



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI ANTIFEEDANT EKSTRAK KASAR ASCIDIA  
*Didemnum* sp. TERHADAP IKAN KARANG DI PERAIRAN  
PULAU PRAMUKA KEPULAUAN SERIBU DKI JAKARTA**

**SKRIPSI**

**ELWIENA MAULIDA  
0706263800**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
DEPOK  
JULI 2011**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**UJI ANTIFEEDANT EKSTRAK KASAR ASCIDIA  
*Didemnum* sp. TERHADAP IKAN KARANG DI PERAIRAN  
PULAU PRAMUKA KEPULAUAN SERIBU DKI JAKARTA**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains**

**ELWIENA MAULIDA  
0706263800**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN BIOLOGI  
DEPOK  
JULI 2011**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar**

**Nama : Elwiena Maulida**

**NPM : 0706263800**

**Tanda tangan : *Elwiena***

**Tanggal : 13 Juli 2011**

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Elwiena Maulida  
NPM : 0706263800  
Program studi : Biologi S1 Reguler  
Judul skripsi : Uji *Antifeedant* Ekstrak Kasar *Ascidia Didemnum* sp. terhadap Ikan Karang di Perairan Pulau Pramuka Kepulauan Seribu DKI Jakarta

**Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia**

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr.rer.nat. Yasman, M.Sc. (.....)  
Pembimbing II : Drs. Wisnu Wardhana, M.Si. (.....)  
Penguji I : Dr.rer.nat. Mufti Petala Patria, M.Sc. (.....)  
Penguji II : Riani Widiarti, S.Si., M.Si. (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 13 Juli 2011

## KATA PENGANTAR

*God never give me what I want. God gives me what I need.*

Puji syukur dan terimakasih terdalam saya panjatkan pada Allah SWT, yang telah mengizinkan saya untuk menyelesaikan skripsi ini tepat waktu. Saya menyadari bahwa penyelesaian program studi serta penelitian yang telah saya lakukan tidak akan berhasil tanpa bantuan banyak pihak. Oleh karena itu, saya ingin menghaturkan terimakasih yang tulus kepada:

1. Ibunda Elizabeth Hannie dan Papa Hazbullah Wahab yang senantiasa mendoakan, mendukung, mendidik saya di rumah beserta kedua adik tercinta, Iman dan Veren.
2. Dr.rer.nat. Yasman, M.Sc. dan Drs. Wisnu Wardhana, M.Si. atas waktu yang telah diluangkan dan pikiran yang telah dituangkan dalam membimbing saya menyelesaikan penelitian.
3. Dr.rer.nat. Mufti Petala Patria, M.Sc. dan Riani Widiarti, S.Si. M.Si. selaku penguji yang telah memberi banyak masukan yang bermanfaat bagi penyelesaian skripsi ini.
4. Dr. Anom Bowolaksono, M.Sc. beserta tim koordinator seminar, serta Dra. Nining B. Prihantini, M.Sc. selaku Sekretaris Departemen yang telah mengkoordinasikan kegiatan seminar dan sidang.
5. Rekan penelitian saya yang telah banyak membantu serta mendukung keberhasilan penelitian ini, juga selalu sabar menghadapi keluhan dan mungkin ulah saya selama penelitian, Lulu Moulfia Tursina.
6. Zilqi C.D. yang saya sayangi, yang telah banyak membantu saya menghadapi haru-biru perkuliahan dan secara langsung maupun tidak telah membantu saya menyelesaikan perkuliahan dan program studi di Biologi UI.
7. Sesama rekan Lab. Taksonomi Hewan yang selalu menghibur di kala duka dan berloncat gembira di kala suka, RR, Bibil, dan Cumi.
8. Sahabat-sahabat saya di Blossom, Putri Amaliyah, Kirana, Rendi J., Udin, Ine, Haikal, Piko, Ncui, Wawa, Galuh, Naba, Eja, Karno dan semua kawan-kawan yang tidak dapat saya tulis satu per satu di sini karena keterbatasan ruang.

Bagaimanapun juga Blossom telah menjadi bagian dari perjalanan hidup saya, terutama selama empat tahun duduk di bangku kuliah.

9. Alumni serta senior dan junior yang secara langsung maupun tidak langsung, sadar maupun tidak sadar, sengaja maupun tidak sengaja telah membantu penelitian saya, antara lain Ka Wanda, Tomo, Anargha, Hanum, Jane, Rere, Septi, Widi, Ka Ades, Ka Pandu, Ka Pingkan, Ka Juju, Ka Suri, Ka Bun, Ka Erna, Ka Fuji, Ka Toni, dan masih banyak lagi.
10. Kakak-kakak LIGULA (Ka Heri, Ka Damar, Ka Dosul) yang telah memberi kesempatan saya menjadi mentor selama periode Maret-April 2011, serta telah sangat membantu saya dan Lulu selama di lapangan (fasilitas menginap, kamera, ransum, serta koneksi dengan orang-orang pulau). Terima kasih atas segala bantuan yang telah diberikan.
11. Orang-orang pulau, meliputi keluarga Pak Wakil, Mas Dedi dari Taman Nasional, Mas Bobby Zul dan kawan-kawan dari Elang Ekowisata, Pak Aing, Mas Doni, dan pihak Restoran Nusa Keramba yakni Mas Aslan, Koh Yohanes, Mas Kliwon, dan *mas-mas* serta *mbak-mbak* lainnya yang telah berbaik hati menerima kehadiran kami selama melakukan penelitian.
12. Seluruh dosen, laboran, dan staff (meliputi Mbak Asri, Bu Ros, Pak Taryana, Pak Taryono, dan Mbak Ida) yang telah banyak saya repotkan selama perkuliahan.
13. Sahabat-sahabat lama yang selalu peduli, Puti Karina Puar, Vauriz Bestika, Vidi, Kartika Tijo, Belle, Bina, dan masih banyak lagi.
14. Keluarga besar di dan dari Banda Aceh, Nanggroe Aceh Darussalam.

Sungguh masih banyak pihak yang mungkin luput dalam tulisan ini. Oleh sebab itu, saya memohon maaf sedalam-dalamnya. Saya berharap Tuhan Yang Maha Baik membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu saya. Saya menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, saya sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan skripsi ini. Akhir kata, saya berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Depok, 13 Juli 2011

Penulis



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Elwiena Maulida  
NPM : 0706263800  
Program studi : S1  
Departemen : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Non-eksklusif (*Non-exclusif Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Uji *Antifeedant* Ekstrak Kasar *Ascidia Didemnum* sp. terhadap Ikan Karang di Perairan Pulau Pramuka Kepulauan Seribu DKI Jakarta

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non-eksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 13 Juli 2011

Yang menyatakan



(Elwiena Maulida)

## ABSTRAK

Nama : Elwiena Maulida  
Program studi : Biologi  
Judul : Uji *Antifeedant* Ekstrak Kasar *Ascidia Didemnum* sp. terhadap Ikan Karang di Perairan Pulau Pramuka Kepulauan Seribu DKI Jakarta

Penelitian eksperimental untuk menguji aktifitas *antifeedant* ekstrak kasar ascidia *Didemnum* sp. terhadap ikan karang telah dilakukan di perairan Pulau Pramuka. Sampel diekstrak dengan metode maserasi menggunakan metanol, kemudian ekstrak dicampurkan dengan jeli yang mengandung makanan ikan dan karaginan pada konsentrasi yang sama dengan konsentrasi alaminya yaitu sebesar 10 mg/ml. Uji di lapangan dilakukan dengan mengaitkan pelet pengujian pada tali polipropilen yang ditambatkan ke *birock* pada kedalaman 3 m di bawah dermaga Restoran Nusa Keramba di Pulau Pramuka. Analisis data menggunakan uji jumlah-jenjang Wilcoxon menunjukkan bahwa  $R_{hit} < R_{tab 0.05}$ . Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kasar *Didemnum* sp. memiliki aktivitas *antifeedant* terhadap ikan-ikan karang meliputi *Neopomacentrus* sp., *Pomacentrus* sp., *Halichoeres* sp., dan *Siganus* sp.

Kata kunci:  
*Antifeedant*, ascidia, *Didemnum* sp., ekstrak kasar, ikan karang, Pulau Pramuka



## ABSTRACT

Name : Elwiena Maulida  
Study program: Biology  
Title : Antifeedant Assay of Crude Extract from Ascidian *Didemnum* sp. on Reef Fishes at Pramuka Island Waters Seribu Islands DKI Jakarta

Field experiment was conducted to investigate antifeedant activity of crude extract from urn-shaped ascidian *Didemnum* sp. against reef fishes at Pramuka Island. Ascidian samples were extracted by maceration in methanol then mixed with agar containing fish food and carrageenan at the same concentration as the extract occurred in living organism which is 10 mg/ml. Antifeedant assay on the field was conducted by attaching pellets using safety pins to polypropylene ropes then tied them to a biorock in 3 m depth below the pier of Nusa Keramba Restaurant at Pramuka Island. Data analysis with Wilcoxon's rank-sum test showed that  $R < R_{\text{tab } 0.05}$ , which means that crude extract of *Didemnum* sp. has antifeedant activity against reef fishes including *Neopomacentrus* sp., *Pomacentrus* sp., *Halichoeres* sp., and *Siganus* sp.

Key words:

Antifeedant, ascidian, crude extract, *Didemnum* sp., Pramuka Island, reef fishes

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	vi
ABSTRAK.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
<b>1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 <i>Ascidia</i> .....	4
2.1.1 Morfologi .....	4
2.1.2 Reproduksi .....	5
2.1.3 Pemangsaan.....	6
2.2 <i>Didemnum</i> sp. ....	7
2.3 Berbagai Fungsi Senyawaan Bioaktif <i>Ascidia</i> .....	8
2.4 <i>Antifeedant</i> .....	10
2.4.1 <i>Antifeedant</i> pada Biota Laut selain <i>Ascidia</i> .....	12
2.4.2 <i>Antifeedant</i> pada <i>Ascidia</i> .....	14
2.4.3 Metode Penelitian <i>Antifeedant</i> pada Avertebrata Laut .....	15
<b>3 METODE PENELITIAN.....</b>	<b>17</b>
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	17
3.2 Alat di Laboratorium.....	17
3.3 Alat di Lapangan.....	19
3.4 Bahan .....	19
3.5 Cara Kerja .....	21
3.5.1 Pengambilan Sampel.....	21
3.5.2 Ekstraksi.....	21
3.5.3 Kuantifikasi.....	22
3.5.4 Pembuatan Pelet.....	24
3.5.5 Pengujian di Lapangan.....	25
3.5.6 Analisis Data.....	25
<b>4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>27</b>
4.1 Ekstraksi dan Kuantifikasi .....	27
4.2 Pengujian <i>Antifeedant</i> .....	29
4.2.1 Ikan Karang pada Lokasi Pengujian .....	34
<b>5 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>37</b>
5.1 Kesimpulan .....	37
5.2 Saran .....	37
<b>DAFTAR REFERENSI.....</b>	<b>38</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel. 4.2(1) Hasil pengamatan uji <i>antifeedant</i> .....	30
Tabel. 4.2(2) Analisis data pengujian <i>antifeedant</i> .....	31

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.1 Metamorfosis larva ascidia menjadi individu dewasa .....	5
Gambar 2.2 Koloni ascidia <i>Didemnum</i> sp. ....	8
Gambar 3.1(1)Peta lokasi Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu, DKI Jakarta.....	18
Gambar 3.1(2) <i>Dome biorock</i> tempat menambatkan tali pengujian <i>antifeedant</i> . 19	
Gambar 3.1(3)Lokasi pengujian <i>antifeedant</i> .....	20
Gambar 3.5.2 Skema ekstraksi sampel <i>Didemnum</i> sp. ....	23
Gambar 3.5.4 Pelet pengujian <i>antifeedant</i> .....	24
Gambar 3.5.5 Tali pengujian <i>antifeedant</i> .....	26
Gambar 4.1 Ekstrak kasar <i>Didemnum</i> sp. berbentuk pasta.....	29
Gambar 4.2 <i>Didemnum</i> sp. di lokasi pengujian .....	34
Gambar 4.2.1 Ikan-ikan di lokasi pengujian.....	36

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Komposisi Nutrijell .....	43
Lampiran 2 Komposisi pelet ikan laut komersial .....	43
Lampiran 3 Standar warna ACE PAINT .....	44
Lampiran 4 Perhitungan kuantifikasi .....	45
Lampiran 5 Tabel nilai R untuk uji jumlah-jenjang Wilcoxon.....	46
Lampiran 6 Analisis data pengujian <i>antifeedant</i> dengan uji jumlah-jenjang Wilcoxon .....	47

## **BAB 1 PENDAHULUAN**

Ascidia merupakan sebutan umum untuk spesies-spesies yang termasuk ke dalam Kelas Ascidiacea. Ascidia adalah hewan laut yang termasuk ke dalam Filum Chordata, yaitu filum yang beranggotakan hewan-hewan yang memiliki notokorda pada setidaknya salah satu stadium dalam siklus hidupnya. Ascidia dewasa memiliki morfologi yang sangat sederhana sehingga tampak tidak memiliki persamaan dengan hewan-hewan vertebrata. Notokorda pada larva ascidia menghilang ketika larva berkembang menjadi individu dewasa yang secara umum bersifat sesil dan berbentuk seperti kantung atau tabung dengan dua bukaan: sifon oral dan lubang pengeluaran (OEF 2010: 2--3).

Ascidia memiliki tubuh lunak, pergerakan lambat bahkan tidak bergerak (sesil) sehingga tidak dapat menghindari dari predator (Schupp 2000: 14). Meskipun demikian, ascidia banyak ditemukan pada daerah terumbu karang yang memiliki kepadatan ikan cukup tinggi, dimana ikan merupakan predator potensial bagi ascidia. Ascidia juga memiliki perilaku melepaskan larva yang memiliki morfologi mencolok selama siang hari, pada saat predasi oleh ikan cukup tinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa baik larva maupun ascidia dewasa memiliki mekanisme pertahanan diri. Salah satu bentuk pertahanan diri ascidia adalah dengan menghasilkan metabolit sekunder yang diduga tidak disukai oleh ikan atau predator lain (Lindquist *dkk.* 1992: 547).

Penelitian mengenai senyawa-senyawa aktif ascidia telah banyak dilakukan dan mengindikasikan berbagai fungsi dari senyawa-senyawa aktif tersebut. Ascidia merupakan salah satu avertebrata laut yang paling banyak diteliti kandungan senyawa bioaktifnya setelah spons, moluska, dan bryozoa. Sebagian besar penelitian yang telah dilakukan mengenai senyawaan aktif ascidia tersebut lebih sering berfokus pada fungsi senyawaan secara farmakologis untuk manusia. Fungsi farmakologis tersebut meliputi antitumor, antibiotik, dan antivirus. Penelitian mengenai fungsi ekologis dari senyawaan ascidia sendiri sering dititikberatkan pada fungsi *antifouling* untuk mengembangkan produk perawatan kapal dan dermaga. Fungsi ekologis lain yang juga sering disinggung

dalam berbagai penelitian senyawaan aktif ascidia, namun belum banyak diujikan, adalah sebagai penolak predator atau *antifeedant / feeding deterrent* (Murugan & Ramasamy 2003: 163; Ramasamy & Murugan 2003: 337; Hussain & Ananthan 2009: 168; Sivaperumal *dkk.* 2010: 382).

Penelitian fungsi ekologis senyawaan aktif *antifeedant* ascidia dengan menggunakan hewan uji berupa predator umum pernah dilakukan oleh Schupp pada tahun 2000. Schupp (2000: 3) menyatakan bahwa penelitian uji ekologis dapat digunakan sebagai indikasi pertama akan keberadaan senyawa yang mungkin aktif secara farmakologis. Hasil penelitian Schupp (2000: 170) mengenai uji *antifeedant* ascidia *Eudistoma toetalensis* terhadap ikan karang menunjukkan bahwa ekstrak kasar ascidia tersebut memiliki aktifitas *antifeedant*. Schupp (2000: 19) menyarankan agar peranan ekologis senyawa aktif ascidia diteliti lebih lanjut, terutama mengenai peranan senyawaan aktif sebagai bentuk pertahanan kimiawi. Schupp (2000: 4) juga menyatakan bahwa observasi dan uji ekologis sangat layak untuk dilaksanakan oleh para peneliti yang berminat meneliti ekologi kimia avertebrata laut. Penelitian mengenai *antifeedant* dapat membantu pemahaman mengenai hubungan predator dan mangsa (Schupp 2000: 19).

