

**EFEKTIFITAS ALKALOID UBUR-UBUR (*Bougainvillia* sp)
YANG DIBERIKAN MELALUI PAKAN TERHADAP JUMLAH BAKTERI
Vibrio spp. PADA IKAN KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*)**

**SKRIPSI
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
BUDIDAYA PERAIRAN**

**OLEH:
NAFIS MUTHMAINNAH
0210850046**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN**

MALANG

2006

**EFEKTIFITAS ALKALOID UBUR-UBUR (*Bougainvillia* sp)
YANG DIBERIKAN MELALUI PAKAN TERHADAP JUMLAH BAKTERI**

***Vibrio* spp. PADA IKAN KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*)**

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan pada
Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang

**OLEH :
NAFIS MUTHMAINNAH
0210850046**

MENGETAHUI,

KETUA JURUSAN MSP

Ir. ABDUL QOID, MS

Tanggal:

MENYETUJUI,

DOSEN PEMBIMBING I

Ir. SRI ANDAYANI, MS.

Tanggal :

DOSEN PEMBIMBING II

Ir. H. SYAMSUDDIN D.

Tanggal



**EFEKTIFITAS ALKALOID UBUR-UBUR (*Bougainvillia* sp)
TERHADAP PENURUNAN JUMLAH BAKTERI *Vibrio* spp. PADA IKAN
KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*)**

**SKRIPSI
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
BUDIDAYA PERAIRAN**

**OLEH:
NAFIS MUTHMAINNAH
0210850046**



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERIKANAN

MALANG

2007

**EFEKTIFITAS ALKALOID UBUR-UBUR (*Bougainvillia* sp.)
TERHADAP PENURUNAN JUMLAH BAKTERI *Vibrio* spp. PADA IKAN
KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*)**

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan pada
Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang

OLEH :
NAFIS MUTHMAINNAH
0210850046

DOSEN PENGUJI I

(Dr. Ir. MAFTUCH, MSi.)
Tanggal:

DOSEN PENGUJI II

(Ir. MARSOEDI, PhD.)
Tanggal:

MENYETUJUI,

DOSEN PEMBIMBING I

(Ir. SRI ANDAYANI, MS.)
Tanggal:

DOSEN PEMBIMBING II

(Ir. H. SYAMSUDDIN D.)
Tanggal:

MENGETAHUI,

KETUA JURUSAN MSP

(Ir. MAHENO SRI WIDODO, MS.)
Tanggal:

RINGKASAN

NAFIS MUTHMAINNAH. Efektifitas alkaloid Ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) terhadap penurunan jumlah bakteri *Vibrio* spp. pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). (dibawah bimbingan **Ir. SRI ANDAYANI, MS** dan **Ir. H. SYAMSUDDIN DALIMUNTHE**).

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama Penyakit dan Lingkungan BBAP Situbondo dari tanggal 17 Desember 2006 s/d 28 Pebruari 2007.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah pemberian imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. dapat berpengaruh terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. yang menginfeksi insang dan limpa ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*).

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam penggunaan dosis alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. yang efektif sebagai bahan imunostimulan yang diberikan pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) melalui pakan.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, yaitu mengadakan serangkaian kegiatan percobaan untuk melihat suatu hasil yang dapat menegaskan bagaimana hubungan kausal antara variabel yang diselidiki. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) empat perlakuan dan dua kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah perbedaan dosis alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. sebagai imunostimulan, yakni dosis A 0,5gr alkaloid/kg pakan, dosis B 0,75gr alkaloid/kg pakan, dosis C 1gr alkaloid/kg pakan, dan dosis D 1,25gr alkaloid/kg pakan.

Hasil penelitian menjelaskan bahwa pemberian imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. berpengaruh sangat nyata terhadap penurunan jumlah koloni

bakteri *Vibrio* spp. pada insang dan limpa ikan kerapu macan. Pemberian imunostimulan alkaloid pada dosis 1,25 gr/kg pakan dapat menekan jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. pada insang ikan kerapu macan pada hari 1x24 jam sebesar $4,9 \times 10^5$ cfu/ml, sedangkan pada hari 3x24 jam sebesar $2,4 \times 10^5$ cfu/ml dan untuk hari 5x24 jam sebesar $0,065 \times 10^5$ cfu/ml, pada limpa ikan kerapu macan pada dosis 1,25 gr alkaloid/kg pakan dapat berpengaruh terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. sebesar $0,075 \times 10^5$ cfu/ml.

Efektifitas pemberian imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. dengan dosis 1,25 gr alkaloid/kg pakan ternyata dapat menekan jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. pada insang ikan kerapu macan sebesar 97,29%, sedangkan pada limpa ikan kerapu macan sebesar 96,88%.

Adapun nilai kisaran kualitas air pada media pemeliharaan ikan kerapu macan selama penelitian adalah: suhu 24,5-29,3 °C; DO 4-6,9 mg/l; salinitas 30-37 ppt; pH 7-8,10; amoniak 0,08-0,1925 ppm.

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT yang dengan rahmat dan hidayah-Nya penulisan laporan skripsi ini dapat terselesaikan. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.

Atas terselesaikannya laporan skripsi ini penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

- ❖ Ibu Ir. Sri Andayani, MS. selaku Dosen Pembimbing I
- ❖ Bapak Ir. H. Syamsuddin D. selaku Dosen Pembimbing II

Atas segala petunjuk dan bimbingannya sejak penyusunan usulan penelitian sampai dengan selesainya penyusunan laporan skripsi ini.

- ❖ Bapak Ir. Slamet Subyakto, M.Si. selaku Kepala Balai Budidaya Air Payau Situbondo, beserta staf yang telah memberikan fasilitas selama penelitian.
- ❖ Ibu Yuliana Prasetyaningsih selaku Pembimbing Lapang yang telah memberikan bimbingan selama penelitian.
- ❖ Bapak Dr. Ir. Maftuch, Msi. selaku Dosen Penguji I
- ❖ Bapak Ir. Marsoedi, PhD. selaku Dosen Penguji II

Malang, Juni 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Kegunaan Penelitian	4
1.5 Hipotesis	4
1.6 Tempat dan Waktu	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Ikan Kerapu (<i>Epinephelus fuscoguttatus</i>)	6
2.1.1 Habitat dan Klasifikasi Ikan Kerapu	6
2.1.2 Morfologi Ikan Kerapu	7
2.1.3 Daerah Penyebaran	7
2.1.4 Perkembangan Larva.....	8
2.1.5 Kualitas Air	10
2.2 <i>Vibrio harveyi</i>	11
2.2.1 Klasifikasi	11
2.2.2 Biologi.....	12
2.3 <i>Bougainvillia sp.</i>	15
2.3.1 Klasifikasi	15
2.3.2 Biologi.....	15
2.4 Alkaloid dari Ekstrak Ubur-ubur (<i>Bougainvillia sp.</i>)	18
2.4.1 Alkaloid dari Ekstrak Ubur-ubur (<i>Bougainvillia sp.</i>) sebagai Imunostimulan	

2.5 Sistem Imun Pada limpa	21
2.6 Sistem Kekebalan Pada Insang	23
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	24
3.1 Materi Penelitian	24
3.1.1 Ikan Kerapu	24
3.1.2 Pakan	24
3.1.3 Media Uji	25
3.1.4 Wadah Uji	25
3.1.5 Bahan Immunostimulan Alkaloid	25
3.1.6 Bahan	26
3.1.7 Alat	27
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian	27
3.2.1 Metode Penelitian	27
3.2.2 Rancangan Penelitian	28
3.3 Prosedur Penelitian	30
3.3.1 Persiapan Tempat	30
3.3.2 Persiapan Ikan Uji	30
3.3.3 Persiapan Pakan Uji	30
3.3.4 Perlakuan Pemeliharaan	30
3.3.5 Sterilisasi Alat dan Bahan	31
3.3.6 Pembuatan Media TCBSA, NB dan NA	31
3.3.7 Pembuatan Biakan Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> Untuk Penginfeksian	32
3.3.8 Sanitasi Air dan Alat-alat Untuk Penelitian	33
3.3.9 Proses Penginfeksian	34
3.3.10 Isolasi, Perhitungan dan Identifikasi Bakteri	34
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Pewarnaan Gram	38
4.2 Jumlah Total Koloni Bakteri <i>Vibrio</i> spp. Pada Insang Ikan Kerapu Macan Selama Uji Tantang 5 Hari	38
4.3 Jumlah Total Koloni Bakteri <i>Vibrio</i> spp. Pada Limpa Ikan Kerapu Macan 5x24 Jam Setelah uji Tantang	42
4.4 Gejala Klinis (Serangan) Bakteri <i>Vibriosis</i>	47
4.6 Kualitas Air Media Hidup Ikan Kerapu Macan	48
5. KESIMPULAN DAN SARAN	51
5.1 Kesimpulan	52
5.2 Saran	52

DAFTAR PUSTAKA..... 53
LAMPIRAN..... 57

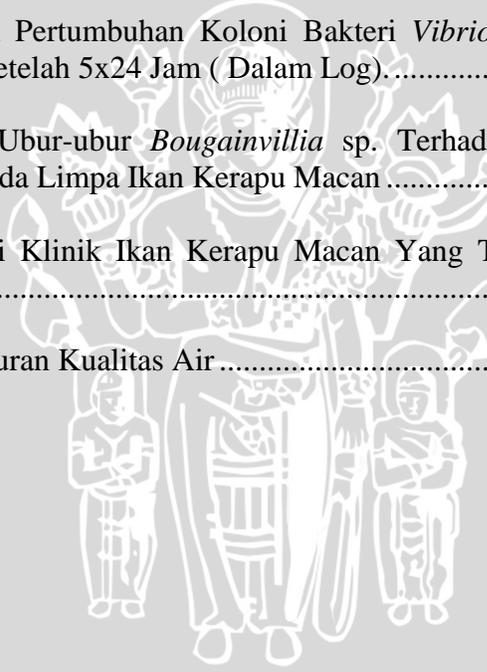


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerapu Macan	6
2. <i>Bougainvillia</i> sp.	15
3. Struktur Dasar Alkaloid	18
4. Struktur Alkaloid Pada Ubur-ubur (<i>Bougainvillia</i> sp.).....	19
5. Anatomi Dan Struktur Limpa	22
6. Denah Penelitian	29
7. Pengaruh Pemberian Imunostimulan Alkaloid Ubur-ubur <i>Bougainvillia</i> sp. Terhadap Jumlah Koloni Bakteri <i>Vibrio</i> spp. Pada Insang Ikan Kerapu Macan 5 Hari Penginfeksi.....	39
8. Jumlah Koloni Bakteri <i>Vibrio</i> spp. Pada Limpa Ikan Kerapu Macan 5x24 Jam Setelah Uji Tantang.....	43
9. Pengaruh Senyawa Alkaloid Ubur-ubur <i>Bougainvillia</i> sp. Terhadap Jumlah Koloni Bakteri <i>Vibrio</i> spp. Pada Limpa Ikan Kerapu Macan	45
10. Respon Imun Terhadap Bakteri.	46

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Pakan Uji (dalam persen dari berat total pakan uji).....	24
2. Jumlah Koloni Bakteri <i>Vibrio</i> spp. Pada Insang Ikan Kerapu Macan Selama 5 Hari Masa Infeksi Dalam (10^5 cfu/ml)	38
3. Efektifitas Alkaloid Ubur-ubur <i>Bougainvillia</i> sp. Terhadap Jumlah Koloni Bakteri <i>Vibrio</i> spp. Pada Insang Ikan Kerapu Macan	42
4. Jumlah Koloni Bakteri <i>Vibrio</i> spp. Pada Limpa Ikan Kerapu Macan 5x24 Jam Setelah Uji Tantang Dalam (10^5 cfu/ml).....	43
5. Analisa Sidik Ragam Pertumbuhan Koloni Bakteri <i>Vibrio</i> spp. Pada Limpa Ikan Kerapu Macan Setelah 5x24 Jam (Dalam Log).....	45
6. Efektifitas Alkaloid Ubur-ubur <i>Bougainvillia</i> sp. Terhadap Jumlah Koloni Bakteri <i>Vibrio</i> spp. Pada Limpa Ikan Kerapu Macan	47
7. Gejala-gejala Patologi Klinik Ikan Kerapu Macan Yang Terserang <i>Vibriosis</i> Selama Uji Tantang.....	47
8. Kisaran Hasil Pengukuran Kualitas Air	49



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Gambar Benih Ikan Kerapu Macan (<i>Epinephelus fuscoguttatus</i>).....	58
2. Gambar Pakan Ikan Kerapu Macan.....	59
3. Hasil Uji Proksimat Pakan Uji.....	60
4. Gambar Bak Penelitian	61
5. Perhitungan Dosis Imunostimulan Alkaloid Ubur-ubur <i>Bougainvillia</i> sp.	62
6. Gambar Alat dan Bahan Penanaman Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	63
7. Gambar Biakan Murni Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	64
8. Gambar Preparat Bakteri Setelah Pewarnaan Gram (1000x).....	65
9. Data Perhitungan Jumlah Bakteri <i>Vibrio</i> spp. Pada Insang Ikan Kerapu Macan (10^5 cfu/ml) Dan Dalam Log	66
10. Efektifitas Bahan Imunostimulan Alkaloid Ubur-ubur <i>Bougainvillia</i> sp. Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Vibrio</i> spp.....	76
11. Data Perhitungan Rancangan Percobaan Jumlah Bakteri Pada Limpa Kerapu Macan (10^5 cfu/ml) Dan Dalam Log	77
12. Gambar Gejala Klinis Dan Patologis Ikan Uji (Kerapu Macan).....	81

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) merupakan salah satu primadona ikan budidaya di Indonesia. Hal tersebut disebabkan ikan kerapu macan pada saat ini mempunyai potensi dan peluang pasar yang sangat menjanjikan dan memiliki nilai ekonomis yang sangat tinggi.

Harga kerapu macan hidup ditingkat pengumpul di Indonesia berkisar antara Rp. 80.000-100.000/ kg tergantung ukuran ikan. Untuk ukuran benih (8 cm) kerapu ini dapat dibudidayakan hingga ukuran pasar 0,5 kg dalam waktu 8-10 bulan. Tahun 2002, beberapa daerah telah memproduksi benih ikan kerapu macan diantaranya yaitu Bali memproduksi sebanyak 1.952.000 ekor, Lampung sebanyak 494.000 ekor, Jawa Timur sebanyak 137.700 ekor (Anonymous, 2003).

Akan tetapi pengembangan perikanan budidaya laut atau marikultur khususnya untuk ikan kerapu macan mulai dari benih hingga ukuran konsumsi masih mengalami kendala. Kegagalan terbesar yang selalu dihadapi kegiatan budidaya ikan kerapu adalah terjadinya serangan bakteri patogen yang menimbulkan penurunan kualitas pada produksi usaha pembenihan ikan kerapu, bahkan kematian dan kegagalan panen. Rukyani *et al.*, (1992), melaporkan bahwa akibat adanya serangan penyakit, hanya sekitar 40% dari seluruh areal pertambakan di Indonesia yang masih beroperasi sehingga menimbulkan kerugian yang cukup besar sekurang-kurangnya 300 milyar rupiah telah hilang pertahunnya dari seluruh areal pertambakan di Indonesia.

Vibriosis ialah salah satu jenis penyakit yang sering menyerang ikan kerapu. Penyakit ini salah satunya disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi* bersifat patogen

(Koesharyani dan Zafran,1997). *Vibrio* spp. tergolong dalam bakteri gram negatif yang bersifat anaerobik fakultatif, metabolisme bisa dilakukan dengan oksigen maupun tanpa oksigen. Daerah sebarannya cukup luas karena bakteri ini mampu hidup pada segala kondisi. Bakteri ini menyerang bersamaan dengan adanya perubahan iklim, suhu, pergantian air, dan pemindahan larva yang dibarengi dengan kondisi fisik larva yang stress (Suarjana, 2004).

Untuk mengendalikan penyakit, khususnya penyakit bakterial, selama ini telah digunakan berbagai jenis antibiotik seperti kloramfenikol, ampisilin, penisilin G. Namun, ternyata banyak dari antibiotik tersebut menimbulkan strain baru bakteri yang resisten, sehingga tidak efektif dalam penanggulangan penyakit. Oleh karena itu perlu dicari metode-metode baru dalam usaha untuk mengendalikan penyakit. Salah satu cara untuk mengendalikan penyakit adalah dengan meningkatkan daya tahan tubuh ikan.

Salah satu upaya meningkatkan ketahanan dan tanggapan kebal ikan tersebut dengan penggunaan imunostimulan. Imunostimulan mempunyai kelebihan dibanding dengan metode yang lain, karena imunostimulan mempunyai kemampuan untuk meningkatkan ketahanan non spesifik hewan akuatik, artinya hewan tersebut mampu mengatasi berbagai serangan penyakit , baik oleh bakteri maupun virus (Jhonny *et al.*, 2001). Imunostimulan merupakan sekelompok senyawa biologi yang non sintesis dan alami yang dapat meningkatkan respon imun non spesifik dalam perlindungan terhadap serangan penyakit (Jhonny *et al.*, 2001). Salah satu contoh biota laut yang dapat menghasilkan imunostimulan adalah ubur-ubur merupakan salah satu jenis hewan *invertebrata* yang banyak ditemukan di perairan Indonesia, namun pemanfaatannya belum optimal.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Afriandini (2004), dalam ekstrak kloroform ubur-ubur mengandung senyawa alkaloid dan fenolik. Karena kandungan kimia yang dimiliki ubur-ubur secara alami maka ubur-ubur dari jenis *Bougainvillia* sp. memiliki kemampuan sebagai bakteriosida. Hasil penelitian Fadjar *et al.*, (2003), menunjukkan bahwa ekstrak cair ubur-ubur menghasilkan zona hambatan rata-rata pada bakteri *Vibrio harveyi* 7-8,8 mm. Hasil penelitian Awiningsih (2004), dengan perlakuan terbaik dengan ekstrak ubur-ubur mampu memberikan daerah hambatan dengan rata-rata 10,31 mm. Dari pernyataan diatas, diperlukan upaya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektifitas alkaloid ubur-ubur yang dicampurkan dalam bentuk pakan (pellet) terhadap jumlah total koloni bakteri *Vibrio* spp. pada insang dan limpa ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*).

