Panulirus japonicus*, the prawn. *Penaeus japonicus* and *Portunus trituberculatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*: 388; 597-602.
- Thakur, D.P. and Lin, C.K. 2003. Water Quality And Budget Nutrient In Closed Shrimp (*Penaeus monodon*) Culture Systems. *Aqua.Engeneering*, 27:159-176.
- Thanh Huong D. T., Jasmani, S., Jayasankar, V., and Wilder, M. 2010. Na⁺/K⁺-ATPase Activity and Osmo-Ionic Regulation in Adult Whiteleg Shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to Low Salinity. *Aquaculture* 304:88–94.
- Tompo, A., and Susianingsih, E. 2009. Pengaruh tingkat salinitas terhadap patogenitas protozoa pada udang wнду, *Penaeus monodon* Fabr). *Prosiding pada Seminar Nasional Kelautan III di Surabaya*.
- Tortora G.J and Derirckson. 2009. *Principles of Anatomy and Physiology*. John Wiley & Sons, Inc.
- Towle, D. W. 1990. Sodium Transport Systems in Gills. In: Kinne RKH (ed) *Comparative aspects of sodium cotransport system*. Karger, Basel, pp 241–263.
- Towle, D.W., Paulsen, R.S., Weihrauch, D. Kordylewski, M., Salvador, C., Lignot, J.H., and Spanings-Pierrot, C. 2001. Na⁺/K⁺-ATPase in gills of the Blue Crab *Callinectes sapidus*: cDNA sequencing and salinity related expression of α -subunit mRNA and protein. *J Exp Biol* 204:4005–4012.
- Ueno, M dan Inoue, Y. 1996. The fine structure of podocytes in crayfish antennal glands. *Journal of Electron Microscopy* 45(5), 95–400.

- Van de Braak, K. 2002. Haemocytic Defence in Balck Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). PhD Thesis, Wageningen University. Netherland.
- Vernberg, F.J. 1983. Respiritory Adaptation. Di dalam Vernberg, F.J., Vernberg W.S. Vol. 8. The Biology of Crustacea: Environmental Adaptation. New York : Academic Press.
- Verslycke, T., and Janssen, C.R. 2002. Effect of changing abiotic environment on the energy metabolism in the mysid shrimp *neomysis integer* (Crustacea: Mysidaceae). J Exp Mar Biol Ecol 279: 61-72.
- Villarreal, H., Hernandez-Llamas, A. And Hewitt, R. 2003. Effect of salinity, survival and oxygen consumption of juvenil Brown Shrimp, *Farfantapenaeus californiensis* (Holmes). Aqua Res 34: 187-193
- Vogt, G. 2002. Functional Anatomy. In: Biology of Freshwater Crayfish, Holdich, D. M. (Ed.), pp. 53 – 151. Blackwell Science Ltd. Oxford, UK.
- Wang W.N., Wang, A.L., Zhang, Y.J., Li, Z.H. Wang, J.X., and Sun, R.Y. 2004. Effects of nitrite on lethal and immune response of *Macrobrachium nipponense*. Aquaculture 232: 679-686.
- Wheatly, M. G. and Gannon, A. T. 1995. Ion regulation in Crayfish: Freshwater adaptations and the problem of molting. Amer. Zool., 35: 49 – 59.
- Wheatly M.G. and Henry, R.P. 1987. Branchial and Antennal Gland dependent of Na⁺/K⁺-ATPase and carbonic anhydrase activity during salinity acclimation of the euryhaline Crayfish *Pacifastacus leniusculus*. J Exp Biol 133:73–86.
- Wheaton F.W. 1977. Aquacultural Engineering. New York : A Wiley-Interscience Publ, John Wiley and Sons.
- Wilder M.N., Huong D.T.T., Jasmani, S., Jayasankar, V., Kaneko, T., Aida K., Hatta. T., Nemoto, S., and Wigginton, A. 2009. Hemolymph osmolality, ion concentrations and calcium in the structural organization of the cuticle of The Giant Freshwater Prawn

Macrobrachium rosenbergii: Changes with the molt cycle. *Aquaculture* 292: 104- 110.

Wilder M. N., Huong D. T. T., Atmomarsono, M., Hien, T. T. T., Phu, T. Q., Yang, W.J. 2000. Characterization on Na^+/K^+ -ATPase *Macrobrachium rosenbergii* and the effect of changing salinity on activity. *Comp Biochem Physiol.* 125A: 377-388

Willmer, P., Stone, G., Johnston, I. 2000. Environmental physiology of animals. Blackwell Science Ltd., Edinburgh. 644 pp

Wirahadikusuma, M. 1985. Biokimia : Metabolisme Energi, Karbohidrat dan Lipid. Bandung: Penerbit ITB.

Wittman, A.C., Christoph, H., Portner, H.O. and Sartoris, F.J. 2010. Ion Regulatory Capacity and The Biogeography Of Crustaceat High Southern Latitudes. *Polar Biol.* 33:919-928.

Wolffrom, T. 2004. Farmed Fish and Welfare. Directorate-General for Fisheries, Research and Scientific Analysis Unit (A4). European Commission.

Xiaoyun, L., Wei, X. and Zhenmin, B. 2003. Histology and functions study of the Antennal Gland of *Penaeus chinensis*. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 33 (6): 854 – 860.

Young-Lai, W.W., Charmantier-Daures, M., and Charmantier, G. 1991. Effect of ammonia on survival and osmoregulation in different life stages of the lobster *Homarus americanus*. *Mar. Biol.* 110: 293-300.

Zacharia, S., and Kakati, V.S. 2004. Optimal salinity and temperature for early developmental stages of *Penaeus merguensis* de Man. *Aquaculture* 232: 373-382.

Zairin, M. 2003. Endokrinologi dan perannya bagi masa depan perikanan Indonesia. Orasi Ilmiah Guru Besar Tetap Ilmu Fisiologi Reproduksi dan Edokrinologi Hewan Air. Institut Pertanian Bogor. 70 hal.

Zeiske, W. 1992. Insect ion homeostasis. *J. Exp. Biol.*, 172: 323-334.

Zhu, C., Dong, S., Wang, F., and Huang, G. 2004. Effects of Na⁺/K⁺ ratio in seawater on growth and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 234: 485–496

Lampiran 1. Prosedur pengamatan osmolaritas hemolim juvenil udang windu, *Peneus monodon* Fabr.

1. Pengambilan sampel haemolim udang windu menggunakan spoit 1 mL yang sudah diisi antikoagulan dengan perbandingan 4:1 (koagulan:sampel hemolim). Banyaknya hemolim dan antikoagulan adalah 1 ml.
2. Campuran sampel hemolim dimasukkan ke tabung ependof ukuran 1,5 mL dan disimpan dalam kondisi dingin.
3. Sampel disentrifuse dengan kecepatan 5000 rpm selama 3 menit
4. Supernatan dipipet dan dipindahkan ke tabung endendof / tube baru 1 mL Dari 1 ml supernatant, diambil 20 mikron dimasukkan ke ependof /tube khusus (Disposable Tubes) osmometer.
5. Langsung dianalisis (tes), catat data
6. Probe yang digunakan dibersihkan dengan filter khusus (Probe Cleaners), didiamkan hingga kering
7. Lanjut ke sampel berikutnya

 Prosedur penggunaan SOP FISKE Micro-Osmometer, Model 210 untuk pengukuran osmolalitas media dan plasmajuvenil udang windu Fabr:

1. Sambungkan kabel ke sumber listrik kemudian tekan tombol *main power* (terletak di bagian depan). Alat akan melakukan prosedur pemanasan selama 15-30 menit (untuk tunggu suhu turun/dingin)

2. Kalibrasi: a) Siapkan microtube 1,5 ml dan masukkan 100 μ l akuades secara hati-hati (agar tidak menimbulkan ruang kosong/bubble di bawah akuades). b) Cuci/bilas sensor dengan tisu yang telah dibasahi dengan akuades, lalu keringkan. c) Pasangkan microtube ke alat osmometer, tekan dan biarkan d). Setelah display menunjukkan angka -70, jarum akan terangkat dan menusuk ke microtube 1 kali (jika jarum terangkat dan menusuk sebanyak 3 kali, artinya alat belum siap digunakan).e) Setelah menusuk microtube, display akan memperlihatkan angka 0 mosm, lalu langsung tekan θ dan keluarkan microtube untuk ganti dengan standar. f) Cuci/bilas kembali sensor dengan kertas tisu yang telah dibasahi dengan akuades, lalu keringkan. g) Siapkan microtube 1,5 ml baru dan masukkan 100 μ l standar/osmotor 300 mosm secara hati-hati.h) Pasangkan microtube berisi larutan standar ke alat osmometer, tekan dan biarkan. I) Setelah display memperlihatkan angka 300 mOsm, tekan CAL dan keluarkan microtube. j) Cuci/bilas kembali sensor dengan kertas tisu yang dibasahi dengan akuades, lalu keringkan
3. Sampel :a) Persiapan sampel hemolimf seperti pada Lampiran 1 dan untuk memperoleh plasmanya dilakukan centrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. b)cairan sampel di masukkan sebanyak ± 2 μ l dalam microtube, kemudian masukkan ke sensor. c) Turunkan *handle* sampel, tunggu sampai pengukuran selesai dan lampu *resultnya* menyala disertai dengan bunyi “bip” d. Angkat *handle* e. Bilas sensor menggunakan kertas tisu yang telah dibasahi dengan akuades

4. Setelah selesai melakukan pengukuran : a) Bersihkan sensor menggunakan kertas tisu yang dibasahi dengan akuades b) Pada saat tidak digunakan sensor harus ditutup dengan tabung eppendorf kosong (*handle* dalam posisi turun). c) Matikan main power off dan d) Cabut aliran listrik dari pusat listrik.

Lampiran 2. Prosedur Pengukuran Osmolaritas Media Percobaan

A. Prinsip : Osmolaritas suatu zat dalam cairan dapat diukur dari berapa derajat Celcius zat itu dapat menurunkan titik beku cairan pelarutnya. Satu mol per liter zat larut sempurna menurunkan titik beku sebesar 1,86 derajat Celcius. Jumlah Osm/L zat atau elektrolit dalam larutan ialah penurunan titik beku dibagi dengan 1,86. Bila dinyatakan dalam mOsm/L. osmolaritas cairan dapat ditentukan dengan cara membagi nilai penurunan titik beku dengan 0,00186. Diketahui bahwa penurunan titik beku ($\Delta T^{\circ}\text{C}$) berhubungan erat dengan kadar Cl⁻ (klorinitas larutan yang dapat dinyatakan dengan rumus Brahtz (Wheaton 1977) sebagai berikut :

$$(\Delta T^{\circ}\text{C}) = - 0,0966 (\text{Cl}) - 0,000052 (\text{Cl})^3$$

Oleh sebab itu, bila kadar Cl⁻ diketahui maka osmolaritas larutan dapat ditentukan.

B. Prosedur

1. Ambil 2,5 mL contoh air (media percobaan) pada setiap wadah kemudian tentukan salinitasnya dengan hand-refraktometer (berskala 0 – 100 ppt).
2. Tentukan kadar Cl⁻ (klorinitas) menggunakan rumus Fofonoff sebagai berikut

$$\text{Cl} = \frac{\text{---}}{\text{---}} (-)$$

3. Tentukan osmolaritas media (mOsm/L H₂O) menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{mOsm/L H}_2\text{O} = \frac{\text{---}}{\text{---}} (-)$$

Lampiran 3. Prosedur pengamatan dan analisis konsentrasi ion hemolim juvenil udang windu, *Penaeus monodon* Fabr. dan pada air media pemeliharaan.

a. Natrium, Magnesium, Kalium, dan Kalsium

1. Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan 10 mL asam campur ($\text{HClO}_4 : \text{HNO}_3 : \text{HCl} = 6 : 6 : 1$).
2. Didestruksi sampai jernih ada suhu 80°C .
3. Diencerkan dengan aquades sampai dengan 25mL.
4. Saring dengan kertas saring Whatman no 40.
5. Siap diperiksa dengan di AAS dengan lampu katoda masing-masing :
 - Natrium dengan lampu katoda Na
 - Magnesium dengan lampu katoda Mg
 - Kalium dengan lampu katoda K
 - Kalsium dengan lampu katoda Ca
6. Baca pada AAS
7. Lakukan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{—————} \times \text{—————} \left(\quad \right)$$

b. Klorida dan Sulfat

1. 0,5 mL sampel ditambahkan 5 mL asam pengestrak H_2SO_4 : $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{O}_2 = 1 : 6 : 6$
2. Didestruksi sampai jernih pada suhu 80°C .
3. Diencerkan dengan aquades sampai dengan 10 mL dengan aquades
4. Saring dengan kertas saring Whatman no 40.

5. Hasil saringan dipipet 2 mL kemudian ditambahkan 2 mL pereaksi
6. Impitkan sampai dengan 5 mL dengan aquades 25 mL NH_4OH (p) + 100 mL larutan amilun 0,5% + 125 mL AgNO_3 0,2 N.
7. Kocok 30 menit dan impitkan sampai dengan 50 mL dengan aquades.
8. Baca pada spektrofotometer
9. Lakukan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{—————} \times \frac{\text{—————} (\quad)}{\quad}$$

Lampiran 4. Prosedur kerja pengamatan histologi kelenjar antennal junenil udang windu, *Penaeus monodon* Fabr.

- Persiapan larutan fiksatif.
Larutan fiksatif formalin terdiri atas : formalin 40%, CaCl₂ anhidrous 10% dan aquadest dengan perbandingan 1:1:8. Penambahan CaCl₂ dapat mempertahankan lipoprotein membran cel.
- Sampling
 - Peralatan yang digunakan untuk pengambilan sampel : gunting, pinset, sealpel, clemarteri, needle, holder, ersil, benang, spoit, sarung tangan, pisau silet, syrofoam, cawan petri, alas bedah.
 - Bahan yang digunakan adalah : ketamine, larutan fiksatif formalin dan bovin serta larutan pencuci (NaCl fisiologis)
 - Sampel organ kelenjar antennal udang dimasukkan ke dalam botol sampel yang telah berisikan larutan fiksasi.
 - Tulis nama dan catatan?
 - Sampel siap disimpan dan diproses lebih lanjut.
- Dehidrasi dan *Clearing*
 - Dehidrasi adalah proses mengeluarkan air dari dalam jaringan/organ dengan menggunakan bahan kimia (dehidran) tertentu. Dehidran yang baik harus mampu menarik air dari jaringan dan menggantikan kedudukannya tertentu. Dehidran di dalam jaringan dapat digantikan kedudukannya oleh medium penjernih, tidak merusak dan mengganggu jaringan yang telah difiksasi sebelumnya menjadi lunak atau keras dan rapuh.
 - *Clearing* atau penjernihan, bertujuan untuk menggantikan dehidran yang ada di dalam jaringan supaya menjadi jernih dan transparan. *Clearing agent* yang digunakan dalam praktik histologi ini adalah **xilol** yang memiliki keuntunganantara lain : mrah, bekerja cepat,

membuat jaringan cepat transparan, cepat menyingkirkan dan menggantikan

Lampiran 4 lanjutan.....