Penelitian mengenai ascidia di Indonesia pernah dilakukan oleh Abrar & Manuputty (2008: 1) yang melakukan inventarisasi spesies ascidia di perairan Berau, Kalimantan Timur. Abrar & Manuputty (2008: 1) hanya menyebutkan bahwa beberapa spesies ascidia yang mereka amati telah dimanfaatkan sebagai obat-obatan. Penelitian lain mengenai ascidia dari Indonesia juga hanya berfokus pada struktur senyawaan yang berpotensi dijadikan obat dari spesies ascidia yang termasuk ke dalam Familia Polycitoridae (Issa *dkk.* 2005: 78). Penelitian mengenai fungsi ekologis senyawa aktif ascidia, terutama di Indonesia, masih sangat sedikit sehingga literatur mengenai penelitian serupa masih terbatas. Penelitian mengenai fungsi ekologis senyawaan aktif spesies ascidia dari Kepulauan Seribu, DKI Jakarta belum pernah dilakukan.

Ascidia yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Didemnum* sp. yang termasuk dalam Familia Didemnidae. Joullié *dkk.* (2003: 30) pernah meneliti potensi pertahanan kimiawi dari senyawa didemnin B dan tamandarin A yang

diekstrak dari beberapa spesies ascidia yang termasuk ke dalam Familia Didemnidae. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa didemnin B dan tamandarin A merupakan *antifeedant* terhadap tujuh spesies ikan. *Didemnum* sp. diperkirakan mengandung setidaknya salah satu senyawa aktif tersebut sehingga spesies tersebut sesuai untuk dijadikan objek penelitian *antifeedant*. Hasil survei pendahuluan yang dilakukan peneliti pada bulan Desember 2010 dan Februari 2011 juga menunjukkan bahwa *Didemnum* sp. cukup mudah ditemukan di kawasan perairan Pulau Pramuka, Kep. Seribu, DKI Jakarta sehingga memudahkan proses pengambilan sampel dalam penelitian ini.

Tujuan penelitian ini adalah menguji apakah ekstrak kasar *Didemnum* sp. berfungsi sebagai *antifeedant* atau *feeding deterrent* terhadap ikan karang di perairan Pulau Pramuka. Hipotesis penelitian ini adalah ekstrak kasar *Didemnum* sp. berperan sebagai *antifeedant* terhadap ikan karang. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah data penelitian di Indonesia secara umum, dan di Kepulauan Seribu secara khusus. Penelitian ini juga diharapkan dapat memicu penelitian lebih lanjut mengenai potensi farmakologis senyawaan dari *Didemnum* sp. secara khusus di Indonesia.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

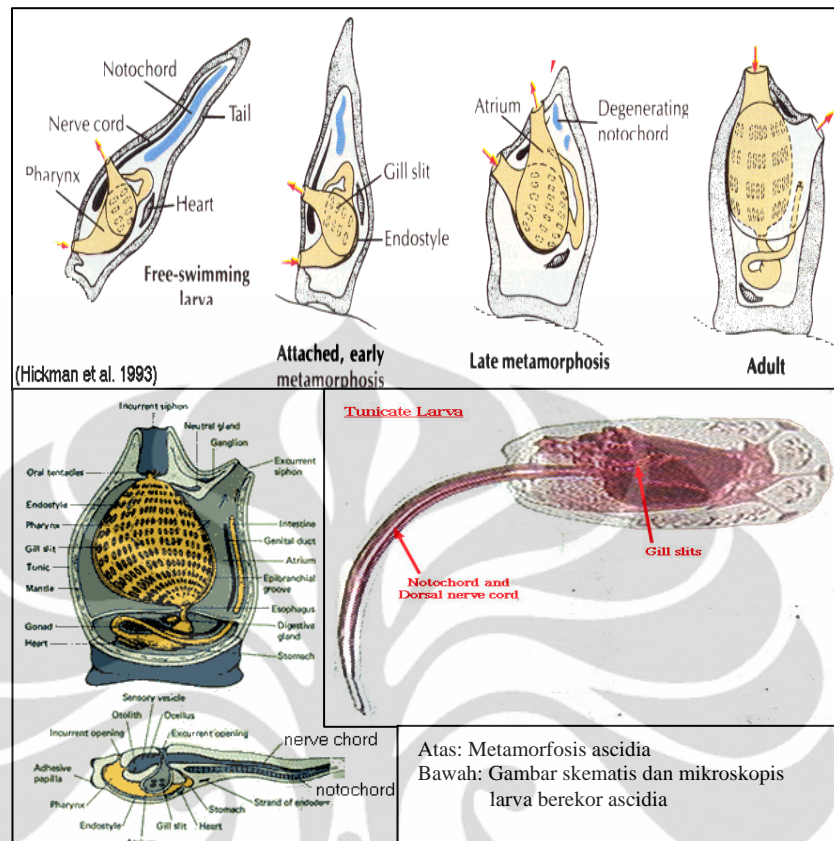
#### **2.1 Ascidia**

##### 2.1.1 Morfologi

Ascidia merupakan sebutan umum untuk spesies-spesies yang termasuk ke dalam Kelas Ascidiacea. Ascidia hidup menempel pada substrat seperti batu, terumbu karang, pasir dan lumpuran. Organisme tersebut termasuk ke dalam Filum Chordata bersama-sama dengan hewan-hewan vertebrata seperti ikan, reptil, dan mamalia. Ascidia dikelompokkan ke dalam Filum Chordata karena pada tahap larva, organisme tersebut memiliki ekor yang tersusun atas sel-sel yang membentuk struktur batang yang kuat (notokorda) yang juga ditemukan pada tulang belakang embrio hewan-hewan vertebrata (Gambar 2.1.1). Ascidia juga memiliki struktur yang homolog dengan insang pada ikan, yaitu faring yang berlubang-lubang (Allen & Steene 2002: 249).

Ascidia hidup secara soliter dan berkoloni. Tubuh ascidia diselubungi oleh selaput fibrosa yang memiliki struktur menyerupai selulosa. Selaput tersebut dapat berbentuk seperti jeli, membran yang lunak, atau seperti daun dimana spons dan ascidia lain dapat tumbuh di atasnya. Selaput tersebut seringkali mengandung pigmen yang memberikan warna pada individu ascidia. Pigmen tersebut diperoleh dari simbiosis dengan alga yang hidup pada selaput ascidia. Individu-individu yang membentuk koloni ascidia memiliki bentuk yang bervariasi seperti bentuk beraturan dan tidak beraturan, piringan datar atau lembaran, bertangkai atau langsung menempel pada substrat, kendi atau tabung, menyerupai daun, kerucut atau spiral. Koloni tersebut dapat diselubungi secara menyeluruh oleh semacam matriks yang melekatkan individu yang satu dengan yang lain, dapat pula hanya diselubungi pada bagian dasar individu-individu yang menempel pada substrat (Allen & Steene 2002: 249).





Gambar 2.1.1 Metamorfosis larva ascidia menjadi individu dewasa

[Sumber: Mike 2007: 7; Carr 2010: 2. Telah diolah kembali.]

### 2.1.2 Reproduksi

Individu ascidia yang hidup soliter akan mengalami pembuahan sel telur secara eksternal menghasilkan zigot yang akan berkembang menjadi larva seperti berudu. Tahap larva berlangsung selama sekitar enam jam, kemudian larva tersebut akan menempel pada substrat dan berkembang menjadi juvenil. Individu-individu yang hidup dalam koloni akan mengalami pembuahan secara internal, namun mekanisme sel sperma ascidia dapat masuk ke dalam tubuh individu yang memiliki sel telur tanpa dicerna sebagai makanan masih belum diketahui. Zigot yang dihasilkan dari pembuahan internal tersebut akan diinkubasi menjadi embrio dalam tubuh induk atau di luar tubuh induk namun masih di dalam matriks koloni. Embrio yang telah berkembang menjadi larva seperti berudu akan dilepaskan dari tubuh induk atau dari dalam matriks. Larva tersebut hanya akan berenang selama sepuluh menit hingga satu jam untuk

mencari substrat yang sesuai untuk menempel di sekitar matriks. Larva seperti berudu tersebut akan menyerap ekornya ketika menempel pada substrat dan berkembang menjadi juvenil yang kemudian bermetamorfosis menjadi individu dewasa (Allen & Steene 2002: 249).

### 2.1.3 Pemangsaan

Ascidia merupakan organisme yang menyaring makanannya (*filter feeder*). Seluruh spesies ascidia memiliki faring dengan dua lubang utama yaitu mulut (lubang masuk) dan lubang pengeluaran. Lubang masuk dan lubang pengeluaran selalu terbuka dalam keadaan normal. Aliran air akan masuk melalui mulut dan akan dikeluarkan melalui lubang pengeluaran. Aliran air tersebut dapat terjadi karena pergerakan silia yang terdapat di seluruh permukaan dalam faring ascidia. Makanan ascidia yang berupa fitoplankton dan beberapa jenis bakteri laut akan disaring ketika aliran air melewati faring. Sel gamet dan sisa metabolisme akan dikeluarkan melalui aliran air menuju lubang pengeluaran. Lubang pengeluaran pada individu-individu yang berkoloni akan mengarah ke suatu kanal di dalam matriks dimana kanal-kanal tersebut bermuara pada satu lubang pengeluaran pada permukaan koloni utama. Air yang mengandung sisa-sisa metabolisme dari kanal-kanal tersebut akan segera terbawa arus air laut yang melewati koloni utama (Allen & Steene 2002: 249).

Predator ascidia meliputi ikan, bintang laut, gastropoda, cacing pipih dan kepiting. Menurut Stoner (1990: 1687), ikan-ikan karang, terutama yang berukuran kecil, merupakan predator yang memengaruhi keberhasilan larva ascidia yang mulai menempel pada substrat. Hal tersebut disebabkan karena ikan-ikan karang merupakan hewan yang sangat aktif berenang dan sebagian besar memiliki rahang kecil dan sempit yang mampu menjangkau celah-celah sempit atau lubang-lubang kecil pada substrat tempat larva ascidia menempel. Ascidia telah diketahui mengembangkan pertahanan kimiawi berupa metabolit sekunder untuk menghindari predator-predator tersebut.

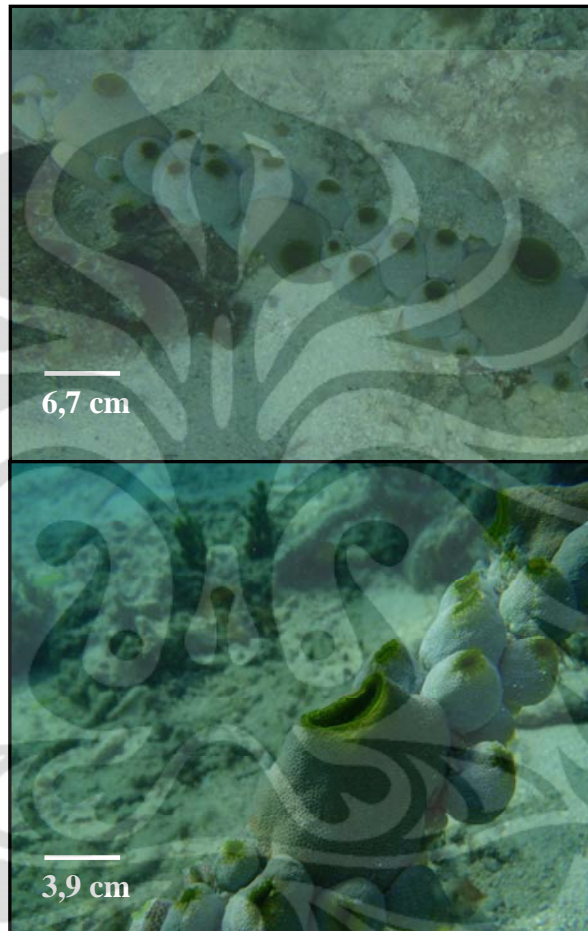
## 2.2 *Didemnum* sp.

*Didemnum* sp. (Gambar 2.2) termasuk ke dalam Subfilum Tunicata, Kelas Ascidiacea, Familia Didemnidae. Habitat *Didemnum* sp. tersebar di seluruh perairan Indo-Pasifik (termasuk Indonesia) dan dapat ditemukan pada kedalaman 1--20 m. *Didemnum* sp. memiliki bentuk seperti kendi yang terbalik dan warna bervariasi dari putih, jingga, hingga hijau terang. Spesies tersebut memiliki mulut berupa sifon oral dengan diameter 3--10 cm. *Didemnum* sp. sering ditemukan hidup berkoloni pada berbagai permukaan substrat seperti terumbu, batu, pasir, hingga logam pada dermaga atau kapal. Masing-masing koloni *Didemnum* sp. terdiri atas individu-individu yang disebut zooid. Setiap zooid memompa air laut melalui sifon oral ke seluruh tubuh untuk menyaring partikel-partikel makanan dan mengeluarkan air serta sisa metabolisme melalui sifon-sifon kecil yang terdapat di seluruh permukaan tubuhnya. *Didemnum* sp. mampu hidup pada suhu -5°C--30°C dengan salinitas air lebih dari 26 ppt (Allen & Steene 2002: 249; Cohen 2005: 2; Boyer 2006: 1).

Sifon-sifon pengeluaran *Didemnum* sp. secara umum memiliki warna hijau yang disebabkan oleh keberadaan alga *Prochloron* yang bersimbiosis dengan ascidia tersebut (Olson 1986: 437). Koloni *Didemnum* sp. dapat tumbuh menjadi koloni yang besar ketika individu-individu di dalamnya bereproduksi secara seksual maupun aseksual (Allen & Steene 2002: 249). *Didemnum* sp. mampu melakukan migrasi dan perpindahan di atas permukaan substrat meski hanya beberapa milimeter. *Didemnum* sp. memang merupakan individu yang sesil, namun penelitian Cowan (1981: 335--337) menunjukkan bahwa masing-masing individu dalam suatu koloni *Didemnum* sp. mampu melakukan pergeseran terutama jika terjadi reproduksi aseksual (fragmentasi membentuk zooid baru), sehingga koloni yang ada bertambah besar. Cowan (1981: 335) menyatakan bahwa hal tersebut sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya terhadap enam spesies ascidia lain yang juga termasuk dalam Familia Didemnidae.

Predator *Didemnum* sp. secara umum meliputi ikan, bintang laut, gastropoda, cacing pipih dan keping. Pertahanan fisik yang mudah diamati dari *Didemnum* sp. adalah lendir yang dikeluarkan ketika individu merasa terancam

(Olson 1986: 437). *Didemnum* sp. juga diduga mengembangkan pertahanan kimiawi dengan menghasilkan metabolit sekunder dan mendistribusikannya ke seluruh tubuh (Stoner 1990: 1687).



Gambar 2.2 Koloni ascidia *Didemnum* sp.  
[Sumber: Dokumentasi pribadi]

### 2.3 Berbagai Fungsi Senyawaan Bioaktif Ascidia

Penelitian-penelitian terdahulu mengenai bahan alam dari avertebrata laut paling banyak dilakukan terhadap senyawaan bioaktif ascidia, setelah senyawaan bioaktif dari spons dan moluska (terutama *nudibranch*). Ascidia merupakan bahan baku produksi lebih dari 130 macam senyawa bahan alam yang sebagian besar diketahui memiliki potensi fungsi farmakologis. Berbagai senyawaan aktif dari ascidia mulai banyak diujikan untuk dijadikan obat kanker dan antibiotik bagi

Universitas Indonesia

manusia. Salah satu senyawa aktif ascidia tersebut adalah didemnin B yang menunjukkan toksisitas tinggi terhadap sel tumor. Beberapa senyawaan aktif ascidia yang lain juga memiliki fungsi antimikroba, dan antivirus (Murugan & Ramasamy 2003: 163; Sivaperumal *dkk.* 2010: 382).

Potensi senyawaan aktif ascidia secara farmakologis, terutama sebagai antibiotik, antikanker dan antitumor, telah banyak diteliti selama satu dekade terakhir. Senyawaan aktif ascidia yang pertama kali diujikan terhadap sel kanker manusia berasal dari spesies *Trididemnum solidum*, kemudian dilanjutkan dengan senyawaan dari *Botryllus* sp. dan *Didemnum* sp. Donia *dkk.* (2008: 941) juga pernah meneliti *Didemnum molle* yang dikoleksi dari perairan Manado. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa senyawa keenamid A dan mollamida B dari ekstrak ascidia tersebut memiliki potensi antikanker.