1.2 Perumusan Masalah

Sehubungan dengan kemampuan senyawa aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) sebagai bakteriosida untuk menekan pertumbuhan dan menghambat infeksi bakteri *Vibrio* spp. maka perlu dilakukan suatu kajian lebih lanjut tentang:

- Apakah dengan pemberian alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) terhadap ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dapat meningkatkan sistem ketahanan tubuh (imun) ikan dari serangan bakteri khususnya bakteri *Vibrio* spp?
- Apakah dengan pemberian alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) melalui pakan dapat berpengaruh terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. yang menginfeksi insang dan limpa ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)?

- Apakah semakin tinggi dosis alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) yang diberikan maka jumlah bakteri *Vibrio* spp. akan semakin menurun?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah pemberian imunostimulan dari bahan aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) dapat mengurangi jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. yang menginfeksi insang dan limpa kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*).

1.4 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam penggunaan dosis alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) yang efektif sebagai bahan imunostimulan yang diberikan pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) melalui pakan.

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang akan diuji dalam penelitian ini adalah:

H0 : Diduga dengan pemberian imunostimulan alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) melalui pakan tidak memberikan pengaruh terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. yang menginfeksi insang dan limpa ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*).

H1 : Diduga dengan pemberian imunostimulan alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) melalui pakan memberikan pengaruh terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. yang menginfeksi insang dan limpa ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*).

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Kabupaten Situbondo pada tanggal 17 Desember 2006 - 28 Pebruari 2007.



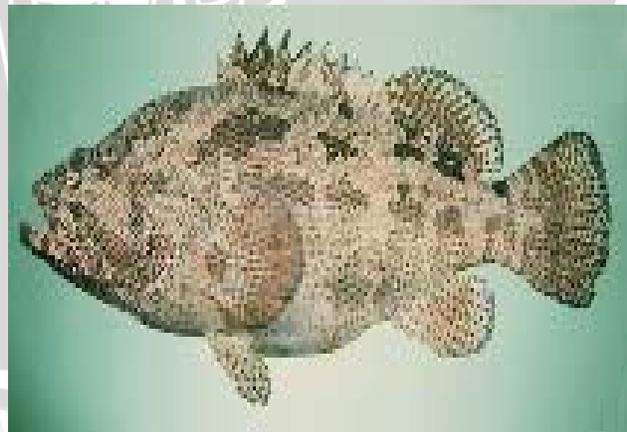
II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)

2.1.1 Habitat dan Klasifikasi Ikan Kerapu

Ikan kerapu tergolong dalam famili Serranidae, tubuhnya tertutup oleh sisik-sisik kecil. Seperti pada Gambar 1. Kebanyakan hidup di perairan terumbu karang dan sekitarnya, ada pula yang hidup di sekitar muara sungai namun kerapu tidak senang pada air laut dengan salinitas rendah. Menurut Antoro, Widiastuti, Hartono (1998), nama kerapu biasanya digunakan untuk empat genus anggota famili Serranidae yaitu *Epinephelus*, *Variola*, *Plectropomus* dan *Cromileptes*. Genus *Epinephelus* mempunyai spesies yang paling banyak, khusus di perairan Indonesia terdapat 38 spesies, diantaranya adalah *E. fuscoguttatus*, *E. tauvina* dan *E. merra*. Sebagian besar hidup di perairan dangkal dengan dasar terumbu karang, tetapi beberapa jenis diantaranya dapat ditemukan pada kedalaman sekitar 300 m. Menurut Randall (1987), klasifikasi ikan kerapu macan adalah:

Phylum : Chordata
Subphylum : Vertebrata
Class : Osteichthyes
Subclass : Actinopterygi
Ordo : Percomorphi
Sub ordo : Percoidea
Famili : Serranidae
Genus : *Epinephelus*
Spesies : *Epinephelus fuscoguttatus*



Gambar 1. Kerapu Macan (Anonymous, 2005)

Dalam bahasa Inggris, kerapu macan juga disebut *Brown marbled grouper*, *carper cod*, *flowery cod*, dan *rock cod*. Ikan ini banyak dibudidayakan secara luas di Asia Tenggara (Anonymous, 2003).

2.1.2 Morfologi Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)

Morfologi ikan kerapu macan ditandai dengan bentuk badan yang memanjang gepeng (*Compressed*) atau agak membulat, mulut lebar serong keatas dengan bibir bawah menonjol keatas. Rahang bawah dan atas dilengkapi dengan gigi-gigi geratan berderet dua lapis, lancip dan kuat serta ujung luar bagian depan adalah gigi-gigi yang terbesar. Sirip ekor umumnya membulat (*rounded*), sirip punggung memanjang dimana bagian jari-jarinya yang keras berjumlah kurang lebih sama dengan jari-jari lunak, jari-jari sirip yang keras berjumlah 6-8 buah, sedangkan sirip dubur berjumlah 3 buah, jari-jari sirip ekor berjumlah 15-17 dan bercabang dengan jumlah 13-15. warna dasar sawo matang, perut bagian bawah agak keputihan dan pada badannya terdapat titik berwarna merah kecolatan serta tampak pula 4-6 baris warna gelap yang melintang hingga ke ekornya. Badan ditutupi oleh sisik kecil, mengkilat dan memiliki ciri-ciri loreng (Antoro *et al.*, 1998).

Ikan kerapu ini mirip dengan kerapu lumpur, namun ukuran tubuhnya lebih tinggi dengan noda-noda pada tubuhnya yang lebih rapat (Murtidjo, 2002).

2.1.3 Daerah Penyebaran

Daerah penyebaran kerapu macan dimulai dari Afrika Timur, Kepulauan Ryukyu (Jepang Selatan), Australia, Taiwan, Mikronesia dan Polinesia. Di Indonesia sendiri ikan kerapu banyak ditemukandi perairan Pulau Sumatera, Jawa, Sulawesi, Pulau Buru dan Ambon. Salah satu Indikator adanya kerapu adalah perairan karang, Indonesia

memiliki perairan karang yang cukup luas sehingga potensi sumberdaya ikan kerapunya sangat besar (Antoro *et al.*, 1998).

Menurut Kordi (2001), ikan kerapu biasanya hidup pada daerah berkarang, daerah berlumpur, daerah berpasir, ataupun daerah yang dasar perairannya merupakan campuran antara patahan karang dan pasir. Menurut Antoro *et al.*, (1998), dalam siklus hidupnya ikan kerapu macan muda hidup diperairan karang pantai dengan kedalaman 0,5- 3 m, selanjutnya menginjak masa dewasa berupaya ke perairan yang lebih dalam antara 7-40 m, biasanya perpindahan ini berlangsung pada siang dan senja hari . Telur dan larva bersifat pelagis sedangkan kerapu muda hingga dewasa bersifat demersial. Habitat favorit larva dan kerapu macan muda adalah perairan pantai dekat muara sungai dasar pasir berkarang yang banyak ditumbuhi padang lamun. Parameter-parameter ekologis yang cocok untuk pertumbuhan ikan kerapu macan yaitu temperatur antara 24-31⁰C, salinitas antara 30-33 ppt, kandungan oksigen terlarut lebih besar dari 3,5 ppm dan pH antara 7,8- 8,0, perairan dengan kondisi tersebut diatas pada umumnya berada di perairan terumbu karang.

2.1.4 Perkembangan Larva

Larva yang baru menetas mempunyai panjang tubuh total 2,068 mm, membawa kantong kuning telur dengan panjang 0,766 mm. Di dalam kantong kuning telur terdapat gelembung minyak dengan diameter 0,181 mm terletak pada bagian posterior, sehingga posisi larva menghadap kebawah. Mata belum berpigmen, mulut dan anus belum terbuka. Perkembangan berikutnya tubuh semakin panjang, sedangkan kantong kuning telur dan gelembung minyak semakin mengecil. Pembentukan sirip punggung mulai terjadi pada hari pertama (D.1). Pada hari kedua (D.2) sirip dada mulai terbentuk dan jaringan usus telah berkembang sampai ke anus. Berikutnya pada hari ketiga (D.3) mulai

terjadi pigmentasi saluran pencernaan bagian atas dan mulut mulai membuka dengan ukuran bukaan 250 mikron. Hari keempat (D.4) kuning telur telah habis terabsorpsi. Periode perkembangan larva kerapu macan sampai tahap metamorfosis penuh membutuhkan waktu 35-40 hari. Setelah menetas sampai dengan hari ketiga larva mendapatkan pasokan makanan secara endogenous yaitu dengan mengabsorpsi kuning telur yang dibawanya, kemudian mulai mendapatkan makanan secara eksogenous pada hari ketiga seiring dengan mulai terbukanya mulut. Sesuai dengan bukaan mulut, larva kerapu macan mampu memangsa rotifer sebagai pakan pertama (Antoro *et al.*, 1998).

Menurut Subyakto dan Cahyaningsih (2005), dari hasil pengamatan pemeliharaan larva kerapu, ditemukan fase-fase kritis yang harus diperhatikan agar tingkat kematian larva bisa ditekan sekecil mungkin. Fase-fase kritis tersebut sebagai berikut.

Fase kritis I Larva umur D3 sampai dengan D7, persediaan kuning telur sebagai cadangan makanannya telah terserap habis. Bukaan mulut larva masih terlalu kecil untuk memangsa pakan seperti rotifera. Sementara itu organ pencernaannya belum berkembang sempurna sehingga belum dapat memanfaatkan pakan yang tersedia secara maksimal.

Fase kritis II Kematian larva terjadi pada umur D10 sampai dengan D12 pada saat itu, spina atau calon sirip punggung dan sirip dada mulai tumbuh semakin panjang. Pada fase ini kebutuhan nutrisinya lebih komplit. Pakan yang diberikan masih sama dengan sebelumnya.

Fase kritis III Kematian larva terjadi pada umumnya D12 sampai dengan D25 ketika terjadi metamorfosis, yakni pada saat spina tereduksi menjadi tulang sirip punggung dan sirip dada pada kerapu muda.

Fase Kritis IV Pada fase ini, benih berumur lebih dari 35 hari, sifat kanibalnya sudah mulai tampak. Benih yang ukurannya lebih besar akan memangsa yang lebih kecil.

2.1.5 Kualitas Air

Kualitas sumber air sangat berpengaruh terhadap keberhasilan pembenihan, parameter fisika dan kimia air biasanya menjadi pertimbangan utama didalam keberhasilan pambenihan, karena berkaitan erat dengan organisme yang akan dikembangbiakkan. Oleh karena itu kualitas air baik yang bersifat fisika maupun kimia yang perlu diusahakan/dipertahankan sebaik mungkin. Beberapa parameter kualitas air yang utama antara lain:

a. Suhu

Perairan laut mempunyai kecenderungan bersuhu konstan, karena mengandung panas jenis yang tinggi. Selama ini pemeliharaan ikan kerapu macan yang dilakukan di karamba jaring apung menunjukkan perilaku makan dan pertumbuhan yang baik pada kisaran suhu antara 27-29⁰C. Perubahan suhu yang cukup ekstrim akan berpengaruh terhadap proses metabolisme atau nafsu makan, aktifitas tubuh dan susunan syaraf. Menurut Tseng dan Ho (1988), Suhu air optimum untuk pertumbuhan kerapu antara 22-28⁰C, jika suhu air turun sampai dibawah 15⁰C, akan menyebabkan ikan tidak mau makan dan aktifitasnya menurun.

b. Salinitas

Ikan kerapu khususnya ikan kerapu macan dan tikus diketahui dapat hidup di perairan karang. Umumnya salinitas diperaian karang adalah 30-35 ppt. Salinitas air yang tidak sesuai dengan kebutuhan ikan kerapu akan dapat mengganggu kesehatan dan pertumbuhannya, karena secara fisiologis salinitas akan mempengaruhi fungsi organ

osmoregulator ikan. Perbedaan salinitas air media dengan tubuh ikan akan menimbulkan gangguan keseimbangan. Hal ini mengakibatkan sebagian besar energi yang tersimpan dalam tubuh ikan digunakan untuk penyesuaian diri terhadap kondisi yang kurang mendukung tersebut, sehingga dapat merusak sistem pencernaan dan transportasi zat-zat makanan dalam darah (Anonymous, 2004).

c. Oksigen Terlarut

Konsentrasi dan ketersediaan oksigen terlarut merupakan faktor pembatas bagi ikan yang dibudidayakan. Oksigen terlarut sangat dibutuhkan bagi kehidupan ikan dan organisme air lainnya, konsentrasi oksigen dalam air dapat mempengaruhi pertumbuhan, konversi pakan, dan mengurangi daya dukung perairan. Ikan yang dibudidayakan dapat hidup layak bila kandungan oksigen terlarut dalam air lebih dari 4 ppm (Anonymous,1998).

d. Derajat Keasaman (pH)

Reaksi asam basa sangat berarti dalam lingkungan, karena semua proses biologi hanya akan terjadi pada kisaran yang optimum. Derajat keasaman air laut umumnya alkalis yaitu antara 7-9. hal ini disebabkan didalam massa air laut terdapat sistem penyangga (*buffer system*). Derajat keasaman yang terlalu rendah umumnya karena adanya pengaruh dari pH tanah dasar dari perairan dan juga oleh adanya beberapa proses kimiawi.

2.2 *Vibrio harveyi*

2.2.1 Klasifikasi

Menurut Bergey (1962) edisi ke-7 dalam Dwidjoseputro (1998), klasifikasi dari *Vibrio harveyi* adalah sebagai berikut:

Phyllum : Protophyta
Class : Schizomycetes
Ordo : Pseudomonadales
Sub ordo : Pseudomonadineae
Famili : Spirillaceae
Genus : *Vibrio*
Species : *Vibrio harveyi*.

2.2.2 Biologi

a. Morfologi

Vibrio dalam mikrofauna yang umumnya berada pada lingkungan laut estuaria. Secara bakteriologi berbentuk batang bengkok dengan ukuran lebar 0,5-0,8 μ dan dengan panjang 1,4-2,6 μ . Sebagian besar bakteri *Vibrio* berenang aktif dan gerakannya disebabkan oleh gerakan rotasi flagel.

Bakteri *Vibrio* spp. tergolong dalam famili Vibrionaceae, yang mempunyai tubuh berbentuk batang dan mempunyai kemampuan untuk bergerak karena dilengkapi dengan flagel (Kordi, 2004). Selain berbentuk batang sifatnya kaku dan termasuk kedalam gram negatif, berbentuk lurus atau bengkok, bersifat oksidasi positif, dan fakultatif anaerob (Bonang dan Koeswardono, 1982). Bakteri *Vibrio* ini mempunyai ukuran dengan lebar sebesar 0,5-0,8 μ m dan panjang 1,4-2,6 μ m mempunyai flagel dengan jumlah satu atau banyak pada salah satu sisi dinding membran sel (Bergey's, 2000).

b. Metabolisme dan Pertumbuhan

Vibrio spp. bersifat anerobik fakultatif, dimana metabolisme dapat dilakukan dengan oksigen atau tanpa oksigen (fermentasi). Selain itu bakteri ini dapat tumbuh

dengan baik pada media mineral yang mengandung ammonium, karbon sederhana dan glutamat (Holt, 1979).

Vibrio spp. dapat menggunakan komponen organik sebagai sumber karbon dan energi karena mampu menghasilkan enzim protease, lipase dan chitinase sehingga termasuk dalam bakteri kemoorganotropik, yakni mikroba yang dapat menggunakan komponen organik sebagai sumber karbon dan energi (Dwijoseputro, 1989). Menurut Rukyani *et al.*, (1992), bahwa bakteri *Vibrio* spp. Memiliki enzim katalase, mitilitas positif dan mampu menghasilkan enzim oksidase yang bersifat fermentatif.

Faktor yang mempengaruhi aktivitas dan pertumbuhan bakteri *Vibrio* adalah faktor abiotik. Faktor ini meliputi faktor fisik, seperti suhu, osmose, cahaya dan radiasi, juga faktor kimia, yang mencakup pH, salinitas, bahan organik, dan zat-zat kimia (Panjaitan, 1991). Lebih lanjut dikatakan bahwa, bakteri *Vibrio* spp. adalah jenis bakteri yang mampu menghasilkan suatu produk biologi yang mempunyai berat molekul relatif tinggi, dimana produk tersebut bersifat stabil (sulit terurai) dan bersifat racun. Menurut Bauman, Furnis dan Lee (1984), bahwa pada umumnya bakteri *Vibrio* spp. dapat tumbuh secara optimal pada suhu 30° C, salinitas optimum 20-30 ppt dan pH optimum berkisar 7,5-8,5.

Bakteri *Vibrio* spp. termasuk bakteri kemoorganotropis dan tumbuh dalam medium mineral yang mengandung D-Glukosa dan NH₄Cl (Bauman *et al.*, 1984). Menurut Dwidjoseputro (1989), bahwa medium yang paling cocok untuk kehidupan bakteri ini adalah medium yang isotonis terhadap isi sel bakteri.

c. Habitat dan Daerah Penyebaran.