- kedudukan alcohol dalam jaringan dapat dengan cepat digantikan oleh paraffin saat infiltrasi paraffin.
- Dehidran yang digunakan adalah alcohol dengan tingkat konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95% dan 100%. Penggunaan alcohol secara bertingkat ini agar proses penarikan air terjadi secara perlahan sehingga mencegah terjadinya pengerutan jaringan.
- Lamanya tahapan sebagai berikut :

- Alkohol 70% : stopping point, waktunya tidak terbatas.
- Alkohol 80% : selama 24 jam
- Alkohol 90% : selama 24 jam
- Alkohol 95% : selama < 24 jam
- Alkohol absolute (Abs) I selama 1 jam
- Alkohol absolute (Abs) II selama 1 jam
- Alkohol absolute (Abs) III selama 1 jam

Dilanjutkan dengan proses clearing, menggunakan xilol secara bertahap yaitu :

- Xilol I selama 1 jam
- Xilol II selama 1 jam
- Xilol III selama 1 jam (30 menit di satu ruang sedangkan 30 menit berikutnya di dalam incubator/oven 80%).

Jaringan yang telah melewati proses clearing terlihat berwarna lebih khas dan lebih transparan.

- Infiltrasi paraffin dan Embedding

- Pada proses infiltrasi paraffin (media embedding) akan menggantikan kedudukan *clearing agent* di dalam jaringan agar jaringan terfiksasi sehingga akan memudahkan proses pemotongan (*sectioning*).

Lampiran 4 lanjutan.....

- Proses infiltrasi paraffin dilakukan dengan cara merendang jaringan di dalam paraffin cair selama 30 menit di dalam incubator bersuhu 60°C. Proses ini di ulang sebanyak 3 kali dan setiap pengulangan menggunakan paraffin cair yang baru.
- Embedding adalah proses menanamkan jaringan kedalam blok-blok paraffin, bertujuan untuk memudahkan proses pemotongan dengan menggunakan *mikrotom*. Embedding dilakukan dengan cara sebagai berikut :
 - a. Cetakan embedding dioles dengan gliserin untuk membersihkannya dari kotoran.
 - b. Cetakan embedding diisi dengan paraffin cair sampai cembung di atas hot plate yang terdapat pada alat embedding tissue block.
 - c. Potongan jaringan dimasukkan ke dalam cetakan dan diatur letaknya.
 - d. Cetakan embedding tersebut selanjutnya dipindahkan ke cold plate.
 - e. Setelah paraffin setengah membeku, tempatkan label jaringan pada bagian sisi cetakan
 - f. Cetakan paraffin selanjutnya di apungkan di atas air dalam baskom.
 - g. Setelah paraffin membeku sempurna, hasil embedding dapat dilepaskan dari cetakan, diiris tipis dan ditempelkan pada blok kayu.
 - h. Blok kayu jaringan disimpan di refrigerator untuk didinginkan sebelum dilakukan pemotongan menggunakan mikrotom.
- **Pemotongan (*Sectioning*)**

- Tujuannya untuk mendapatkan potongan jaringan dengan ketebalan sekitar 4 μm sehingga struktur morfologi sel di dalam jaringan dapat diamati dengan baik di bawah mikroskop cahaya.
- Proses sectioning sebagai berikut :
 - a. Blok jaringan ditriming keempat ujungnya menggunakan pisau bukan mikrotom.

Lampiran 4 lanjutan.....

- b. Blok jaringan dipasangkan pada holder yang terdapat pada alat mikrotom dan diatur posisinya agar lurus dari arah kiri, akanan, maupun atas dan bawah dengan cara menyetel alat pengatur posisi blok jaringan.
 - c. Pemotongan awal adalah trimming dengan ukuran ketebalan 10 μm .
 - d. Setelah seluruh jaringan terpotong maka dilanjutkan dengan pemotongan untuk ketebalan 4 μm .
 - e. Hasil pemotongan jaringan kemudian dimasukkan ke dalam air dingin.
 - f. Potongan yang bagus diambil dengan object glass dan dimasukkan ke dalam air hangat sebentar.
 - g. Posisikan potongan jaringan di posisi $\frac{1}{3}$ bagian bawah object glass.
 - h. Diamati di bawah mikroskop dan dikeringkan pada suhu ruang.
 - i. Disimpan di dalam incubator bersuhu 37°C minimal selama 1 malam.
 - j. Preparat siap untuk diamati.
- **Pewarnaan (*Staining*)**

- Pewarnaan adalah suatu senyawa berwarna yang dapat berikatan dengan substrat.
- Jenis pewarnaan yang dilakukan adalah pewarnaan umum, pewarnaan khusus dan pewarnaan histokimia.
- Tujuan pewarnaan adalah memberikan warna pada berbagai komponen yang terdapat dalam jaringan.
- Prinsip kerja dalam proses pewarnaan adalah p. deparaffinisasi, rehidrasi, pewarnaan, dehidrasi, clearing dan mounting.
- Pewarnaan umum (HE), pewarnaan khusus (PAS dan AE), pewarnaan histokimia.

Lampiran 4 lanjutan

- Pewarnaan umum atau Hemotoksilin Eosin (HE), dengan prinsip kerja sebagai berikut :
 - a. Inkubasi preparat yang berisi tumpukan potongan jaringan pada suhu 37⁰C selama 1 - 3 hari.
 - b. Deparaffinasi menggunakan xilol sebanyak 3 kali masing-masing selama 5 menit. Deparaffinasi bertujuan untuk mmenghilangkan paraffin dari jaringan agar zat warna dapat masuk ke dalam jaringan saat pewarnaan.
 - c. Dehidrasi bertingkat dengan cara merendm preparat secara bertingkat di ab sebagai berikut :solut hingga aquadest dengan urutan dan waktu perendaman sebagai berikut : absolut 3 → absolut 2 → abolut 1, masing-masing 3 menit, selanjutnya ke dalam alkohol 90% selama 3 menit, alkohol 80% selama 3 menit, alkohol 70% selama 5 menit dan aquadest selama 5 menit hingga 2 jam . Perendaman di dalam air keran selama 5 menit. Tahap ini bertujuan agar potongan jaringan mendapatkan mineral-mineral yang terdapat di dalam aquadest, dimana mineral-mineral ini diperlukan untuk membantu menguatkan ikatan bagian cel dengan hemotoksilin.

- Pemberian zat warna hemotosiklin, lamanya bergantung pada jenis jaringan yang diamati, seperti waktu pemberian hematoksiklin untuk jaringan hati adalah 5 detik dan untuk limpa 3 detik.
- Rendam di air keran.
- Dianginkan dan diperiksa dibawah mikroskop cahaya.

Lampiran 5. Tahapan persiapan pewarnaan Imunohistokimia

Pewarnaan Imunohistokimia melalui 3 tahapan, yaitu :

a. Preparasi Obyek Glass

1. Menyiapkan gelas obyek yang akan digunakan untuk penempelan (*affixing*) preparat
2. Gelas obyek dimasukan ke dalam *staining jar* yang berisi alkohol 70% sampai semua bagian terendam, kecuali bagian yang kasar tempat perabelan
3. *Staining jar* yang berisi gelas obyek kemudian dimasukan kedalam bak *electromagnetic cleaner* yang telah diisi air (sejajar dengan alkohol yang terdapat dalam *staining jar*)
4. *Electromagnetic cleaner* dihidupkan selama 20 menit (untuk membe5rsihkan gelas obyek dari lemak atau segala kotoran yang dapat mengganggu dalam proses imunohistokimia)
5. Gelas obyek dimasukan kedalam *staining jar* dan direndam dengan menggunakan *milique* (air yang sudah disuling berulang-ulang) sebanyak 3 kali, masing-masing 20 menit, dilanjutkan perendaman

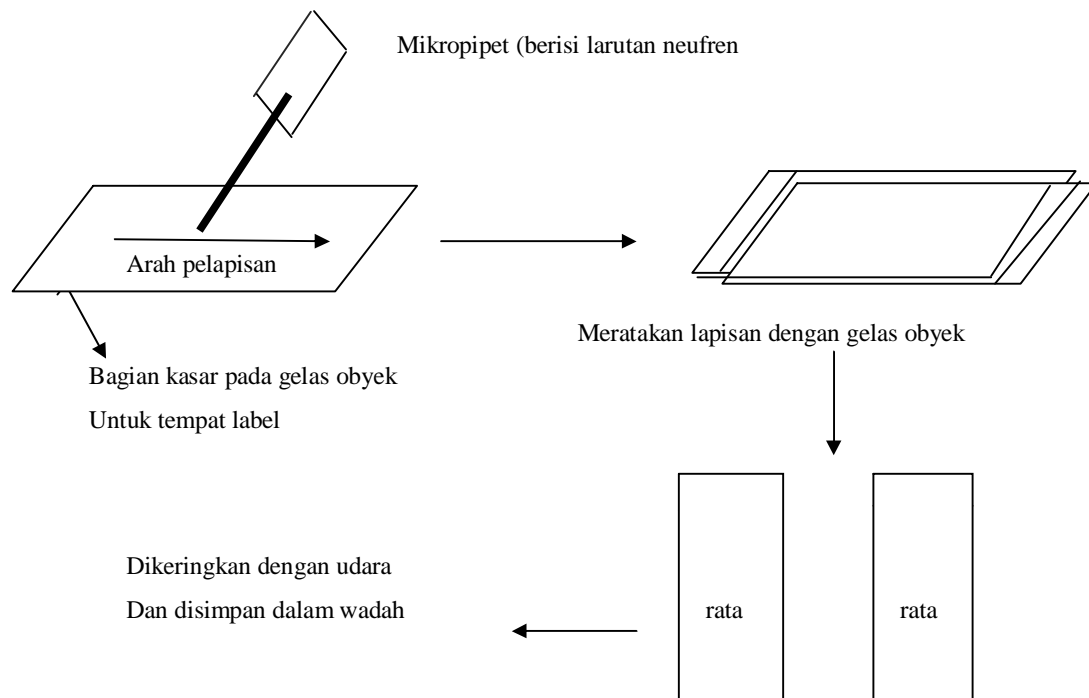
staining jar yang berisi gelas obyek ke dalam *Electromagnetic cleaner* selama 20 menit.

b. Pelapisan (*Coating*) Gelas Obyek dengan Neufren (Agen Penempel)

1. Mencampurkan 1,8 mL toluen dengan 0,2 mL neufren.
2. Pelapisan (*coating*) dilakukan dengan cara : 60 μ L neufren ditetaskan ke gelas obyek, diratakan dengan cara menempatkan gelas obyek lain pada bagian gelas obyek yang ditetesi neufren secara rapat, kemudian masing-masing gelas obyek ditarik dengan arah berlawanan.

Lampiran 5 lanjutan....

3. Gelas obyek dikeringkan dan disimpan di tempat yang bersih/terlindung (incubator 37 °C) selama 24 jam untuk menghindari penempelan segala macam kotoran ke gelas obyek. Teknik *Coating* dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



Gelas obyek

Gambar Proses pelapisan (coating) Neufren pada gelas obyek

C. Penempelan Preparat Irisan pada Gelas Obyek

1. Tempatkan blok *Embedding* pada *holder mikrotom rotary*,
2. Pasang pisau pemotong, tentukan ketebalan sayatan,
3. Trimming dan penempelan (*affixing*).

Catatan :Untuk keperluan imunohistokimia, penempelan preparat irisan ke gelas obyek harus hati-hati karena sekali preparat irisan menempel pada gelas obyek sudah tidak bisa dilepas lagi karena pengaruh agen pelapis (*neufren*).

Lampiran 6. Prosedur pewarnaan imunohistokimia kelenjar antennal juvenil udang windu.

Dipilih preparat irisan kelenjar antennal juvenil udang yang paling bagus, kemudian dilakukan perlakuan sesuai prosedur berikut :

1. Deparafinasi (silol III, II, I), masing-masing 3 menit.
2. Rehidrasi (alkohol absolut III, II, I – 95%, 90%, 85%, 80%, 70%), DW/milique (MQ) selama 10 menit – 15 menit
3. Penghilangan peroksidase endogen (kalau terlambat hasilnya positif semua) dengan menggunakan substrat methanol (50 mL) yang dicampur dengan H₂O₂ (0,5 mL) atau 3% H₂O₂ dalam metanol (dicampur sesaat sebelum gelas obyek dimasukkan) dengan cara di celup dan dibiarkan selama 15 manit
4. Dilakukan pencucian dengan menggunakan mikropipet : (a) DW/MQ sebanyak 100µL selama 5-10 menit(2x) dilanjutkan pencucian dengan menggunakan (b) PBS (*phospat buffer saline*) sebanyak 100 µL selama 5 menit (2x).

5. Inkubasi dalam Normal Serum (75 μ L) selama 45 menit.
6. Cuci dengan PBS (*phospat buffer saline*) sebanyak 100 μ L selama 5 (2x).
7. Permukaan sediaan disekitar jaringan dikeringkan menggunakan kertas tisu dengan tetap menjaga jaringan untuk tidak kering, kemudian dibuat lingkaran pembatas disekitar jaringan dengan menggunakan *hidrophobic* marker, sediaan selanjutnya disejajarkan secara mendatar dalam kotak yang lembab. jaringan pada *slide* yang telah dibatasi dengan *hidrophobic* marker, selanjutnya ditetesi *Biocare's Background Sniper* (60 μ L) sebagai *protein blocker*(agar memblok antigen spesifik dan tidak mengacaukan reaksi), kotak kemudian ditutup rapat dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 15 – 20 menit.

Lampiran 6 lanjutan....