Senyawa halosiamin A yang memiliki sifat antibiotik pernah diisolasi dari ascidia *Halocynthia roretzi* (Sivaperumal *dkk.* 2010: 383). Metabolit sekunder ascidia dapat memengaruhi pertumbuhan beberapa spesies mikroorganisme meliputi bakteri dan fungi. Hasil penelitian Hussain & Ananthan (2009: 168) pada dua spesies ascidia, *Didemnum candidum* dan *Didemnum psammathodes*, menunjukkan bahwa ekstrak kasar dari dua spesies tersebut menghambat pertumbuhan koloni *Salmonella typhii* dan *Escherichia coli*. Hal tersebut diketahui dengan melihat zona bening pada koloni *S. typhii* dan *E. coli* yang ditumbuhkan pada medium agar kemudian ditetesi dengan ekstrak kasar ascidia yang diujikan.

Senyawaan aktif ascidia juga memiliki fungsi *antifouling* yang kini tengah dikembangkan sebagai salah satu alternatif pemecahan masalah kerusakan dermaga atau lambung kapal akibat penempelan berbagai macam organisme *fouling* seperti remis dan teritip (Murugan & Ramasamy 2003: 162). Kerusakan dermaga dan kapal akibat organisme *fouling* pernah diatasi dengan penggunaan cat TBT (tributiltin) yang dilarang beredar pada tahun 2008, karena senyawaan organotin dalam cat TBT ternyata bersifat toksik pada beberapa jenis ikan dan siput laut. Efek ekologis yang ditimbulkan oleh penggunaan cat TBT memicu berbagai penelitian untuk menemukan senyawaan *antifouling* yang aman (Murugan & Ramasamy 2003: 162--163; Ramasamy & Murugan 2003: 337).

Potensi senyawaan *antifouling* yang efektif dan tidak bersifat toksik terhadap organisme di sekitarnya telah diteliti dari ascidia *Distaplia nathensis*. Ekstrak kasar *D. nathensis* mampu menghambat pertumbuhan benang bisus remis *Perna indica* meskipun konsentrasi ekstrak kasar yang diujikan hanya sebesar 0,1 mg/ml. Ascidia *Eudistoma viride* dan *Didemnum psammathodes* juga menjadi kandidat sumber senyawaan *antifouling*. Senyawaan eudistomin G dan H juga telah diisolasi dari ascidia *E. olivaceum* dan terbukti dari hasil uji di laboratorium mampu menghambat penempelan empat jenis larva organisme *fouling* pada konsentrasi 5% dari konsentrasi alaminya. Enam puluh persen jenis ascidia diperkirakan memiliki properti *antifouling* yang efektif dan aman secara ekologis (Murugan & Ramasamy 2003: 162--163; Ramasamy & Murugan 2003: 337).

Penelitian mengenai fungsi farmakologis senyawaan aktif ascidia berkembang cukup pesat, sedangkan penelitian mengenai fungsi ekologis senyawaan tersebut belum banyak dilakukan. Fungsi ekologis yang sering disebutkan dalam berbagai literatur namun belum banyak diujikan adalah fungsi senyawaan ascidia sebagai *antifeedant*. Schupp (2000: 3) menyatakan bahwa penelitian uji ekologis dapat digunakan sebagai indikasi pertama akan keberadaan senyawa yang mungkin aktif secara farmakologis. Senyawaan aktif ascidia yang bersifat *antifeedant* diduga dapat dijadikan salah satu jenis pengobatan alternatif pada manusia (Sivaperumal *dkk.* 2010: 383).

#### 2.4 *Antifeedant*

Telah banyak teori menyebutkan bahwa metabolit sekunder berbagai jenis organisme berperan sebagai penolak predator atau zat *antifeedant*. *Antifeedant* yang paling banyak diteliti adalah metabolit sekunder pada tumbuhan tingkat tinggi sebagai pertahanan kimiawi terhadap serangga atau herbivor. Keberadaan dan potensi senyawa *antifeedant* telah lama diteliti para ilmuwan sejak tahun 1930. Menurut Miles *dkk.* pada tahun 1985 (*lihat* Mayanti *dkk.* 2006: 1), senyawa *antifeedant* merupakan suatu zat yang apabila diujikan terhadap pemangsa akan menghentikan aktivitas makan sementara atau permanen tergantung potensi zat tersebut. Menurut Isman *dkk.* pada tahun 1996 (*lihat* Mayanti *dkk.* 2006: 1),



*antifeedant* pada tumbuhan adalah substansi pengubah perilaku yang mencegah makan melalui aksi langsung pada *peripheral sensilla* (organ perasa) pada serangga. Senyawa *antifeedant* telah menjadi salah satu alternatif pengganti pestisida buatan dalam perlindungan tanaman pangan karena senyawa *antifeedant* pada tumbuhan secara umum mampu membunuh, mengusir atau menjerat serangga hama namun tidak toksik terhadap lingkungan sekitar atau terhadap organisme yang bukan merupakan target *antifeedant* tersebut (Mayanti dkk. 2006: 1).

Beberapa contoh penelitian *antifeedant* terhadap metabolit sekunder tumbuhan antara lain meliputi senyawa *antifeedant* dari biji kokossan (*Lansium domesticum* corr var. Kokossan) (Mayanti dkk. 2006: 1). Mayanti dkk. (2006:1) berhasil melihat aktifitas *antifeedant* serta mengisolasi struktur senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktifitas *antifeedant* dari biji kokossan tersebut. Penelitian *antifeedant* dari tumbuhan berbunga *Erythrina latissima* terhadap larva ngengat *Spodoptera littoralis* menunjukkan bahwa intensitas aktifitas senyawa *antifeedant* bergantung pada konsentrasi senyawa tersebut (Cornelius dkk. 2009: 102). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa senyawa erithrinalin dari daun *E. latissima* dapat menghentikan aktifitas makan larva ngengat *S. littoralis* (Cornellius dkk. 2009: 102).

Suatu senyawaan atau zat pada organisme, secara umum, dapat dikatakan sebagai *antifeedant* jika memiliki rasa yang tidak enak (pahit) sehingga tidak disukai predator atau memiliki racun yang membuat predator belajar untuk menghindari organisme yang mengandung senyawaan tersebut. Senyawaan yang memiliki rasa tidak enak masih mungkin ditolerir oleh predator sehingga predator tetap memakan organisme yang mengandung senyawaan tersebut. Contoh senyawaan tersebut adalah alkaloid (Bastedo 2010: 2). Senyawaan yang mengandung racun sebagian besar tidak dapat ditolerir oleh predator sehingga predator sama sekali tidak akan mendekati organisme yang mengandung senyawaan tersebut. Senyawaan yang mengandung racun dapat berupa senyawa yang memiliki rasa tidak enak maupun tidak memiliki rasa tertentu. Contoh senyawaan yang mengandung racun dan memiliki rasa pahit adalah saponin, sedangkan contoh senyawa yang mengandung racun namun tidak pahit adalah



triterpen sianida yang terdapat pada mantel *nudibranch Phyllidia elegans* [Yasman, komunikasi pribadi, 1 Maret 2011]. Hasil penelitian Carubba & Torre (2003: 1) terhadap spesies-spesies tumbuhan dari 20 familia yang berbeda (termasuk Labiatae, Asteraceae dan Piperaceae) menunjukkan bahwa sebagian besar senyawaan *antifeedant* yang diisolasi dari tumbuhan-tumbuhan tersebut termasuk ke dalam gugus alkaloid, sesquiterpen dan diterpen.

#### 2.4.1 *Antifeedant* pada Biota Laut selain Ascidia

Tumbuhan memiliki kemampuan untuk melindungi diri terhadap serangan organisme lain (herbivor dan atau patogen seperti fungi dan bakteri) secara fisik maupun kimiawi (Dadang & Ohsawa 2000: 28). Perlindungan secara fisik antara lain melalui getah, duri, trikoma, dan sebagainya, sedangkan pertahanan kimiawi dengan metabolit sekunder. Hal yang sama juga berlaku pada biota-biota laut terutama tumbuhan laut dan organisme bentos (Lang 1994: 1). Mekanisme pertahanan diri, terutama pertahanan kimiawi pada biota laut telah menjadi subjek penelitian ekologi kimia laut yang mulai dipelajari sejak tahun 1970-an. Metabolit sekunder juga merupakan bentuk pertahanan diri yang umum dan sangat penting pada biota laut, layaknya metabolit sekunder pada tumbuhan terestrial. Ribuan metabolit sekunder telah berhasil diisolasi dari berbagai biota laut seperti spons, ascidia, karang, cacing polichaeta, alga, dan bakteri (Hay 1996: 104).

Sebagian avertebrata laut memiliki tubuh lunak, pergerakan lambat bahkan tidak bergerak (sesil) sehingga tidak dapat menghindari dari predator, dan tidak memiliki sistem pertahanan fisik (Schupp 2000: 14). Penelitian mengenai *antifeedant* pada biota laut yang paling banyak dilakukan adalah penelitian pada spons. Burns *dkk.* (2003: 105) menyebutkan bahwa spons sebagai organisme yang memiliki morfologi sangat sederhana dan tampak tidak memiliki pertahanan fisik tertentu, ternyata hanya memiliki sedikit spesies-spesies predator. Penelitian Burns *dkk.* (2003: 112) menunjukkan bahwa ekstrak kasar dari tujuh spesies spons di perairan Laut Merah, termasuk *Amphimedon viridis*, *Crella cyatophora*, dan

*Hymeniacidon* sp., memiliki aktivitas *antifeedant* terhadap ikan *Thalassoma klunzingeri* dan bulu babi *Diadema setosum*.

Peranan penting dari metabolit sekunder spons sebagai *antifeedant* terhadap ikan juga pernah dilakukan oleh Thompson *dkk.* pada tahun 1985 (*lihat* Schupp 2000: 20). Penelitian tersebut menggunakan sampel spons *Dysidea amblia* dan *Aplysina fistularis* yang diperoleh dari perairan California Selatan dan menguji senyawa spons tersebut pada ikan *Clinocottus analis*. Hasil penelitian tersebut menegaskan peran penting metabolit sekunder dari spons sebagai mekanisme pertahanan terhadap predator. Penelitian Chanas & Pawlik (1995: 201) menunjukkan bahwa 69% dari 71 senyawa organik pada ekstrak kasar spons yang termasuk dalam Familia Demospongiidae di perairan Karibia bersifat *antifeedant* terhadap ikan *Thalassoma bifasciatum*. Hasil penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan antara toksisitas ekstrak spons (dengan metode uji toksisitas secara farmakologis) dengan sifat *antifeedant* ekstrak tersebut. Hal tersebut menunjukkan bahwa toksisitas tinggi pada suatu metabolit sekunder belum tentu menunjukkan peranan pertahanan ekologi kimiawi bagi organisme penghasil metabolit sekunder tersebut (Schupp 2000: 19--20).

Schupp (2000: 88--90) melakukan uji *antifeedant* di lapangan dan laboratorium terhadap ekstrak kasar spons *Oceanapia* sp. dengan konsentrasi 7,4 %. Penelitian di laboratorium dilakukan menggunakan hewan uji ikan *Pomacanthus imperator*, sedangkan penelitian di lapangan dilakukan terhadap ikan karang. Hasil penelitian di laboratorium maupun di lapangan menunjukkan kecenderungan ikan untuk menghindari makanan ikan yang dicampur dengan ekstrak kasar *Oceanapia* sp. (Schupp 2000: 89).

Pawlik *dkk.* pada tahun 1987 (*lihat* Schupp 2000: 20) melakukan uji *antifeedant* menggunakan ekstrak kasar dari 37 spesies *gorgonian* yang diujikan pada ikan *Thalassoma bifasciatum*. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa 19 dari 37 ekstrak kasar mampu mencegah predasi *T. bifasciatum*, meskipun konsentrasi ekstrak yang diberikan tidak mewakili konsentrasi alami yang terdapat dalam individu *gorgonian*. Beberapa ekstrak berhasil menunjukkan sifat *antifeedant* meski diberikan dalam konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan dengan

konsentrasi alaminya. Harvell *dkk.* pada tahun 1988 (*lihat* Schupp 2000: 20) meneliti sifat *antifeedant* dari ekstrak kasar *Pseudopterogorgia acerosa* dan *P. rigida* yang dilakukan di dua lokasi yaitu di laboratorium dan pengamatan di lapangan. Hasil penelitian dalam laboratorium maupun di lapangan menunjukkan bahwa ekstrak kasar kedua spesies tersebut memiliki sifat *antifeedant*.

#### 2.4.2 *Antifeedant* pada Ascidia

Penelitian *antifeedant* pada ascidia pernah dilakukan oleh Vervoort *dkk.* pada tahun 1998 dan Schupp pada tahun 2000. Vervoort *dkk.* (1998: 221) melakukan uji *antifeedant* dari ekstrak *Didemnum conchyliatum* di lapangan dan di laboratorium. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kasar *D. conchyliatum* dapat menolak predator, bahkan memiliki aktifitas *antifeedant* yang lebih kuat daripada senyawa-senyawa murni yang diisolasi dari ekstrak tersebut. Schupp (2000: 170) melakukan uji *antifeedant* terhadap ikan dari ekstrak kasar *Eudistoma toealensis*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kasar yang dicampurkan ke dalam pelet untuk makanan ikan akan dihindari oleh ikan uji baik di laboratorium maupun di lapangan.

Metabolit sekunder yang bersifat *antifeedant* tidak selalu diproduksi oleh biota laut yang membutuhkan senyawa tersebut, namun dapat diperoleh dari makanan yang dikonsumsi biota tersebut. Paul *dkk.* pada tahun 1990 (*lihat* Schupp 2000: 21) menunjukkan bahwa ascidia *Sigillina signifera* yang merupakan makanan bagi nudibranch *Nembrotha* spp. memiliki senyawa *bipyrrole tambjamines* yang bersifat *antifeedant* terhadap ikan karang. Ekstrak kasar dari ascidia tersebut dan nudibranch pemangsanya merupakan *antifeedant* terhadap berbagai jenis ikan karang pada konsentrasi alami maupun pada konsentrasi yang lebih rendah. Hasil penelitian-penelitian tersebut menunjukkan bahwa metabolit sekunder dapat mencegah predasi beberapa jenis predator (seperti ikan) namun tidak mencegah predasi konsumen yang lebih terspesialisasi (seperti moluska).

Penelitian mengenai pertahanan kimiawi pada ascidia dari Familia Didemnidae dengan hewan uji ikan juga pernah dilakukan oleh Joullié *dkk.* pada tahun 2003. Penelitian tersebut bertujuan untuk meneliti potensi mekanisme

pertahanan kimiawi dari senyawa didemnin B (DB) dan tamandarin A (TA) yang diekstrak dari ascidia. Kedua senyawa tersebut dimasukkan ke dalam makanan larva nyamuk kemudian larva nyamuk tersebut dijadikan makanan bagi tujuh spesies ikan. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ikan-ikan uji akan menghindari memakan larva nyamuk yang mengandung DB dan atau TA (Joullié *dkk.* 2003: 30). Joullié *dkk.* (2003: 30) menyatakan bahwa metode uji *antifeedant* yang mereka gunakan merupakan alat yang baik untuk memelajari hubungan predator dan mangsa, terutama antara ikan dan larva avertebrata laut.

#### 2.4.3 Metode Penelitian *Antifeedant* pada Avertebrata Laut

Ekstrak kasar yang digunakan untuk uji *antifeedant* harus bebas dari garam. Kandungan garam dari suatu ekstrak kasar yang berasal dari biota laut dapat mengurangi kemurnian ekstrak. Metode yang sering digunakan dalam berbagai penelitian untuk menghilangkan kandungan garam dari ekstrak adalah desaltasi dengan menggunakan kolom resin atau kolom Polikrom-1 (Avilov *dkk.* 2000: 70; Avilov *dkk.* 2003: 915; Zou *dkk.* 2003: 1059). Metode tersebut membutuhkan biaya yang relatif mahal, meliputi biaya penyediaan alat dan bahan kolom. Metode lain yang lebih sederhana dengan biaya yang lebih terjangkau adalah dengan sentrifugasi. Waktu yang dibutuhkan untuk sentrifugasi juga lebih singkat bila dibandingkan dengan desaltasi (Schupp 2000: 68).