Bakteri *Vibrio* spp. termasuk jenis bakteri halofil, yaitu bakteri yang dapat hidup pada salinitas tinggi. Dapat ditemukan di habitat-habitat aquatik dengan kisaran salinitas yang

luas, sangat umum pada lingkungan estuarin dan laut serta terdapat pada permukaan intestinal hewan laut. Beberapa spesies ditemukan di habitat air tawar (Bauman *et al.*, 1984).

Medium yang paling cocok bagi kehidupan bakteri adalah medium yang isotonis terhadap sel bakteri. Jika bakteri ditempatkan di dalam suatu larutan yang hipertonik terhadap isi sel, maka bakteri akan mengalami plasmolisis. Jika bakteri ditempatkan dalam larutan yang hipotonik terhadap isi sel, maka air cenderung masuk ke dalam sel sehingga sel membengkak dan akhirnya pecah (Dwidjoseputro, 1984).

d. Ciri-ciri Serangan

Umumnya ikan yang diserang *Vibriosis* memperlihatkan gejala-gejala seperti kehilangan nafsu makan (*anorexia*), kulit ikan menjadi gelap, insang menjadi pucat, sering terjadi pembengkakan pada kulit yang lama kelamaan akan pecah menjadi luka (bisul) dan mengeluarkan cairan nanah berwarna kuning kemerah-merahan, terjadi pendarahan pada dinding perut dan permukaan jantung, dan jika dilakukan pembedahan akan terlihat pembengkakan dan kerusakan pada jaringan hati, ginjal, dan limpa (Kordi, 2004).

Bakteri *vibrio harveyi* mengkontaminasi lingkungan pemeliharaan larva melalui air laut, induk ikan dan pakan alami. Bakteri ini selalu berada dalam air, dan populasinya akan meningkat apabila kualitas air menurun akibat kelebihan pakan, perubahan-perubahan sifat kimia dan fisika air yang mendadak dan padat tebar yang tinggi. Pada dasarnya bakteri *Vibrio harveyii* tidak berbahaya, namun apabila kepadatan dalam air melebihi 10^6 cfu/ml dapat menimbulkan 90% kematian. Namun larva masih dapat hidup normal dengan aman apabila kepadatan bakteri dalam media pemeliharaan di bawah 10^4 cfu/ml (Sugama *et al.*, 1993).

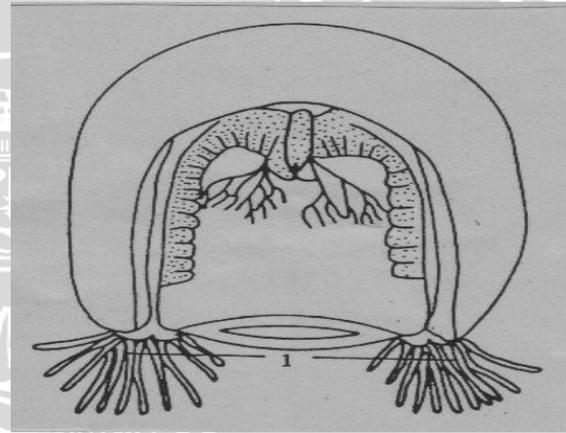
Penelitian Zafran dan Boer (1992), yang menggunakan media TBCSA menunjukkan bahwa sumber lain yang juga berpotensi membawa bakteri *Vibrio harveyii* adalah *Artemia* sp. yang digunakan sebagai pakan alami ikan ataupun udang.

2.3 *Bougainvillia* sp.

2.3.1 Klasifikasi

Menurut Haeckel (1879) dalam Arifin (2003), klasifikasi dari *Bougainvillia* sp. adalah sebagai berikut:

Phylum	: Coelenterata
Sub Phylum	: Cnidaria
Class	: Hydrozoa
Ordo	: Filifera
Sub Ordo	: Hydrida
Family	: Bougainvilliidae
Genus	: Bougainvillia
Spesies	: <i>Bougainvillia</i> sp.



Gambar 2. *Bougainvillia* sp. (Anonymous, 2002)

2.3.2 Biologi

a. Morfologi

Bentuk ubur-ubur menyerupai lonceng atau payung, dimana bagian atasnya disebut *ex-umbrella* dan bagian bawah disebut *sub-umbrella*, tentakel menggantung di tepi dan berjumlah 4-16, tentakel ini kaya akan *nematocyst* yang merupakan racun pada ubur-ubur (Wijarni dan Afriati, 1989). Seperti pada Gambar 2 diatas. Menurut Buddin (2003), bahwa *Nematocyst* hanya

ditemukan pada *coelenterata*, dan hampir semua *coelenterata* memiliki *nematocyst* tersebut, dimana kapsul sengatannya hanya dikonsentrasikan pada tentakelnya.

Menurut Dakin (1979), salah satu ciri yang menonjol dari ubur-ubur adalah *Nematocyst* yang mampu menghasilkan racun dan terdapat di tangan tentakelnya. Racun ini dapat mengakibatkan iritasi pada kulit bahkan kulit bisa terkelupas sehingga kulit menjadi luka.

Menurut Radiopoetro (1991), jaringan epidermis pada suatu polip terdiri atas cel-cel sebagai berikut:

- Cel-cel epitheliomusculer
- cel-cel sensoris
- Cel-cel saraf
- Cel-cel interstisiil
- Cnidoblast

Cnidoblast terjadi dari suatu cel interstisiil, pada ujung yang terdapat pada permukaan tubuh, cnidoblast mempunyai lanjutan dari protoplasma ialah cnidocil. Di dalam cnidoblast terdapat suatu *nematocyst*. *Nematocyst* ialah suatu gelembung dengan dinding yang kuat dan mengandung zat cair. Ada empat macam *nematocyst* yaitu:

- Penetrant, adalah suatu benang yang panjang yang melingkar-lingkar dan pada pangkalnya mempunyai tiga baris duri yang panjang.
- Volvent, adalah benang yang pendek dan tebal.
- Glutinant streptolin, mempunyai benang yang panjang dan mempunyai duri-duri kecil.
- Glutinant streolin, mempunyai benang yang lurus dan tidak berduri.

b. Habitat dan Penyebarannya

Menurut Manuputty (1988) dalam Ratnawati (2003), ubur-ubur merupakan coelenterata yang hidup di laut. Hidup soliter atau berkelompok, berenang bebas dengan bantuan kontraksi payungnya yang bekerja seperti pompa, beraturan dan berirama. Beberapa jenis juga bergantung pada ombak, bila keadaan ombak cukup besar mereka cenderung bergerak ke pantai. Ubur-ubur ada yang senang hidup di perairan hangat dan sedang, ada yang senang dekat permukaan atau dalam, serta hidup pada perairan yang dangkal didaerah tropis dan sub tropis. Sehingga secara garis besar ubur-ubur tersebar luas disemua perairan laut. Menurut Rohmimoharto dan Juwana (1999), daerah yang telah diketahui memproduksi ubur-ubur untuk diekspor ialah Probolinggo di Jawa Timur, Cilacap dan Jepara di Jawa Tengah. Tetapi produksi ubur-ubur hanya ada pada waktu musim ubur-ubur dan pada waktu musim tersebut dilakukan pemanenan secara besar-besaran.

c. Reproduksi

Menurut Barnes (1974), reproduksi ubur-ubur secara seksual adalah bentuk dewasa (medusa) dan aseksual adalah bentuk polip. Pada reproduksi seksual, spermatozoa hewan jantan keluar melalui mulut dan berenang menuju hewan betina, selanjutnya melalui mulut hewan betina akan menuju telur yang dihasilkan oleh ovarium. Pembuahan terjadi di dalam tubuh hewan betina. Zygot yang dihasilkan akan keluar melalui mulut dengan bantuan lengan mulut. Selanjutnya terjadi pembelahan sampai terbentuk larva planula yang bersilia dan dapat berenang. Planula akan berenang beberapa saat, kemudian akan melekat pada dasar perairan yang agak keras. Kemudian silia akan hilang dan dimulai reproduksi aseksual, yaitu akan membentuk mulut, tentakel dan mulai menangkap makanan dan tumbuh. Kemudian terbentuk polip yang bersusun

antara yang satu dan yang lainnya mulai memisahkan diri mulai dari polip yang paling atas. Peristiwa ini disebut strobilasi dan medusa yang terbentuk disebut strobila. Tentakel strobila akan memendek dan bentuk ini disebut *ephyra*. *Ephyra* akan berenang bebas dan selanjutnya tumbuh menjadi ubur-ubur dewasa.

2.4. Alkaloid Dari Ekstrak Ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.)

Adapun bahan aktif yang dikandung golongan *Coelentrata* salah satunya adalah alkaloid. Menurut Robinson (1974), alkaloid biasanya tanpa warna, berbentuk kristal, zat organik yang pahit, contohnya seperti kafein, morfina, quinina dan strikhnina, bersifat alkalin dan mengandung nitrogen. Alkaloid dapat ditemukan pada tanaman dan terkadang pada hewan. Alkaloid dapat memiliki efek toksik pada sistem manusia atau hewan. Ditambahkan oleh Harborne (1987), alkaloid sering kali beracun bagi manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan.

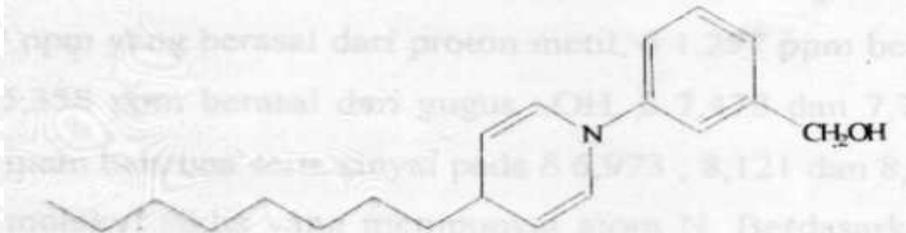
Struktur dasar dari alkaloid berdasarkan Fessenden dan Fessenden (1982), terdapat pada Gambar 3. seperti dibawah ini.



Gambar 3. Struktur Dasar Alkaloid

Menurut Yahya *et al.*, (2002), khusus ubur-ubur jenis *Physilia* sp. mengandung alkaloid golongan "Peptida" yang mampu menghasilkan toksin polipeptida berat molekul tinggi. Selanjutnya berdasarkan hasil penelitian Farid, Fadjar dan Andayani (2004), diperoleh data dari spektra UV-vis, NMR dan IR, bahwa kemungkinan struktur

senyawa alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. Dalam ekstrak kloroform dapat ditunjukkan pada Gambar 4. berikut ini.



1-benzilalkohol, 4-oktil piperidin

Gambar 4. Struktur alkaloid Pada ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.)

Beberapa pendapat mengenai kemungkinan peran alkaloid ialah sebagai berikut:

- Beberapa alkaloid mungkin bertindak sebagai tandon penyimpanan nitrogen meskipun banyak alkaloid ditimbun dan tidak mengalami metabolisme lebih lanjut meskipun sangat kekurangan nitrogen.
- Pada beberapa kasus, alkaloid dapat melindungi tumbuhan dari serangan parasit atau pemangsa tumbuhan.
- Alkaloid dapat berlaku sebagai pengatur tumbuh karena, dari segi struktur, beberapa alkaloid menyerupai pengatur tumbuh.
- Alkaloid sebagian besar bersifat basa, dapat mengganti basa mineral dalam mempertahankan kesetimbangan ion dalam tumbuhan.

2.4.1 Alkaloid Dari Estrak Ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) Sebagai Imunostimulan

Imunitas adalah resistensi terhadap penyakit terutama penyakit infeksi. Gabungan sel, molekul dan jaringan yang berperan dalam resistensi terhadap infeksi disebut sistem imun dan reaksi yang dikoordinasi sel-sel dan molekul-molekul terhadap mikroba dan bahan lainnya disebut respon imun. Sistem imun diperlukan tubuh untuk

mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup (Baratawijaya, 2004). Sistem imun membentuk suatu pertahanan tubuh terhadap benda-benda asing seperti mikroorganisme (bakteri, protozoa, virus dan parasit), molekul-molekul yang berpotensi sebagai toksik, atau sel-sel tidak normal (Anonymous, 2002). Sel-sel sistem imun tersebar di seluruh tubuh dan ditemukan di dalam sumsum tulang, timus, darah, kelenjar getah bening, limpa, saluran nafas, saluran cerna, saluran urin dan jaringan.

Menurut Arifin (1995) dalam Kordi (2004) jenis anti bodi protektif yang dimiliki ikan mengandung immunoglobulin tipe M (IgnM) dan antibodi ini dijumpai dengan baik dalam serum darah induk ikan maupun telurnya, serta juga mengandung immunoglobulin tipe G (IgnG) yang terdapat pada serum darah dan merupakan kekebalan bawaan (*material immunity*) yang didapat melalui kuning telur dan embrio ikan.

Pertahanan ikan pertama kali melawan patogen dihambat dengan respon nonspesifik (mucus, epidermis, dan dermis) dan inflamasi. Pada pertahanan nonspesifik dan inflamasi peran fagosit sudah dijalankan oleh sel-sel fagosit, hal ini dapat dibuktikan bahwa dimukosa insang banyak ditemukan makrofag. Apabila patogen berkolonisasi dan invasi ke dalam jaringan maka respon ikan dilanjutkan ke respon pertahanan spesifik dengan memproduksi antibodi (Anderson, 1974 ; Roitt, 1994 dalam Maftuch, 2005).

Menurut hasil penelitian Heramawati (2005), bahwa bahan alkaloid dengan dosis sebesar 8,4 efektif membunuh bakteri sebesar 99,9%. Menurut Sakai (1999), ekstrak hewan yang membunuh bakteri dapat dianggap sebagai imunostimulan. Imunostimulan merupakan sekelompok senyawa biologi dan sintetis yang dapat meningkatkan tanggap kebal non-spesifik, sehingga dapat dijadikan alternatif untuk penggunaan vaksin atau

antibiotik dalam perlindungan terhadap serangan penyakit. Keistimewaan imunostimulan dengan vaksin adalah sifatnya yang non spesifik (Johnny *et al.*, 2001).

Mac Arthur dan Fletcher (1985), menambahkan bahwa pada ikan-ikan muda sistem kekebalan non spesifik lebih menonjol karena organ-organ limfoid masih dalam perkembangan, sehingga imunostimulan dapat dipergunakan sebagai alternatif pencegahan penyakit pada ikan selain vaksinasi.

Cara pemberian imunostimulan menurut Roza dan Johnny (2004), ada 3 cara:

- ❖ Melalui Pakan
- ❖ Melalui perendaman
- ❖ Melalui suntikan

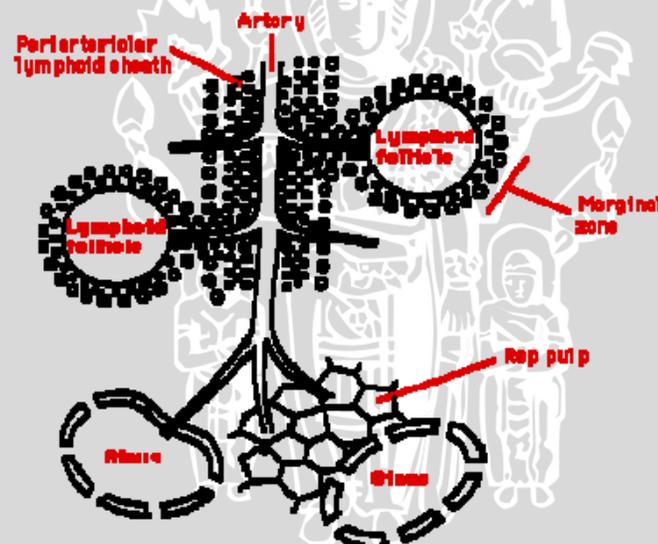
Mekanisme kerja pemberian imunostimulan, dapat dilihat dari kekebalan tubuh, sel fagositosis dan kelulushidupan setelah diuji tantang. Uji tantang dapat menggunakan bakteri maupun virus.

2.5 Sistem Imun Pada Limpa

Sel-sel sistem imun tersebar diseluruh tubuh, salah satu dari sistem imun tersebut adalah limpa, limpa berfungsi sebagai penyaring darah dan menyaring antigen dari cairan limpa dan membuang partikel antigen dan sel darah merah, oleh karena itu limpa terbagi atas dua bagian; satu bagian untuk menyimpan eritrosit, penjeratan antigen yang disebut pulpa merah dan bagian lain yang didalamnya terjadi tanggap kebal dikenal sebagai pulpa putih (Tizard, 1982).

Pulpa putih limpa terdiri dari jaringan limfoid dan sangat erat berhubungan dengan pembuluh darahnya. Pembuluh yang masuk limpa berjalan mengikuti trabekula musularis memasuki daerah fungsionalnya. Segera setelah meninggalkan trabekula, tiap

arteriol dikelilingi oleh selubung jaringan limfoid yang dikenal, cukup alami, sarung periarteriol. Arterioli ini kemudian bermuara baik langsung maupun tidak langsung, ke dalam sinus yang menyalurkan ke vena limpa. Sarung limfoid periarteriol terdiri dari sebagian besar sel T. Tetapi tersebar melintasi selubung terdapat folikel primer yang sebagian besar terdiri dari sel B. Bila terjadi serangan antigen, folikel ini membentuk pusat germinal dan dengan demikian menjadi folikel sekunder. Setiap folikel dikelilingi oleh selapis sel T yang dikenal sebagai lapisan mantel. Pulpa putih secara keseluruhan terpisah dari pulpa merah oleh sinus pembatas, suatu selubung retikulum dan satu zona pembatas yang terdiri dari sel (Tizard, 1982). Adapun anatomi dan struktur limpa dapat dilihat pada Gambar 5. berikut ini.