8. Dicuci dengan PBS (100 μ l) selama 5 menit (3x) dengan mencelup dalam botol.
9. Diberi antibodi (AB) primer yaitu ATPase 1 : 200 (Ab ATPase 1:200; IgA 1:10) sebanyak 50–60 μ L per preparat dan diinkubasi dalam refrigerator suhu 4⁰C selama 2 malam. Penggunaan Ab primer tersebut disesuaikan dengan senyawa atau bahan bioaktif yang akan dideteksi
10. Dicuci lagi dengan PBS (100 μ L)selama 10 menit (3x)
11. Diberi antibody (Ab) sekunder *Trekkie Universal Link* sebanyak 4 tetes (60-75 μ L) per preparat dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selam 20–30 menit
12. Dicuci dengan PBS (100 μ L) selama 5 menit (3x)
13. Berikan 4 tetes Avidin – HRP (berlabel), kemudian diinkubasi dalam suhu kamar selama 20-30 menit.

14. Dicuci dengan PBS (100 μ L) selama 5 menit (3x)
15. Visualisasi dilakukan dengan menggunakan: DAB (3,3-*diaminobenzidine*) sebanyak 10 mg dalam *trisbuffer* (50cc) yang dicampur dengan H₂O₂ 50 μ L). proses pencampuran ini dilakukan sesaat sebelum preparat dimasukan dan kemudian ditutup (gelap) selama 25 menit. Bahkan bioaktif yang terdeteksi akan terwarnai coklat
16. Dicuci atau dimasukan dalam DW/MQ (*stopping point*) selama 10-15 menit
17. *Counterstain* dengan Hematoksilin – DW/MQ (Optional), 3-5 detik.
18. Dehidrasi (70%, 80%, 85%, 90%, selama 3 ketukan dan 95% selama 1 menit), bagian bawah gelas obyek dilap tisu (untuk menghindari terjadinya pengenceran), dilanjutkan ke alkohol absolut

Lampiran 6 lanjutan....

I, II, III, selama 1 menit, kemudian bagian bawah gelas obyek dilap tisu lagi, *clearing* (silol I,II, III) selama masing-masing 5 menit.

19. *Mounting* dengan cover glass.
20. Selanjutnya sediaan histologis siap diamati dibawah mikriskop dan direkam dengan menggunakan foto digital.

**Lampiran 7. Nilai Parameter Salinitas Air Tambak di Stasiun Maranak,
Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau Maros.
November 2010 sampai dengan Juni 2011**

Bulan/ Tahun	Minggu ke....	Salinitas Air Tambak (ppt) hari ke..							Rata-rata Perubahan Salinitas (ppt) per hari
		1	2	3	4	5	6	7	
November 2010	I	19	17	18	19	20	18	19	1 - 2
	II	17	22	19	20	18	16	17	1 - 5
	III	13	12	12	13	11	11	9	1 - 2
	IV	12	11	13	17	18	16	21	1 - 5
Desember 2010	I	17	17	16	16	17	16	15	1
	II	21	23	19	23	20	25	21	2 - 5
	III	21	21	20	22	19	16	13	1 - 3
	IV	11	11	12	10	11	10	10	1 - 2
Januari 2011	I	20	25	19	19	13	13	14	1 - 6
	II	8	9	12	14	12	9	10	2 - 5
	III	8	9	11	8	7	8	6	1 - 2
	IV	10	11	9	9	10	12	12	1 - 2
0 1 1	I	16	14	13	14	15	18	15	1 - 3

	II	15	18	18	20	23	20	23	2 - 3
	III	16	13	18	19	20	19	13	1 - 6
	IV	13	14	16	20	22	21	12	1 - 4
Maret 2011	I	15	18	17	20	21	17	20	1 - 3
	II	23	26	24	20	21	18	15	1 - 3
	III	16	19	22	24	26	28	26	2 - 3
	IV	18	17	20	19	21	24	20	1 - 3
April 2011	I	20	21	22	19	22	25	27	1 - 3
	II	29	26	23	20	17	19	21	2 - 3
	III	30	29	28	30	33	33	34	1 - 3
	IV	29	30	29	28	26	25	25	1 - 2
Mei 2011	I	29	31	29	28	30	30	30	1 - 2
	II	26	26	28	28	28	29	29	1 - 2
	III	26	27	27	29	32	32	28	1 - 4
	IV	23	20	20	21	24	23	25	1 - 3
Juni 2011	I	29	28	29	29	30	31	30	1
	II	31	28	27	29	28	28	29	1 - 3
	III	29	29	31	32	34	35	33	1 - 2
	IV	30	31	33	34	36	35	35	1 - 2

Lampiran 8. Nilai Osmolaritas Media Pemeliharaan (mOsm/L) Juvenil Udang Windu pada Penurunan Salinitas dan Waktu yang Berbeda, pada Penelitian Pendahuluan

Waktu (jam)	Salinitas (ppt)	Ulangan	Osmolaritas Media (mOsm/L)	Rata - rata	Stdev
24 jam	A1 25	1	681	688	8.9
		2	698		
		3	685		
	A2 25-19	1	532	563	46.1
		2	541		
		3	616		
	A3 19-13	1	480	472	16.5
		2	483		
		3	453		
	A4 13-7	1	325	354	37.2
		2	341		
		3	396		
	A5 7-4	1	211	232	18.2
		2	243		

48 jam		3	242		
	A1	1	693	703	28.4
	25	2	678		
		3	638		
	A2	1	598	595	30.6
	25-19	2	563		
		3	624		
	A3	1	323	349	28.2
	19-13	2	345		
		3	379		
	A4	1	292	278	62.3
	13-7	2	261		
		3	381		
	A5	1	243	255	10.6
	7-4	2	259		
	3	263			

Lampiran 9. Nilai Osmolaritas Media Pemeliharaan (mOsm/L) Juvenil Udang Windu pada Peningkatan Salinitas dan Waktu yang Berbeda, pada Penelitian Pendahuluan

Waktu (jam)	Salinitas (ppt)	Ulangan	Osmolaritas Media (mOsm/L)	Rata - rata	Stdev
24 jam	B1	1	603	617	15.7
	25 – 31	2	614		
		3	634		
	B2	1	999	1024	65.5
	31– 35	2	1120		
		3	1103		
	B3	1	1161	1171	29.6
	35– 37	2	1092		
		3	1260		
	B4	1	1012	1037	37-1
	37 – 39	2	1042		
		3	1057		
	B5	1	1137	1152	84.4
	39 –41	2	1163		
		3	1156		

48 jam	B1	1	1062	1083	16.6
	25 – 31	2	1103		
		3	1084		
	B2	1	1097	1109	10.6
	31 – 33	2	1117		
		3	1113		
	B3	1	1104	1115	6.7
	35 – 37	2	1129		
		3	1112		
	B4	1	1139	1148	12.7
	37 – 39	2	1152		
		3	1153		
	B5	1	1173	1169	12.8
	39 – 41	2	1180		
		3	1154		

Lampiran 10. Hasil Analisis Regresi Osmolaritas Media Pemeliharaan- an Juvenil Udang Windu pada Penelitian Pendahuluan

Penduga	Koefisien	Std. eror	Uji-t	Peluang
Konstanta	13.967	1.424	9.81	0.000
Salinitas	0.55408	0.05443	10.18	0.000

S = 2.94294 R-Sq = 85.2% R-Sq(adj) = 84.4%

Persamaan regresi : $Y_{OM} = 13.967 + 0.554 X$

Lampiran 11. Hasil Analisis Ragam Osmolaritas Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu pada Penelitian Pendahuluan

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
------------------	----	----	----	----------	-------

Regresi	1	897.42	897.42	103.62	0.000
Acak	18	155.90	8.66		
Total	19	1053.32			

Lampiran 12. Nilai Osmolaritas Hemolim (mOsm/L) Juvenil Udang Windu pada Penurunan Salinitas Media Pemeliharaan dengan Waktu yang Berbeda pada Penelitian Pendahuluan

Waktu (jam)	Salinitas (ppt)	Ulangan	Osmolaritas Hemolim (mOsm/L)	Rata - rata	Stdev
24 jam	A1 25	1	675	691	17.1
		2	709		
		3	689		
	A2 25-19	1	563	544	79.2
		2	497		
		3	572		
	A3 19-13	1	470	461	97.5
		2	452		
		3	461		
	A4 13-7	1	421	422	42.0
		2	466		
		3	379		
	A5 7-4	1	437	409	52.8
		2	378		

48 jam		3	412		
	A1	1	715		
	25	2	681	700	17.3
		3	704		
	A2	1	620		
	25-19	2	598	588	58.2
		3	708		
	A3	1	588		
	19-13	2	613	602	12,8
		3	605		
	A4	1	517		
	13-7	2	543	536	16.6
		3	548		
	A5	1	531		
	7-4	2	552	567	45.4
	3	618			

Lampiran 13. Nilai Osmolaritas Hemolim (mOsm/L) Juvenil Udang Windu pada Peningkatan Salinitas Media Pemeliharaan dengan Waktu yang Berbeda pada Penelitian Pendahuluan

Waktu (jam)	Salinitas (ppt)	Ulangan	Osmolaritas Hemolim (mOsm/L)	Rata - rata	Stdev
24 jam	B1	1	672		
	25 – 31	2	628	599	69.4
		3	764		
	B2	1	574		
	31 – 35	2	429	455	28.9
		3	686		
	B3	1	396		
	35 – 37	2	481	453	72.4
		3	540		
	B4	1	367		
	37 – 39	2	381	485	35.3
		3	314		
	B5	1	209		
	39 –41	2	241	455	20.1

48 jam		3	246		
	B1	1	693		
	25 – 31	2	674	687	11.3
		3	694		
	B2	1	665		
	31 – 35	2	690	874	13.0
		3	667		
	B3	1	622		
	35 – 37	2	654	659	39.7
		3	701		
	B4	1	671		
	37 – 39	2	653	658	11.4
		3	650		
	B5	1	611		
	39 – 41	2	598	617	22.6
	3	642			

Lampiran 14. Hasil Analisis Regresi Osmolaritas Hemolim Juvenil Udang Windu pada Penelitian Pendahuluan

Penduga	Koefisien	Std. eror	Uji-t	Peluang
Konstanta	23.433	1.510	15.52	0.000
Salinitas	0.04341	0.05771	0.75	0.462

S = 3.12017 R-Sq = 3.0% R-Sq(adj) = 0.0%

Persamaan regresi : $Y_{OH} = 23.433 + 0.0434 X$

Lampiran 15. Hasil Analisis Ragam Osmolaritas Hemolim Juvenil Udang Windu pada Penelitian Pendahuluan

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
------------------	----	----	----	----------	-------

Regresi	1	5.510	5.510	0.57	0.462
Acak	18	175.238	9.735		
Total	19	180.748			

Lampiran 16. Nilai Tingkat Kerja Osmotik (TKO) Juvenil Udang Windu pada Penurunan Salinitas Berdasarkan Salinitas dan Waktu, pada Penelitian Pendahuluan

Waktu (Jam)	Salinitas (ppt)	Ulangan	TKO	Rata-rata	Stdv
24 jam	A1 (25)	1	0.991		
		2	1.016		
		3	1.006	1.004	0.012
	A2 (25 - 19)	1	1.058		
		2	0.919		
		3	0.929	0.969	0.078
	A3 (19 - 13)	1	0.979		
		2	0.936		
		3	1.018	0.978	0.104
	A4 (13 - 7)	1	1.295		
		2	1.367		
		3	0.957	1.206	0.219
	A5 (7 - 4)	1	2.071		
		2	1.556	1.776	0.266

48 jam		3	1.702		
	A1 (25)	1	1.032		
		2	1.004		
		3	1.103	1.047	0.266
	A2 (25 - 19)	1	1.037		
		2	1.062		
		3	1.135	1.078	0.051
	A3 (19 - 13)	1	1.820		
		2	1.777		
		3	1.596	1.731	0.051
	A4 (13 - 7)	1	1.771		
		2	2.080		
		3	1.438	1.763	0.119
	A5 (7 - 4)	1	2.185		
		2	2.131		
3		2.350	2.222	0.321	

Lampiran 17. Nilai Tingkat Kerja Osmotik (TKO) Juvenil Udang Windu pada Peningkatan Salinitas berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Pendahuluan.

Waktu (Jam)	Salinitas (ppt)	Ulangan	TKO	Rata-rata	Stdv
24 jam	B1 (25 - 31)	1	1.114		
		2	1.023		
		3	1.205	1.114	0.091
	B2 (31 - 35)	1	0.575		
		2	0.383		
		3	0.622	0.527	0.126
	B3 (35 - 37)	1	0.341		
		2	0.440		
		3	0.429	0.403	0.054
	B4 (37 - 39)	1	0.363		
		2	0.366		
		3	0.297	0.342	0.039
	B5 (39 - 41)	1	0.184		
		2	0.207		
		3	0.213	0.201	0.015
8 jam		1	1.114	0.635	0.021

B1 (25 - 31)	2	1.023		
	3	1.205		
	1	0.575		
B2 (31 - 35)	2	0.383		
	3	0.622	0.608	0.009
	1	0.341		
B3 (35 - 37)	2	0.440		
	3	0.429	0.591	0.035
	1	0.363		
B4 (37 - 39)	2	0.366		
	3	0.297	0.573	0.014
	1	0.384		
B5 (39 - 41)	2	0.377		
	3	0.213	0.528	0.026

Lampiran 18. Hasil analisis regresi Tingkat Kerja Osmotik Juvenil Udang Windu pada Penelitian Pendahuluan

Penduga	Koefisien	Std. eror	T hitung	Peluang
Konstanta	1.5655	0.1331	11.76	0.000
Salinitas	-0.023056	0.002977	-7.74	0.000
Waktu	0.013004	0.002999	4.34	0.000

S = 0.160962 R-Sq = 82.2% R-Sq(adj) = 80.2%

Persamaan regresi : $Y_{TKO} = 1.5655 - 0.0231 X_1 + 0.0130 X_2$

Lampiran 19. Hasil Analisis Ragam Tingkat Kerja Osmotik Juvenil Udang Windu pada Penelitian Pendahuluan

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
------------------	----	----	----	----------	-------

Regresi	2	2.0409	1.0205	39.39	0.000
Acak	17	0.4404	0.0259		
Total	19	2.4814			

Lampiran 20. Nilai Osmolaritas Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu di Media Hipoosmotik, berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama

Penurunan Salinitas	Waktu (Jam)	Ulangan	Osmolaritas Media (mOsm/L)	Rata-rata	Stdv
25 - 13 ppt	6	1	244	228.67	24.85
		2	200		
		3	242		
	24	1	291	311.67	32.39
		2	349		
		3	295		
	96	1	382	281.00	97.69
		2	274		
		3	187		
	168	1	508	448.67	51.39
		2	418		
		3	420		
13 - 10 ppt	6	1	265	243.00	25.53
		2	249		
		3	215		
	24	1	341	346.67	13.43
		2	337		
		3	362		