Ikan merupakan salah satu predator yang paling banyak ditemukan di laut. Burns *dkk.* (2003: 110) menyatakan bahwa pada perairan Karibia, ikan digunakan sebagai salah satu hewan uji aktivitas *antifeedant* dari senyawaan biota laut karena ikan merupakan predator dominan di laut. Hewan uji yang juga dapat digunakan selain ikan adalah bulu babi dan bintang laut. Bulu babi dan bintang laut merupakan predator bagi spons, karang, dan beberapa spesies ascidia. Ikan, bulu babi, dan bintang laut merupakan predator generalis (Hay 1996: 106). Penelitian uji *antifeedant* yang dilakukan Burns *dkk.* (2003: 110) terhadap 17 spesies spons di Laut Merah menggunakan dua hewan uji yaitu ikan dan bulu babi.

Penelitian *antifeedant* pada ekosistem laut mungkin dilakukan di lapangan karena setiap gangguan yang disebabkan oleh faktor manusia pada penelitian tersebut lebih kecil. Hal tersebut disebabkan karena ekosistem laut merupakan ekosistem yang lebih terlindung dibandingkan ekosistem darat. Uji *antifeedant* perlu dilakukan terhadap beragam predator yang ada pada ekosistem laut karena tekanan predasi pada ekosistem tersebut tinggi (Hay 1996: 105). Metode untuk uji *antifeedant* yang disebutkan Hay (1996: 105) dalam tinjauannya adalah dengan mencampurkan ekstrak dan bahan makanan tertentu kemudian diletakkan pada terumbu karang atau habitat alami. Hay (1996: 105) juga menyebutkan bahwa uji *antifeedant* sebaiknya dilakukan dalam jangka waktu yang pendek.

Metode penelitian *antifeedant* menggunakan ikan yang pernah dilakukan pada avertebrata laut secara umum adalah mencampurkan ekstrak senyawaan yang akan diujikan ke dalam pelet untuk dijadikan makanan ikan. Schupp (2000: 69) menggunakan campuran lilin parafin, karaginan, dan makanan ikan komersil sebagai pelet. Vervoort *dkk.* (1998: 223) menggunakan cumi-cumi yang telah direndam hingga lunak, sedangkan Burns *dkk.* (2003: 107) menggunakan campuran asam alginat dan mantel cumi-cumi yang dijadikan serbuk untuk dijadikan pelet ikan. Campuran yang digunakan sebagai pelet ikan harus mengandung agen pengeras sebagai agar yang membuat pelet dapat menahan ekstrak di dalam makanan ikan dan dapat bertahan lama dalam air (terutama untuk uji *antifeedant* di lapangan). Uji *antifeedant* dapat dilaksanakan di akuarium atau di lapangan. Uji *antifeedant* di akuarium dilakukan dengan memberi makan ikan uji dengan pelet yang diberi ekstrak dan pelet kontrol, kemudian mengamati perilaku makan ikan-ikan tersebut. Uji *antifeedant* di lapangan memiliki prinsip yang sama, namun pelet ikan harus ditambatkan pada tali agar pengamatan di lapangan lebih mudah dilakukan (Schupp 2000: 70; Burns *dkk.* 2003: 107--108).

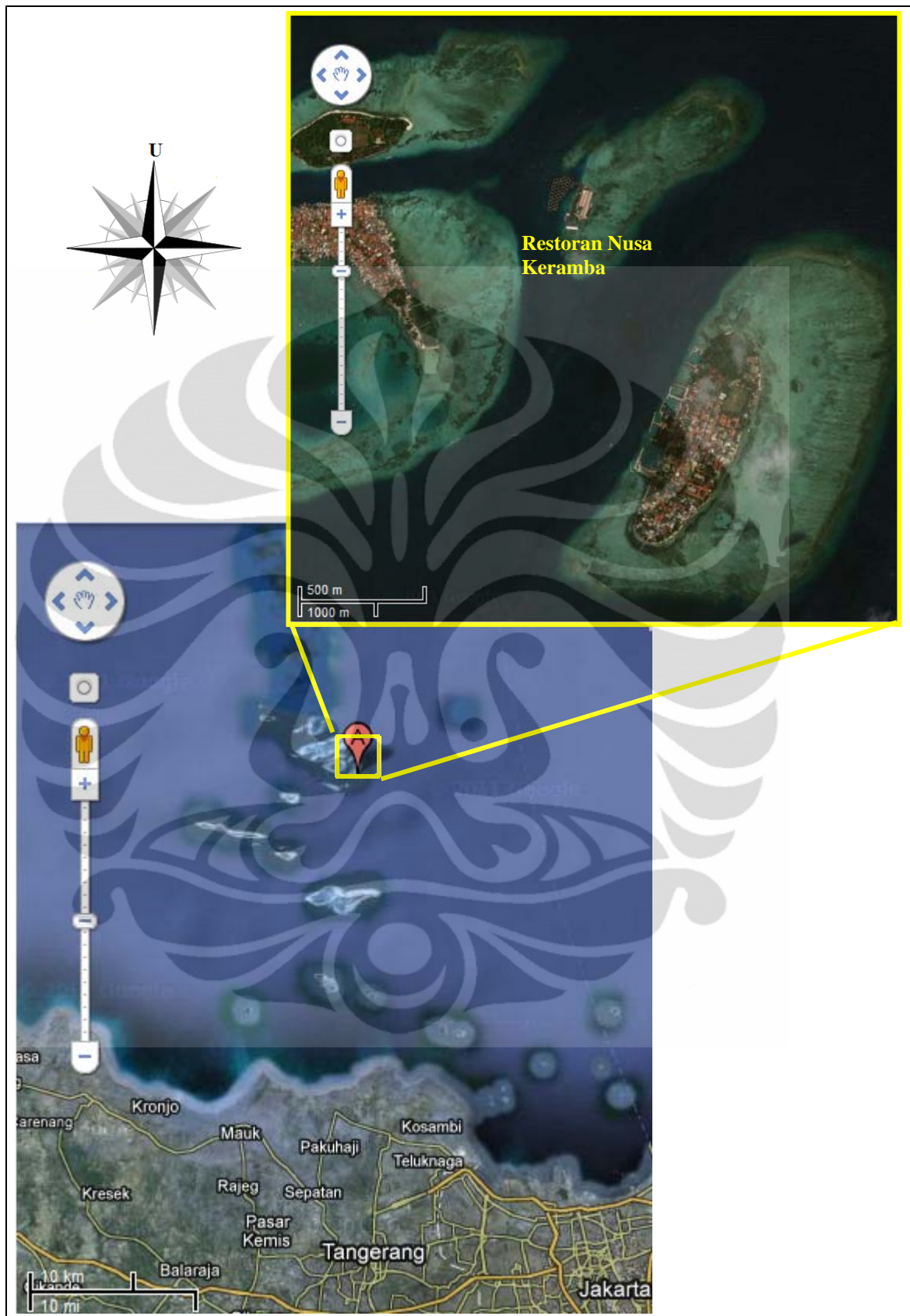
## **BAB 3 METODE PENELITIAN**

### **3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Taksonomi Hewan FMIPA UI, Depok dan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu, DKI Jakarta (Gambar 3.1(1)) mulai bulan Februari hingga Mei 2011. Pembuatan ekstrak dan bahan uji *antifeedant* dilakukan di Laboratorium Taksonomi Hewan, sedangkan pengambilan sampel *Didemnum* sp. dan pengujian *antifeedant* dilakukan di Pulau Pramuka. Pengujian *antifeedant* dilakukan pada bulan Mei 2011. Pengujian dilakukan dengan memanfaatkan kubah (*dome*) *biorock* (Gambar 3.1(2)) yang terletak pada kedalaman 3--4 m di bawah dermaga Restoran Nusa Keramba, Pulau Pramuka (5°44'18.57" LS, 106°36'32.78" BT). Lokasi pengujian dapat dilihat pada Gambar 3.1(3).

### **3.2 Alat di Laboratorium**

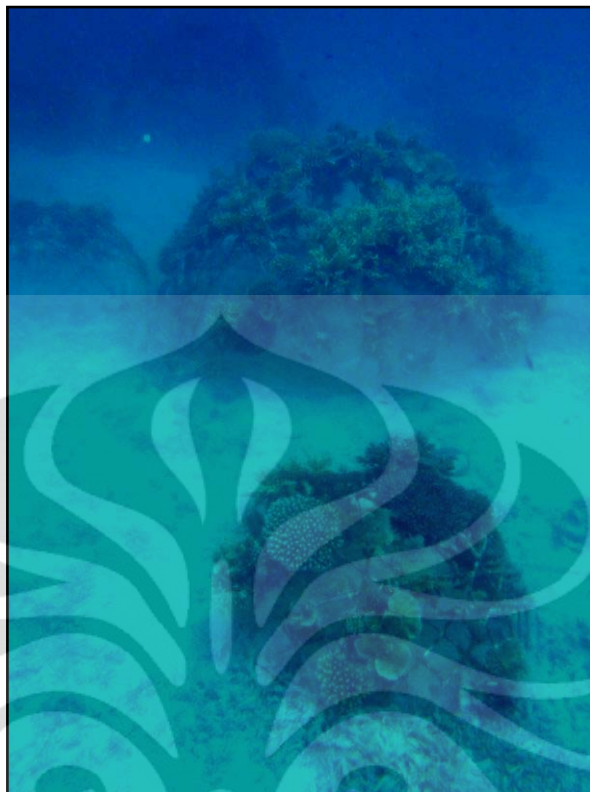
Peralatan yang digunakan di laboratorium meliputi pinset, baki plastik, timbangan digital [OHAUSS GT 4000], blender [Waring Commercial], spatula, gelas Beaker ukuran 1000 ml [Pyrex], gelas Beaker ukuran 500 ml [Schott Duran], pipet volumetrik [IWAKI], *rotary evaporator* [STUART], *ultrasonicator* [VOLLRATH], corong, botol kaca gelap ukuran 2 L, *round flask* ukuran 1000 ml [Schott Duran], cawan penguap, oven [Precision], penangas [IKAMAG RCT], *magnetic stirrer*, mortar, botol vial, vorteks [GENIE 2], tabung sentrifugasi [IWAKI], dan mesin sentrifugasi [Heraeus Labofuge 200].



Gambar 3.1(1) Peta lokasi Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu, DKI Jakarta

[Sumber: GoogleMaps 2011. Telah diolah kembali.]





Gambar 3.1(2) *Dome biorock* tempat menambatkan tali pengujian *antifeedant*

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

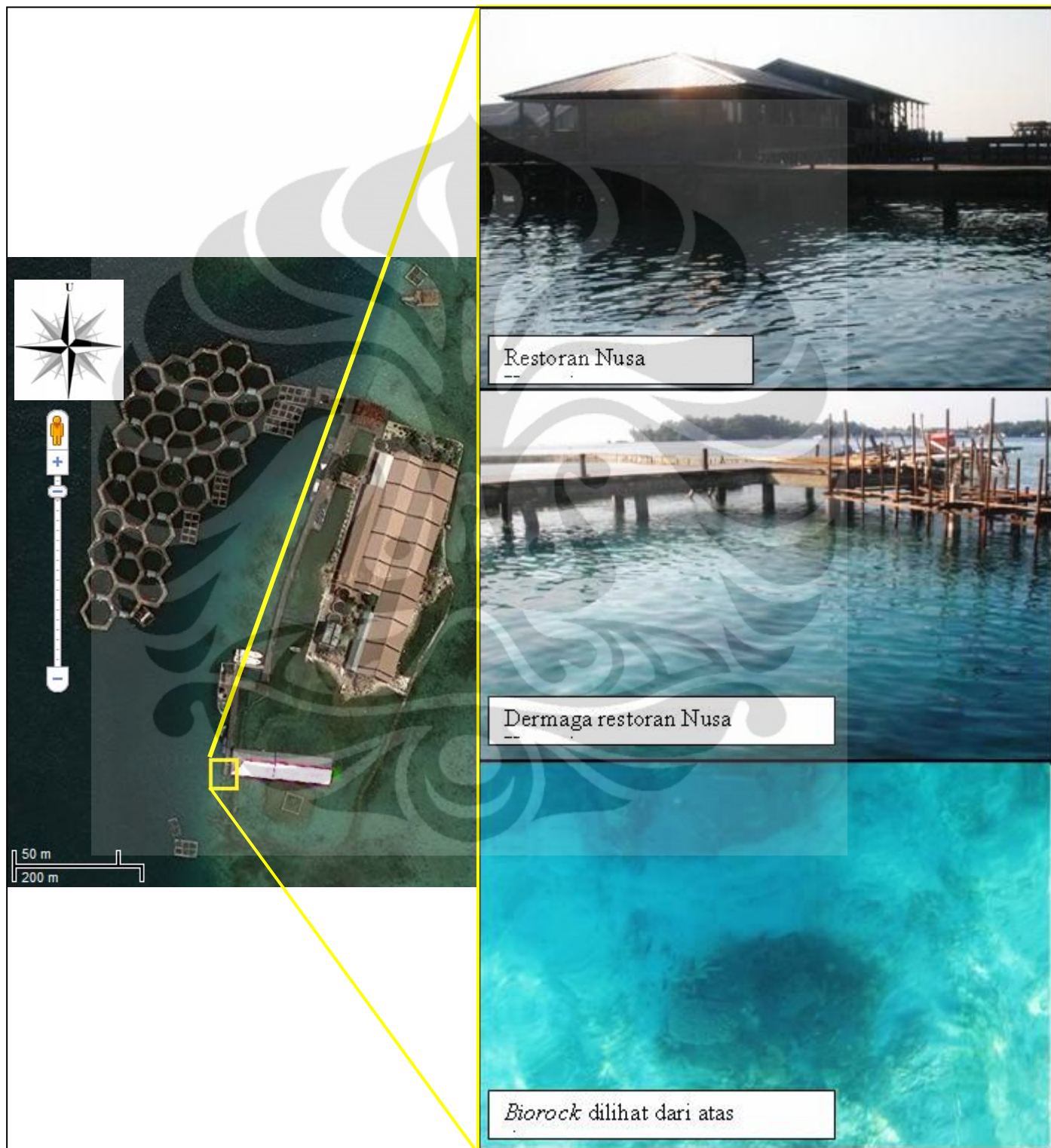
### 3.3 Alat di Lapangan

Peralatan yang digunakan di lapangan meliputi peralatan dasar (*masker*, *snorkel*, dan *fins*), peralatan menyelam (BCD, regulator, tabung udara, *weight belt*), kantung *zip-lock*, pinset, ceret ukur plastik, botol sampel dari kaca, sarung tangan karet, *dissecting set*, *coolbox*, *container*, alat tulis, *cutter*, penggaris, botol plastik, kertas *waterproof*, peniti dan tali polipropilen.

### 3.4 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel *Didemnum* sp., metanol, batu es, kertas koran, kertas saring [Whatman No.1: 125

mmØ], *aluminium foil*, jeli tanpa rasa [Nutrijell], dan makanan ikan laut komersil [Mutiara].



Gambar 3.1(3) Lokasi pengujian *antifeedant*

[Sumber: GoogleMaps 2011: 1; Dokumentasi pribadi]

Universitas Indonesia

### 3.5 Cara Kerja

#### 3.5.1 Pengambilan Sampel

*Ascidia Didemnum* sp. dikoleksi secara bebas dari perairan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu, DKI Jakarta pada kedalaman 2--5 m dengan cara *snorkeling*. Sampel ascidia diletakkan dalam kantung *zip-lock* di bawah air. Sampel ascidia tersebut diukur volumenya menggunakan ceret ukur plastik segera setelah mencapai daratan. Sampel ascidia yang diperoleh direndam dengan metanol dalam botol sampel dari kaca kemudian dibawa ke laboratorium untuk diekstrak (Wright 1998: 375).