Gambar 5. Anatomi Dan Struktur Limpa

(West, 1996)

Reaksi limpa terhadap antigen, antigen yang diberikan melalui intravena akan dijerat paling tidak sebagian, didalam limpa yang diambil oleh makrofag, sel ini membawa antigen ke folikel primer dalam pulpa putih dan setelah beberapa hari, sel penghasil

antibodi bermigrasi. Sel penghasil antibodi ini menempati zone pembatas dan pulpa merah, dan didaerah inilah produksi antibodi itu pertamakali ditemukan (Tizard, 1982).

Pada tubuh ikan sendiri sistem imun dihasilkan oleh jaringan limfoid dan myeloid, dimana jaringan ini menghasilkan melanomakrofag dan organ pusat penghasil melanomakrofag adalah hati, limpa, dan ginjal. Namun pada ikan teleostei ginjal merupakan organ limfoid primer, sedangkan organ-organ limfoid sekunder meliputi limpa dan jaringan limfoid yang berasosiasi dengan intestinum (Stoskopf, 1993).

2.6 Sistem Kekebalan Pada Insang

Insang ikan teleostei terdiri dari dua rangkaian yang tersusun atas empat lengkungan tulang rawan dan tulang keras (*Holobranchia*) yang menyusun sisi-sisi faring. Insang juga dilengkapi dengan lapisan sel-sel penghasil mukus dan sel-sel yang mengekskresikan amonia dan kelebihan garam. Letak Insang, struktur dan mekanisma kontak dengan lingkungan menjadikan insang sangat rentan terhadap perubahan kondisi lingkungan serta menjadi tempat yang tepat bagi berlangsungnya infeksi oleh agensia patogenik (Irianto, 2005).

Insang juga dilengkapi dengan sejumlah glandula yang dikenal sebagai glandula brankhial, yaitu sel-sel epitel insang yang mengalami spesialisasi. Glandula tersebut adalah glandula mukosa dan glandula asidofilik (sel-sel hlorida). Mukus merupakan glikoprotein yang bersifat basa atau netral dengan fungsi: a.) perlindungan atau proteksi, b.) menurunkan terjadinya friksi atau gesekan, c.) antipatogen, d.) membantu pertukaran ion, dan e.) membantu pertukaran gas dan air (Kumar dan Tembhe, 1999).



III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Ikan Kerapu

Ikan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) ukuran 7-8 cm. Benih ikan kerapu tersebut diambil dari KBU (Kelola Benih Unggul) Situbondo. Gambar ikan uji (kerapu macan) dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.1.2 Pakan

Pakan yang akan digunakan berupa pakan pelet. Bahan pakan yang digunakan tersebut sesuai formula Ellana, Andayani dan Fadjar (2002), Sebagaimana pada Tabel 1. Pakan diberikan secara ad libitum dengan frekuensi pemberian sebanyak tiga kali dalam sehari, yaitu pada pukul 07.00 ; 12.00 ; dan 17.00. Gambar pakan ikan kerapu macan dapat dilihat pada Lampiran 2. dan hasil uji proksimat pakan ikan kerapu dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 1. Komposisi Pakan Uji (dalam persen dari berat total pakan uji)

Bahan	Kontrol (%)	A (%)	B (%)	C (%)	D (%)
Alkoid	0	0,05	0,075	0,1	0,125
Tepung silase ikan rebus	57,5	57,5	57,5	57,5	57,5
Tepung kepala udang	17	17	17	17	17
Tepung kedelai	10	10	10	10	10
Tepung jagung	6	6	6	6	6
Minyak	5	5	5	5	5
Vitamin	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Mineral	2	2	2	2	2
Jumlah	100	100	100	100	100

3.1.3 Media Uji

Media uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah air laut yang diperoleh dari perairan sekitar BBAP Situbondo.

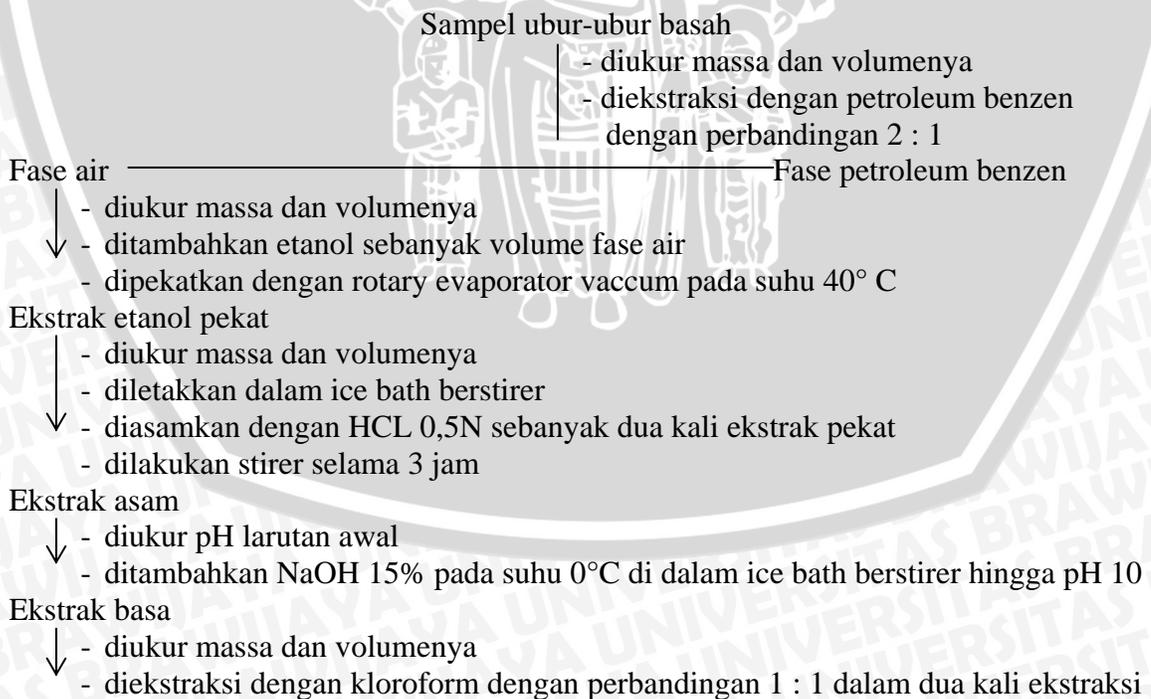
3.1.4 Wadah Uji

Wadah uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah terdiri dari bak fiber dengan volume 60 lt sebanyak 10 buah, yang diatur sesuai dengan unit percobaan, yang terlebih dahulu disucihamakan. Gambar bak penelitian dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.1.5 Bahan Immunostimulan Alkaloid

Bahan immunostimulan yang digunakan adalah alkaloid ubur-ubur yang didapat dalam bentuk ekstrak cair. Alkaloid dari kelas hydrozoa ini mengandung komposisi golongan peptida yang mampu menghasilkan toksin polipeptida .

Pembuatan ekstrak bahan aktif alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp.(modifikasi Maldoni 1991) dapat dilihat pada skema berikut ini:



Fase kloroform

- ↓ - diukur massa dan volumenya
- dicuci dengan akuades
- ↓ - dikeringkan dengan Na₂SO₄ anhidrat
- dipiekatkan dengan rotary evaporator vaccum pada suhu 35° C

Ekstrak kloroform pekat

- ↓ - diukur massa dan volumenya
- diuji kualitatif dengan reagen Dragendorf

Alkaloid

Perhitungan dosis bahan imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp.

Selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.1.6 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut:

1. Biakan murni bakteri *Vibrio harveyi*
2. Bahan alkaloid dari ekstrak *Bougainvillia* sp.
3. TCBSA (*Thiosulfate Citrate Billesait Sukrose Agar*)
4. NB (*Nutrient Broth*)
5. NA (*Nutrient Agar*)
6. NaCl
7. KCl
8. MgSO₄
9. Alumunium foil
10. Kapas
11. Tissue
12. Aquadest
13. Alkohol 70%
14. Spirtus

3.1.7 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut:

1. Tabung reaksi
2. Erlenmeyer
3. Gelas ukur
4. Petridish
5. Rak tabung reaksi
6. Pipet mikro
7. Eppendorf
8. Autoclave
9. Inkubator
10. Lemari pendingin
11. Jarum ose
12. Pembakar bunsen
13. Karet penghisap
14. Timbangan sartorius
15. Spatula
16. Coloni counter



3.2 Metode Dan Rancangan Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, yaitu mengadakan serangkaian kegiatan percobaan untuk melihat suatu hasil (Surachmad, 1989). Hasil yang diperoleh menegaskan bagaimana hubungan kausal antara variabel

yang diselidiki dan diketahui seberapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen serta menyediakan kontrol sebagai pembanding (Gomez dan Gomez, 1995). Teknik pengambilan data dilakukan dengan cara observasi langsung dan studi literatur.

Data diperoleh dengan cara menghitung jumlah bakteri *Vibrio* spp. yang terdapat pada insang dan limpa ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*).

3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah rancangan acak lengkap (RAL). Rancangan ini digunakan dalam satuan percobaan homogen, artinya keragaman dalam satuan percobaan tersebut kecil, sehingga yang dipengaruhi hasil penelitian hanyalah perlakuan dan faktor kebetulan saja.

Yitnosumarno (1993) menambahkan bahwa rancangan acak lengkap (RAL) dipergunakan untuk penelitian atau percobaan di laboratorium, rumah kaca dan percobaan terkendali lainnya.

Beberapa keuntungan dari penggunaan RAL menurut Gasperz (1991), adalah sebagai berikut:

1. Denah perancangan percobaan lebih mudah.
2. Analisis statistika terhadap subyek percobaan sangat sederhana.
3. Fleksibel dalam penggunaan jumlah perlakuan dan jumlah ulangan.
4. Kemungkinan kehilangan informasi data hilang lebih kecil.

Rumus dari model RAL adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

Yij : Hasil pengamatan pada perlakuan ke-I dan ulangan ke-j

μ : Nilai rata-rata

α_i : Pengaruh perlakuan ke-I

ϵ_{ij} : Pengaruh galat (sisa) dari perlakuan ke-I dan ulangan ke-j

Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan dosis imunostimulan bahan aktif alkaloid yang diberikan lewat pakan pada ikan kerapu macan terhadap jumlah total koloni bakteri *Vibrio spp.* setelah dilakukan ujiantang adalah mengacu pada penelitian yang sudah dilakukan oleh Irawan (2005), sebagai berikut:

K = pakan dasar (kontrol)

A = 1 kg pakan pelet + 0,5 gr alkaloid

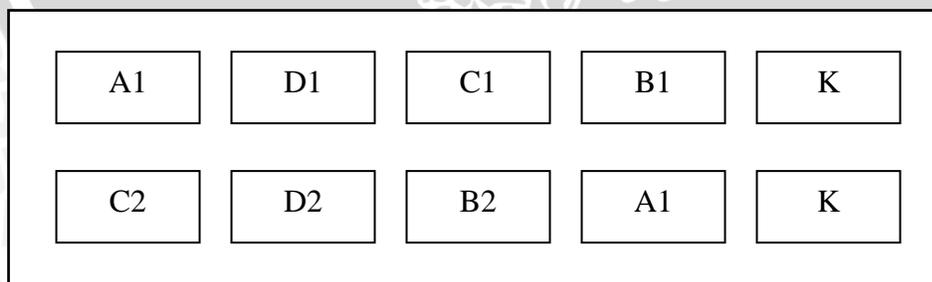
B = 1 kg pakan pelet + 0,75 gr alkaloid

C = 1 kg pakan pelet + 1,0 gr alkaloid

D = 1 kg pakan pelet + 1,25 gr alkaloid

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 2 kali, sehingga jumlah sampel yang diamati adalah sebanyak 8 dan kontrol diletakkan berdasarkan ulangan.

Denah percobaan dapat dilihat pada Gambar 6. dibawah ini.



Gambar 6. Denah Penelitian

Keterangan :

1 dan 2 : Ulangan

A,B,C,D : Perlakuan dosis yang berbeda

K : Kontrol

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Tempat

- Bak fiber dicuci dengan menggunakan deterjen kemudian dibilas dengan kaporit hingga bersih, dan setelah itu dilakukan pengeringan bak.
- Bak fiber diisi air laut dengan volume 30 liter, salinitas 33 ppt kepadatan 10 ekor.
- Bak fiber diberi aerasi dan aliran air di flow trow.

3.3.2 Persiapan Ikan Uji

- Ikan uji diambil dari KBU (Kelola Benih Unggul) Situbondo dengan ukuran 7-8 cm.
- Benih ikan kerapu macan diseleksi antara ikan yang sehat dan sakit.
- Ikan kerapu dimasukkan kedalam bak akuarium sebanyak 10ekor/ 30 lt.

3.3.3 Persiapan Pakan Uji

- Pakan berupa pelet yang dibuat sudah dicampur dengan bahan imunostimulan sesuai dengan dosis dan perlakuan.
- Pakan berupa pelet tersebut diberikan pada ikan kerapu macan secara ad libitum.
- Ikan diberi pakan 3 kali setiap hari (pagi, siang, dan sore).
- Pakan yang mengandung bahan imunostimulan diberikan selama 28 hari.

3.3.4 Perlakuan Pemeliharaan.

- Ikan kerapu macan selama pemeliharaan setiap paginya dilakukan penyiponan.
- Pengukuran kualitas air (pH, suhu, salinitas, dan DO) dilakukan untuk setiap hari dan amoniak setiap minggunya.
- Dilakukan flow trow setiap harinya.

3.3.5 Sterilisasi Alat Dan Bahan

- Alat –alat yang akan disterilisasi dibungkus dengan menggunakan kertas perkamen atau kertas koran, sedangkan untuk erlenmeyer dan tabung reaksi dibungkus dengan menggunakan aluminium foil.
- Air secukupnya dituang kedalam autoclave, kemudian peralatan yang sudah dibungkus, dimasukkan dan ditutup rapat.
- Salar listrik dinyalakan, kemudian tombol sirine yang berwarna merah putar sampai batas lampu yang berwarna merah.
- Ditunggu selama 15 menit, setelah mencapai suhu 121°C sirine akan berbunyi lalu matikan.
- Tunggu beberapa saat sampai termometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol).
- Matikan saklar listrik dan buka penutup autoclave.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam inkubator, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

3.3.6 Pembuatan Media TCBSA (*Thiosulfaten Citrate Bilesalt Sukrose Agar*), NB (*Nutrient Broth*), Dan NA (*Nutrient Agar*)

- Media TCBSA diambil dan ditimbang, untuk setiap pembuatan media TCBSA sebanyak 1000 ml maka dibutuhkan TCBSA sebanyak 88 gram.
- Pupuk KCl; MgSO_4 ; dan NaCl masing-masing ditimbang 0,75gr; 6,94gr; 13,4 gr untuk setiap pembuatan TCBSA 1000 ml.
- Media diatas semuanya dimasukkan dalam tabung erlenmeyer dan ditambahkan aquadest steril sesuai dengan kebutuhan bahan yang ditimbang sebelumnya.

- Bahan diatas dipanaskan dihot plate dan beri pengaduk magnetik stirer supaya TCBSA tidak menggumpal.
- Media TCBSA dituangkan kedalam masing-masing petridish dengan perlakuan steril diatas bunsen, tunggu hingga agar memadat setelah balik media agar tersebut supaya uap air tidak menetes atau jatuh pada media agar yang akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri menjadi swab. Gambar alat dan bahan yang digunakan dalam penanaman bakteri dapat dilihat pada Lampiran 6.
- Media agar disimpan pada lemari pendingin agar tahan lama.
- Media NB dan NA pembuatannya sama saja dengan perlakuan diatas tapi hanya saja untuk NA membutuhkan 28 gram dan NB 13 gram untuk setiap 1000 ml aquadest.

3.3.7 Pembuatan Biakan Bakteri *Vibrio harveyi* Untuk Penginfeksi.

- Biakan bakteri murni *Vibrio harveyi* disiapkan, dan diperbanyak dengan cara remajakan kembali pada tabung-tabung reaksi yang berisi NA. Gambar biakan murni bakteri *Vibrio harveyi* dapat dilihat pada Lampiran 7.
- NB dibuat dan diletakkan dalam tabung erlenmeyer sesuai dengan keperluan.
- Biakan bakteri *Vibrio harveyi* dimasukkan dalam tabung elenmeyer kurang lebih untuk 4 ml NB diambil biakan bakteri sebanyak 5 ose.
- Bakteri dimasukkan dalam inkubator selama 18-24 jam dan atur pada suhu 37⁰C.
- Larutan standart MC Farland I; II; dan III dibuat untuk mengetahui kepadatan bakteri *Vibrio harveyi* yang dihasilkan nantinya. Dalam larutan tersebut campuran dari H₂SO₄ 15 dengan BaCl₂ 1%.
- Kepadatan larutan MC Farland tersebut nantinya akan setara dengan kepadatan bakteri *V. harveyi* untuk I; II; dan III setara 3x10⁸; 6x10⁸; dan 9x10⁸ sel/ml.

- Bakteri yang digunakan untuk menginfeksi media ikan kerapu macan menggunakan kepadatan 10^5 sel/ ml. Untuk mendapatkan kepadatan bakteri dilakukan perhitungan pengenceran dengan menggunakan rumus:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Dimana:

N_1 : Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)

N_2 : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)

V_1 : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan (ml)

V_2 : Volume media air dalam wadah penelitian (ml)

Adapun perhitungannya adalah sebagai berikut:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$15 \times 10^8 \cdot V_1 = 2.4 \times 10^5 \cdot 30.000 \text{ ml}$$

$$= \frac{2.4 \times 10^5 \cdot 3 \times 10^4}{15 \times 10^8}$$

$$= \frac{7.2 \times 10^9}{15 \times 10^8}$$

$$= 4.8 \text{ ml}$$

3.3.8 Sanitasi Air Dan Alat-alat Penelitian

- Semua alat-alat penelitian direndam dan dicuci dengan menggunakan chlorin 5 ppm dan dibilas dengan menggunakan air tawar sampai bersih dan dikeringkan.
- Air laut ditampung dalam bak berkapasitas 0,5 ton dan kemudian diberi larutan chlorin sebanyak 5 ppm. Setelah itu diberi aerasi secara keras dan didiamkan selama 3 hari untuk menghilangkan chlorin.