10 - 7 ppt	96	1	256	251.67	24.79
		2	274		
		3	225		
	168	1	222	322.67	20.42
		2	559		
		3	187		
	6	1	219	193.67	23.03
		2	188		
		3	174		
	24	1	156	163.00	2.12
		2	177		
		3	156		
96	1	198	195.33	38.07	
	2	232			
	3	156			
168	1	176	160.00	14.18	
	2	155			
	3	149			
7 - 4 ppt	6	1	145	138.67	7.09
		2	131		
		3	140		
	24	1	118	126.00	10.58
		2	138		
		3	122		
	96	1	147	149.67	27.10
		2	178		
		3	124		
	168	1	112	98.67	12.22
		2	88		
		3	96		

Lampiran 21. Nilai Osmolaritas Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu di Media Hiperosmotik, Berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama

Penaikan Salinitas	Waktu (jam)	Ulangan	Osmolaritas Media (mOsm/L)	Rata-rata	Stdv
25 - 37 ppt	6	1	961	945.00	14.73
		2	932		
		3	942		
	24	1	1083	1091.33	15.31
		2	1109		
		3	1082		
	96	1	1157	1169.00	12.53
		2	1182		
		3	1168		
168	1	1167	1172.33	8.39	
	2	1182			
	3	1168			
37 - 39 ppt	6	1	1136	1136.00	7.00
		2	1143		
		3	1129		
24	1	1188			

		2	1194		
		3	1198	1193.33	5.03
	96	1	1204		
		2	1197		
		3	1311	1237.33	63.89
	168	1	1187		
		2	1244		
		3	1322	1251.00	67.77
39 - 41 ppt	6	1	1455		
		2	1498		
		3	1571	1508.00	58.64
	24	1	1178		
		2	1157		
		3	1231	1188.67	38.14
	96	1	1270		
		2	1555		
		3	1478	1434.33	147.43
	168	1	1371		
		2	1346		
		3	1269	1328.67	53.16
41 - 43 ppt	6	1	1483		
		2	1334		
		3	1357	1391.33	80.21
	24	1	1287		
		2	1311		
		3	1342	1313.33	27.57
	96	1	1421		
		2	1334		
		3	1357	1370.67	45.08
	168	1	1183		
		2	1334		
		3	1357	1291.33	94.52

Lampiran 22. Nilai Osmolaritas Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu di Media Isoosmotik, Berdasarkan Waktu dan Salinitas pada Penelitian Utama.

Salinitas	Waktu (jam)	Ulangan	Osmolaritas Media (mOsm/L)	Rata-rata	Stdv
25 ppt	6	1	632		
		2	656		
		3	608	632.00	24.00
	24	1	703		
		2	691		
		3	675	689.67	14.05
	96	1	841		
		2	835		

	3	788	821.33	29.02
	1	656		
168	2	715		
	3	703	691.33	31.18

Lampiran 23. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Walinitas dan Waktu terhadap Osmolaritas Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	61647.50926	20549.16975	7.97**	0.0087
Galat (a)	8	20626.74	2578.34		
Salinitas	8	25978625.33	3247328.17	654.42**	<.0001
Salinitas*Waktu	24	425941.41	17747.56	3.58**	<.0001
Galat (b)	64	317575.93	4962.12		
Total	107	26804416.92			

$R^2 = 0.988152$ $KK = 9.564112$ Mean Osmo media = 736.5278

**) Berpengaruh sangat nyata ($P < 0.01$)

Lampiran 24. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Osmolaritas Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Media

Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
43	12	1364.92	A
41	12	1341.67	A
39	12	1204.42	B
37	12	1094.42	C
25	12	708.58	D
13	12	317.50	E

10	12	291.00	E
7	12	178.00	F
4	12	128.25	F

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 25. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Waktu terhadap Osmolaritas Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Media			
Waktu	N	Mean	Tukey Grouping
96	27	767.81	A
168	27	751.63	A B
24	27	713.74	B
6	27	712.93	B

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 26. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap Osmolaritas Media Pemeliharaan

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence				
Waktu	Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
6	41	3	1508.0	A
96	41	3	1434.3	A B
6	43	3	1391.3	A B C
96	43	3	1370.7	A B C
168	41	3	1328.7	A B C D
24	43	3	1313.3	A B C D E
168	43	3	1291.3	A B C D E
168	39	3	1251.0	B C D E
96	39	3	1237.3	B C D E
24	39	3	1193.3	C D E

24	41	3	1188.7	C	D	E														
168	37	3	1172.3	C	D	E	F													
96	37	3	1169.0	C	D	E	F													
6	39	3	1136.0		D	E	F													
24	37	3	1091.3			E	F													
6	37	3	945.0				F	G												
96	25	3	821.3					G	H											
168	25	3	691.3						H											
24	25	3	689.7						H											
6	25	3	632.0						H	I										
168	13	3	448.7							I	J	K								
24	10	3	346.7								J	K	L							
168	10	3	322.7								J	K	L							
24	13	3	311.7								J	K	L							
96	13	3	281.7								J	K	L							
96	10	3	251.7								J	K	L							
6	10	3	243.0								J	K	L							
6	13	3	228.7								J	K	L							
96	7	3	195.3									K	L							
6	7	3	193.7									K	L							
24	7	3	163.0									K	L							
168	7	3	160.0									K	L							
96	4	3	149.7									K	L							
6	4	3	138.7									K	L							
24	4	3	126.0									K	L							
168	4	3	98.7										L							

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 27. Nilai Osmolaritas Hemolim Juvenil Udang Windu di Media Hipoosmotik, berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama

Penurunan Salinitas	Waktu (jam)	Ulangan	Osmolaritas Hemolin (mOsm/L)	Rata-rata	Stdv
25 - 13 ppt	6	1	546	524.00	24.88
		2	497		
		3	529		
	24	1	983	866.33	201.21
		2	982		
		3	634		
	96	1	978	953.00	54.03
		2	990		
		3	891		
	168	1	569	582.33	41.63
		2	549		
		3	629		

13 - 10 ppt	6	1	576	569.33	19.86
		2	547		
		3	585		
	24	1	793	791.00	8.19
		2	782		
		3	798		
	96	1	788	792.33	28.75
		2	823		
		3	766		
	168	1	753	756.33	59.07
		2	817		
		3	699		
10 - 7 ppt	6	1	599	574.00	53.11
		2	610		
		3	513		
	24	1	731	701.33	27.39
		2	696		
		3	677		
	96	1	721	718.33	39.07
		2	756		
		3	678		
	168	1	809	786.00	27.18
		2	793		
		3	756		
7 - 4 ppt	6	1	596	605.33	8.14
		2	609		
		3	611		
	24	1	984	820.33	44.58
		2	767		
		3	710		
	96	1	679	596.33	73.12
		2	536		
		3	634		
	168	1	561	549.67	11.02
		2	539		
		3	549		

Lampiran 28. Nilai Osmolaritas Hemolim Juvenil Udang Windu di Media Hiperosmotik, berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama

Penaikan Salinitas	Waktu (jam)	Ulangan	Osmolaritas Hemolin (mOsm/L)	Rata-rata	Stdv
25 - 37 ppt	6	1	697	701.67	5.03
		2	707		
		3	701		
	24	1	687	693.67	23.71
		2	674		
		3	720		
	96	1	754	721.33	29.40
		2	713		
		3	697		
	168	1	644		

		2	643			
		3	617	634.67	15.31	
37 - 39 ppt	6	1	662			
		2	665			
		3	669	665.33	3.51	
	24	1	681			
		2	684			
		3	689	684.67	4.04	
	96	1	598			
		2	653			
		3	578	609.67	38.84	
	168	1	572			
		2	654			
		3	521	582.33	67.10	
39 - 41 ppt	6	1	788			
		2	609			
		3	734	710.33	91.82	
	24	1	678			
		2	655			
		3	526	619.67	81.93	
	96	1	777			
		2	712			
		3	716	735.00	36.43	
	168	1	723			
		2	698			
		3	563	661.33	86.07	
41 - 43 ppt	6	1	613			
		2	675			
		3	703	663.67	46.06	
	24	1	654			
		2	697			
		3	702	684.33	26.39	
	96	1	633			
		2	675			
		3	673	660.33	23.69	
	168	1	633			
		2	675			
		3	703	670.33	35.23	

Lampiran 29. Nilai Osmolaritas Hemolim Juvenil Udang Windu di Media Isoosmotik, berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama.

Salinitas	Waktu (jam)	Ulangan	Osmolaritas Hemolin (mOsm/L)	Rata-rata	Stdv	
25 ppt	6	1	628			
		2	666			
		3	578	624.00	44.14	
	24	1	700			
		2	707			

	3	688	698.33	9.61
	1	836		
96	2	901		
	3	911	882.67	40.72
	1	631		
168	2	694		
	3	717	680.67	44.52

Lampiran 30. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Osmolaritas Hemolim Juvenil Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	251042.7778	83680.9259	16.30**	0.0009
Galat (a)	8	41076.6667	5134.5833		
Salinitas	8	117073.5000	14634.1875	4.61**	0.0002
Salinitas*Waktu	24	621408.0556	25892.0023	8.15**	<.0001
Galat (b)	64	203224.667	3175.385		
Total	107	1233825.667			

$R^2 = 0.835289$

KK = 8.189827

Mean Osmo Hemolymph =

688.0558

**) Berpengaruh sangat nyata ($P < 0.01$)

Lampiran 31. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Osmolaritas Hemolim Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolim

Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
13	12	731.42	A
10	12	727.25	A

25	12	721.42	A	
7	12	694.92	A	B
4	12	687.83	A	B
41	12	681.58	A	B
43	12	669.67	A	B
37	12	642.93		B
39	12	635.50		B

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 32. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Waktu terhadap Osmolaritas Hemolim Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe

Waktu	N	Mean	Tukey Grouping
96	27	741.00	A
24	27	728.85	A
168	27	655.96	B
6	27	626.41	B

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 33. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan (interaksi waktu dan salinitas) terhadap Osmolaritas Hemolim Juvenil Udang Windu.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Waktu	Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
96	13	3	953.0	A
96	25	3	882.7	A B
24	13	3	866.3	A B C
24	4	3	820.3	A B C D
96	10	3	792.3	A B C D E
24	10	3	791.0	A B C D E

168	7	3	786.0	A	B	C	D	E	F										
168	10	3	756.3		B	C	D	E	F	G									
96	41	3	735.0		B	C	D	E	F	G	H								
96	37	3	721.3		B	C	D	E	F	G	H	I							
96	7	3	718.3		B	C	D	E	F	G	H	I							
6	41	3	710.3		B	C	D	E	F	G	H	I							
6	37	3	701.7		B	C	D	E	F	G	H	I	J						
24	7	3	701.3		B	C	D	E	F	G	H	I	J						
24	25	3	698.3		B	C	D	E	F	G	H	I	J						
24	37	3	693.7			C	D	E	F	G	H	I	J						
24	39	3	684.7			C	D	E	F	G	H	I	J						
24	43	3	684.3			C	D	E	F	G	H	I	J						
168	25	3	680.7				D	E	F	G	H	I	J						
168	43	3	670.3				D	E	F	G	H	I	J						
6	39	3	665.3				D	E	F	G	H	I	J						
6	43	3	663.7				D	E	F	G	H	I	J						
168	41	3	661.3				D	E	F	G	H	I	J						
96	43	3	660.3				D	E	F	G	H	I	J						
168	37	3	634.7					E	F	G	H	I	J						
6	25	3	624.0					E	F	G	H	I	J						
24	41	3	619.7					E	F	G	H	I	J						
96	39	3	609.7					E	F	G	H	I	J						
6	4	3	605.3						F	G	H	I	J						
96	4	3	596.3							G	H	I	J						
168	13	3	582.3							G	H	I	J						
168	39	3	582.3							G	H	I	J						
6	7	3	574.0							G	H	I	J						
6	10	3	569.3								H	I	J						
168	4	3	549.7									I	J						
6	13	3	524.0										J						

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 34. Nilai Tingkat Kerja Osmotik (TKO) Juvenil Udang Windu di Media Hipoosmotik, berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama

Penurunan Salinitas	Waktu (jam)	Ulangan	TKO	Rata-rata	Stdv
25 - 13 ppt	6	1	2.24	2.303	0.16
		2	2.49		
		3	2.19		
	24	1	3.38	2.780	0.62
		2	2.81		
		3	2.15		
	96	1	2.56		
		2	3.61		

		3	4.76	3.646	1.10
	168	1	1.12		
		2	1.31		
		3	1.50	1.310	0.19
13 - 10 ppt	6	1	2.17		
		2	2.20		
		3	2.72	2.364	0.31
	24	1	2.33		
		2	2.32		
		3	2.20	2.283	0.07
	96	1	3.08		
		2	3.00		
		3	3.40	3.162	0.21
	168	1	3.39		
		2	1.46		
		3	3.74	2.864	1.23
10 - 7 ppt	6	1	2.74		
		2	3.24		
		3	2.95	2.976	0.26
	24	1	4.69		
		2	3.93		
		3	4.34	4.319	0.38
	96	1	3.64		
		2	3.26		
		3	4.35	3.749	0.55
	168	1	4.60		
		2	5.12		
		3	5.07	4.929	0.29
7 - 4 ppt	6	1	4.11		
		2	4.65		
		3	4.36	4.374	0.27
	24	1	8.34		
		2	5.56		
		3	5.82	6.572	1.54
	96	1	4.21		
		2	3.01		
		3	5.11	4.112	1.05
	168	1	5.01		
		2	6.13		
		3	5.72	5.618	0.56

Lampiran 35. Nilai Tingkat Kerja Osmotik (TKO) Juvenil Udang Windu di Media Hiperosmotik, berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama

Penaikan Salinitas	Waktu (jam)	Ulangan	TKO	Rata-rata	Stdv
25 - 37 ppt	6	1	0.73		
		2	0.76		
		3	0.74	0.743	0.02
	24	1	0.63		
		2	0.61		
		3	0.67	0.636	0.03

37 - 39 ppt	96	1	0.65	0.617	0.03
		2	0.60		
		3	0.60		
	168	1	0.55	0.541	0.01
		2	0.54		
		3	0.53		
	6	1	0.58	0.586	0.01
		2	0.58		
		3	0.59		
24	1	0.57	0.574	0.00	
	2	0.57			
	3	0.58			
96	1	0.50	0.494	0.05	
	2	0.55			
	3	0.44			
168	1	0.48	0.467	0.07	
	2	0.53			
	3	0.39			
39 - 41 ppt	6 J	1	0.63	0.485	0.14
		2	0.36		
		3	0.47		
	24	1	0.58	0.523	0.08
		2	0.57		
		3	0.43		
	96	1	0.61	0.518	0.08
		2	0.46		
		3	0.48		
168	1	0.53	0.497	0.05	
	2	0.52			
	3	0.44			
41 - 43 ppt	6	1	0.41	0.479	0.06
		2	0.51		
		3	0.52		
	24	1	0.51	0.521	0.01
		2	0.53		
		3	0.52		
	96	1	0.45	0.482	0.03
		2	0.51		
		3	0.50		
168	1	0.54	0.520	0.01	
	2	0.51			
	3	0.52			