#### 3.5.2 Ekstraksi

Sampel ascidia dikeluarkan dari botol sampel menggunakan pinset kemudian ditiriskan untuk penimbangan berat basah menggunakan timbangan digital [OHAUSS GT 4000]. Sampel yang telah ditimbang dihaluskan dengan blender [Waring Commercial] kemudian dicampurkan dengan metanol ke dalam gelas Beaker ukuran 1000 ml. Sampel yang telah dicampur metanol diaduk hingga homogen dengan bantuan *ultrasonicator* selama 1--2 jam dan dimaserasi selama satu malam. Hasil maserasi berupa endapan sampel ascidia dan filtrat berwarna hijau yang merupakan campuran metanol dan ekstrak kasar ascidia. Filtrat tersebut disaring dengan menggunakan kertas saring [Whatman No.1: 125 mmØ] kemudian ditampung dalam botol gelap ukuran 2 L. Endapan sampel ascidia ditambahkan kembali dengan metanol, dihomogenisasi dengan *ultrasonicator* dan dimaserasi kembali selama satu malam. Filtrat berwarna yang terbentuk kembali disaring keesokan harinya dan ditampung dalam botol gelap. Maserasi dan penyaringan tersebut dilakukan berulang-ulang hingga filtrat yang terbentuk menjadi bening (Wright 1998: 375).

Hasil penyaringan filtrat kemudian dievaporasi untuk memisahkan metanol dari ekstrak kasar ascidia menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40° C dan tekanan 0,337 atm. Hasil evaporasi berupa endapan seperti pasta kental

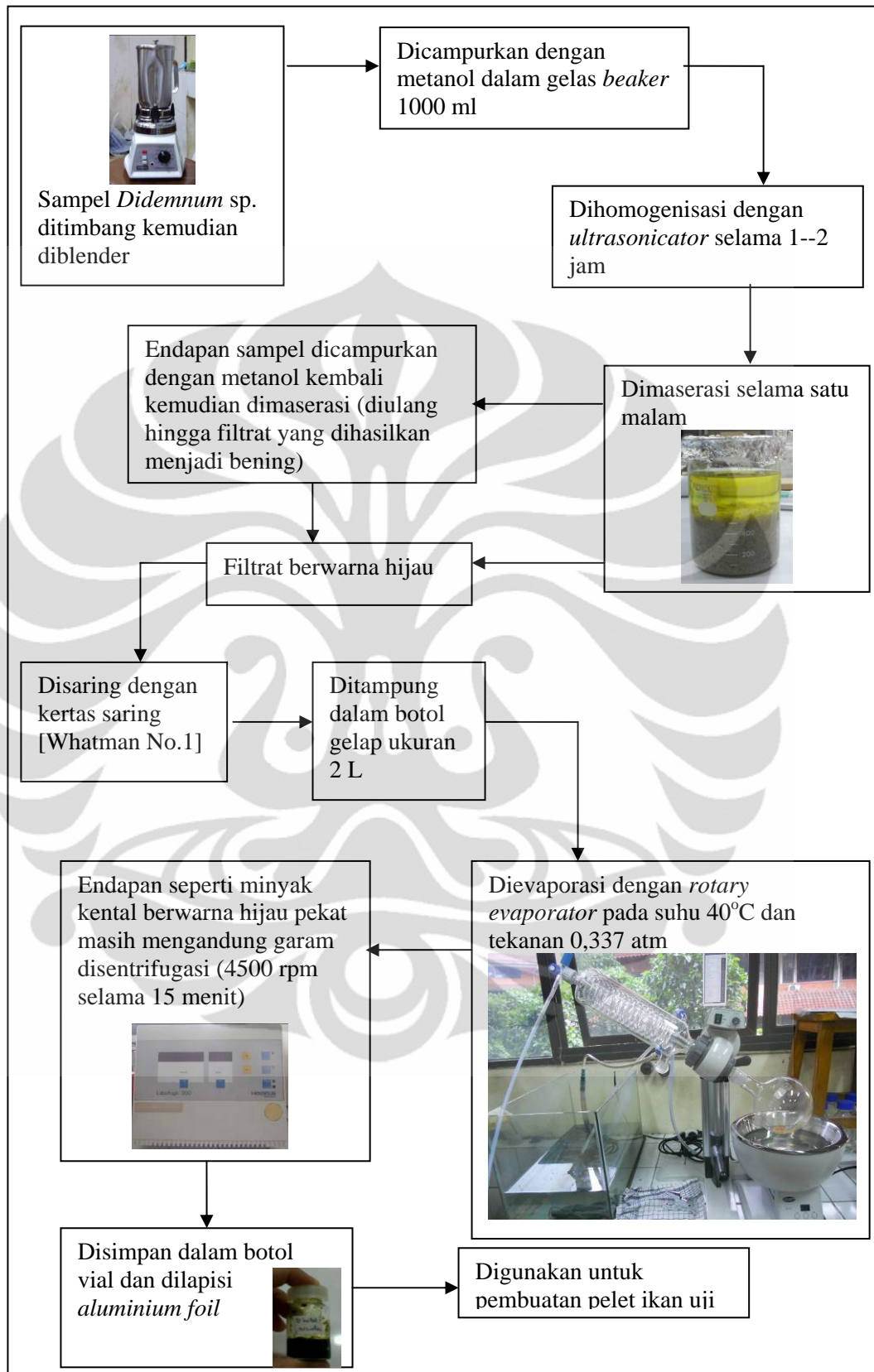
berwarna hijau pekat hingga hijau kehitaman. Endapan tersebut kemungkinan masih mengandung garam yang harus dihilangkan dengan cara sentrifugasi. Endapan tersebut ditimbang kemudian diletakkan dalam empat tabung sentrifugasi dengan spatula. Masing-masing tabung diisi endapan dengan berat yang sama, kemudian ke dalam masing-masing tabung ditambahkan metanol hingga 12 ml. Campuran endapan ekstrak dan metanol dihomogenisasi dengan vorteks kemudian disentrifugasi pada kecepatan 4500 rpm selama 15 menit. Hasil sentrifugasi berupa pelet yang mengandung garam dan supernatan yang mengandung metanol dan ekstrak. Supernatan kemudian dituang dalam cawan penguap dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40° C hingga metanol menguap dan terpisah dari ekstrak. Ekstrak hasil sentrifugasi disimpan dalam botol vial dan dilapisi dengan *aluminium foil*. Ekstrak kasar yang telah diperoleh dihitung konsentrasi alaminya (mg/ml) dengan cara membagi berat total ekstrak kasar (mg) dengan volume sampel *Didemnum* sp (ml). Ekstrak ascidia tersebut kemudian digunakan untuk pembuatan pelet uji. Skema ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 3.5.2.

### 3.5.3 Kuantifikasi

Seluruh berat ekstrak kasar yang diperoleh ditimbang kemudian dibandingkan dengan berat basah dan volume awal sampel untuk menentukan perbandingan ekstrak dan komposisi jeli atau bahan pelet ikan yang akan digunakan, dengan persamaan sebagai berikut:

$\frac{\text{gr ekstrak kasar keseluruhan}}{\text{volume sampel keseluruhan}} = \frac{\text{gr ekstrak kasar dalam pelet}}{\text{volume jeli dan makanan ikan}}$
--



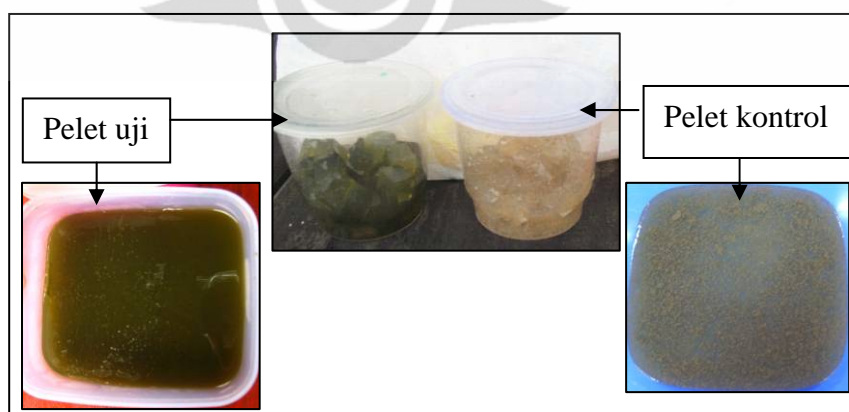


Gambar 3.5.2 Skema ekstraksi sampel *Didemnum* sp.

### 3.5.4 Pembuatan Pelet

Pembuatan pelet ikan untuk uji *antifeedant* diawali dengan persiapan serbuk pelet uji dan kontrol. Ekstrak kasar yang diperoleh ditimbang sesuai dengan jumlah yang telah dikuantifikasi. Ekstrak kasar tersebut diletakkan dalam cawan penguap kemudian dilarutkan dengan metanol sebanyak 5 ml. Larutan tersebut dicampur dengan 2,5 gr pelet ikan komersil yang telah dihaluskan berupa serbuk kemudian diaduk hingga homogen. Campuran pelet dan ekstrak tersebut dikeringkan dalam oven dengan suhu 50° C hingga seluruh metanol menguap (10--15 menit). Serbuk pelet yang mengandung ekstrak siap digunakan untuk pembuatan pelet uji. Persiapan serbuk pelet kontrol dilakukan dengan cara yang sama namun tidak menggunakan campuran ekstrak kasar *Didemnum* sp.

Pembuatan pelet uji maupun pelet kontrol diawali dengan memanaskan 4,5 gr serbuk jeli [Nutrijell] dalam 207 ml air untuk membentuk larutan jeli. Larutan jeli dibiarkan mendingin beberapa saat namun tidak sampai mengeras kemudian serbuk pelet yang telah disiapkan dituang sedikit demi sedikit sambil diaduk rata dengan bantuan *magnetic stirrer*. Campuran jeli dan serbuk pelet uji atau kontrol tersebut dibiarkan mengeras dalam cetakan persegi berukuran 10x10 cm (Gambar 3.5.4). Jeli yang telah mengeras dipotong kecil-kecil menjadi kubus-kubus berukuran 1 cm<sup>3</sup> (Gambar 3.5.4) dan siap digunakan untuk pengujian di lapangan (Schupp 2000: 69; Matthew *dkk.* 2010: 1812).



Gambar 3.5.4 Pelet pengujian *antifeedant*

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

### 3.5.5 Pengujian di Lapangan

Pengujian *antifeedant* dilakukan selama tujuh hari setiap pagi dan sore hari. Pengujian pada waktu pagi dilakukan sekitar pukul 07.00--10.30, sedangkan pengujian di sore hari dilakukan sekitar pukul 15.00--17.30. Pemilihan waktu tersebut dilakukan berdasarkan hasil pra-penelitian yang menunjukkan bahwa pada waktu-waktu tersebut ikan-ikan aktif berenang di sekitar lokasi pengujian. Pengujian *antifeedant* dilakukan dengan cara *diving* pada kedalaman 3 m di bawah dermaga Restoran Nusa Keramba, Pulau Pramuka. Lokasi pengujian tersebut dipilih karena faktor arus pada lokasi tersebut tenang. Pelet kontrol dan pelet uji masing-masing dikaitkan pada dua utas tali polipropilen sepanjang 70 cm dengan peniti. Masing-masing tali dikaitkan dengan lima pelet kontrol atau lima pelet uji dengan jarak antar peniti pada tali adalah 10 cm. Botol-botol plastik diikatkan pada ujung tali-tali pengujian sebagai pelampung agar tali-tali berdiri tegak ketika pengujian (Gambar 3.5.5) (Chanas & Pawlik 1995: 197; Schupp 2000: 69, dengan modifikasi).

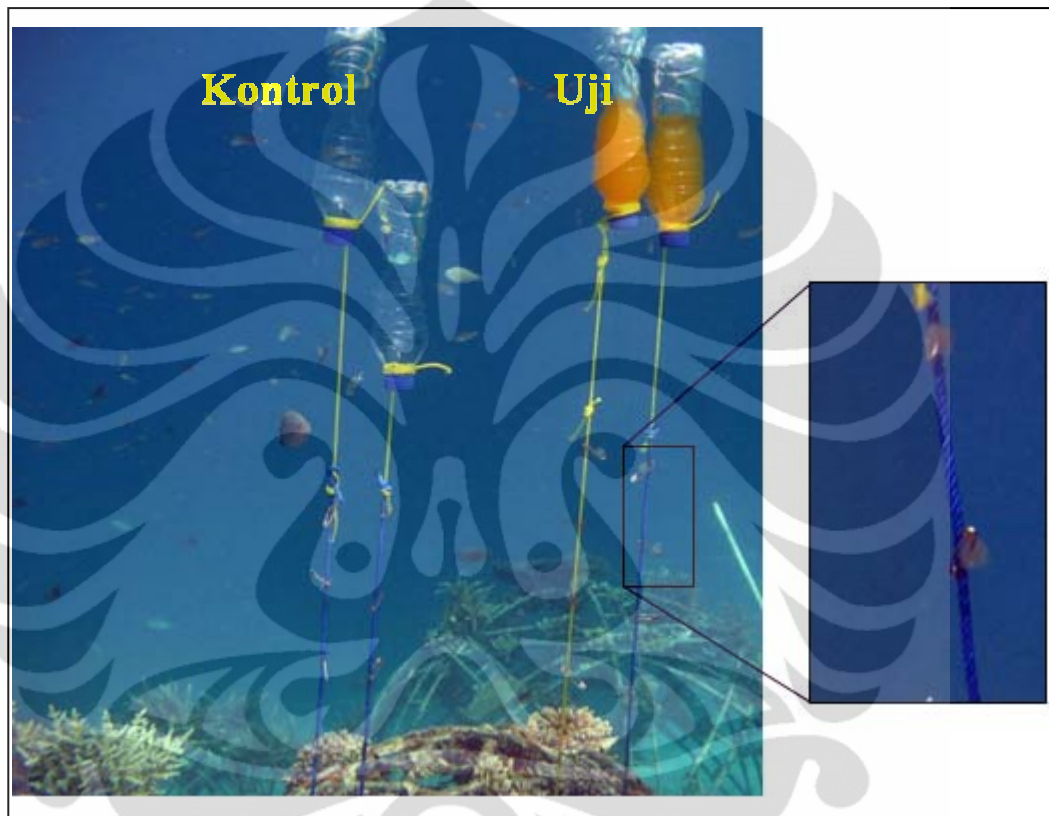
Tali-tali tersebut ditambatkan pada *biorock* yang merupakan kerangka besi berbentuk kubah (*dome*) yang ditumbuhi terumbu karang. Pelet-pelet pengujian yang termasuk dalam kategori 'dimakan' adalah pelet yang dimakan hingga habis atau tersisa kurang dari setengah bagian pada peniti pengait, sedangkan yang 'tidak dimakan' adalah pelet yang tersisa lebih dari setengah hingga satu bagian utuh pada peniti pengait (Schupp 2000: 140). Perubahan yang terjadi terhadap pelet uji dan pelet kontrol diamati selama 30 menit. Hasil pengamatan yang dicatat berupa jumlah pelet yang dimakan dan tidak dimakan (Chanas & Pawlik 1995: 197; Schupp 2000: 69, dengan modifikasi).

### 3.5.6 Analisis Data

Hasil pengamatan uji *antifeedant* dicatat pada tabel pengamatan (*lihat* BAB 4 Tabel 4.2(1)). Uji statistik yang akan digunakan untuk analisis data pengamatan tersebut adalah uji jumlah-jenjang Wilcoxon (*Wilcoxon's rank sum test*). Uji tersebut dapat dimanfaatkan untuk melihat apakah terdapat perbedaan



antara kelompok data kontrol dan data uji. Hasil uji tanda dapat diinterpretasikan dengan bantuan tabel nilai R (Lampiran 5). Hasil analisis akan digunakan untuk mengambil kesimpulan apakah ekstrak kasar *Didemnum* sp. berperan sebagai *antifeedant* terhadap ikan karang. Statistika pengujian dilakukan dengan mengacu pada Djarwanto (2003: 30).



Gambar 3.5.5 Tali pengujian *antifeedant*

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

## BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Ekstraksi dan Kuantifikasi

Hasil pengamatan saat pengambilan sampel menunjukkan bahwa sampel *Didemnum* sp. sebagian besar hidup di atas substrat berupa terumbu karang dan tiang beton. Sampel-sampel yang berhasil dikoleksi memiliki berat basah total sebesar 530,5 gr dengan volume 1212 ml. Hasil ekstraksi *Didemnum* sp. berupa pasta kental berwarna hijau pekat (Gambar 4.1) dengan kode F35 (*shutter green*). Ekstrak kasar yang diperoleh telah dihilangkan kandungan garamnya dengan cara sentrifugasi (4500 rpm 15 menit). Sentrifugasi merupakan salah satu metode untuk menghilangkan garam yang relatif sederhana (Schupp 2000: 68).