3.3.9 Proses Penginfeksian

- Akuarium yang bersih diisi dengan air laut yang telah dichlorin selama 3 hari sebanyak 30 liter dan beri aerasi.
- Ikan kerapu macan dimasukan kembali dalam bak akuarium masing-masing perlakuan sebanyak 10 ekor/ bak.
- Bakteri yang sudah siap pada media NB dalam tabung erlenmeyer tadi bisa diinfeksi langsung kedalam media hidup ikan kerapu macan, sesuai dengan kepadatan yang diinginkan.
- Proses penginfeksian berlangsung selama 5 hari, setelah itu dilakukan reisolasi.
- Pada saat reisolasi ikan diberi makan pelet kontrol dan aliran air di *flow trow*.
- Proses reisolasi dilakukan sampai hari ke-7.

3.3.10 Isolasi, Perhitungan Dan Identifikasi Bakteri

1. Isolasi Bakteri

- Isolasi bakteri *Vibrio harveyi* dilakukan pada:
 - a. Insang ikan kerapu macan setelah 1X24 jam, 3X24 jam, dan 5x24 jam setelah infeksi.
 - b. Limpa ikan kerapu macan setelah 5X24 jam setelah infeksi.
- Dari hasil isolasi tersebut bakteri ditanam pada media TCBSA.

2. Perhitungan Bakteri

Menurut Taslihan (1996), perhitungan bakteri bertujuan untuk menentukan kandungan bakteri dalam suatu bahan, baik berupa air maupun jaringan dari tubuh hewan dan bahan lainnya. Cara penghitungan bakteri ada beberapa macam, diantaranya yaitu dengan metode tak langsung karena yang dihitung adalah koloni yang tumbuh pada media agar setelah masa inkubasi tertentu.

a. Untuk Sampel Berupa NB (Nutrient Broth)

- Dibuat seri pengenceran sbb: 0 ; 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4} ; 10^{-5} dengan bahan pengencer berupa trisalt; dengan cara ambil 1 ml dari larutan dengan tingkatan pengenceran 0 (air sampel) dimasukkan ke 9 ml trisalt steril untuk mendapatkan tingkat pengenceran 10^{-1} dan seterusnya.
- Dari setiap pengenceran diambil sebanyak 0,1 ml untuk ditaburkan kedia, kemudian rata dengan menggunakan hockey stick yang disterilkan dengan pembakaran diatas api bunsen.
- Kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan posisi plate terbalik.
- Hitunglah jumlah koloni pada daerah pengenceran yang jumlah koloni bakterinya 30-300 koloni.
- Lakukan pendugaan jumlah bakteri dari larutan yang pertama (asal).

b. Menghitung Sampel Berupa Jaringan

- Sampel terlebih dahulu dilakukan penimbangan yang berupa daging atau bagian dari organ.
- Penimbangan harus dilakukan dengan steril.
- Sampel kemudian dihancurkan, setelah itu dilakukan pengenceran bertingkat seperti pada petunjuk (3.3.10. 2a).

2. Identifikasi Bakteri

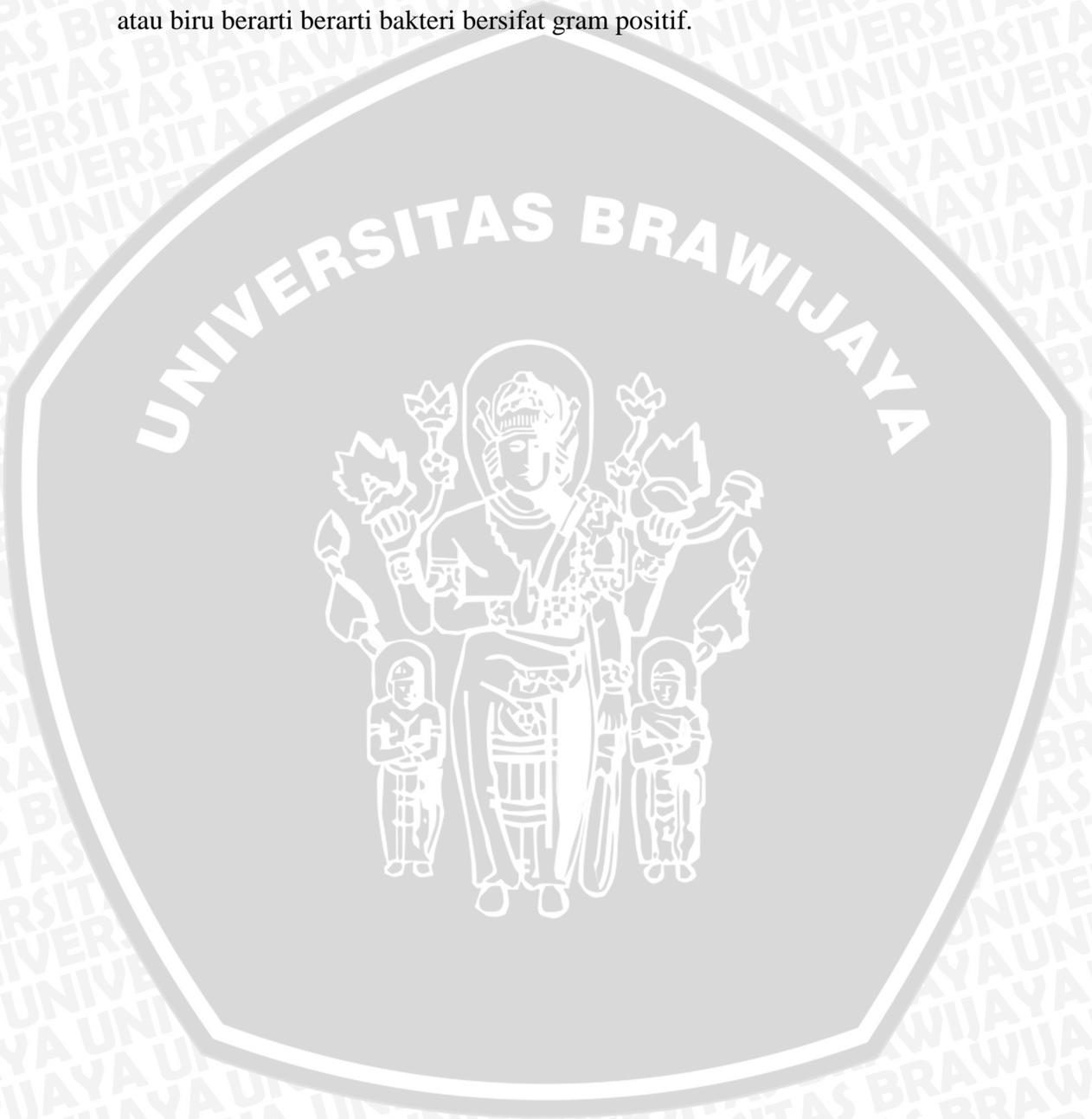
Identifikasi bakteri dilakukan cara dengan berbagai macam kriteria pengamatan, meliputi pengamatan koloni dan morfologi bakteri, yaitu pengenalan bentuk sel bakteri. Disamping itu perlu dilakukan pengamatan terhadap bakteri apakah terdapat flagel (benang getar), serta letak dan jumlah flagellum tersebut. Menurut Taslihan cara-cara tersebut dapat dilakukan dengan pengecatan gram.

Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram bertujuan untuk menentukan apakah bakteri tersebut merupakan bakteri patogen dan untuk mengetahui morfologi bakteri. Dengan pewarnaan gram, dapat dibedakan gram positif dan gram negatif, gram positif berwarna biru dan gram negatif berwarna merah. Setiap bakteri ini terbagi dalam bakteri berbentuk bulat dan batang. Untuk pewarnaan gram metodenya adalah sebagai berikut:

- Slide yang sudah direndam dalam alkohol 95% dibersihkan kemudian diberi label.
- Slide dilewatkan diatas nyala api 3x.
- Jarum ose dipanaskan, ambil aquadest steril dengan menggunakan jarum ose tersebut, untuk setiap satu koloni dipersiapkan satu slide.
- Jarum ose digunakan untuk mengambil biakan bakteri dan oleskan ke slide yang telah diberi aquadest steril, dan ratakan sehingga membentuk film yang tipis.
- Kering anginkan selama \pm 5 menit.
- Kristal violet dituangkan (gramA), diamkan selama 1 menit.
- Dicuci dengan air ledeng, kemudian kering anginkan.
- Tetesi gram iodin, diamkan selama 1 menit.
- Kemudian cuci dengan air yang mengalir dan kering anginkan.
- Cuci dengan alkohol 95%.
- Cuci dengan air mengalir, kemudian kering anginkan.
- Lakukan counter stain dengan safranin 1% selama 20 detik, kemudian cuci dengan air mengalir dan kering anginkan.
- Amati dibawah mikroskop.

- Jika warna bakteri kelihatan merah, berarti bakteri bersifat gram negatif karena sel bakteri tidak menyerap cat utama (gram iodine) dengan kuat sehingga terbilas dengan alkohol dan terwarnai dengan cat pelawan, dan jika warna bakteri ungu atau biru berarti bakteri bersifat gram positif.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan bakteri dilakukan setelah bakteri *Vibrio harveyi* diisolasi pada media agar NA. Berdasarkan hasil pewarnaan, sel bakteri *Vibrio harveyi* yang dilihat pada mikroskop dengan pembesaran 1000x mempunyai bentuk batang, lurus, atau bengkok, berwarna pucat atau merah muda yang menandakan bahwa bakteri tersebut dalam bakteri gram negatif.

Bakteri *Vibrio harveyi* tumbuh pada media selektif TCBSA yang diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37⁰C adapun koloni yang dapat diamati yaitu berwarna kuning dengan ciri-ciri koloni berbentuk bulat, pertumbuhannya menyebar dan permukaannya datar atau cembung. Warna kuning ini dikarenakan bakteri *Vibrio harveyi* mampu mengoksidasi sukrosa (Holtz, 1979). Hasil Pewarnaan bakteri dapat dilihat pada Lampiran 8.

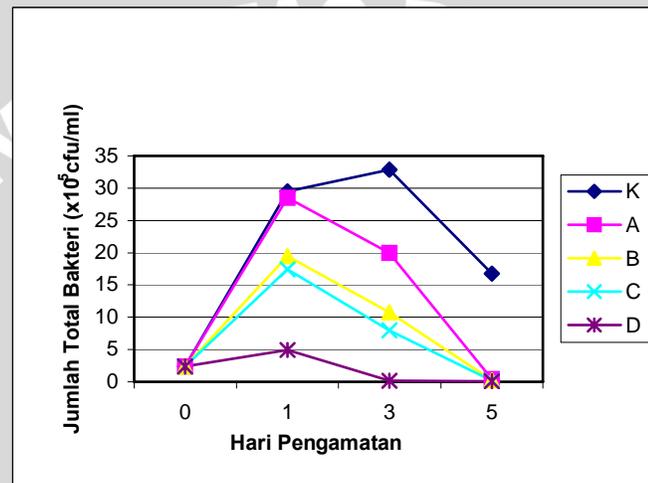
4.2 Jumlah Koloni Bakteri *Vibrio* spp. Pada insang ikan Kerapu Macan Selama Uji Tantang 5 hari

Jumlah hasil perhitungan koloni bakteri *Vibrio* spp. yang terdapat pada insang setelah uji tantang akan disajikan pada Tabel 2. berikut ini:

Tabel 2. Jumlah Koloni Bakteri *Vibrio* spp. Pada Insang Ikan Kerapu Macan Selama 5 Hari Masa Infeksi Dalam (10^5 cfu/ml)

Hari	Dosis (gr alkaloid/Kg pakan)			
	0,5	0,75	1	1,25
0	2,4	2,4	2,4	2,4
1	28,50	19,90	17,45	4,90
3	19,90	10,80	8	2,40
5	0,37	0,235	0,145	0,065

Berdasarkan Tabel 2. diatas dapat dilihat bahwa jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. Pada insang ikan kerapu macan mengalami penurunan dari hari pertama sampai pada hari kelima penginfeksi. Untuk mengetahui seberapa besar pengaruh pemberian imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. terhadap jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. pada insang ikan kerapu macan selama 5 hari penginfeksi dapat dilihat pada Gambar 7. dibawah ini.



Gambar 7. Pengaruh Pemberian Imunostimulan Alkaloid Ubur-ubur *Bougainvillia* sp. Terhadap Jumlah Koloni Bakteri *Vibrio* spp. Pada Insang Ikan Kerapu Macan 5 Hari Penginfeksi

Berdasarkan Gambar 7. diatas dapat dilihat bahwa setelah 1x24 jam dilakukan uji tantang jumlah total koloni bakteri *Vibrio* spp. semakin menurun pada dosis alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. yang paling maksimal yaitu 1,25 gr alkaloid/Kg pakan.

Berdasarkan hasil perhitungan regresi polynomial orthogonal, didapatkan hubungan antara dosis imunostimulan dengan jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. pada insang ikan kerapu macan selama 5 hari penginfeksi dengan dosis maksimum 1,25 gr alkaloid/kg pakan berturut-turut untuk 1x24 jam diperoleh persamaan berbentuk linier yaitu $Y = 43,336 - 29,436 X$ dengan nilai koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,941 dengan

$X_{\text{maksimum}} = 1,25 \text{ gr/Kg}$ pakan dan $Y_{\text{maksimum}} = 4,9 \times 10^5 \text{ cfu/ml}$. Untuk hari 3×24 jam diperoleh persamaan berbentuk linier yaitu $Y = 29,664 - 22,144 X$ dengan nilai koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,954 dengan $X_{\text{maksimum}} = 1,25 \text{ gr/kg}$ pakan dan $Y_{\text{maksimum}} = 2,4 \times 10^5 \text{ cfu/ml}$. Sedangkan untuk hari 5×24 jam setelah penginfeksiian diperoleh persamaan yaitu $Y = 0,558 - 0,404 X$ dengan nilai koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,921 dengan $X_{\text{maksimum}} = 1,25 \text{ gr/kg}$ pakan dan $Y_{\text{maksimum}} = 0,065 \times 10^5 \text{ cfu/ml}$. Perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 9.

Penurunan jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. pada insang ikan kerapu macan disebabkan karena pada insang terdapat sel-sel penghasil mukus yang dikenal sebagai glandula mukosa yang berupa sejumlah sel-sel tunggal penghasil mukus yang terdapat pada lengkung insang yang mampu membunuh bakteri. Menurut Irianto (2005), mukus merupakan glikoprotein yang bersifat basa, yang salah satu fungsinya adalah sebagai anti patogen yang memiliki kemampuan untuk menghambat kolonisasi mikroorganisme, disamping itu mukus juga berfungsi sebagai pelindung kimiawi karena mengandung lisozime, komplemen dan protease yang dapat merusak sel-sel bakteri gram negatif disamping itu juga mampu melisis dan membunuh sel-sel bakteri dalam hal ini bakteri *Vibrio* spp. Fungsi dari lisozime inilah yang akan mampu menghancurkan lapisan peptidoglikan dinding sel bakteri, hal ini merupakan pertahanan non spesifik yang penting bagi hospes (Roitt, 1994).

Selain karena mukus pada insang, penurunan jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. juga dipengaruhi oleh pemberian alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. Senyawa ini dapat mengaktifkan sistem komplemen yang dapat melisis sel-sel bakteri (menjadi perantara bagi lisozime) hal ini sesuai dengan penelitian Awiningsih (2004), bahwa alkaloid memiliki sifat bakteriosida karena mampu memberikan daerah hambatan rata-

rata pada bakteri *Vibrio harveyi* 10,31 mm. Sedangkan menurut Ninis (komunikasi personal) dalam penelitian (masih dalam proses penyelesaian) alkaloid dapat meningkatkan kerja dari makrofag hal ini terbukti bahwa pada dosis 1 gr alkaloid/kg pakan (dosis C) jumlah makrofag meningkat sebesar $14,10 \times 10^5$ sel/ml, meningkatnya jumlah makrofag menandakan meningkatnya respon imun dalam tubuh ikan. Dalam waktu beberapa menit setelah peradangan dimulai, makrofag telah terdapat di jaringan dan segera memulai kerja fagositiknya. Dalam jam pertama atau jam-jam berikutnya setelah peradangan dimulai, sejumlah besar neutrofil dari darah mulai menginvasi area yang meradang. Dalam beberapa jam sesudah dimulainya radang akut yang berat, maka dalam darah terjadi kenaikan jumlah neutrofil yang disebut neutrofilia. Bersama dengan invasi neutrofil, maka monosit dalam darah akan memasuki jaringan yang meradang dan membesar menjadi makrofag. Namun, monosit dalam darah sirkulasi jumlahnya sedikit, oleh karena itu pembentukan makrofag dalam area jaringan yang meradang jauh lebih lambat daripada neutrofil, dan memerlukan waktu beberapa hari untuk menjadi efektif. Setelah beberapa hari sampai beberapa minggu, makrofag akhirnya mendominasi sel-sel fagositik pada area yang meradang, karena jumlah produksi monositnya yang sangat meningkat (Guyton dan Hall, 1997). Sehingga dapat dikatakan bahwa alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. merupakan senyawa imunostimulan karena dapat mengaktifkan sistem komplemen yang merupakan sistem kekebalan humoral dan seluler nonspesifik.