Lampiran 36. Nilai Tingkat Kerja Osmotik (TKO) Juvenil Udang Windu di Media Isoosmotik, berdasarkan Salinitas dan Waktu pada Penelitian Utama

Salinitas	Waktu (jam)	Ulangan	TKO	Rata-rata	Stdv
25 ppt	6	1	0.99	0.99	0.03
		2	1.02		
		3	0.95		
	24	1	1.00		
		2	1.02		

	3	1.02	1.01	0.01
	1	0.99		
96	2	1.08		
	3	1.16	1.08	0.08
	1	0.96		
168	2	0.97		
	3	1.02	0.98	0.03

Lampiran 37. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Tingkat Kerja Osmotik Juvenil Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	2.66640149	0.88880050	2.30 ^{tn}	0.1545
Galat (a)	8	3.0972632	0.3871579		
Salinitas	8	290.0921317	36.2615165	185.03**	<.0001
Salinitas*Waktu	24	25.5423725	1.0642655	5.43**	<.0001
Galat (b)	64	12.5428296	0.1959817		
Total	107	333.9409985			

$R^2 = 0.962441$ $KK = 22.75338$ Mean TKO = 1.947330

***) Berpengaruh sangat nyata ($P < 0.01$)

^{tn}) Tidak berpengaruh nyata ($P < 0.05$)

Lampiran 38. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Tingkat Kerja Osmotik Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolim			
Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
4	12	5.1690	A
7	12	3.9932	B
10	12	2.6683	C

13	12	2.5099	C
25	12	1.0150	D
37	12	0.6343	D
39	12	0.5303	D
41	12	0.5056	D
43	12	0.5006	D

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 39. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Interaksi Waktu dan Salinitas terhadap Tingkat Kerja Osmotik Juvenil Udang Windu.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence					
Waktu	Salinitas	N	Mean	Grouping	
24	4	3	6.6	A	
168	4	3	5.6	A	B
168	7	3	4.9		B C
6	4	3	4.4		B C D
24	7	3	4.3		B C D
96	4	3	4.1		C D E
96	7	3	3.7		C D E F
96	13	3	3.6		C D E F G
96	10	3	3.2		D E F G
6	7	3	3.0		D E F G
168	10	3	2.9		E F G
24	13	3	2.8		E F G
6	10	3	2.4		F G H
6	13	3	2.3		F G H
24	10	3	2.3		G H
168	13	3	1.3		H I
96	25	3	1.1		H I
24	25	3	1.0		H I
6	25	3	1.0		H I
168	25	3	1.0		H I
6	37	3	0.7		I
24	37	3	0.6		I
96	37	3	0.6		I
6	39	3	0.6		I
24	39	3	0.6		I
168	37	3	0.5		I
24	41	3	0.5		I
24	43	3	0.5		I
168	43	3	0.5		I
96	41	3	0.5		I
168	41	3	0.5		I
96	39	3	0.5		I
6	41	3	0.5		I
96	43	3	0.5		I
6	43	3	0.5		I
168	39	3	0.5		I

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 40. Nilai Rata-rata Konsentrasi Ion-Ion Hemolim Juvenil Udang Windu pada Media Isoosmotik berdasarkan Salinitas dan Waktu

Perlakuan		Nilai rata-rata konsentrasi ion-ion hemolim (ppm)					
Salinitas Media Isoosmotik	Waktu (jam)	Na ⁺	Cl ⁻	Mg ²⁺	Ca ²⁺	K ⁺	SO ₄ ²⁻
25 ppt (A)	6	2221.8327	193.9085	55.7460	220.0236	130.8334	3.0200
	24	2234.6535	189.9712	67.2346	149.0150	137.0705	2.7257
	96	1992.7840	199.0186	67.9293	201.2185	134.5589	3.3750
	168	1534.9759	331.6341	35.8654	165.8366	302.4214	4.0704

Lampiran 41. Nilai Rata-rata Konsentrasi Ion-Ion Hemolim Juvenil Udang Windu pada Media Hipoosmotik berdasarkan Salinitas dan Waktu.

Perlakuan		Nilai rata-rata konsentrasi ion-ion hemolim (ppm)					
Salinitas Media Hipoosmotik	Waktu (jam)	Na ⁺	Cl ⁻	Mg ²⁺	Ca ²⁺	K ⁺	SO ₄ ²⁻
25-13 ppt (B1)	6	2026.4642	198.2608	73.7743	325.4185	112.9664	2.5200
	24	1588.3832	177.6180	90.8420	222.1210	110.0605	2.3135
	96	1752.1953	224.8562	80.2208	171.4470	122.3609	3.5784
	168	1203.4055	307.8629	70.0107	241.0018	144.1885	3.7688
13-10 ppt (B2)	6	1298.7959	127.5291	20.8662	253.9787	148.6542	1.4855
	24	1298.7962	169.5638	31.0895	274.6837	121.9852	4.7490
	96	1334.5089	175.8245	34.2091	171.4414	126.4871	2.3655
	168	1334.5082	357.9185	25.4311	223.1137	168.4014	5.2457
10-7 ppt (B3)	6	1298.7959	127.5291	20.8662	253.9787	148.6542	1.4855
	24	1298.7962	169.5638	31.0895	274.6837	121.9852	4.7490
	96	1334.5089	175.8245	34.2091	171.4414	126.4871	2.3655
	168	1334.5082	357.9185	25.4311	223.1137	168.4014	5.2457
7-4 ppt (B4)	6	1137.5238	110.8595	36.6936	197.4266	59.9713	0.9554
	24	1265.5689	118.6765	42.6825	200.7342	33.7673	1.0685
	96	1217.0589	136.2708	22.9069	163.5246	122.4279	1.1925
	168	1162.1882	313.2668	21.0387	219.5814	111.6038	4.7887

Lampiran 42. Nilai Rata-rata Konsentrasi Ion-Ion Hemolim Juvenil Udang Windu pada Media Hiperosmotik berdasarkan Salinitas dan Waktu.

Perlakuan		Nilai rata-rata konsentrasi ion-ion hemolim (ppm)					
Salinitas Media Hiperosmotik	Waktu (jam)	Na ⁺	Cl ⁻	Mg ²⁺	Ca ²⁺	K ⁺	SO ₄ ²⁻
25 – 37 ppt (C1)	6	2168.3652	221.9951	61.2272	182.9603	142.1852	4.0613
	24	2094.2359	213.3019	52.5692	243.1046	146.7021	3.8413
	96	2278.1916	254.7641	49.8695	189.7570	141.5912	3.6369
	168	1223.0114	242.8639	57.0374	205.0535	155.5564	4.0258
37 – 39 pt (C2)	6	1888.8440	287.4980	39.5756	403.4642	177.9722	5.9520
	24	2082.6500	240.0786	48.7610	373.4656	180.0401	4.0459
	96	1945.4467	307.7718	72.5272	303.4638	370.7812	3.7209
	168	1945.4467	262.3737	82.3878	336.7967	370.7994	4.4954
39 – 41 ppt (C3)	6	1574.3841	324.1646	69.3128	375.3433	354.7994	4.4998
	24	1848.5596	306.7453	81.7641	389.3433	368.8268	5.0459
	96	1730.7667	311.1051	90.0545	617.8967	362.1615	4.0542
	168	2030.2437	326.3131	79.2028	604.5633	368.8283	4.8288
41 – 43 ppt (C4)	6	2016.0420	320.8313	73.7040	664.7467	378.8259	4.7992
	24	2348.2416	353.4119	92.0235	635.4133	345.5393	4.8369
	96	2175.6300	317.7718	95.6067	560.7467	352.2018	4.8258
	168	2175.6300	327.5253	105.721	644.1467	372.1581	5.1792

Lampiran 43. Nilai rata-rata konsentrasi ion-ion media pemeliharaan juvenil udang windu pada media Isoosmotik berdasarkan salinitas dan waktu.

Perlakuan		Nilai rata-rata konsentrasi ion-ion media (ppm)					
Salinitas Media Isoosmotik	Waktu (jam)	Na ⁺	Cl ⁻	Mg ²⁺	Ca ²⁺	K ⁺	SO ₄ ²⁻
25 ppt (A)	6	13.3870	13570.0583	19.8143	8.4669	14.5608	1708.2321
	24	30.8363	13981.8016	23.1163	6.8945	10.9349	2375.9436
	96	27.7702	15590.9278	17.9717	6.3471	12.3319	2513.9454
	168	28.4032	15074.3569	22.8460	6.6722	14.3698	3428.7798

Lampiran 44. Nilai Rata-rata Konsentrasi Ion-Ion Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu pada Media Hipoosmotik berdasarkan Salinitas dan Waktu

Perlakuan		Nilai rata-rata konsentrasi ion-ion media (ppm)					
Salinitas Media Hiposmotik	Waktu (jam)	Na ⁺	Cl ⁻	Mg ²⁺	Ca ²⁺	K ⁺	SO ₄ ²⁻
25-13 ppt (B1)	6	16.6535	6193.7585	9.5308	5.9189	8.2812	1370.8512
	24	21.3508	7681.5730	12.7245	4.4634	7.1378	1312.9274
	96	19.5912	9252.6333	12.1892	5.3460	8.5686	1406.8036
	168	22.5481	8932.5833	14.8860	5.4200	7.7629	1461.8036
13-10 ppt (B2)	6	14.0482	6449.3495	3.4626	7.8176	12.6506	1511.2083
	24	12.9276	6299.1595	2.9109	7.1509	12.9839	1373.6417
	96	12.9580	6940.9212	3.9109	7.1909	12.9839	1396.8036
	168	13.5912	6707.5879	6.2436	7.4842	13.9608	1495.1369
10-7 ppt (B3)	6	12.4559	4597.0640	1.8935	4.2063	5.3774	711.8164
	24	14.0102	3737.1070	1.8305	4.5549	5.7112	1032.4695
	96	13.4855	4523.9035	2.2218	6.4069	9.8287	1330.1369
	168	14.7586	5965.8262	3.0218	7.0255	9.8285	1361.8036
7-4 ppt (B4)	6	10.3689	2599.5396	1.8599	2.5749	8.1846	465.5040
	24	12.9945	4799.1595	1.5583	2.9098	3.2232	419.3409
	96	12.3156	2819.4153	1.8813	3.5240	3.3741	464.7321
	168	13.6830	4233.4051	1.8411	3.7821	3.6030	634.3586

Lampiran 45. Nilai Rata-rata Konsentrasi Ion-Ion Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu pada Media Hiperosmotik berdasarkan Salinitas dan Waktu

Perlakuan		Nilai rata-rata konsentrasi ion-ion hemolim (ppm)					
Salinitas Media Hiperosmotik	Waktu (jam)	Na ⁺	Cl ⁻	Mg ²⁺	Ca ²⁺	K ⁺	SO ₄ ²⁻
25 - 37 (C1)	6	15.4197	20283.0753	21.2939	8.9345	17.7449	3661.8036
	24	35.4111	22518.5096	25.0799	7.6769	12.2442	3607.8140
	96	34.6623	22152.2524	14.0985	8.5961	14.5771	3565.6347
	168	36.6966	23511.2778	25.5114	8.0836	13.7295	3753.2321
37 - 39 (C2)	6	42.6397	22529.1426	26.6781	7.8901	18.9501	3744.0330
	24	64.8492	22518.5636	25.0799	8.1610	31.3361	3835.0990
	96	76.8354	23613.8217	27.0088	8.0901	38.4736	3944.0330
	168	80.1687	23403.5353	28.0281	8.4835	38.7748	3978.3214
39 - 41 (C3)	6	190.1687	24185.1763	26.5114	7.9948	31.3361	4026.0568
	24	244.9693	23485.5857	28.3447	8.5615	37.8633	4059.7419
	96	270.2962	24344.6112	28.0799	7.7908	37.8633	4945.2325
	168	195.9014	24240.8093	29.6755	9.1281	36.0778	4417.3663
41 - 43 (C4)	6	330.3381	24518.5636	30.0405	8.4835	35.8574	4268.3214
	24	205.9000	24613.8217	30.3614	8.8169	42.1347	5078.5658
	96	326.7068	24286.4142	34.7490	8.7401	42.8407	5050.6997
	168	326.7054	25608.7594	33.5973	8.5835	44.8014	5268.3214

Lampiran 46. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Konsentrasi Na⁺ Hemolim Juvenil Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	2628026.753	876008.918	18.27**	0.0006
Galat (a)	8	383615.44	47951.93		
Salinitas	8	5969579.56	746197.45	11.03**	<.0001
Salinitas*Waktu	24	12164460.46	506852.52	7.49**	<.0001
Galat (b)	64	4331344.76	1812.713		
Total	107	25477026.99			

R² = 0.829990 KK = 14.35133 Mean Na Hemolim = 1812.713
 **) Berpengaruh sangat nyata (P < 0.01)

Lampiran 47. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Konsentrasi Na⁺ Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	5379.08955 7	1793.02985 2	2.70 ^{tn}	0.116 4
Galat (a)	8	5318.189	664.774		
Salinitas	8	1092287.90 2	136535.988	242.24* *	<.000 1
Salinitas*Waktu	24	45845.524	1910.230	3.39**	<.000 1
Galat (b)	64	36072.269	563.629		
Total	107	1184902.97 4			

R² = 0.969557 KK = 30.35264 Mean Na media = 78.21683

**) Berpengaruh sangat nyata ($P < 0.01$)

^{tn}) Tidak berpengaruh nyata ($P > 0.05$)

Lampiran 48. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Konsentrasi Na⁺ Hemolim Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe

Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
43	12	2178.9	A
25	12	1996.1	A B
39	12	1965.6	A B C
37	12	1941.0	A B C
41	12	1796.0	B C
10	12	1782.1	B C
4	12	1695.6	B C
13	12	1642.6	C D
7	12	1316.7	D

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 49. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Waktu terhadap Konsentrasi Na⁺ Hemolim Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe

Waktu	N	Mean	Tukey Grouping
96	27	2039.76	A
24	27	1854.71	A B
6	27	1740.75	C B

168 27 1615.63 C

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 50. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Interaksi Waktu dan Salinitas terhadap Konsentrasi Na⁺ Hemolim Juvenil Udang Windu