Ekstrak kasar *Didemnum* sp. yang diperoleh dari 530,5 gr sampel adalah seberat 12,8 gr yang setara dengan 2,41 %. Persentase tersebut termasuk dalam kisaran rata-rata nilai persentase ekstrak kasar ascidia secara umum. Menurut Schupp (2000: 71) persentase ekstrak ascidia berada pada kisaran 1,5--15 %. Persentase ekstrak kasar suatu biota laut dapat berbeda tergantung spesies. Persentase spons *Callyspongia aerizusa* yang diteliti Fariska (2009: 26), sebagai contoh, berada pada kisaran 3,1--4,9 %. Penelitian Albuntana *dkk.* (2011: 57) dan Suriyanto (2010: 27) menunjukkan persentase ekstrak kasar teripang *Bohadschia marmorata*, *Actinopyga miliaris*, *Holothuria atra* dan *H. impatiens* secara berturut-turut adalah sebesar 3,2 %, 3,1 %, 1,7 %, dan 6,5 %. Penelitian Zou *dkk.* (2003: 1059) yang meneliti senyawaan triterpen dari ekstrak teripang *Mensamaria intercedens* menunjukkan bahwa persentase ekstrak kasar teripang tersebut adalah sebesar 0,06 %.

Ekstrak kasar ascidia merupakan metabolit sekunder yang secara umum diproduksi dalam jumlah sangat sedikit. Hasil persentase ekstrak kasar *Didemnum* sp. sesuai dengan teori tersebut. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang tidak berperan langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan sel, sehingga secara umum tidak dibutuhkan dalam jumlah banyak. Produksi metabolit sekunder juga membutuhkan unsur-unsur nutrisi serta membutuhkan

energi yang lebih, atau dengan kata lain produksi metabolit sekunder pada suatu organisme merupakan proses yang membutuhkan 'biaya ekstra' (Schultz 2011: 2). Menurut Herms dan Mattson (*lihat* Hay 1996: 114), produksi metabolit sekunder merupakan proses yang 'mahal' karena energi yang dibutuhkan untuk proses tersebut seharusnya dapat dialokasikan untuk perkembangan dan reproduksi. Fungsi metabolit sekunder bagi suatu organisme sangat efisien meski hanya diproduksi dalam jumlah sedikit (Taiz & Zeiger 1991: 320; Schultz 2011: 2).

Persentase ekstrak kasar suatu spesies dapat dijadikan tolok ukur bagi para ahli farmakologi jika ingin memanfaatkan ekstrak kasar tersebut. Nilai persentase tersebut dapat digunakan untuk mengetahui seberapa banyak sampel organisme yang harus diambil jika ingin menghasilkan ekstrak dalam jumlah tertentu. Pengambilan sampel tidak boleh berlebihan, harus disesuaikan dengan keperluan penelitian dan harus mengikuti prinsip konservasi. Sebagai contoh, jika ingin dilakukan penapisan metabolit sekunder maka sampel yang diambil tidak sebanyak sampel yang dibutuhkan untuk kepentingan isolasi dan elusidasi struktur dari suatu senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak kasar [Yasman, komunikasi pribadi, 1 Juni 2011].

Konsentrasi alami ekstrak kasar *Didemnum* sp. yang dikoleksi dalam penelitian ini adalah sebesar 10 mg/ml. Kuantifikasi dilakukan untuk menentukan berat ekstrak kasar yang harus dicampurkan dengan 2,5 gr pelet ikan dan 4,5 gr jeli dalam 207 ml air agar diperoleh konsentrasi yang sama dengan konsentrasi alaminya. Hasil kuantifikasi adalah dibutuhkan 2,1 gr ekstrak kasar *Didemnum* sp untuk membuat pelet uji. Perhitungan kuantifikasi dapat dilihat pada Lampiran 4.



Gambar 4.1 Ekstrak kasar *Didemnum* sp.  
berbentuk pasta

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

#### 4.2 Pengujian *Antifeedant*

Pengujian *antifeedant* dilakukan pada *dome biorock* yang terletak di bawah dermaga Restoran Nusa Keramba, Pulau Pramuka. Pemilihan lokasi tersebut dikarenakan faktor arus yang tenang sehingga meminimalisir kemungkinan lepasnya pelet dari tali polipropilen yang ditambatkan pada kerangka besi *biorock*. Pemberian pelet di waktu pagi dan sore hari dilakukan berdasarkan hasil pra-penelitian yang menunjukkan bahwa sebagian besar ikan karang pada lokasi pengujian sangat aktif pada waktu-waktu tersebut. Pemilihan lokasi pada pengujian *antifeedant* merupakan komponen yang penting untuk menjamin pengujian berjalan dengan baik (Matthew *dkk.* 2010: 1812).

Pra-penelitian dilakukan pada bulan April 2011 untuk melihat ketahanan pelet di lokasi pengujian dan untuk melihat berapa lama waktu yang dibutuhkan ikan-ikan karang untuk menghabiskan pelet pengujian (pelet kontrol). Hasil pra-penelitian menunjukkan bahwa pelet pengujian yang berbentuk kubus-kubus jeli dapat bertahan di bawah air selama satu jam, sedangkan ikan-ikan karang membutuhkan waktu kurang lebih 15 menit untuk menghabiskan sepuluh pelet kontrol. Hasil tersebut sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa untuk melakukan pengamatan uji *antifeedant* biasanya dibutuhkan waktu kurang dari

satu jam (Schupp 2000: 69). Peneliti memutuskan melakukan pengamatan dengan cara *diving* selama 30 menit saat pengambilan data untuk mengamati kondisi pelet uji apakah hilang dari tali karena dimakan ikan atau karena faktor lain.

Observasi sekilas setiap kali pengujian *antifeedant* yang dilakukan memperlihatkan kecenderungan ikan-ikan karang untuk memilih pelet kontrol daripada pelet uji. Hasil pengamatan uji *antifeedant* selama tujuh hari dapat dilihat pada Tabel 4.2(1).

Tabel 4.2(1) Hasil pengamatan uji *antifeedant*

Hari ke-	Jumlah pelet yang dimakan			
	Pagi		Sore	
	Kontrol	Uji	Kontrol	Uji
1.	4	5	10	1
2.	6	4	3	5
3.	0	1	10	10
4.	10	4	10	2
5.	10	3	10	4
6.	9	5	10	8
7.	10	5	10	3
<b>Total</b>	<b>49</b>	<b>27</b>	<b>63</b>	<b>33</b>

Data pada tabel tersebut memperlihatkan perbedaan jumlah pelet yang dimakan antara pagi dan sore hari. Jumlah pelet yang dimakan pada sore hari lebih banyak dibandingkan dengan jumlah pelet yang dimakan pada pagi hari. Perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan intensitas cahaya saat pagi dan sore hari, dimana intensitas cahaya lebih rendah pada sore hari (Didrikas & Hansson 2009: 392). Ikan-ikan karang cenderung menghindari cahaya yang terik pada pagi hari karena merasa mudah dideteksi oleh predator dan tidak menyukai cahaya yang terlalu silau (RBF 2011: 7).

Hasil pengamatan uji *antifeedant* dianalisis dengan menggunakan uji jumlah-jenjang Wilcoxon dengan menggunakan bantuan Tabel 4.2(2). Pengambilan keputusan untuk analisis data dilakukan dengan menggunakan tabel R dengan taraf kepercayaan sebesar 95 %. Hasil analisis data menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara jumlah pelet uji dan pelet kontrol yang tidak dimakan. Hasil analisis menunjukkan bahwa  $R_{hit} (32,5) < R_{tab0,05} (36)$ , yang

berarti  $H_0$  ditolak. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pelet uji kurang disukai oleh ikan karang yang berarti ekstrak kasar *Didemnum* sp. memiliki sifat *antifeedant*.

Tabel. 4.2(2) Tabel analisis data pengujian *antifeedant*

Hari ke-	Ulangan (jumlah pelet kontrol/pelet uji)	Jumlah pelet dimakan	
		Kontrol	Uji
1	20/20	14	6
2	20/20	9	9
3	20/20	10	11
4	20/20	20	6
5	20/20	20	7
6	20/20	19	13
7	20/20	20	8
<b>Total</b>		<b>112</b>	<b>60</b>

Ekosistem terumbu karang banyak dihuni oleh organisme-organisme bentos, termasuk *Didemnum* sp., yang cenderung memiliki tubuh lunak dan sesil meskipun tingkat predasi pada ekosistem tersebut tinggi. Mekanisme-mekanisme pertahanan diri yang dikembangkan organisme-organisme bentos tersebut meliputi: pertahanan kimiawi dengan metabolit sekunder, pertahanan fisik dengan struktur-struktur keras seperti cangkang atau duri, jaringan yang kuat sehingga sulit dilukai predator, dan mengisi jaringan dengan senyawa-senyawa yang tidak dapat dicerna atau tidak memiliki nilai nutrisi penting seperti air, selulosa atau kolagen. *Didemnum* sp. mengembangkan dua dari empat macam pertahanan tersebut yaitu dengan produksi metabolit sekunder dan memiliki selaput menyerupai selulosa pada permukaan tubuhnya (Chanas & Pawlik 1995: 195; Allen & Steene 2002: 249).

Senyawa *antifeedant* dapat tersebar secara merata maupun tidak merata pada suatu organisme. Spesies kipas laut (*gorgonia*), sebagai contoh *Pseudopterogorgia acerosa* dan *P. rigida*, memiliki akumulasi *antifeedant* pada bagian cabang-cabang yang mengeluarkan polip sebagai penolak ikan-ikan pemakan polip, namun tidak pada bagian titik percabangan (Schupp 2000: 20). Spesies-spesies *nudibranch* secara umum memproduksi metabolit sekunder kemudian mendistribusikan senyawa tersebut ke bagian tubuh yang paling rentan terhadap pemangsaan yaitu bagian mantel. Hal tersebut menyebabkan predator

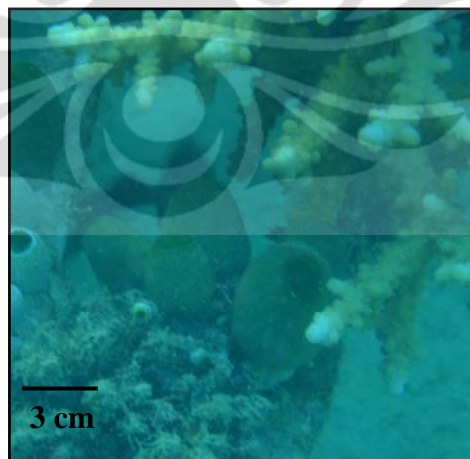
mengembangkan strategi makan, sebagai contoh, ikan generalis masih dapat memakan *nudibranch* dengan cara menyerang atau melukai bagian mantel sedikit demi sedikit hingga senyawa *antifeedant* yang terdapat pada bagian tersebut menjadi berkurang (Yasman 2006: 117). *Didemnum* sp. sendiri memiliki metabolit sekunder yang tersebar merata pada seluruh permukaan tubuhnya (Stoner 1990: 1687).

Senyawa *antifeedant* merupakan senyawa yang mampu menghentikan aktivitas makan herbivor atau predator. *Antifeedant* dapat bekerja secara langsung maupun tidak langsung, cepat maupun lambat. *Antifeedant* yang bekerja secara langsung secara umum bekerja dengan seketika membuat predator berhenti memakan organisme yang memiliki *antifeedant* tersebut, sedangkan yang tidak langsung menunjukkan efek setelah *antifeedant* tersebut dicerna (Carubba & Torre 2003: 1; Mayanti *dkk.* 2006: 1). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelet uji yang mengandung ekstrak kasar *Didemnum* sp. kurang disukai oleh ikan-ikan karang. Secara umum, ikan-ikan karang di lokasi pengujian memiliki kecenderungan untuk memakan pelet kontrol terlebih dahulu, baru kemudian mencoba pelet uji. Pelet-pelet uji masih dapat dimakan oleh beberapa ikan, namun sebagian besar ikan hanya menggigiti pelet beberapa kali kemudian pergi. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kasar mengandung *antifeedant* yang menyebabkan ikan berhenti memakan pelet-pelet uji. Hal tersebut juga menunjukkan bahwa *antifeedant* pada ekstrak *Didemnum* sp. bekerja secara tidak langsung. Hasil penelitian ini sesuai dengan beberapa penelitian *antifeedant* pada ascidia yang termasuk dalam genus *Didemnum*, antara lain penelitian Vervoort *dkk.* (1998: 221) dan penelitian Joullié *dkk.* (2003: 30).

Hal lain yang juga teramati selama pengamatan di lokasi pengujian adalah keberadaan individu-individu *Didemnum* sp. yang masih hidup. Individu-individu tersebut sama sekali tidak dimakan ikan (Gambar 4.2), padahal pelet-pelet uji yang mengandung ekstrak kasar ascidia tersebut masih dapat dimakan beberapa ikan. Ikan-ikan mungkin mencoba pelet uji karena menganggap pelet tersebut dapat dimakan seperti halnya pelet kontrol, tanpa mengetahui apa yang terkandung dalam pelet tersebut. Menurut Hay (1996: 103), pertahanan kimiawi sangat diperlukan oleh organisme-organisme terumbu dimana ikan-ikan generalis



mampu menyerang mangsa 150.000 kali/m<sup>2</sup>/hari dan mampu mengonsumsi hampir 100 % dari produktivitas harian yang tersedia. Meski demikian, pertahanan kimiawi (metabolit sekunder) suatu organisme tidak bekerja secara terpisah dari faktor biologi lainnya seperti morfologi mangsa, pertahanan dari individu lain di sekitar individu mangsa, atau simbiosis dengan individu atau spesies lain (Hay 1996: 103). Faktor-faktor tersebut mungkin menyebabkan *Didemnum* sp. di lokasi pengujian tidak dimangsa oleh ikan, di samping keberadaan metabolit sekunder yang tersebar pada permukaan tubuhnya. *Didemnum* sp. yang masih hidup memiliki bentuk atau warna yang kemungkinan tidak menarik bagi ikan-ikan karang. Menurut Vervoort *dkk.* (1998: 226), simbiosis *Didemnum* sp. dengan alga yang memberikan pigmentasi di seluruh permukaan tubuh ascidia mungkin menjadi peringatan warna yang menunjukkan rasa tidak enak sehingga ikan tidak memangsa ascidia. *Didemnum* sp. juga teramati mengeluarkan lendir sebagai bentuk pertahanan fisik ketika individu merasa terancam (Olson 1986: 437). Senyawaan dalam ekstrak kasar *Didemnum* sp. yang kemungkinan merupakan *antifeedant* antara lain tamandarin A, didemnin B, dan didemnimida D (Vervoort *dkk.* 1998: 221; Joullié *dkk.* 2003: 30).