Untuk mengetahui seberapa efektif pengaruh imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. Terhadap jumlah bakteri *Vibrio* spp. yang menginfeksi insang ikan kerapu macan dapat dilihat pada Tabel 3. berikut ini.

Tabel 3. Efektifitas Bahan Imunostimulan Dari Alkaloid Ubur-Ubur *Bougainvillia* sp. Terhadap Jumlah Koloni Bakteri *Vibrio* spp. Pada Insang Ikan Kerapu Macan Dalam 10^5 cfu/ml

Dosis	Σ Bakteri Awal (cfu/ ml)	Σ Bakteri Akhir (cfu/ ml)	Efektifitas (%)
A = 0,5 gr/Kg	2,4	0,37	84,58%
B = 0,75 gr/Kg	2,4	0,235	90,21%
C = 1 gr/Kg	2,4	0,145	93,96%
D = 1,25 gr/Kg	2,4	0,065	97,29%

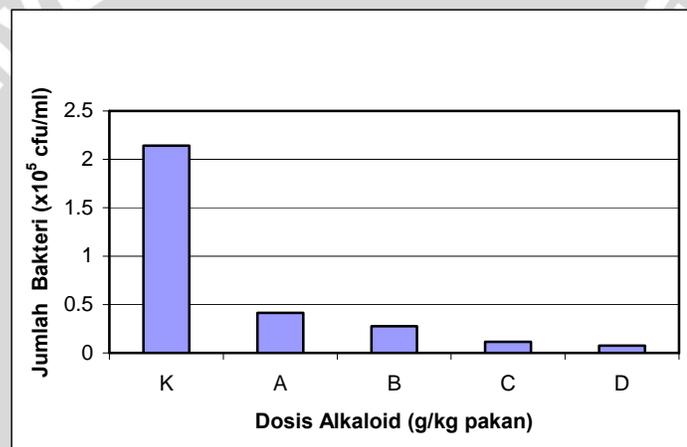
Berdasarkan Tabel 3. diatas dapat diketahui bahwa efektifitas pemberian imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. ternyata dapat menekan jumlah total koloni bakteri *Vibrio* spp. Pada insang ikan kerapu macan sebesar 97,29% pada dosis D yaitu 1,25 gr alkaloid/Kg pakan. Penekanan jumlah total koloni bakteri *vibrio* spp. disebabkan karena alkaloid ubur-ubur *Bouganvillia* sp. mempunyai sifat antimikroba. Hal ini sesuai dengan penelitian Heramawati (2005), yang menyatakan bahwa alkaloid efektif membunuh bakteri sampai dengan 99,9%. Ekstrak hewan yang membunuh bakteri dapat dianggap sebagai imunostimulan (Sakai, 1999). Perhitungan efektifitas jumlah total koloni bakteri *Vibrio* spp. pada insang ikan kerapu macan dapat dilihat pada Lampiran 10.

4.3 Jumlah Koloni Bakteri *Vibrio* spp. Pada Limpa Ikan Kerapu Macan 5x24 Jam Setelah Uji Tantang

Jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. yang terdapat dalam limpa ikan kerapu macan 5x24 jam setelah uji tantang dapat dilihat pada Tabel 4. berikut ini.

Tabel 4. Jumlah Koloni Bakteri *Vibrio* spp. Pada Limpa Ikan Kerapu Macan 5x24 Jam setelah Uji Tantang Dalam (10^5 cfu/ml)

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Total	Rata-rata
K	2,24	2,04	4,28	2,14
A	0,41	0,42	0,83	0,415
B	0,26	0,29	0,55	0,275
C	0,11	0,12	0,23	0,115
D	0,09	0,06	0,15	0,075
Total			8,98	



Gambar 8. Jumlah Koloni Bakteri *Vibrio* spp. Pada Limpa Ikan Kerapu Macan 5x24 Jam Setelah Uji Tantang Dalam (10^5 cfu/ml)

Berdasarkan Tabel 4. dan Gambar 8. diatas dapat dilihat jumlah bakteri *Vibrio* spp. pada limpa ikan kerapu macan mengalami penurunan. Hal ini menandakan bahwa semakin tinggi dosis alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. maka jumlah bakteri juga semakin menurun sehingga penekanan terhadap jumlah bakteri semakin meningkat. Uji selanjutnya yaitu dilakukan sidik ragam yang berfungsi untuk mengetahui pengaruh pemberian imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. terhadap jumlah bakteri pada limpa ikan kerapu macan 5x24 jam setelah uji tantang dapat dilihat pada Tabel 5. berikut ini.

Tabel 5. Analisa Sidik Ragam Pertumbuhan Koloni Bakteri *Vibrio* spp. pada Limpa Ikan Kerapu Macan setelah 5 x 24 Jam (Dalam Log)

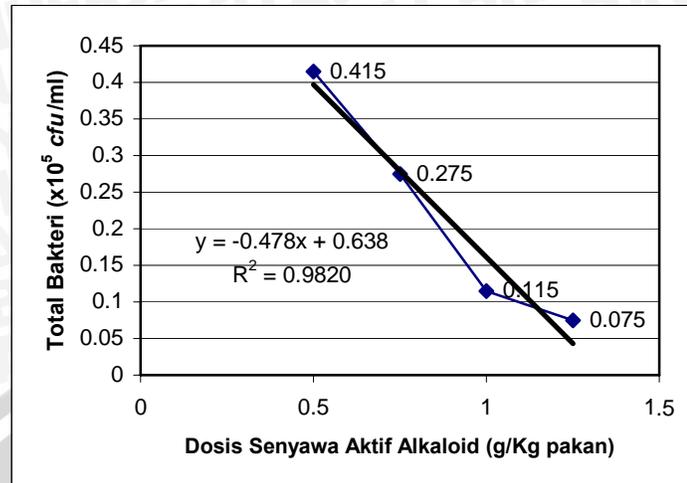
Sumber	db	JK	KT	Fhit	5%	1%
Perlakuan	3	0,707	0,236	59**	6,59	16,69
Acak	4	0,016	0,004			
Total	7	0,723	-	-	-	-

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil analisa sidik ragam seperti pada Tabel 5. diatas, ternyata hasilnya berbeda sangat nyata hal ini menyatakan bahwa perlakuan pemberian immunostimulan yang menggunakan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. dan diujiantang sampai pada hari ke 5 berpengaruh sangat nyata terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. pada limpa ikan kerapu macan.

Selanjutnya dilakukan uji polynomial orthogonal yang berfungsi untuk mengetahui hubungan yang sesuai antara pemberian imunostimulan bahan aktif alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. dengan dosis yang berbeda terhadap jumlah bakteri *Vibrio* spp. seperti terlihat pada Lampiran 11.

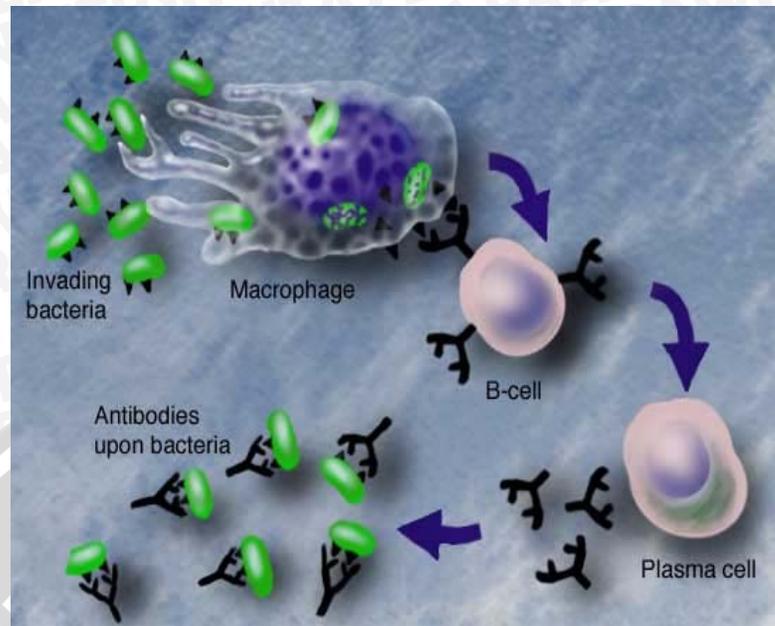
Berdasarkan perhitungan regresi ternyata persamaan yang sesuai adalah persamaan linier $Y = 0,638 - 0,478 x$ dengan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,982. Adapun bentuk dari hubungan antara dosis alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. dengan jumlah total bakteri *Vibrio* spp. pada limpa ikan kerapu macan dapat dilihat pada Gambar 9. berikut ini.



Gambar 9. Pengaruh Senyawa Alkaloid Ubur-ubur *Bougainvillia* sp. Terhadap Jumlah Koloni Bakteri *Vibrio* spp. Pada Limpa Ikan Kerapu Macan

Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa pemberian imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. yang paling efektif adalah pada dosis 1,25g alkaloid/Kg pakan dengan jumlah total bakteri terendah yaitu $0,075 \times 10^5$ cfu/ml.

Penurunan jumlah koloni bakteri *vibrio* spp. pada limpa ikan kerapu macan disebabkan oleh fungsi alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. sebagai pemicu dari kerja makrofag dan menstimulasi limfosit terutama meningkatkan proliferasi dan aktivasi limfosit yang terdapat pada limpa. Jika bakteri dalam hal ini adalah bakteri *Vibrio* spp. tidak berhasil dibunuh pada garis pertahanan pertama (kulit, insang, selaput dan lendir), bakteri tersebut dapat melanjutkan ke dalam hospes melalui saluran limpa ke limfonodi, dan dalam limfonodi bakteri bertemu dengan elemen-elemen sistem fagositik (makrofag) yang merupakan prasarat untuk respon imun non spesifik (Bellanti, 1993). Dalam Jaringan limpa, makrofag terjatuh dalam anyaman retikular organ tersebut dan apabila ada partikel asing yang berhubungan dengannya, maka partikel dapat difagositosis (Guyton dan Hall, 1997). Adapun mekanisme respon imun terhadap bakteri dapat dilihat pada Gambar 10. berikut ini.



Gambar 10. Respon Imun Terhadap Bakteri
(Jon Hatchett, 2004 dalam Irawan, 2005)

Dosis imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. yang efektif dapat meningkatkan kekebalan seluler dan humoral yang bersifat non spesifik pada tubuh ikan kerapu macan sehingga dapat menghambat bakteri maupun virus. Hal ini dapat dilihat bahwa semua data yang diperoleh menandakan bahwa semakin tinggi dosis alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. yang diberikan pada pakan ikan kerapu macan dapat meningkatkan daya tahan tubuh ikan, hal ini dibuktikan dengan semakin menurunnya jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. baik pada insang dan limpa ikan kerapu macan. Adapun dosis yang paling efektif pada penelitian ini adalah pada perlakuan D yaitu 1,25 gr alkaloid/kg pakan.

Untuk mengetahui seberapa efektif pengaruh imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. terhadap jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. yang menginfeksi ikan kerapu macan dapat dilihat pada Tabel 6. berikut ini.

Tabel 6. Efektifitas Bahan Immunostimulan Dari Alkaloid Ubur-Ubur *Bougainvillia* sp. Terhadap Jumlah Koloni Bakteri *Vibrio* spp. Pada Limpa Ikan Kerapu Macan Dalam 10^5 cfu/ml

Dosis	Σ Bakteri Awal (cfu/ ml)	Σ Bakteri Akhir (cfu/ ml)	Efektifitas (%)
A = 0,5 gr/Kg	2,4	0,415	82,71%
B = 0,75 gr/Kg	2,4	0,275	88,54%
C = 1 gr/Kg	2,4	0,115	95,21%
D = 1,25 gr/Kg	2,4	0,075	96,88%

Berdasarkan Tabel 6. diatas dapat diketahui bahwa efektifitas pemberian alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. dapat menekan jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. pada limpa ikan kerapu macan sebesar 96,88% pada dosis D yaitu 1,25 gr alkaloid/ Kg pakan

4.4 Gejala Klinis (Serangan) Bakteri *Vibrio* spp.

Adapun gejala klinis dan patologis ikan yang terserang bakteri *Vibrio* spp. antara lain dapat dilihat pada Tabel 7. berikut ini.

Tabel 7. Gejala-gejala Patologi Klinik Ikan Kerapu Macan yang Terserang *Vibriosis* Selama Uji Tantang

Hari ke-n	Gejala-gejala patologi klinik
1-2	Tidak aktif berenang, lemas , respon kurang, nafsu makan rendah, lendir berlebih, mulut kemerah-merahan
3-5	Ikan berenang kepermukaan dan bergerak berputar-putar (<i>whirling</i>), permukaan tubuh kehitam-hitaman (<i>melanisasi</i>), warna insang pucat, nafsu makan kurang, mulut kemerah-merahan, sirip dada, sirip perut dan sirip ekor kemerah-merahan, dan ekor geripis
6-7	Ikan mulai berenang kedasar bak dan cenderung bergerombol, respon bagus, nafsu makan mulai meningkat, dan lendir normal

Vibriosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri dari famili *Vibrionaceae*, bakteri penyebab *Vibriosis* merupakan bakteri berbentuk batang, bersifat gram negatif dan sebagian besar hidup pada ikan air payau atau ikan air laut. Infeksi *Vibrio* sp.dapat menyebabkan mortalitas >50% (Irianto, 2005).

Invasi bakteri diikuti penyebaran sistemik dan multiplikasi. Kemampuan multiplikasi di dalam jaringan terus meningkat apabila bakteri tersebut lolos dari sistem pertahanan tubuh inang. Kemampuan ini menyebabkan kerusakan organ yang lebih parah dan kematian inang (Emancipator, 1996 dalam Maftuch, 2006).

Adapun gejala-gejala klinis ikan yang terserang bakteri ini adalah hemoragik, pada kulit, insang, dan ekor, kehilangan nafsu makan, warna kulit berubah gelap, dan insang berwarna pucat. Selain itu terjadi pembengkakan kulit yang lama kelamaan akan menjadi pecah, luka dan mengeluarkan nanah. Bila dilakukan pembedahan akan terlihat pembengkakan dan kerusakan pada jaringan hati, ginjal dan limpa (Munajat, 2003).

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa penginfeksi bakteri *Vibrio* spp. Pada media hidup ikan kerapu macan menunjukkan gejala infeksi klinis pada hampir semua jaringan. Adapun gambar beberapa jenis kerusakan organ ikan uji (kerapu macan) dapat dilihat pada Lampiran 12.

4.5 Kualitas Air Media Hidup Ikan Kerapu Macan

Air merupakan media yang paling vital bagi ikan. Kenyamanan hidup ikan sangat tergantung pada kualitas air, kualitas air yang buruk akan mempengaruhi metabolisme tubuh ikan. Namun apabila kondisi air terus memburuk, akan mempengaruhi kesehatan ikan walaupun ikan hidup namun kualitasnya akan menurun (Munajat, 2003).

Dalam penelitian ini kualitas air merupakan parameter penunjang. Parameter yang diukur antara lain suhu, DO, pH, salinitas dan amoniak, adapun kisaran hasil pengukuran kualitas air dapat dilihat pada Tabel 8. berikut ini.