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence				
Waktu	Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
96	4	3	3217.1	A
24	43	3	2348.2	B
96	37	3	2278.2	B
24	25	3	2234.7	B
6	25	3	2221.8	B
168	43	3	2175.6	B C
96	43	3	2175.6	B C
6	37	3	2168.4	B C
24	37	3	2094.2	B C D
24	39	3	2082.6	B C D
168	39	3	2030.2	B C D E
6	13	3	2026.5	B C D E
6	43	3	2016.0	B C D E F
96	25	3	1992.8	B C D E F
168	39	3	1945.4	B C D E F G
96	39	3	1945.4	B C D E F G
24	10	3	1931.3	B C D E F G
168	10	3	1931.3	B C D E F G
96	10	3	1931.3	B C D E F G
6	10	3	1888.8	B C D E F G
24	41	3	1848.6	B C D E F G
96	13	3	1752.2	B C D E F G
96	41	3	1730.8	B C D E F G
24	13	3	1588.4	B C D E F G
6	41	3	1574.4	B C D E F G
168	25	3	1535.0	B C D E F G
168	10	3	1334.5	C D E F G
96	7	3	1334.5	C D E F G
168	7	3	1334.5	C D E F G
24	7	3	1298.8	D E F G
6	7	3	1298.8	D E F G
96	4	3	1265.6	D E F G

168	37	3	1223.0	E	F	G
168	13	3	1203.4	E	F	G
168	4	3	1162.2		F	G
6	4	3	1137.5			G

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 51. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Konsentrasi Na⁺ Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe

Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
43	12	297.413	A
41	12	225.334	B
39	12	66.123	C
37	12	30.547	D
25	12	25.099	D
13	12	20.036	D
7	12	13.678	D
10	12	13.381	D
4	12	12.341	D

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 52. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Interaksi Waktu dan Salinitas terhadap Konsentrasi Na⁺ Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence				
Waktu	Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
6	43	3	330.3	A
96	43	3	326.7	A
168	43	3	326.7	A
96	41	3	270.3	A B
24	41	3	245.0	B C
24	43	3	205.9	B C
168	41	3	195.9	B C
6	41	3	190.2	C
168	39	3	80.2	D
96	39	3	76.8	D
24	39	3	64.8	D
6	39	3	42.6	D
168	37	3	36.7	D
24	37	3	35.4	D
96	37	3	34.7	D
24	25	3	30.8	D
168	25	3	28.4	D
96	25	3	27.8	D
168	13	3	22.5	D
24	13	3	21.4	D
96	13	3	19.6	D
6	13	3	16.7	D
6	37	3	15.4	D
168	7	3	14.8	D
6	10	3	14.0	D
24	7	3	14.0	D
168	4	3	13.7	D
168	10	3	13.6	D
96	7	3	13.5	D
6	25	3	13.4	D
24	4	3	13.0	D

96	10	3	13.0	D
24	10	3	12.9	D
6	7	3	12.5	D
96	4	3	12.3	D
6	4	3	10.4	D

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 53. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan interaksi salinitas dan waktu terhadap Konsentrasi Cl⁻ Hemolim Juvenil Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	117327.1521	39109.0507	36.48**	<.0001
Galat (a)	8	8576.3455	1072.0432		
Salinitas	8	260148.9686	32518.6211	12.67**	<.0001
Salinitas*Waktu	24	160494.1019	6687.2542	2.60**	0.0012
Galat (b)	64	164312.3986	2567.3812		
Total	107	710858.9666			

$R^2 = 0.768854$ $KK = 20.13263$ Mean Cl⁻ hemolim = 251.6777

***) Berpengaruh sangat nyata (P < 0.01)

Lampiran 54. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan interaksi salinitas dan waktu terhadap Konsentrasi Cl⁻ Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	29651322.42	9883774.14	81.90**	<.0001
Galat (a)	8	965468	120684		
Salinitas	8	7752495991	969061999	1595699**	<.0001
Salinitas*Waktu	24	38296777	1595699	1.51 ^{tn}	0.0960
Galat (b)	64	67450828	1053919		

Total	107	7888860387
$R^2 = 0.991450$	$KK = 7.029352$	Mean Cl ⁻ media = 14604.56
**) Berpengaruh sangat nyata ($P < 0.01$)		
tn) Tidak berpengaruh nyata ($P > 0.05$)		

Lampiran 55. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Konsentrasi Cl⁻ Hemolim Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe			
Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
43	12	329.89	A
41	12	317.08	A
10	12	277.21	A B
39	12	274.43	A B
37	12	233.23	C B
25	12	228.63	C B
13	12	227.15	C B
7	12	207.71	C
4	12	169.77	C

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 56. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Waktu terhadap Konsentrasi Cl⁻ Hemolim Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Cl ⁻ Haemolymph			
Waktu	N	Mean	Tukey Grouping
168	27	307.851	A
96	27	240.772	B

6	27	233.863	B
24	27	224.225	B

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 57. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Interaksi Waktu dan Salinitas terhadap Konsentrasi Cl⁻ Hemolim Juvenil Udang Windu

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence				
Waktu	Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
168	7	3	357.9	A
24	41	3	353.4	A B
168	25	3	331.6	A B C
168	43	3	327.5	A B C
168	41	3	326.3	A B C
6	41	3	324.2	A B C
6	43	3	320.8	A B C
6	10	3	319.7	A B C
96	43	3	317.8	A B C
168	4	3	313.3	A B C
96	41	3	311.1	A B C
168	43	3	307.9	A B C
96	39	3	307.8	A B C
24	37	3	306.7	A B C
168	10	3	300.9	A B C D
6	39	3	287.5	A B C D E
168	39	3	262.4	A B C D E F
96	37	3	254.8	A B C D E F
24	10	3	248.7	A B C D E F
168	37	3	242.9	A B C D E F
24	39	3	240.1	A B C D E F
96	10	3	239.6	A B C D E F
96	13	3	224.9	A B C D E F
6	37	3	222	A B C D E F
24	25	3	213.3	A B C D E F
96	25	3	199	A B C D E F
6	10	3	198.3	A B C D E F
6	25	3	193.9	A B C D E F
24	25	3	190	B C D E F
24	13	3	177.6	C D E F

96	7	3	175.8	C	D	E	F
24	7	3	169.6	C	D	E	F
96	4	3	136.3		D	E	F
6	7	3	127.5			E	F
24	13	3	118.7				F
6	13	3	110.9				F

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 58. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Konsentrasi Cl⁻ Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Cl ⁻ media			
Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
43	12	24756.9	A
41	12	24064.0	A
39	12	23016.3	C
37	12	22116.3	C
25	12	14554.3	D
13	12	8015.1	E
10	12	6599.3	F
7	12	4706.0	G
4	12	3612.9	G

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 59. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Waktu terhadap Konsentrasi Cl⁻ Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu.

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe			
Waktu	N	Mean	Tukey Grouping
168	27	15297.57	A

96	27	14836.10	B
24	27	14403.92	C
6	27	13880.64	D

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 60. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Interaksi Waktu dan Salinitas terhadap Konsentrasi Cl⁻ Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence				
Waktu	Salinitas	N	Mean	Grouping
168	43	3	25608.8	A
24	43	3	24613.8	A B
6	43	3	24518.6	A B
96	41	3	24344.6	A B
96	43	3	24286.4	A B
168	41	3	24240.8	A B
6	41	3	24185.2	A B
96	39	3	23613.8	A B C
168	37	3	23511.3	A B C
24	41	3	23485.6	A B C
168	39	3	23403.5	A B C
6	39	3	22529.1	A B C
24	39	3	22518.6	A B C
24	37	3	22518.5	A B C
96	37	3	22512.3	B C
6	37	3	20283.1	C
96	25	3	15590.9	D
168	25	3	15074.4	D
24	25	3	13981.8	D
6	25	3	13570.1	D
96	13	3	9252.6	E
168	13	3	8932.6	E
24	13	3	7681.6	E F
96	10	3	6940.9	E F G
168	10	3	6707.6	E F G
6	10	3	6449.3	E F G
24	10	3	6299.2	E F G
6	13	3	6193.8	E F G
168	7	3	5965.8	E F G H

24	4	3	4799.2	F	G	H
6	7	3	4597.1	F	G	H
96	7	3	4523.9	F	G	H
168	4	3	4233.4		G	H
24	7	3	3737.1		G	H
96	4	3	2819.4			H
6	4	3	2599.5			H

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 61. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Konsentrasi K⁺ Hemolim Juvenil Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	64170.2128	21390.0709	23.24**	0.000
		6	5		3
Galat (a)	8	7364.429	920.554		
Salinitas	8	1085925.01	135740.626	140.85*	<.000
		2		*	1
Salinitas*Waktu	24	137587.007	5732.792	5.95**	<.000
u					1
Galat (b)	64	61678.305	963.724		
Total	10	1356724.96			
	7	6			

$R^2 = 0.954539$ KK = 15.53366 Mean K Hemolimfe = 199.8492

***) Berpengaruh sangat nyata (P < 0.01)

Lampiran 62. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Konsentrasi K⁺ Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	205.4836884	68.4945628	11.99**	0.0025

Galat (a)	8	45.69082	5.71135		
Salinitas	8	17962.79231	2245.34904	5.87**	<.0001
Salinitas*Waktu	24	979.28884	40.80370	64.17**	<.0001
Galat (b)	64	445.16787	6.95575		
Total	107	19638.42353			

R² = 0.977332 KK = 13.95718 Mean K media = 18.89619

**) Berpengaruh sangat nyata (P < 0.01)

Lampiran 63. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Konsentrasi K⁺ Hemolim Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe

Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
41	12	363.65	A
43	12	362.18	B
39	12	274.9	C
25	12	176.22	C D
37	12	146.51	C D
7	12	141.51	D
10	12	129.46	D
13	12	122.39	E
4	12	81.94	E

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 64. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan waktu Terhadap Konsentrasi K⁺ Hemolim Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe

Waktu	N	Mean	Tukey Grouping
168	27	237.698	A
96	27	204.389	B
6	27	182.201	B C
24	27	175.109	C

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 65. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Interakso Waktu dan Salinitas terhadap Konsentrasi K⁺ Hemolim Juvenil Udang Windu

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence				
Waktu	Salinitas	N	Mean	Grouping
6	43	3	378.8	A
168	43	3	372.2	A
168	39	3	370.8	A
96	39	3	370.8	A
168	41	3	368.8	A
24	41	3	368.8	A
96	41	3	362.2	A
6	41	3	354.8	A
96	43	3	352.2	A
24	43	3	345.5	A
168	25	3	302.4	A
24	39	3	180.0	B
6	39	3	178.0	B
168	7	3	168.4	B
168	37	3	155.6	B C
6	7	3	148.7	B C
24	37	3	146.7	B C
168	10	3	145.3	B C
168	13	3	144.2	B C
6	37	3	142.2	B C
96	37	3	141.6	B C
24	25	3	137.1	B C
96	25	3	134.6	B C D
6	10	3	133.6	B C D

24	10	3	132.0	B	C	D
6	25	3	130.8	B	C	D
96	7	3	126.5	B	C	D
96	4	3	122.4	B	C	D
96	13	3	122.4	B	C	D
24	7	3	122.0	B	C	D
6	13	3	113.0	B	C	D
168	4	3	111.6	B	C	D
24	13	3	110.1	B	C	D
96	10	3	106.9	B	C	D
168	4	3	60.0		C	D
24	4	3	33.8			D

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 66. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Konsentrasi K⁺ Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe

Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
43	12	41.409	A
41	12	35.785	B
39	12	31.884	C
37	12	14.574	D
10	12	13.145	D
25	12	13.049	D
13	12	7.938	E
7	12	7.686	E
4	12	4.596	E

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 67. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Waktu terhadap Konsentrasi K⁺ Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe			
Waktu	N	Mean	Tukey Grouping
168	27	20.3232	A
96	27	20.0935	A B
24	27	18.1744	B C
6	27	16.9937	C

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 68. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Interaksi Waktu dan Salinitas terhadap Konsentrasi K⁺ Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence					
Waktu	Salinitas	N	Mean	Grouping	
168	43	3	44.8	A	
96	43	3	42.8	A	B
24	43	3	42.1	A	B
168	41	3	38.8	A	B C
96	39	3	38.5	A	B C
96	41	3	37.9	A	B C
24	41	3	37.9	A	B C
168	41	3	36.1		B C
6	43	3	35.9		B C
24	39	3	31.3		C
6	39	3	31.3		C
6	39	3	19.0		D
6	37	3	17.7		D E
96	37	3	14.6		D E F
6	25	3	14.6		D E F
168	25	3	14.4		D E F G
168	10	3	14.0		D E F G H
168	37	3	13.7		D E F G H
24	10	3	13.0		D E F G H
96	10	3	13.0		D E F G H
6	10	3	12.7		D E F G H

96	25	3	12.3	D	E	F	G	H		
24	37	3	12.2	D	E	F	G	H	I	
24	25	3	10.9	D	E	F	G	H	I	J
96	7	3	9.8		E	F	G	H	I	J
168	7	3	9.8		E	F	G	H	I	J
96	13	3	8.6			F	G	H	I	J
6	13	3	8.3			F	G	H	I	J
6	4	3	8.2			F	G	H	I	J
168	13	3	7.8			F	G	H	I	J
24	13	3	7.1			F	G	H	I	J
24	4	3	5.7				G	H	I	J
6	7	3	5.4					H	I	J
168	4	3	3.6						I	J
96	4	3	3.4							J
24	7	3	3.2							J

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 69. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Konsentrasi Ca^{2+} Hemolimf Juvenil Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	10471.06788	3490.35596	1.93 ^{tn}	0.2027
Galat (a)	8	14438.746	1804.843		
Salinitas	8	2363790.038	295473.755	49.44 ^{**}	<.0001
Salinitas*Waktu	24	284791.950	11866.331	1.99 [*]	0.0155
Galat (b)	64	382506.565	5976.665		
Total	107	3055998.367			

$R^2 = 0.874834$ $KK = 25.32771$ Mean Ca^{2+} hemolimfe = 305.2344

^{**}) Berpengaruh sangat nyata ($P < 0.01$)

^{*}) Berpengaruh nyata ($P < 0.05$)

^{tn}) Tidak berpengaruh nyata ($P > 0.05$)

Lampiran 70. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Konsentrasi Ca^{2+} Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	5.02146132	1.67382044	11.50 *	0.0029
Galat (a)	8	1.1648173	0.1456022		
Salinitas	8	327.3302321	40.9162790	105.38**	<.0001
Salinitas*Waktu	24	33.7776775	1.4074032	3.62 **	<.0001
Galat (b)	64	24.8487841	0.3882623		
Total	107	392.1429722			