Gambar 4.2 *Didemnum* sp. di lokasi pengujian

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

#### 4.2.1 Ikan Karang pada Lokasi Pengujian

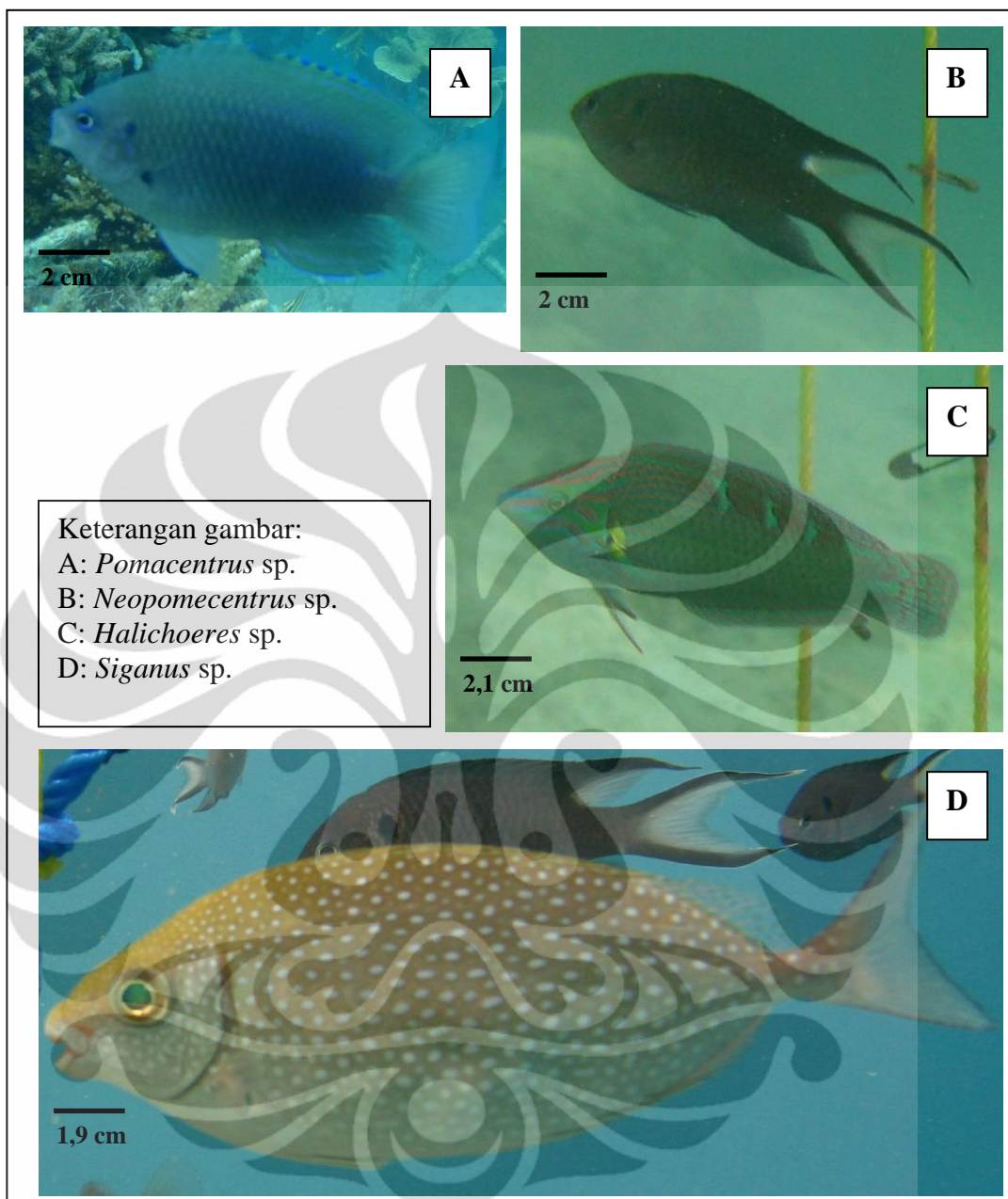
Ikan karang yang berenang di sekitar lokasi pengujian merupakan ikan-ikan diurnal. Ikan-ikan yang teramati pada saat pengujian diidentifikasi hingga takson genus dengan mengacu pada Kuitert (1992: 121, 123, 183, 251). Ikan-ikan yang berinteraksi dengan pelet pengujian selama penelitian *antifeedant* meliputi ikan betok *Neopomacentrus* sp. dan *Pomacentrus* sp., *Halichoeres* sp., dan ikan baronang *Siganus* sp. (Gambar 4.2.1). Ikan-ikan tersebut termasuk ikan generalis dimana ikan tersebut mencoba memakan mangsa apapun tanpa memilih secara spesifik (Choat 1982: 428). Spesies ikan yang terdapat pada lokasi pengujian tidak terbatas pada empat spesies yang telah disebutkan. Beberapa spesies lain hanya berenang di sekitar *biorock* dan teramati tidak mencoba mendekati atau memakan pelet pengujian.

Ikan-ikan yang mendekati pelet sebagian besar lebih menyukai memakan pelet kontrol, sedangkan pelet uji kurang disukai. Hal tersebut terlihat dari jumlah pelet uji yang tersisa pada tali pengujian. Preferensi ikan karang terhadap pelet kontrol sangat terlihat ketika pelet kontrol dan pelet uji ditambahkan secara bersamaan, dimana ikan-ikan yang teramati dengan segera memakan pelet-pelet kontrol. Secara umum, ikan-ikan di lokasi pengujian tetap mencoba memakan pelet uji karena mengira pelet uji sama seperti pelet kontrol, namun setelah beberapa gigitan ikan-ikan tersebut berhenti makan. Beberapa ikan yang memakan pelet uji teramati memuntahkan kembali pelet uji yang telah digigit. Ada pula ikan yang mampu menghabiskan satu pelet uji pada peniti tanpa tersisa, kemudian mulai memakan pelet uji yang lain, namun tidak dapat menghabiskan seluruh pelet uji yang ada. Ikan yang teramati memiliki aktivitas makan demikian adalah ikan baronang *Siganus* sp. Hasil-hasil pengamatan tersebut mendukung asumsi bahwa ekstrak kasar *Didemnum* sp. yang terkandung dalam pelet uji merupakan *antifeedant* yang tidak disukai predator (Lindquist *dkk.* 1992: 547).

Metode uji *antifeedant* di lapangan yang pernah dilakukan peneliti-peneliti lain, secara umum, tidak mengamati kondisi pelet secara rinci selama waktu pengujian. Pelet-pelet pengujian hanya diletakkan pada terumbu, kemudian setelah waktu pengujian habis, pelet yang tersisa dicatat. Sebagai contoh,

Vervoort *dkk.* (1998: 226) menjelaskan bahwa dalam uji *antifeedant* yang dilakukannya, mereka tidak mengamati pelet pengujian yang diletakkan di laut, sehingga digunakan asumsi bahwa pelet hilang dari lokasi pengujian karena dimakan predator. Peneliti memutuskan untuk mengamati kondisi pelet pengujian pada penelitian ini untuk meminimalisir ketidakpastian data pelet yang dimakan.

Ikan-ikan karang selama pengujian menunjukkan habituasi terhadap waktu pemberian makanan yang peneliti lakukan. Hal tersebut terlihat dari perilaku ikan-ikan tersebut yang terlihat sejak hari keempat pengujian, yaitu mulai memakan pelet kontrol bahkan sebelum tali-tali pengujian selesai ditambatkan. Ikan-ikan yang paling banyak teramati memakan pelet pengujian adalah ikan-ikan *Neopomacentrus* sp. dan *Pomacentrus* sp. Ikan-ikan tersebut memang merupakan ikan yang paling banyak ditemukan di sekitar lokasi pengujian *antifeedant* dan tidak takut dengan keberadaan peneliti. Ikan-ikan tersebut dapat dijadikan hewan uji *antifeedant* yang baik jika ingin dilakukan uji di laboratorium karena ikan-ikan tersebut cukup responsif (memberikan reaksi dalam waktu singkat) jika diberikan perlakuan.



Gambar. 4.2.1 Ikan-ikan di lokasi pengujian

[Sumber: Dokumentasi pribadi]

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Ekstrak kasar ascidia *Didemnum* sp. memiliki fungsi *antifeedant* terhadap ikan karang pada konsentrasi alaminya yaitu sebesar 10 mg/ml. Ekstrak kasar *Didemnum* sp. mampu menghambat predasi ikan *Neopomacentrus* sp., *Pomacentrus* sp., *Halichoeres* sp., dan *Siganus* sp. yang merupakan spesies-spesies yang banyak ditemukan pada lokasi pengujian.

#### **5.2 Saran**

Perlu dilakukan identifikasi senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak kasar *Didemnum* sp. untuk diteliti lebih lanjut senyawa mana yang memiliki fungsi *antifeedant* terhadap ikan karang tersebut.

## DAFTAR REFERENSI

- Abrar, M. & A. E. W. Manuputty. 2008. Terumbu karang perairan Berau, Kalimantan Timur. 2 hlm.  
[http://www.limnologi.lipi.go.id/limnologi/p2limnologi/index.php?view=article&catid=87%3Avol-34-1&id=287%3Aterumbu-karang-perairan-beraukalimantan-timur&format=pdf&option=com\\_content&Itemid=69&lang=en](http://www.limnologi.lipi.go.id/limnologi/p2limnologi/index.php?view=article&catid=87%3Avol-34-1&id=287%3Aterumbu-karang-perairan-beraukalimantan-timur&format=pdf&option=com_content&Itemid=69&lang=en), 13 Februari 2011, pk. 05.59.
- Albuntana, A., Yasman & W. Wardhana. 2011. Uji toksisitas ekstrak empat jenis teripang suku Holothuriidae dari Pulau Penjaliran Timur Taman Nasional Kepulauan Seribu Jakarta menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. **3**(1): 52--62.
- Allen, G. R. & R. Steene. 2002. *Indo-Pacific coral reef field guide*. Tropical Reef Research, Singapura: v + 378 hlm.
- Avilov, S. A., A. S. Antonov, O. A. Drozdova, V. I. Kalinin, A. I. Kalinovsky, V. A. Stonik, R. Riguera, L. A. Lenis & C. Jiménez. 2000. Triterpene glycosides from the far-eastern sea cucumber *Pentamera calcigera*. 1. monosulfated glycosides and cytotoxicity of their unsulfated derivatives. *J. Nat. Prod.* **63**(1): 65--71.
- Avilov, S. A., A. S. Antonov, A. S. Silchenko, V. I. Kalinin, A. I. Kalinovsky, P. S. Dmitrenok, V. A. Stonik, R. Riguera & C. Jiménez. 2003. Triterpene glycosides from the far eastern sea cucumber *Cucumaria conicospermium*. *J. Nat. Prod.* **66**(7): 910--916.
- Bastedo, W. A. 2010. Alkaloids. 22 Oktober: 4 hlm.  
<http://chestofbooks.com/health/materia-medica-drugs/Pharmacology-Therapeutics-Prescription-Writing/2-Alkaloids.html>, 18 Juni 2011, pk. 21.43.
- Boyer, M. 2006. Urn ascidia. 1 hlm. [http://www.seadb.net/en\\_Urn-ascidia-Didemnum-molle\\_265.htm](http://www.seadb.net/en_Urn-ascidia-Didemnum-molle_265.htm), 16 Februari 2011, pk. 18.37.
- Burns, E., I. Ifrach, S. Carmeli, J. R. Pawlik & M. Ilan. 2003. Comparison of anti-predatory defenses of Red Sea and Caribbean sponges. I. Chemical defense. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **252**: 105--114.



- Carr, S. M. 2010. The origin of evolutionary novelty. 4 hlm.  
[http://www.mun.ca/biology/scarr/2900\\_Evolutionary\\_novelty.html](http://www.mun.ca/biology/scarr/2900_Evolutionary_novelty.html),  
13 Februari 2011, pk. 08.02.
- Carubba & Torre. 2003. Antifeedant activity in herbaceous Mediterranean plants.  
1 hlm. <http://www.ienica.net/italyseminar/posters/greenchem/carrubba.pdf>,  
17 Februari 2011, pk. 18.45.
- Chanas, B. & J. R. Pawlik. 1995. Defenses of Caribbean sponges against  
predatory reef fish. II. spicules, tissue toughness, and nutritional quality. *Mar.  
Ecol. Prog. Ser.* **127**: 195--211.
- Choat, J. H. 1982. Fish feeding and the structure of benthic communities in  
temperate waters. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **13**: 423--449.
- Cohen, A. N. 2005. Guide to the exotic species of San Francisco Bay. 7 Juni:  
4 hlm. [http://www.sfu.ca/bisc/bisc-842/michael/web\\_page/antifeed.htm](http://www.sfu.ca/bisc/bisc-842/michael/web_page/antifeed.htm),  
16 Februari 2011, pk. 18.40.
- Cornellius, W. W., T. Akeng'a, G. O. Obiero & K. P. Lutta. 2009. Antifeedant  
activities of the erythrinaline alkaloids from *Erythrina latissima* against  
*Spodoptera littoralis* (Lepidoptera noctuidae). *Rec. Nat. Prod.* **3**(2): 96--103.
- Cowan, M. E. 1981. Field observations of colony movement and division of the  
ascidia *Didemnum molle*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **6**: 335--337.
- Dadang & K. Ohsawa. 2000. Penghambatan aktivitas makan larva *Plutella  
xylostella* (L). (Lepidoptera: Yponomeutidae) yang diperlakukan ekstrak biji  
*Swietenia mahogani* Jacq. (Meliaceae). *Buletin HPT* **12**(1): 27--32.
- Dridikas, T. & S. Hansson. 2009. Effects of light intensity on activity and pelagic  
dispersion of fish: studies with a seabed-mounted echosounder. *ICES Journal  
of Marine Science* **66**: 388--395.
- Djarwanto, Ps. 2003. *Statistik nonparametrik*. Badan Penerbit Fakultas Ekonomi  
Universitas Surakarta, Yogyakarta: vi + 114 hlm.
- Donia, M. S., B. Wang, D. C. Dunbar, P. V. Desai, A. Patny, M. Avery & M. T.  
Hamann. 2008. Mollamides b and c, cyclic hexapeptides from the Indonesian  
tunicate *Didemnum molle*. *J. Nat. Prod.* **71**(6): 941--945.



- Fariska, Y. 2009. Studi ekologi senyawaan spons *Callyspongia aerizusa* Desqueyroux-Faundez, 1984 dari Kepulauan Seribu, Jakarta. Skripsi S1 Departemen Biologi FMIPA UI, Depok: viii + 83 hlm.
- GoogleMaps. 2011. Pulau Pramuka. 1 hlm.  
<http://maps.google.co.id/maps?hl=id&tab=wl>, 13 Juni 2011, pk. 22.00.
- Hay, M. E. 1996. Marine chemical ecology: what's known and what's next?. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **200**: 103--134.
- Hussain, S. M. & G. Ananthan. 2009. Antimicrobial activity of the crude extracts of compound ascidians, *Didemnum candidum* and *Didemnum psammathodes* (tunicata: Didemnidae) from Mandapam (south east coast of India). *Curr. Res. J. Biol. Sci.* **1**(3): 168--171.
- Issa, H. H., J. Tanaka, R. Rachmat, A. Setiawan, A. Trianto & T. Higa. 2005. Polycitorols A and B, new tricyclic alkaloids from an ascidia. *Mar. Drugs* **3**: 78--83.
- Joullié, M. M., M. S. Leonard, P. Portonovo, B. Liang, X. Ding & J. J. la Clair. 2003. Chemical defense in ascidians of the didemnidae family. *Bioconjug. Chem.* **14**(1): 30--37.
- Kuiter, R. H. 1992. *Tropical reef-fishes of the western Pacific: Indonesia and adjacent waters*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta: xiii + 314 hlm.
- Lang, C. 1994. A comparison of terrestrial and marine chemical ecology. *Chem. Ecol.* **EN570**: 1--7.
- Lindquist, N., M. E. Hay & W. Fenical. 1992. Defense of ascidians and their conspicuous larvae: Adult vs. larval chemical defenses. *Ecological Monographs* **62**(4): 547--568.
- Matthew, S., R. Ratnayake, M. A. Becerro, R. Ritson-Williams, V. J. Paul & H. Luesch. 2010. Intramolecular modulation of serine protease inhibitor activity in marine cyanobacterium with antifeedant properties. *Mar. Drugs* (8): 1803--1816.
- Mayanti, T, W. Hermawan, Nurlelasari & D. Harneti. 2006. Senyawa antifeedant dari biji kokossan (*Lansium domesticum* corr var. kokossan), hubungan struktur kimia dengan aktivitas antifeedant (tahap II). Laporan penelitian Universitas Padjadjaran, Bandung: 20 hlm.