Tabel 8. Kisaran Hasil Pengukuran Kualitas Air

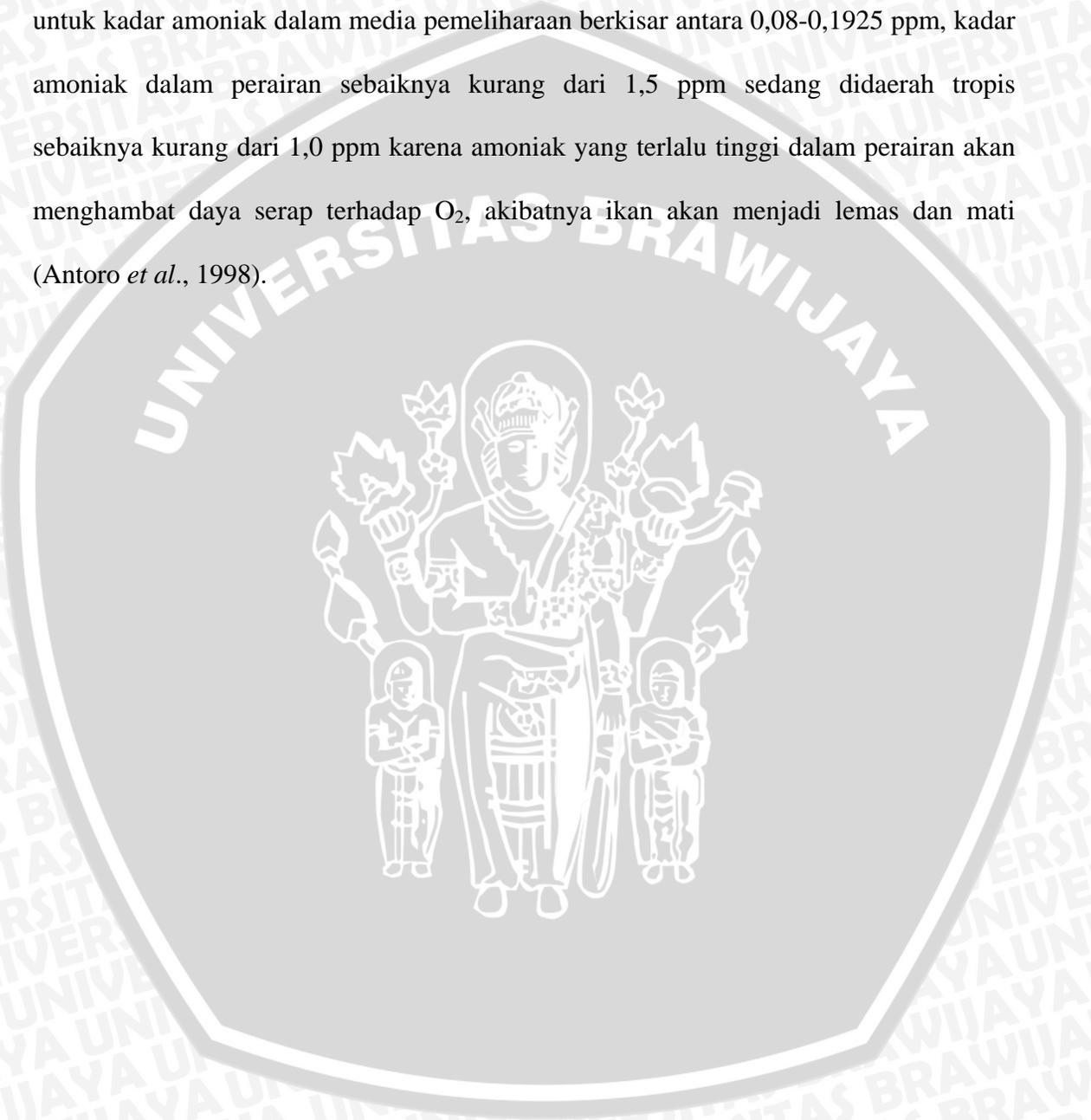
No.	Parameter Kualitas Air	Kisaran	Pustaka (Suriawan, 2004)
1.	Suhu	25,4 – 29,3 °C	28 – 32 °C
2.	Oksigen Terlarut (DO)	4 – 6,9 ppm	5 ppm
3.	Salinitas	30 – 37 ppt	31 – 35 ppt
4.	Derajat keasaman (pH)	7 – 8,10	7,8 – 8,3
5.	Amoniak	0,08 – 0,1925 ppm	< 0,1 ppm

Dari hasil pengukuran terhadap kualitas air media selama penelitian masih memberikan nilai pada kisaran yang diinginkan oleh benih ikan kerapu macan. Perubahan suhu yang cukup ekstrim akan berpengaruh terhadap proses metabolisme atau nafsu makan, jika suhu turun sampai dibawah 15 °C dapat menyebabkan ikan tidak mau makan dan aktifitasnya berkurang (Antoro *et al.*, 1998). Kondisi seperti inilah yang menyebabkan pembentukan antibodi dalam tubuh menjadi terhambat dan menyebabkan reaksi kekebalan tidak dapat berkembang (Pasaribu, 1989). Dari hasil pengamatan selama penelitian suhu air media sangat cocok untuk proses pembentukan kekebalan non spesifik ikan, yaitu berkisar antara 25,4 – 29,3 °C.

Kondisi perairan dengan pH netral atau sedikit basa sangat ideal untuk pertumbuhan ikan air laut. pH air media selama penelitian berisar antara 7-8,10, dimana kondisi ini masih dalam batas toleransi yaitu 4,0-11,0 (Wardoyo, 1981).

Kandungan oksigen terlarut dalam media penelitian berkisar antara 4-6,9 ppm. Menurut Wardoyo (1981), ikan kerapu yang dibudidayakan dapat hidup layak bila kandungan oksigen terlarut dalam air lebih dari 4 ppm, berdasarkan pernyataan tersebut maka kondisi oksigen dalam media penelitian masih dalam kisaran yang normal.

Untuk salinitas dalam media pemeliharaan berkisar antara 30-37 ppt. Kondisi ini masih dalam batas toleransi yaitu 30-35 ppt (Anonymous, 2004). Salinitas yang tidak sesuai akan mempengaruhi akan mempengaruhi organ osmoregulator ikan. Sedangkan untuk kadar amoniak dalam media pemeliharaan berkisar antara 0,08-0,1925 ppm, kadar amoniak dalam perairan sebaiknya kurang dari 1,5 ppm sedang didaerah tropis sebaiknya kurang dari 1,0 ppm karena amoniak yang terlalu tinggi dalam perairan akan menghambat daya serap terhadap O_2 , akibatnya ikan akan menjadi lemas dan mati (Antoro *et al.*, 1998).



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Dosis imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. Berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah bakteri *Vibrio* spp. pada insang ikan kerapu macan 1x24jam setelah ujiantang. Persamaan hubungan antara dosis dengan dengan jumlah bakteri yang terdapat pada insang berbentuk linier yaitu $Y = 43,336 - 29,436 X$ dengan nilai koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,941 dengan $X_{\text{Maksimum}} = 1,25$ gr alkaloid/Kg pakan dan $Y_{\text{Masimum}} = 4,9 \times 10^5$ cfu/ml.
2. Dosis imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. Berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah bakteri *Vibrio* spp. pada insang ikan kerapu macan 3x24jam setelah ujiantang. Persamaan hubungan antara dosis dengan jumlah bakteri yang terdapat pada insang yaitu berbentuk linier $Y = 29,664 - 22,144 X$ dengan nilai koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,954 dengan $X_{\text{Masimum}} = 1,25$ gr alkaloid/Kg pakan dan $Y_{\text{Masimum}} = 2,4 \times 10^5$ cfu/ml.
3. Dosis imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah bakteri *Vibrio* spp. pada insang ikan kerapu macan 5x24jam setelah ujiantang. Persamaan hubungan antara dosis dengan jumlah bakteri yang terdapat pada insang yaitu berbentuk linier $Y = 0,558 - 0,404 X$ dengan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,992 dengan $X_{\text{Masimum}} = 1,25$ gr alkaloid/Kg pakan dan $Y_{\text{masimum}} = 0,065 \times 10^5$ cfu/ml.
4. Dosis imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. Berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah bakteri *Vibrio* spp. pada limpa ikan kerapu macan

5x24jam setelah ujiantang. Persamaan hubungan antara dosis dengan jumlah bakteri yang terdapat pada limpa berbentuk linier yaitu $Y = 0,638 - 0,478 X$ dengan nilai koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,9820 dengan $X_{\text{Masimum}} = 1,25$ gr alkaloid/Kg pakan dan $Y_{\text{masimum}} = 0,075 \times 10^5$ cfu/ml.

5. Pemberian bahan aktif alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. melalui pakan terhadap ikan kerapu macan berpengaruh terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Vibrio* spp. Yang menginfeksi insang dan limpa ikan kerapu macan.
6. Efektifitas pemberian bahan imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. dengan dosis 1,25 gr alkaloid/ Kg pakan ternyata dapat menekan jumlah bakteri *Vibrio* spp. yang menginfeksi ikan kerapu macan pada insang sebesar 97,29% dan pada limpa ikan kerapu macan sebesar 96,88%.
7. Nilai kisaran kualitas air media pemeliharaan masih dalam batas kisaran toleransi ikan kerapu macan yaitu: suhu 24,5 - 29,3; DO 4 - 6,9 ppm; salinitas 30 -37 ppt; pH 7 -8,10; amoniak 0,08 -0,1925 ppm.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian disarankan:

1. Penggunaan imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. efektif pada dosis antara 1 - 1,25 g/kg pakan melalui pakan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. terhadap virus yang menyerang ikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriandini, K., 2004. **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.)**. Skripsi. Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Brawijaya. Malang.
- Anderson, D. P. 1974. **Fish Immunology**. In: **Diseases of Fishes. Research Immunologist**. T.F.H. Publication, Inc. Ltd. The Brish Crown of Hongkong. 218 pp.
- Anonymous, 2002. <http://www.Hydrozoa/foto.com>.
- Anonymous, 2003. **Budidaya Ikan Kerapu Macan Dalam Keramba Jaring Apung. Dalam Pembudidayaan Ikan**. Badan Riset Kelautan dan Perikanan. Jakarta. 4: 8-11.
- Anonymous, 2004. **Pembenian Ikan Kerapu**. Departemen Kelautan dan Perikanan. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Balai Budidaya Laut Lampung. 84 hal.
- Anonymous, 2006. <http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary/cfm?id=4460>.
- Antoro, S., E. Widiastuti, P. Hartono. 1998. **Biologi Ikan Kerapu. Dalam Pembenihan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)**. Departemen Pertanian Direktorat Jendral Perikanan. Balai Budidaya Laut. Lampung. 4-12. 81 hal.
- Awningsih, 2004. **Pengaruh Bahan Aktif Alkoloid Ekstrak Cair Ubur-Ubur (*Bougainvillia* sp) Dengan Dosis yang Berbeda Terhadap *Vibrio Harveyi* Secara *Invitro***. Skripsi. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Tidak diterbitkan.
- Bauman, P.A.L, Furniss and I. V. Lee. 1984. **Facultative Anaerobic Gram Negative Rods : Genus I *Vibrio***. In : Krieg N. R and Holt J.G (Ed). **Bergey's Manual of Sistematic Bacteorology**. Williams and Wilkins Baltimore. USA. P. 518-538.
- Baratawidjaja, K., G., 2004. **Imunologi Dasar. Edisi 6**. Penerbit Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 588 hal.
- Bergey's. 2000. **Manual of Determinative Bacteorology. 9th Edition**. Williams and Wilkins A wolters Klower Company. Philadelphia. 787 hal. Bellanti, J.A. 1993. **Imunologi III**. Alih BahasaA. Samik Wahab dkk. Penerbit Gajahmada University Press. Yogyakarta. 647 hal

- Bellanti, J.A. 1993. **Imunologi III**. Alih BahasaA. Samik Wahab dkk. Penerbit Gajahmada University Press. Yogyakarta. 647 hal
- Barnes, R.D., 1974. **Invertebrate Zoology**. W.B. Saunders Company. Toppan Company, LTD. Piladelpia. London. Toronto.
- Bonang, G dan Koeswardono E. S. 1982. **Mikrobiologi Kedokteran. Untuk Laboratorium dan Klinik**. Penerbit PT Gramedia Pustaka. Jakarta. 197 hal.
- Brooks, G.F., Janet. S.B., Stephen. A. M. 2001. **Mikrobiologi Kedokteran**. Alih Bahasa Eddy. M dkk. Penerbit Salemba Medika. Jakarta. 527 hal.
- Buddin, E. 2003. **Coastal Information Education and Communications Office**. The South Carolina Department of Natural Resources Publishes. 9 pp.
- Dakin, W. J., 1979. **Australian Seashores**. Australian Natural Science Library. Angus & Robertson Publishers. Australian.
- Dwidjoseputro, D. 2003. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Penerbit Djambatan. Jakarta. 214 hal.
- Fadjar, M., S. Andayani, D. Arfiati, dan A. Prajitno. 2003. **Pemanfaatan Ekstrak Kasar Hydrozoa Sebagai Bakterisida Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi***. Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati. Vol. 15. No. 1. 12: 69-71.
- Farid, M., Fadjar, M. dan S. Andayani. 2004. **Isolasi dan Pemurnian Bahan Aktif ubur-ubur *Bougainvillia sp.* dan *Aeginura sp.*** Laporan Penelitian Fakultas MIPA Jurusan Kimia. Universitas brawijaya. Malang. 62 hal.
- Fessenden, R.J dan J.S. Fessesnden. 1982. **Organic Chemistry. Second Edition**. Willard Grant Press. Boston. Massachusetts. 1068 pp.
- Gasperz, V. 1991. **Metode Perencanaan Percobaan**. CV Armico. Bandung. 472 hal.
- Gomez, K. A dan Gomez, A.A. 1995. **Peosedur Statistik Untuk Penelitian Pertanian**. Edisi Kedua. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Guyton, A.C dan Hall, J.E. 1996. **Fisiologi Kedokteran**. Alih Bahasa; dr. Irawati Setiawan, dr. LMA. Ken Ariata Tengadi, dr. Alex Santoso. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 1425 hal.
- Harborne. J.B. 1987. **Metode Fotokimia**. Alih Bahasa : Kosasih, P dan Iwang, S. ITB. Bandung. Hal 234-245.
- Heramawati. 2005. **Pengaruh Bahan Aktif Dari Ubur-Ubur, *Bougainvillia sp.* Dengan Dosis Berbeda Untuk Menekan Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyii* Pada Media Hidup Kepiting Bakau (*Scylla sp.*)**. Skripsi (Tidak

- Dipublikasikan). Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 68 halaman.
- Holt, J. G. 1979. **The Sorter Bergey;s Manual of Determinative Bacteriology**. The Williams and Wilkins Company Baltimore. USA. 35 pp.
- Irawan, 2005. **Pengaruh Pemberian Imunostimulan bahan aktif Alkaloid Dari Ubur-Ubur (*Bougainvillia sp.*) Terhadap Jumlah Total Bakteri *Vibrio harveyi* yang menginfeksi Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)**. Skripsi (Tidak Dipublikasikan). Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Tidak diterbitkan. 99 hal.
- Irianto, A. 2005. **Patologi Ikan Teleostei**. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 256 hal.
- Johnny, F., Zafran , D. Roza, Haryanti, K. Suwirya. 2001. **Peningkatan Resistensi Larva Udang Windu (*Penaeus monodon*) Melalui Penambahan Immunostimulan Pada Pakan Mikro**. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. Jakarta. 5: 47-51.
- Kordi, K. M. G.H. 2001. **Usaha Pembesaran Ikan Kerapu di Tambak**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 115 hal.
- , 2004. **Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan**. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta. 194 hal.
- Kumar, S. and Tembhre, M. (1996). **Anatomy and Physiology of Fishes**. Vikas Publishing House PVT Ltd., New Delhi.
- Mac Arthur, J.I. and T.C. Fletcher. 1985. **Phagocytosis in: Fish Immunology**. Academic Press. London.
- Maftuch, 2005. **Imunodeteksi Antigen Pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang Terinfeksi *Vibrio harveyi***. Makalah Seminar Dalam Rangka Dies Natalis Universitas Brawijaya Bekerja Sama dengan Pemerintah Kabupaten Situbondo. Situbondo. 10 hal.
- Maldoni, B. 1991. **Alkaloid : Isolation and Purification**. Universidad del sur. Bahia Blanca. Argentina. P. 700-703
- Munajat, A dan Budiana, N. S. 2003. **Pestisida Nabati untuk Penyakit Ikan**. Penebar Swadaya Jakarta. 88 hal.
- Murtidjo, B. A. 2002. **Budidaya Kerapu dalam Tambak**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 80 hal.
- Nabib, R. dan H. F. Pasaribu. 1989. **Patologi dan Penyakit Ikan**. Departemen P dan K. Ditjen Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi. I PB. 158 hal.

- Panjaitan, P.J. 1991. **Serangan Penyakit Kunang-Kunang pada Larva Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab) di Panti Benih Udang.** Badan Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta. 99 hal.
- Radiopoetro. 1991. **Zoology.** Erlangga. Jakarta. 619 hal.
- Randall, J.E. 1987. **A Preliminary Synopsis of The Groupers (Perciformes; Serranidae; Epinephelinae) of The Indo Pacific Region.** J.J Polovina and S. Ralston (editors), Boulder and London: Tropical Snapper and Groupers: Biology and Fisheries Management. Westview Press Inc.
- Ratnawati, A. 2003. **Penggunaan Ekstrak Kasar *Aeginura sp* untuk menghambat Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi*.** Skripsi: Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Tidak diterbitkan.
- Robinson, T. 1995. **Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi.** Alih Bahasa: Kosasih Padmawinata. Edisi Keenam. ITB. Bandung. 367 hal.
- Roitt, M. Ivan. 1994. **Immunologi.** Alih Bahasa: Dr. Alida Harahap, spPk. PhD; Dr. Liliana Kurniawan, MSc, DTMH, APU; Dr. Samsuridjal Djauzi, SpPD; Prof. Dr. Siti Boediana Kresno, SpPK; Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, MSc. Edisi kedelapan. Widya Medika. Jakarta. 425 hal.
- Romimohtarto, K dan S Juwana. 2005. **Biologi Laut Ilmu Pengetahuan Tentang Biota Laut.** Cetakan Ke-2. Penerbit Djambatan. Jakarta.
- Roza, D dan Johnny, F. 2004. **Peningkatan Kekebalan Larva Ikan Kerapu Bebek *Cromileptes altivetis* Terhadap Infeksi VNN.** Prosiding Pengendalian Penyakit pada Ikan dan Udang Berbasis imunisasi. Purwokerto.
- Rukyani, A., Taufik, A dan Tauhid. 1992. **Penyakit Kunang-Kunang di Hatcery Udang Windu dan Cara Penanggulangannya.** Primadona. Bendel Kedua. Edisi April. Jakarta. 61 hal.
- Sanoesi, E., S Andayani dan M. Fadjar. 2002. **Introduksi Pemanfaatan Silase Ikan rucah Sebagai Pakan Terhadap Pertumbuhan Dan Kelulushidupan Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus Fuscoguttatus*) dalam Ilmu-ilmu Hayati.** Vol 14 No.1. Hal 84-93.
- Stoskopf, M. K. 1993. **Fish Medicine.** W. B. Saunders Company. Mexico. 639.3 – dc20
- Subyakto dan Cahyaningsih. 2003. **Pembenihan Kerapu Skala Rumah Tangga.** Agromedia. Jakarta.
- Sugama, Hariyanti, Kuma dan Takano. 1993. **Panduan Pembenuhan Udang Windu (*Penaeus monodon*).** Proyek Penelitian Pembenuhan Udang. Kerjasama antara Sub Balai Penelitian Perikanan Budidaya Pantai. Gondol-Bali dengan Japan International Cooperation Agency (JICA). 43 hal.