$R^2 = 0.936633$ (KK) = 9.038850 Mean Ca^{2+} media = 6.893653

**) Berpengaruh sangat nyata (P < 0.01)

*) Berpengaruh nyata (P < 0.05)

Lampiran 71. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Konsentrasi Ca^{2+} Hemolim Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe			
Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
43	12	626.26	A
41	12	496.79	B
39	12	354.3	C
13	12	240.0	D
7	12	230.8	D
10	12	214.4	D
37	12	205.22	D
4	12	195.32	D
25	12	184.02	D

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 72. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Waktu terhadap Konsentrasi Ca^{2+} Hemolim Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe

Waktu	N	Mean	Tukey Grouping
168	27	318.02	A
6	27	306.83	A
24	27	305.73	A
96	27	290.35	A

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 73. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Interaksi Waktu dan Salinitas terhadap Konsentrasi Ca^{2+} Hemolim Juvenil Udang Windu

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Waktu	Salinitas	N	Mean	Grouping
6	43	3	664.7	A
168	43	3	644.1	A B
24	43	3	635.4	A B C
96	41	3	617.9	A B C D
168	41	3	604.6	A B C D
96	43	3	560.7	A B C D E
6	39	3	403.5	B C D E F
24	41	3	389.3	C D E F G
6	41	3	375.3	D E F G
24	39	3	373.5	D E F G
168	39	3	336.8	E F G
6	13	3	325.4	E F G
96	39	3	303.5	F G
24	7	3	274.7	F G
24	10	3	263.7	F G
6	7	3	254.0	F G
24	37	3	243.1	F G
168	13	3	241.0	F G
96	10	3	233.7	F G
168	7	3	223.1	F G

168	10	3	222.1	F	G
24	13	3	222.1	F	G
6	25	3	220.0	F	G
168	4	3	219.6	F	G
168	37	3	205.1	F	G
96	25	3	201.2	F	G
24	4	3	200.7	F	G
6	4	3	197.4	F	G
96	37	3	189.8	F	G
6	37	3	183.0	F	G
96	13	3	171.4	F	G
96	7	3	171.4	F	G
168	25	3	165.8	F	G
96	4	3	163.5	F	G
24	25	3	149.0		G
6	10	3	138.1		G

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 74. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Konsentrasi Ca^{2+} Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe			
Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
43	12	8.656	A
41	12	8.3688	A
37	12	8.3228	A
39	12	8.1562	A B
10	12	7.4109	B C
25	12	7.0951	C
7	12	5.5484	D
13	12	5.2871	D
4	12	3.1977	E

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 75. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Waktu terhadap Konsentrasi Ca^{2+} Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe			
Waktu	N	Mean	Tukey Grouping
168	27	7.1847	A
6	27	6.9208	A
96	27	6.8924	A B
24	27	6.5766	B

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 76. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Interaksi Waktu dan Salinitas terhadap Konsentrasi Ca^{2+} Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence				
Waktu	Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
168	41	3	9.1	A
6	37	3	8.9	A B
24	43	3	8.8	A B
96	43	3	8.7	A B
96	37	3	8.6	A B C
168	43	3	8.6	A B C
24	41	3	8.6	A B C
168	30	3	8.5	A B C
6	43	3	8.5	A B C
6	25	3	8.5	A B C
24	39	3	8.2	A B C D
96	39	3	8.1	A B C D
168	37	3	8.1	A B C D
6	41	3	8.0	A B C D
6	39	3	7.9	A B C D E
6	10	3	7.8	A B C D E
96	41	3	7.8	A B C D E
24	37	3	7.7	A B C D E
168	10	3	7.5	A B C D E

96	10	3	7.2	A	B	C	D	E	F	
24	10	3	7.2	A	B	C	D	E	F	
168	7	3	7.0		B	C	D	E	F	
24	25	3	6.9		B	C	D	E	F	
168	25	3	6.7			C	D	E	F	
96	7	3	6.4				D	E	F	G
96	25	3	6.3				D	E	F	G
6	13	3	5.9					E	F	G H I
168	13	3	5.4						F	G H I
96	13	3	5.3						F	G H I J
24	7	3	4.6							G H I J
24	13	3	4.5							G H I J
6	7	3	4.2							H I J
168	4	3	3.8							I J
96	4	3	3.5							I J
24	4	3	2.9							J
6	4	3	2.6							J

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 77. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Konsentrasi Mg^{2+} Hemolim Juvenil Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	1855.543890	618.514630	10.30**	0.0040
Galat (a)	8	480.23425	60.02928		
Salinitas	8	44949.40423	5618.67553	32.86**	<.0001
Salinitas*Waktu	24	8771.28255	365.47011	2.14**	<.0084
Galat (b)	64	10943.38844	170.99044		
Total	107	66999.85335			

$R^2 = 0.836665$ $KK = 22.05964$ Mean Mg^{2+} hemolimfe = 59.27717

**) Berpengaruh sangat nyata (P < 0.01)

Lampiran 78. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Konsentrasi Mg^{2+} Media Pemeliharaan Juvenil

Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	129.2214291	43.0738097	15.97**	0.0010
Galat (a)	8	21.57356	2.69669		
Salinitas	8	13445.39872	1680.67484	551.92**	<.0001
Salinitas*Waktu	24	321.28777	13.38699	4.40**	<.0084
Galat (b)	64	194.88838	3.04513		
Total	107	14112.36986			

$R^2 = 0.986190$ $KK = 10.47275$ $\text{Mean Mg}^{2+} \text{ media} = 16.66259$

**) Berpengaruh sangat nyata ($P < 0.01$)

Lampiran 79. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Konsentrasi Mg^{2+} Hemolim Juvenil Udang Windu Uji

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe			
Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
43	12	91.764	A
41	12	80.084	A
13	12	78.712	A
39	12	60.813	B
25	12	56.694	B
37	12	55.176	B
10	12	51.523	B
4	12	30.83	C
7	12	27.899	C

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 80. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Waktu terhadap Konsentrasi Mg^{2+} Hemolim Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe			
Waktu	N	Mean	Tukey Grouping
96	27	62.687	A
24	27	62.635	A
168	27	59.279	A
6	27	52.508	B

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 81. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Interaksi Waktu dan Salinitas terhadap Konsentrasi Mg^{2+} Hemolim Juvenil Udang Windu.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence					
Waktu	Salinitas	N	Mean	Grouping	
168	43	3	105.7	A	
96	43	3	95.6	A B	
24	43	3	92.0	A B	
24	13	3	90.8	A B C	
96	41	3	90.1	A B C D	
168	39	3	82.4	A B C D	
24	39	3	81.8	A B C D E	
96	13	3	80.2	A B C D E	
168	41	3	79.2	A B C D E	
6	13	3	73.8	A B C D E F	
6	43	3	73.7	A B C D E F G	
96	39	3	72.5	A B C D E F G	
168	13	3	70.0	A B C D E F G	
6	41	3	69.3	A B C D E F G	
96	25	3	67.9	A B C D E F G H	
24	25	3	67.2	A B C D E F G H	
6	37	3	61.2	B C D E F G H I	
168	37	3	57.0	B C D E F G H I	

168	10	3	56.8	B	C	D	E	F	G	H	I
24	10	3	56.8	B	C	D	E	F	G	H	I
6	25	3	55.7	B	C	D	E	F	G	H	I
24	37	3	52.6		C	D	E	F	G	H	I
96	10	3	50.9		C	D	E	F	G	H	I
96	37	3	49.9		C	D	E	F	G	H	I
24	41	3	48.8			D	E	F	G	H	I
24	4	3	42.7				E	F	G	H	I
6	10	3	41.7				E	F	G	H	I
6	39	3	39.6				E	F	G	H	I
6	4	3	36.7					F	G	H	I
168	25	3	35.9						G	H	I
96	7	3	34.2						G	H	I
24	7	3	31.1						G	H	I
168	7	3	25.4							H	I
96	4	3	22.9								I
168	4	3	21.0								I
6	7	3	20.9								I

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 82. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Konsentrasi Mg^{2+} Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu.

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe

Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
43	12	32.1871	A
41	12	28.1529	B
39	12	26.6987	B
37	12	21.4959	C
25	12	20.937	C
13	12	12.3326	D
10	12	4.132	E
7	12	2.2419	E F
4	12	1.7852	F

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 83. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Waktu terhadap Konsentrasi Mg^{2+} Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu.

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe			
Waktu	N	Mean	Tukey Grouping
168	27	18.4056	A
24	27	16.7785	B
96	27	15.7901	B
6	27	15.6761	B

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 84. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Interaksi Waktu dan Salinitas terhadap Konsentrasi Mg^{2+} Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence				
Waktu	Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
96	43	3	34.7	A
168	43	3	33.6	A B
24	43	3	30.4	A B C
6	43	3	30	A B C
168	41	3	29.7	A B C
24	41	3	28.3	B C D
96	41	3	28.1	B C D
168	39	3	28	B C D
96	39	3	27	C D E
6	39	3	26.7	C D E
6	41	3	26.5	C D E
168	37	3	25.5	C D E F
24	39	3	25.1	C D E F
24	37	3	25.1	C D E F
24	25	3	23.1	D E F G
168	25	3	22.8	D E F G
6	37	3	21.3	E F G
6	25	3	19.8	F G H

96	25	3	18	G	H	I		
168	13	3	14.9		H	I	J	
96	37	3	14.1		H	I	J	
24	13	3	12.7			I	J	
96	13	3	12.2				J	
6	10	3	9.5				J	K
168	10	3	6.2					K L
96	10	3	3.9					K L
6	7	3	3.5					L
168	7	3	3					L
24	10	3	2.9					L
96	7	3	2.2					L
6	4	3	1.9					L
96	4	3	1.9					L
6	13	3	1.9					L
168	4	3	1.8					L
24	7	3	1.8					L
24	4	3	1.6					L

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 85. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Konsentrasi SO_4^{2-} Hemolim Juvenil Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	54.32465477	18.10821826	25.07**	0.0002
Galat (a)	8	5.7793586	0.7224198		
Salinitas	8	82.8408734	10.3551092	12.00**	<.0001
Salinitas*Waktu	24	108.4757182	4.5198216	5.24**	<.0001
Galat (b)	64	55.2188001	0.8627938		
Total	107	306.6394051			

$R^2 = 0.819923$ KK = 24.03561 Mean SO_4^{2-} hemolimfe = 3.864544

**) Berpengaruh sangat nyata (P < 0.01)

Lampiran 86. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Salinitas, Waktu, dan Interaksi Salinitas dan Waktu terhadap Konsentrasi SO_4^{2-} Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	P > F
Waktu	3	3529633.60	1176544.53	17.84**	0.000
		8	6		7
Galat (a)	8	527622.9	65952.9		
Salinitas	8	247727354.	30965919.3	597.92*	<.000
		2		*	1
Salinitas*Waktu	24	5541763.5	230906.8	17.84**	<.000
					1
Galat (b)	64	3314511.0	51789.2		
Total	107	260640885.			
		2			

$R^2 = 0.987283$ $KK = 8.625568$ Mean SO_4^{2-} media = 2638.348

**) Berpengaruh sangat nyata ($P < 0.01$)

Lampiran 87. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Konsentrasi SO_4^{2-} Hemolimf Juvenil Udang Windu.

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe

Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
43	12	4.9103	A
41	12	4.6072	A B
39	12	4.5535	A B
25	12	4.5478	A B
37	12	3.8913	A B C
10	12	3.763	A B C
7	12	3.4614	B C

13	12	3.0452	C	D
4	12	2.0012		D

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 88. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Waktu terhadap Konsentrasi SO_4^{2-} Hemolim Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe

Waktu	N	Mean	Tukey Grouping
168	27	5.0834	A
24	27	3.5972	B
96	27	3.4216	B
6	27	3.356	B

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 89. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Interaksi Waktu dan Salinitas terhadap Konsentrasi SO_4^{2-} Hemolim Juvenil Udang Windu

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Waktu	Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
168	25	3	9.1	A
6	39	3	6	B
168	7	3	5.2	B C
168	43	3	5.2	B C
24	41	3	5	B C
24	43	3	4.8	B C
168	41	3	4.8	B C
96	43	3	4.8	B C
6	43	3	4.8	B C
168	4	3	4.8	B C
24	7	3	4.7	B C

6	41	3	4.5	B	C	D		
168	39	3	4.5	B	C	D		
168	10	3	4.3	B	C	D		
6	37	3	4.1	B	C	D	E	
96	41	3	4.1	B	C	D	E	
24	39	3	4	B	C	D	E	
96	10	3	4.0	B	C	D	E	
168	37	3	4	B	C	D	E	
24	37	3	3.8	B	C	D	E	F
168	13	3	3.8	B	C	D	E	F
24	10	3	3.7	B	C	D	E	F
96	39	3	3.7	B	C	D	E	F
96	37	3	3.6	B	C	D	E	F
96	13	3	3.6	B	C	D	E	F
96	25	3	3.4	B	C	D	E	F
6	25	3	3	B	C	D	E	F
6	10	3	2.9	B	C	D	E	F
24	25	3	2.7		C	D	E	F
6	13	3	2.5		C	D	E	F
96	7	3	2.4		C	D	E	F
24	13	3	2.3		C	D	E	F
6	7	3	1.5			D	E	F
96	4	3	1.2				E	F
24	4	3	1.1				E	F
6	4	3	1					F

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 90. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Salinitas terhadap Konsentrasi SO_4^{2-} Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe

Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
43	12	4916.48	A
41	12	4362.1	B
39	12	3875.37	C
37	12	3647.12	C
25	12	2506.73	D
10	12	1444.2	E
13	12	1388.1	E F

7	12	1109.06	F
4	12	495.98	G

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 91. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Waktu terhadap Konsentrasi SO_4^{2-} Media Pemeliharaan Juvenil Udang Windu

Tukey's Studentized Range (HSD) Test for Osmolaritas Hemolimfe

Waktu	N	Mean	Tukey Grouping
168	27	2866.57	A
96	27	2735.34	A B
24	27	2566.17	B C
6	27	2385.31	C

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 92. Uji Lanjut Beda antar Perlakuan Interaksi Waktu dan Salinitas terhadap Konsentrasi SO_4^{2-} Media Pemeliharaan Juvenil Udang