- Mike. 2007. Tuesday botrylloid ascidia blogging. 17 Juli: 14 hlm.  
[http://scienceblogs.com/mikethemadbiologist/2007/07/tuesday\\_botrylloid\\_ascidia\\_bl.php](http://scienceblogs.com/mikethemadbiologist/2007/07/tuesday_botrylloid_ascidia_bl.php), 13 Februari 2011, pk. 08.00.
- Murugan, A. & M. S. Ramasamy. 2003. Biofouling deterrent activity of the natural product from ascidia, *Distaplia nathensis* [Chordata]. *Indian J. Mar. Sci.* **32**(2): 162--164.
- OEF (Oracle Education Foundation). 2010. Phylum Chordata. 25 Agustus: 19 hlm. <http://library.thinkquest.org/26153/marine/chordata.htm>, 17 Januari 2011, pk. 13.58.
- Olson, R. R. 1986. Light-enhanced growth of the ascidia *Didemnum molle*/Prochloron sp. symbiosis. *Mar. Biol.* **93**: 437--442.
- Ramasamy, M. S. & A. Murugan. 2003. Chemical defense in ascidians *Eudistoma viride* and *Didemnum psammathodes* in Tuticorin, southeast coast of India: Bacterial epibiosis and fouling deterrent activity. *Indian J. Mar. Sci.* **32**(4): 337--339.
- RBBF (Recreational Boating & Fishing Foundation). 2011. Finding saltwater fish. 8 hlm. <http://www.takemefishing.org/fishing/saltwater-fishing/where-to-fish/factors-for-finding-saltwater-fish>, 5 Juli 2011, pk. 23.00.
- Schultz, J. C. 2011. Herbivory and plant defenses. 2 hlm.  
<http://www.biologyreference.com/Gr-Hi/Herbivory-and-Plant-Defenses.html>, 30 Mei 2011, pk. 03.58.
- Schupp, P. 2000. Structure elucidation, biological activity and ecology of secondary metabolites from Micronesian marine invertebrates. Disertasi Pasca-Sarjana S3 Bayerischen Julius-Maximilians-Universität, Würzburg: viii + 202 hlm.
- Sivaperumal, P., G. Ananthan & S. M. Hussain. 2010. Exploration of antibacterial effects on the crude extract of marine ascidia *Aplidium multiplicatum* against clinical isolates. *Int. J. Med. Med. Sci.* **2**(12): 382--386.
- Stoner, D. S. 1990. Recruitment of a tropical colonial ascidia: Relative importance of pre-settlement vs. post-settlement processes. *Ecology* **71**(5): 1682--1690.
- Suriyanto. 2010. Uji toksisitas ekstrak teripang (*Holothuria* spp.) dari Pulau Penjaliran Timur Taman Nasional Kepulauan Seribu Jakarta menggunakan

- Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Skripsi Sarjana S1 Departemen Biologi FMIPA UI, Depok: xiii + 55 hlm.
- Taiz, L. & E. Zeiger. 1991. *Plant physiology*. Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., New York: 559 hlm.
- Vervoort, H. C., J. R. Pawlik & W. Fenical. 1998. Chemical defense of the Caribbean ascidian *Didemnum conchyliatum*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **164**: 221--228.
- Wright, A. E. 1998. Isolation of marine natural products. *Dalam*: Cannel, R.J.P. (ed.). 1998. *Methods in biotechnology: Natural products isolation*. Humana Press Inc., New Jersey: 365--408.
- Yasman. 2006. Structure elucidation, biological activity, and ecology of terpene isocyanides from Phyllidiid species (nudibranchia) and their sponge-preys from the Thousand Islands National Park, Indonesia. Disertasi Pasca-Sarjana S3 FMIPA Heinrich-Heine Universität, Düsseldorf: xxii + 164 hlm.
- Zou, Z., Y. Yi, H. Wu, J. Wu, C. Liaw & K. Lee. 2003. Intercedensides A-C, three new cytotoxic triterpene glycosides from the sea cucumber *Mensamaria intercedens* Lampert. *J. Nat. Prod.* **66**(8): 1055--1060.

## Lampiran 1

## Komposisi Nutrijell [Sumber: Dokumentasi pribadi]



## Lampiran 2

## Komposisi pelet ikan laut komersial [Sumber: Dokumentasi pribadi]



Universitas Indonesia

## Lampiran 3

Standar warna ACE PAINT [Sumber: Dokumentasi pribadi]



Lampiran 4  
Perhitungan kuantifikasi

- Penentuan volume air yang digunakan untuk pembuatan pelet pengujian (2,5 gr pelet komersial + 4,5 gr serbuk jeli)

Berat bersih 1 kemasan Nutrijell : 15 gr

Volume penyajian 1 kemasan Nutrijell : 700 mL

berarti 1 gr serbuk jeli  $\approx$  46 mL air, maka 4,5 gr serbuk jeli  $\approx$  207 mL air

- Kuantifikasi berat ekstrak yang digunakan untuk pembuatan pelet uji

$\frac{\text{gr ekstrak kasar keseluruhan}}{\text{volume sampel keseluruhan}} = \frac{\text{gr ekstrak kasar dalam pelet}}{\text{volume jeli dan makanan ikan}}$
--

$$\frac{12,8 \text{ gr}}{1212 \text{ mL}} = \frac{\text{berat ekstrak}}{207 \text{ mL}} \longrightarrow 2,1 \text{ gr}$$



Lampiran 5  
 Tabel nilai R untuk uji jumlah-jenjang Wilcoxon  
 [Sumber: Djarwanto 2003: 101]

**Tabel III**  
**Tabel Nilai R**  
**Untuk Uji Jumlah Jenjang Wilcoxon**

$n_1$	$n_2$	$\alpha=$ 0,05	$\alpha=$ 0,01	$n_1$	$n_2$	$\alpha=$ 0,05	$\alpha=$ 0,01	$n_1$	$n_2$	$\alpha=$ 0,05	$\alpha=$ 0,01	$n_1$	$n_2$	$\alpha=$ 0,05	$\alpha=$ 0,01
2	8	3	-	5	6	18	16	8	11	35	49	12	13	119	109
2	9	3	-	5	7	20	16	8	12	58	51	12	14	123	112
2	10	3	-	5	8	21	17	8	13	60	53	12	15	127	115
2	11	3	-	5	9	22	18	8	14	62	54	12	16	131	119
2	12	4	-	5	10	23	19	8	15	65	56	12	17	135	122
2	13	4	-	5	11	24	20	8	16	67	58	12	18	139	125
2	14	4	-	5	12	26	21	8	17	70	60	12	19	143	129
2	15	4	-	5	13	27	22	8	18	72	62	12	20	147	132
2	16	4	-	5	14	28	22	8	19	74	64	13	13	136	125
2	17	5	-	5	15	29	23	8	20	77	66	13	14	141	129
2	18	5	-	5	16	30	24	9	9	62	56	13	15	145	133
2	19	5	3	5	17	32	25	9	10	65	58	13	16	150	136
2	20	5	3	5	18	33	26	9	11	68	61	13	17	154	140
3	5	6	-	5	19	34	27	9	12	71	63	13	18	158	144
3	6	7	-	5	20	35	28	9	13	73	65	13	19	163	148
3	7	7	-	6	6	26	23	9	14	76	67	13	20	167	151
3	8	8	-	6	7	27	24	9	15	79	69	14	14	160	147
3	9	8	6	6	8	29	25	9	16	82	72	14	15	164	151
3	10	9	6	6	9	31	26	9	17	84	74	14	16	169	155
3	11	9	6	6	10	32	27	9	18	87	76	14	17	174	159
3	12	10	7	6	11	34	28	9	19	90	78	14	18	179	163
3	13	10	7	6	12	35	30	9	20	93	81	14	19	183	168
3	14	11	7	6	13	37	31	10	10	78	71	14	20	188	172
3	15	11	8	6	14	38	32	10	11	81	73	15	15	184	171
3	16	12	8	6	15	40	33	10	12	84	76	15	16	190	175
3	17	12	8	6	16	42	34	10	13	88	79	15	17	195	180
3	18	13	8	6	17	43	36	10	14	91	81	15	18	200	184
3	19	13	9	6	18	45	37	10	15	94	84	15	19	205	189
3	20	14	9	6	19	46	38	10	16	97	86	15	20	210	193
4	4	10	-	6	20	48	39	10	17	100	89	16	16	211	196
4	5	11	-	7	7	36	32	10	18	103	92	16	17	217	201
4	6	12	10	7	8	38	34	10	19	107	94	16	18	222	206
4	7	13	10	7	9	40	35	10	20	110	97	16	19	228	210
4	8	14	11	7	10	42	37	11	11	96	87	16	20	234	215
4	9	14	11	7	11	44	38	11	12	99	90	17	17	240	223
4	10	15	12	7	12	46	40	11	13	103	93	17	18	246	228
4	11	16	12	7	13	48	41	11	14	106	96	17	19	252	234
4	12	17	13	7	14	50	43	11	15	110	99	17	20	258	239
4	13	18	13	7	15	52	44	11	16	113	102	18	18	270	252
4	14	19	14	7	16	54	46	11	17	117	105	18	19	277	258
4	15	20	15	7	17	56	47	11	18	121	108	18	20	283	263
4	16	21	15	7	18	58	49	11	19	124	111	19	19	303	283
4	17	21	16	7	19	60	50	11	20	128	114	19	20	309	289
4	18	22	16	7	20	62	52	12	12	115	105	20	20	337	315
4	19	23	17	8	8	49	53	-	-	-	-	-	-	-	-
4	20	24	18	8	9	51	45	-	-	-	-	-	-	-	-
5	5	17	15	8	10	53	47	-	-	-	-	-	-	-	-



Lampiran 6  
Analisa data pengujian *antifeedant* dengan uji jumlah-jenjang Wilcoxon

$H_0$  = Mean kedua populasi sama

$H_1$  = Mean kedua populasi berbeda

Ekstrak kasar *Didemnum* sp.

**Jumlah Pelet Dimakan**

Hari ke-	Kontrol (x)	R1	Perlakuan (y)	R2
1	14	10	6	1.5
2	9	5.5	9	5.5
3	10	7	11	8
4	20	13	6	1.5
5	20	13	7	3
6	19	11	13	9
7	20	13	8	4
$\Sigma$		72.5		32.5

$\Sigma R_{hit}$  terkecil = 32,5

$R_{tab} = R_{7.7 0.05} = 36$

Pengambilan keputusan:

Terima  $H_0$  bila  $R_{hit} \geq R_{tab}$

Tolak  $H_0$  bila  $R_{hit} < R_{tab}$

$R_{hit} < R_{tab 0.05}$ ,  $H_0$  ditolak yang berarti mean kedua populasi berbeda

→ **Terdapat perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok uji.**

## Lampiran 1

## Komposisi Nutrijell [Sumber: Dokumentasi pribadi]



## Lampiran 2

## Komposisi pelet ikan laut komersial [Sumber: Dokumentasi pribadi]



Universitas Indonesia

## Lampiran 3

Standar warna ACE PAINT [Sumber: Dokumentasi pribadi]



Lampiran 4  
Perhitungan kuantifikasi

- Penentuan volume air yang digunakan untuk pembuatan pelet pengujian (2,5 gr pelet komersial + 4,5 gr serbuk jeli)

Berat bersih 1 kemasan Nutrijell : 15 gr

Volume penyajian 1 kemasan Nutrijell : 700 mL

berarti 1 gr serbuk jeli  $\approx$  46 mL air, maka 4,5 gr serbuk jeli  $\approx$  207 mL air

- Kuantifikasi berat ekstrak yang digunakan untuk pembuatan pelet uji

$\frac{\text{gr ekstrak kasar keseluruhan}}{\text{volume sampel keseluruhan}} = \frac{\text{gr ekstrak kasar dalam pelet}}{\text{volume jeli dan makanan ikan}}$
--

$$\frac{12,8 \text{ gr}}{1212 \text{ mL}} = \text{berat ekstrak} \longrightarrow 2,1 \text{ gr}$$



Lampiran 5  
 Tabel nilai R untuk uji jumlah-jenjang Wilcoxon  
 [Sumber: Djarwanto 2003: 101]

**Tabel III**  
**Tabel Nilai R**  
**Untuk Uji Jumlah Jenjang Wilcoxon**

$n_1$	$n_2$	$\alpha=$ 0,05	$\alpha=$ 0,01	$n_1$	$n_2$	$\alpha=$ 0,05	$\alpha=$ 0,01	$n_1$	$n_2$	$\alpha=$ 0,05	$\alpha=$ 0,01	$n_1$	$n_2$	$\alpha=$ 0,05	$\alpha=$ 0,01
2	8	3	-	5	6	18	16	8	11	35	49	12	13	119	109
2	9	3	-	5	7	20	16	8	12	58	51	12	14	123	112
2	10	3	-	5	8	21	17	8	13	60	53	12	15	127	115
2	11	3	-	5	9	22	18	8	14	62	54	12	16	131	119
2	12	4	-	5	10	23	19	8	15	65	56	12	17	135	122
2	13	4	-	5	11	24	20	8	16	67	58	12	18	139	125
2	14	4	-	5	12	26	21	8	17	70	60	12	19	143	129
2	15	4	-	5	13	27	22	8	18	72	62	12	20	147	132
2	16	4	-	5	14	28	22	8	19	74	64	13	13	136	125
2	17	5	-	5	15	29	23	8	20	77	66	13	14	141	129
2	18	5	-	5	16	30	24	9	9	62	56	13	15	145	133
2	19	5	3	5	17	32	25	9	10	65	58	13	16	150	136
2	20	5	3	5	18	33	26	9	11	68	61	13	17	154	140
3	5	6	-	5	19	34	27	9	12	71	63	13	18	158	144
3	6	7	-	5	20	35	28	9	13	73	65	13	19	163	148
3	7	7	-	6	6	26	23	9	14	76	67	13	20	167	151
3	8	8	-	6	7	27	24	9	15	79	69	14	14	160	147
3	9	8	6	6	8	29	25	9	16	82	72	14	15	164	151
3	10	9	6	6	9	31	26	9	17	84	74	14	16	169	155
3	11	9	6	6	10	32	27	9	18	87	76	14	17	174	159
3	12	10	7	6	11	34	28	9	19	90	78	14	18	179	163
3	13	10	7	6	12	35	30	9	20	93	81	14	19	183	168
3	14	11	7	6	13	37	31	10	10	78	71	14	20	188	172
3	15	11	8	6	14	38	32	10	11	81	73	15	15	184	171
3	16	12	8	6	15	40	33	10	12	84	76	15	16	190	175
3	17	12	8	6	16	42	34	10	13	88	79	15	17	195	180
3	18	13	8	6	17	43	36	10	14	91	81	15	18	200	184
3	19	13	9	6	18	45	37	10	15	94	84	15	19	205	189
3	20	14	9	6	19	46	38	10	16	97	86	15	20	210	193
4	4	10	-	6	20	48	39	10	17	100	89	16	16	211	196
4	5	11	-	7	7	36	32	10	18	103	92	16	17	217	201
4	6	12	10	7	8	38	34	10	19	107	94	16	18	222	206
4	7	13	10	7	9	40	35	10	20	110	97	16	19	228	210
4	8	14	11	7	10	42	37	11	11	96	87	16	20	234	215
4	9	14	11	7	11	44	38	11	12	99	90	17	17	240	223
4	10	15	12	7	12	46	40	11	13	103	93	17	18	246	228
4	11	16	12	7	13	48	41	11	14	106	96	17	19	252	234
4	12	17	13	7	14	50	43	11	15	110	99	17	20	258	239
4	13	18	13	7	15	52	44	11	16	113	102	18	18	270	252
4	14	19	14	7	16	54	46	11	17	117	105	18	19	277	258
4	15	20	15	7	17	56	47	11	18	121	108	18	20	283	263
4	16	21	15	7	18	58	49	11	19	124	111	19	19	303	283
4	17	21	16	7	19	60	50	11	20	128	114	19	20	309	289
4	18	22	16	7	20	62	52	12	12	115	105	20	20	337	315
4	19	23	17	8	8	49	53	-	-	-	-	-	-	-	-
4	20	24	18	8	9	51	45	-	-	-	-	-	-	-	-
5	5	17	15	8	10	53	47	-	-	-	-	-	-	-	-

Lampiran 6  
Analisa data pengujian *antifeedant* dengan uji jumlah-jenjang Wilcoxon

$H_0$  = Mean kedua populasi sama

$H_1$  = Mean kedua populasi berbeda

Ekstrak kasar *Didemnum* sp.

**Jumlah Pelet Dimakan**

Hari ke-	Kontrol (x)	R1	Perlakuan (y)	R2
1	14	10	6	1.5
2	9	5.5	9	5.5
3	10	7	11	8
4	20	13	6	1.5
5	20	13	7	3
6	19	11	13	9
7	20	13	8	4
$\Sigma$		72.5		32.5

$\Sigma R_{hit}$  terkecil = 32,5

$R_{tab} = R_{7.7 0.05} = 36$

Pengambilan keputusan:

Terima  $H_0$  bila  $R_{hit} \geq R_{tab}$

Tolak  $H_0$  bila  $R_{hit} < R_{tab}$

$R_{hit} < R_{tab 0.05}$ ,  $H_0$  ditolak yang berarti mean kedua populasi berbeda

→ **Terdapat perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok uji.**