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Waktu	Salinitas	N	Mean	Tukey Grouping
168	43	3	5268.3	A
24	43	3	5078.6	A B
96	43	3	5050.7	A B
96	41	3	4945.2	A B C
168	41	3	4417.4	B C D
6	43	3	4268.3	C D E
24	41	3	4059.7	D E F
6	41	3	4026.1	D E F
168	39	3	3978.3	D E F
96	39	3	3644	D E F
24	39	3	3835.1	D E F

168	37	3	3753.2	D	E	F														
6	39	3	3744.0	D	E	F														
6	37	3	3661.8		E	F														
24	37	3	3607.8		E	F														
96	37	3	3565.6		E	F														
168	25	3	3428.8			F														
96	25	3	2513.9							G										
24	25	3	2375.9							G	H									
6	25	3	1708.2								H	I								
6	10	3	1511.2									I								
168	10	3	1495.1									I								
168	13	3	1461.8									I								
96	13	3	1406.8									I	J							
96	10	3	1396.8									I	J							
24	10	3	1373.6									I	J	K						
6	13	3	1370.9									I	J	K						
168	7	3	1361.8									I	J	K						
96	7	3	1330.1									I	J	K						
24	13	3	1312.9									I	J	K						
24	7	3	1032.5									I	J	K	L					
6	7	3	711.8										J	K	L					
168	4	3	634.4											K	L					
6	4	3	465.5												L					
96	4	3	464.7												L					
24	4	3	419.3												L					

Means that do not share a letter are significantly different

Lampiran 93. Data parameter air media pemeliharaan juvenil udang windu pada media isoosmotik berdasarkan salinitas dan waktu

Salinitas Media Isoosmotik	Waktu (Jam)	Ulangan	Suhu (°C)	pH	DO (ppm)
A (25 ppt)	6	1	28.2	7.7	4.11
		2	28.1	7.8	4.27
		3	28.3	7.7	3.95
		Rerata ± SD	28.20 ± 01	7.7 ± 0.2	4.11 ± 0.16
	24	1	27.9	7.9	4.36
		2	27.9	7.9	4.32

	3	28.6	7.8	4.37
	Rerata ± SD	28.13 ± 4	7.87 ± 0.0	4.35 ± 0.03
96	1	27.9	7.7	3.55
	2	27.9	7.8	3.58
	3	28.4	7.7	3.51
	Rerata ± SD	28.07 ± 01	7.73 ± 0.0	3.55 ± 0.04
168	1	28.2	6.72	3.98
	2	28.2	6.81	4.26
	3	27.9	6.76	4.24
	Rerata ± SD	28.10 ± 06	6.76 ± 02	4.16 ± 16

Lampiran 94. Data parameter air media pemeliharaan juvenil udang windu pada media hipoosmotik berdasarkan salinitas dan waktu

Salinitas Media Hiposmotik	Waktu (Jam)	Ulangan	Suhu (°C)	pH	DO (ppm)
B1 (23 - 13 ppt)	6	1	28.1	6.68	3.42
		2	28.1	7.5	3.76
		3	27.9	7.6	3.93
		Rerata ± SD	28.0 ± 01	7.3 ± 0.5	3.70 ± 0.2
	24	1	27.9	7.6	4.25
		2	28.5	7.7	4.44
		3	27.9	7.8	4.61

		Rerata ± SD	28.1 ± 0.3	7.7 ± 0.1	4.43 ± 0.18
B2 (13 – 10 ppt)	96	1	27.9	7.6	3.95
		2	28.1	7.5	4.31
		3	27.9	7.6	4.31
		Rerata ± SD	28.0 ± 01	7.57 ± 0.06	4.19 ± 0.21
	168	1	28.2	6.77	3.71
		2	28.1	6.64	3.81
		3	27.9	6.91	4.18
		Rerata ± SD	28.1 ± 0.3	6.77 ± 14	3.90 ± 0.25
	6	1	28.1	6.68	3.74
		2	28.1	6.71	3.97
		3	27.9	6.84	3.93
		Rerata ± SD	28.0 ± 0.3	6.74 ± 0.09	3.88 ± 0.12
	24	1	27.9	6.84	4.41
		2	28.2	6.88	4.44
		3	28.1	6.92	4.39
Rerata ± SD		28.1 ± 0.6	6.88 ± 0.04	4.43 ± 0.02	
96	1	27.9	6.93	3.81	
	2	28.1	6.98	4.11	
	3	27.9	6.99	4.27	
	Rerata ± SD	28.0 ± 0.1	6.97 ± 0.03	4.06 ± 0.23	
168	1	28.2	6.98	3.81	
	2	28.1	6.92	3.38	
	3	27.9	6.93	3.61	
	Rerata ± SD	28.1 ± 05	6.94 ± 0.03	3.6 ± 0.22	

Lampiran 94 lanjutan.....

	Salinitas Media Hiposmotik	Waktu (Jam)	Ulangan	Suhu (°C)	pH	DO (ppm)
B3 (13 – 7 ppt)	6	1		28.3	7.12	4.05
		2		28.2	7.13	4.12
		3		28.3	7.14	4.18
		Rerata ± Stdv		28.3 ± 0.2	7.13 ± 0.01	4.12 ± 0.07
	24	1		28.7	7.12	4.49
		2		27.9	7.14	4.43
		3		28.2	7.16	4.51

		Rerata ± SD	28.3 ± 0.2	7.14 ± 0.2	4.48 ± 0.04
B4 (7 - 4 ppt)	96	1	28.7	6.84	3.38
		2	27.9	6.91	3.61
		3	28.3	6.95	3.71
		Rerata ± SD	28.3 ± 0.1	6.90 ± 0.06	3.57 ± 0.17
	168	1	27.9	6.94	3.38
		2	28.2	6.99	3.61
		3	27.9	7.05	3.71
		Rerata ± SD	28.0 ± 0.3	6.99 ± 0.06	3.57 ± 0.17
	6	1	28.1	7.7	5.45
		2	28.8	7.8	5.61
		3	28.1	7.9	4.75
		Rerata ± SD	28.3 ± 0.1	7.80 ± 0.1	5.27 ± 0.46
	24	1	27.9	7.9	4.43
		2	28.2	8.3	4.76
		3	27.9	7.9	4.5
Rerata ± SD		28.0 ± 0.2	8.03 ± 0.23	4.56 ± 0.17	
96	1	27.9	7.6	3.43	
	2	28.3	7.7	3.43	
	3	27.9	7.8	3.47	
	Rerata ± SD	28.0 ± 0.1	7.70 ± 0.1	3.44 ± 0.02	
168	1	28.2	7.32	4.88	
	2	27.9	7.38	3.7	
	3	28.2	7.55	3.93	
	Rerata ± SD	28.10 ± 0.3	7.42 ± 0.12	4.17 ± 9.63	

Lampiran 95. Data parameter air media pemeliharaan juvenil udang windu pada media hipersomotik berdasarkan salinitas dan waktu

Salinitas Media Hiperosmotik	Waktu (Jam)	Ulangan	Suhu (°C)	pH	DO (ppm)
C1 (25 - 37 ppt)	6	1	27.8	7.7	4.31
		2	28.1	7.7	4.31
		3	28.3	7.8	4.32
		Rerata ± SD	28.07 ± 0.1	7.73 ± 0.06	4.31 ± 0.01
	24	1	27.5	6.9	4.39

C2 (37 – 39 ppt)		2	27.9	7.1	4.37
		3	28.2	7.7	4.64
		Rerata ± SD	27.8 ± 0.17	7.23 ± 0.42	4.47 ± 0.15
		<hr/>			
	96	1	28.2	7.7	3.38
		2	27.9	7.7	3.61
		3	28.3	7.8	3.71
		Rerata ± SD	28.13 ± 0.2	7.73 ± 0.06	3.57 ± 0.17
	<hr/>				
	168	1	27.8	6.78	4.32
		2	28.1	6.74	4.88
		3	27.9	6.73	4.54
		Rerata ± SD	27.91 ± 0.4	6.75 ± 0.03	4.58 ± 0.28
	<hr/>				
	6	1	28.1	6.97	4.26
		2	28.3	6.91	4.24
		3	28.1	6.85	4.08
		Rerata ± SD	28.17 ± 0.2	6.91 ± 0.06	4.19 ± 0.16
<hr/>					
24	1	27.9	7.21	4.52	
	2	28.3	7.21	4.47	
	3	27.9	7.05	4.48	
	Rerata ± SD	28.03 ± 6	7.16 ± 0.09	4.49 ± 0.03	
<hr/>					
96	1	27.9	6.99	3.35	
	2	28.3	7.19	3.69	
	3	27.9	7.29	3.68	
	Rerata ± SD	28.03 ± 0.1	7.16 ± 0.15	3.57 ± 0.19	
<hr/>					
168	1	28.2	6.95	4.64	
	2	28.1	7.25	4.52	
	3	28.2	7.11	4.47	
	Rerata ± SD	28.17 ± 45	7.10 ± 0.15	4.54 ± 0.09	

Lampiran 95 lanjutan.....

Salinitas Media Hiperosmotik	Waktu (Jam)	Ulangan	Suhu (°C)	pH	DO (ppm)
C3 (39 – 41 ppt)	6	1	28.4	7.13	4.33
		2	28.1	7.22	4.21
		3	28.4	7.29	4.18
		Rerata ± SD	28.17 ± 03	7.21 ± 0.08	4.24 ± 0.08
	<hr/>				
	24	1	28.2	7.53	4.39
2		27.9	7.56	4.47	

C4 (41 – 43 ppt)		3	28.2	7.53	4.48
		Rerata ± SD	28.03 ± 0.6	7.54 ± 0.02	4.45 ± 0.05
	96	1	28.2	7.53	3.55
		2	27.9	7.52	3.72
		3	28.3	7.49	3.95
		Rerata ± SD	28.03 ± 0.1	7.53 ± 0.02	3.74 ± 0.20
	168	1	27.9	7.63	4.48
		2	28.2	7.62	4.39
		3	28.1	7.05	4.47
		Rerata ± SD	28.17 ± 0.4	7.43 ± 0.33	4.45 ± 0.05
	6	1	28.1	6.89	4.17
		2	28.3	6.92	4.51
		3	28.1	7.03	4.44
		Rerata ± SD	28.17 ± 0.2	6.55 ± 0.07	4.37 ± 0.18
	24	1	27.9	7.66	4.02
		2	28.3	7.21	3.91
3		27.9	6.99	3.98	
Rerata ± SD		28.03 ± 0.3	7.29 ± 0.34	3.97 ± 0.06	
96	1	27.9	7.26	4.47	
	2	28.1	7.29	4.48	
	3	27.9	7.34	4.39	
	Rerata ± SD	27.09 ± 0.1	7.30 ± 0.04	3.45 ± 0.05	
168	1	28.2	7.31	4.48	
	2	27.9	7.25	4.18	
	3	28.2	7.25	4.17	
	Rerata ± SD	28.10 ± 0.3	7.27 ± 0.03	4.28 ± 0.18	

Lampiran 96. Data kelulusan hidup juvenil udang windu pada berbagai media berdasarkan salinitas dan waktu pemeliharaan

Salinitas Media (ppt)	Ulangan	Jumlah juvenil udang yang Hidup berdasarkan salinitas dan waktu pemeliharaan			
		6 jam	24 jam	96 jam	168 jam
Isoosmotik					
	1	10	9	8	9
A	2	10	10	9	10
25	3	10	10	10	9

		Rerata ± SD	10.0 ± 0.0	9.7 ± 0.5	9.0 ± 1.0	9.3 ± 0.6
<u>Hipoosmotik</u>						
B1 25 - 13	1		9	9	8	7
	2		10	10	9	9
	3		10	9	7	8
	Rerata ± SD		9.7 ± 0.6	9.3 ± 0.6	8.0 ± 1.0	8.0 ± 1.0
B2 13 - 10	1		9	9	8	9
	2		10	9	9	9
	3		10	10	9	9
	Rerata ± SD		9.7 ± 0.6	9.3 ± 0.6	8.7 ± 0.6	9.0 ± 0
B3 10 - 7	1		9	9	8	7
	2		10	10	7	8
	3		9	9	7	8
	Rerata ± SD		9.33 ± 0.58	9.33 ± 0.58	7.33 ± 0.58	7.67 ± 0.58
B4 7 - 4	1		9	6	6	5
	2		9	7	6	7
	3		7	9	4	5
	Rerata ± SD		8.33 ± 1.15	7.33 ± 1.53	5.33 ± 1.15	5.67 ± 1.15
<u>Hiperosmotik</u>						
C1 25 - 37	1		9	9	9	8
	2		10	8	7	9
	3		9	10	9	9
	Rerata ± SD		9.33 ± 0.58	9.0 ± 1.0	8.33 ± 1.15	8.67 ± 0.58
C2 37 - 39	1		9	9	9	8
	2		10	8	7	9
	3		9	10	9	9
	Rerata ± SD		9.33 ± 0.58	9.00 ± 1.0	8.33 ± 1.15	8.67 ± 0.58
C3 39 - 41	1		10	9	9	9
	2		10	10	9	10
	3		9	9	9	9
	Rerata ± SD		9.7 ± 0.6	9.3 ± 0.6	9.0 ± 0.0	9.3 ± 0.6
C4 41 - 43	1		10	10	10	9
	2		9	10	8	7
	3		10	9	8	9
	Rerata ± SD		9.67 ± 0.58	9.67 ± 0.58	8.67 ± 1.15	8.33 ± 1.15

Lampiran 97. Data mortalitas juvenil udang windu pada berbagai media berdasarkan salinitas dan waktu pemeliharaan

Salinitas Media (ppt)	Ulangan	Jumlah juvenil udang yang mati berdasarkan salinitas dan waktu pemeliharaan (ekor)			
		6 jam	24 jam	96 jam	168 jam
<u>Isoosmotik</u>					
A	1	0	1	2	1
	2	0	0	1	0

25	3	0	0	0	1
<u>Hipoosmotik</u>					
	1	1	1	2	3
B1	2	0	0	1	1
25 - 13	3	0	1	3	2
	1	1	1	2	1
B2	2	0	1	1	1
13 - 10	3	0	0	1	1
	1	1	1	2	3
B3	2	0	0	3	2
10 - 7	3	1	1	3	2
	1	1	4	4	5
B4	2	1	3	4	3
7 - 4	3	3	1	6	5
<u>Hiperosmotik</u>					
	1	1	1	1	2
C1	2	0	2	3	1
25 - 37	3	1	0	1	1
	1	0	1	1	1
C2	2	0	0	1	0
37 - 39	3	1	1	1	1
	1	0	0	0	1
C3	2	1	2	2	1
39 - 41	3	1	0	0	2
	1	0	0	0	1
C4	2	1	0	2	3
41 - 43	3	0	1	2	1