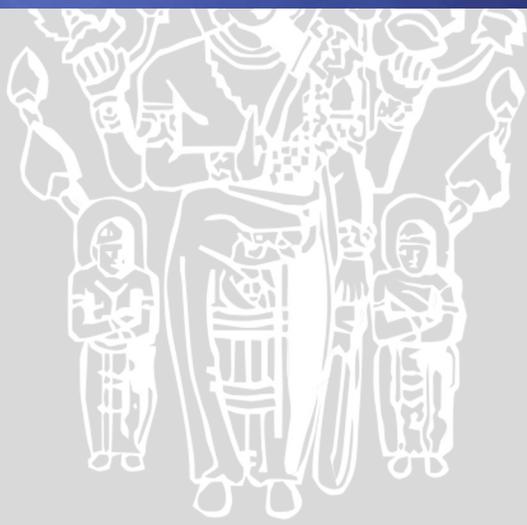
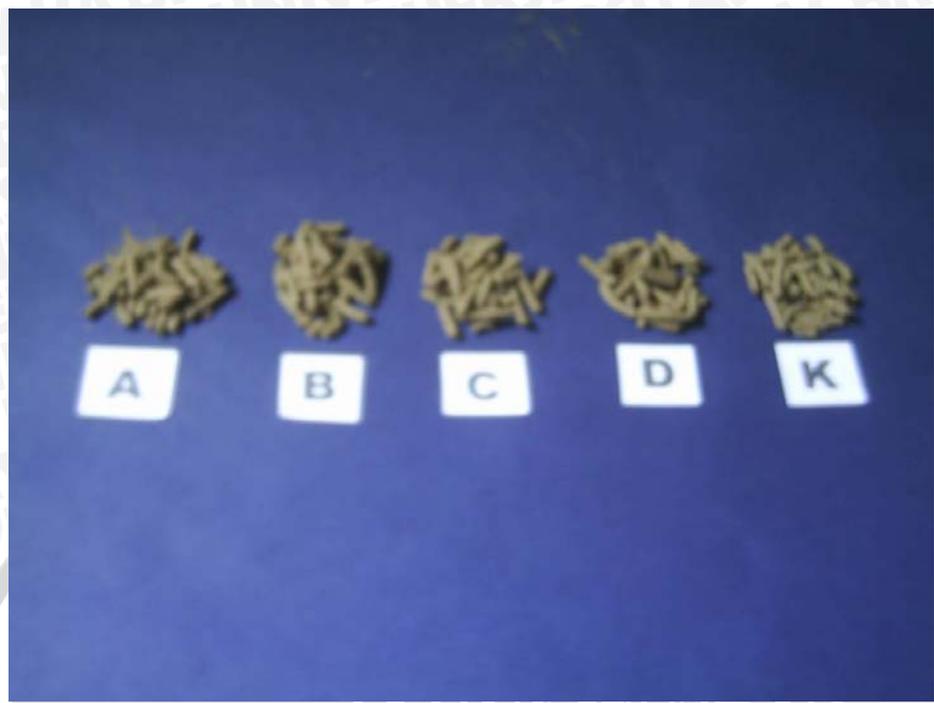
- Surachmad, W.1989. **Pengantar Penelitian Ilmiah : Dasar, Metode dan Teknik**. Edisi Ketujuh. Bandung. 127 hal.
- Suriawan, A. 2004. **Produksi benih Ikan Kerapu**. Makalah Pelatihan Pembenuhan Multispesies bagi Pengelola Balai Benih Ikan Pantai Di BBAP Situbondo 15 September - 11 Oktober 2004. Departemen Kelautan Dan Perikanan. Departemen Kelautan Dan Perikanan. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Balai Budidaya Air Payau Situbondo.
- Taslihan, A. 1996. **Petunjuk Umum Cara Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Air, Udang dan Ikan di Air Payau**. Balai Budidaya Air Payau. Jepara. 31 hal.
- Tizard, I.1982. **Imunologi Veteriner**. W.B. Saunders Company. Toronto. 497 hal.
- West, Dr K., 1996. **The Anatomy of the Immune System**. Departemen Of Microbiology and Immunology.
- Wijarni dan D Afriati. 1984. **Diktat Avertebrata Air**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 173 hal.
- Yahya, Sukoso, Aulanni'am, Bagus S:B,U dan J. Basmal. 2002. **Identifikasi dan Purifikasi Bioatif dan Ekstrak Jaringan Tantakel Ubur-ubur Laut sebagai Bakterisida**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Yanuar, U., Maftuch., Satuman., Sukoso., Sumarno. 2004. **Karakterisasi Molekul Adesi Protein Pili Vibrio alginolyticus dan Vibrio parahaemolyticus Pada Sel Epitel Ikan Kerapu Tikus Cromileptes altivelis**. Prosiding Pengendalian Penyakit Pada Ikan dan Udang Berbasis Imunisasi dan Biosecurity. Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV. Purwokerto. 8 hal.
- Yitnosumarno, S. 1993. **Percobaan Perancangan Analisis dan Interpretasinya**. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 294 hal
- Zafran dan Boer. 1992. **Karakteristik Beberapa Isolat Bakteri Yang Diisolasi dari Larva Udang Windu**. Jurnal Penelitian Budidaya Pantai. Balai Penelitian Perikanan Budidaya Pantai. Maros. Hal. 43-51.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambar Benih Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)



Lampiran 2. Gambar Pakan Ikan Kerapu Macan



Lampiran 3. Hasil Uji Proksimat Komposisi Kimia dari Ransum Uji Pakan Ikan Kerapu

Zat Makanan	Persentase
Air	7,02
Protein	47,21
Lemak	5,70
BETN	27,01
Serat Kasar	6,05
Abu	8,01
Kalori	4,65

* Hasil Analisa Teknologi Hasil Pertanian Fak. Pertanian Unibraw



Lampiran 4. Gambar Bak Pemeliharaan Ikan Kerapu Macan (*E. fuscoguttatus*)



Lampiran 5. Perhitungan Dosis Bahan Imunostimulan Alkaloid Ubur-ubur *Bougainvillia* sp.

Komposisi pakan uji (dalam persen dari berat total pakan uji)

Bahan	Kontrol (%)	A (%)	B (%)	C (%)	D (%)
Alkaloid	0	0,05	0,075	0,1	0,125
Tepung silase ikan rebus	57,5	57,5	57,5	57,5	57,5
Tepung kepala udang	17	17	17	17	17
Tepung kedelai	10	10	10	10	10
Tepung jagung	6	6	6	6	6
Minyak	5	5	5	5	5
Vitamin	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Mineral	2	2	2	2	2
Jumlah	100	100	100	100	100

► **Dosis Alkaloid Dalam Bentuk gr alkaloid/Kg dijadikan Dalam %**

a. Dosis A (0,5 gr alkaloid/Kg) : $\frac{0,5}{1000} \times 100\% = 0,05\%$

b. Dosis B (0,75 gr alkaloid/Kg) : $\frac{0,75}{1000} \times 100\% = 0,075\%$

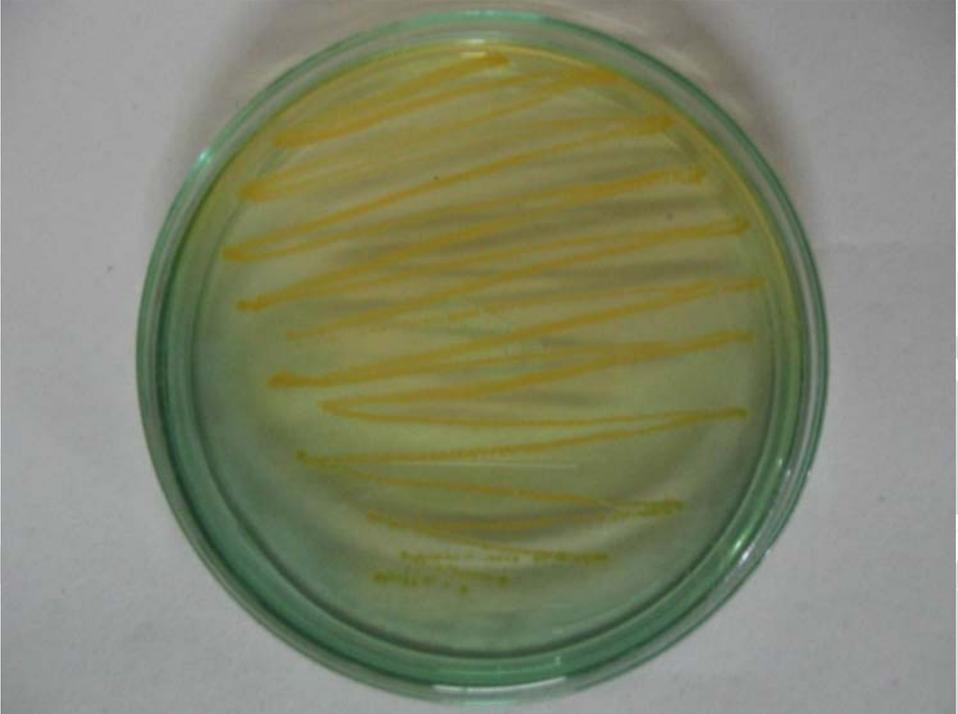
c. Dosis C (1 gr alkaloid/Kg) : $\frac{1}{1000} \times 100\% = 0,1\%$

d. Dosis D (1,25 gr alkaloid/Kg) : $\frac{1,25}{1000} \times 100\% = 0,125\%$

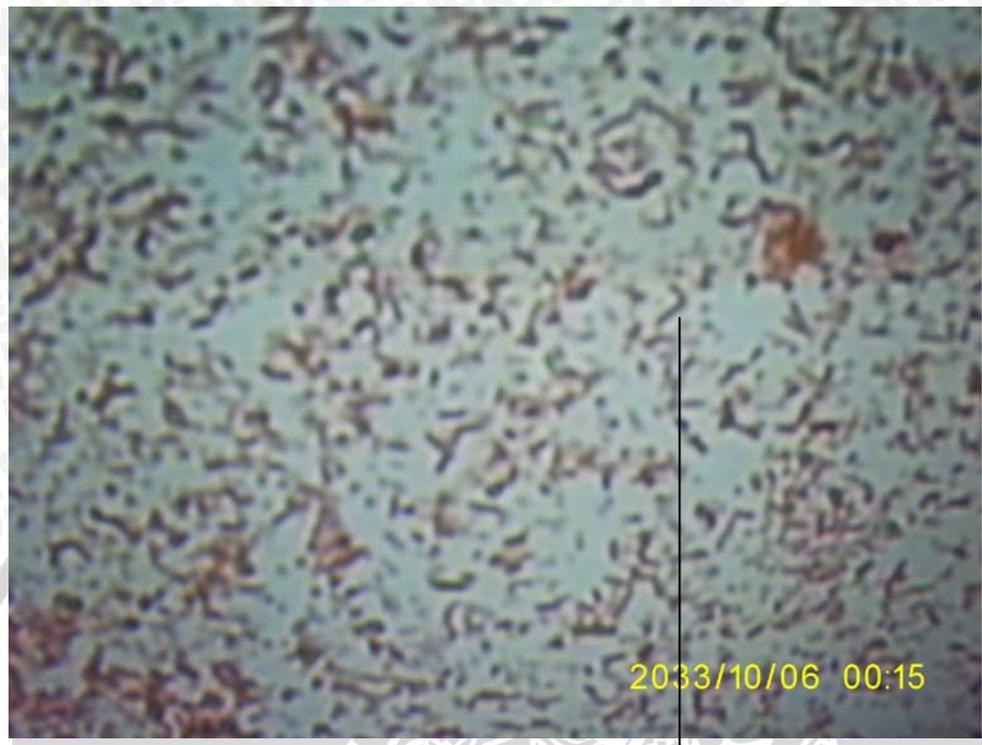
Lampiran 6. Gambar Alat Dan Bahan Penanaman Bakteri *Vibrio harveyi*



Lampiran 7. Gambar Biakan Murni Bakteri *Vibrio harveyi*



Lampiran 8. Gambar Preparat Bakteri Setelah Pewarnaan Gram (1000x)



Vibrio spp.



Lampiran 9. Data Perhitungan Jumlah Total Bakteri *Vibrio* spp. Pada Insang Ikan Kerapu Macan (10^5 cfu/ml) dan Dalam Log

1. Setelah 1 x 24 Jam (10^5 cfu/ml) dan Dalam Log

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II
K	28,9	30,1
A	29.9/6.476	27.1/6.433
B	20.1/6.303	19.7/6.294
C	16.8/6.225	18.1/ 6.258
D	5.1/5.708	4.7/5.672

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Total	Rata-rata
A	6,476	6,433	12,909	6,455
B	6,303	6,294	12,597	6,299
C	6,225	6,258	12,483	6,242
D	5,708	5,672	11,380	5,690
Total			49,3699	

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(49.369)^2}{8} = \frac{2437.298}{8} = 304,662 \\
 JK \text{ Total} &= (6,478)^2 + (6,433)^2 + \dots + (5,672)^2 - FK \\
 &= 305,332 - 304,662 \\
 &= 0,670 \\
 JK \text{ Perlakuan} &= \frac{(12,909)^2 + (12,597)^2 + (12,483)^2 + (11,380)^2}{2} - FK \\
 &= \frac{610,655}{2} - FK \\
 &= 305,328 - 304,662 \\
 &= 0,666 \\
 JK \text{ Acak} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\
 &= 0,670 - 0,666 \\
 &= 0,004
 \end{aligned}$$

Lampiran 9. (Lanjutan)

Analisa Sidik Ragam Pertumbuhan Bakteri *Vibrio* spp. Pada Insang Ikan Kerapu Macan Setelah 1 x 24 jam

Sumber	db	JK	KT	Fhit	5%	1%
Perlakuan	3	0,666	0,222	222**	6,59	16,69
Acak	4	0,004	0,001			
Total	7					

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata

Uji BNT Untuk 5% dan 1%

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \frac{\sqrt{2KT \text{ Acak}}}{\text{Ulangan}} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 0,001}}{2} \\
 &= 0,045
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ 5\%} \times \text{SED} \\
 &= 2,776 \times 0,045 \\
 &= 0,125
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ 1\%} \times \text{SED} \\
 &= 4,604 \times 0,045 \\
 &= 0,207
 \end{aligned}$$

Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rataan	A = 6,455	B = 6,299	C = 5,242	D = 5,696	Notasi
A = 6,455	-				a
B = 6,299	0,156*	-			b
C = 6,242	0,213**	0,057 ^{ns}	-		b
D = 5,696	0,765**	0,609**	0,734**	-	c

Tabel Uji Polinomial Orthogonal Pertumbuhan Bakteri

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	12,909	-3	+1	-1
B	12,597	-1	-1	+3
C	12,483	+1	-1	-3
D	11,380	+3	+1	+1
Q = Σ(Ci*Ti)		-4,701	-0,147	-1,187
Kr = (Σ Ci ²) r		40	8	40
JK = Q ² / Kr		0,553	0,078	0,035

Lampiran 9. (Lanjutan)

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,666	-	-		
Linier	1	0,553	0,553	553**	7,71	21,20
Kuadratik	1	0,078	0,078	78**		
Kubik	1	0,035	0,035	35**		
Acak	4	0,004	0,001			
Total	7					

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata
 * Berbeda nyata
 ns Tidak berbeda nyata

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,553}{0,553 + 0,004}$$

$$= 0,993$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,078}{0,078 + 0,004}$$

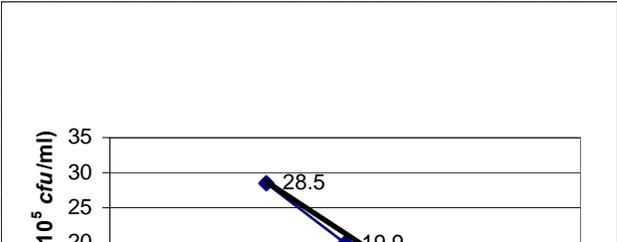
$$= 0,951$$

Persamaan Umum : $Y = b_0 + b_1x$

Perlakuan	X (Dosis)	Y (Rata-rata)	XY	X ²
A	0,5	28,5	14,25	0,25
B	0,75	19,9	14,925	0,5625
C	1,0	17,45	17,45	1
D	1,25	4,9	6,25	1,5625
Total	3,5	70,75	52,750	3,375

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum(x^2) - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

Lampiran 9. (Lanjutan)



$$= \frac{52,750 - \frac{3,5 \times 70,75}{4}}{3,375 - \frac{(3,5)^2}{4}}$$

$$= -29,346$$

$$b_0 = Y - b_1x$$

$$= \left(\frac{\sum y}{n} \right) - b_1 \left(\frac{\sum x}{n} \right)$$

$$= \left(\frac{70,75}{4} \right) - (-29,346) \left(\frac{3,5}{4} \right)$$

$$= 43,366$$

$$Y = b_0 + b_1x$$

$$Y = 43,366 - 29,346 x$$

2. Setelah 3 x 24 Jam (10^5 cfu/ml) dan Dalam Log

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II
K	31,6	34,1
A	20,1/6,303	19,8/6,927
B	10,4/6,017	11,2/6,049
C	8,1/5,908	7,9/5,898
D	2,7/5,431	2,1/5,322

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Total	Rata-rata
A	6,303	6,297	12,600	6,300
B	6,017	6,049	12,066	6,033
C	5,908	5,898	11,806	5,903
D	5,431	5,322	10,377	5,377
Total	-	-	47,225	-

$$FK = \frac{47,225^2}{8} = \frac{2230,201}{8} = 278,775$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= (6,303)^2 + (6,297)^2 + \dots + (5,322)^2 - FK \\ &= 279,685 - 278,775 \\ &= 0,910 \end{aligned}$$

Lampiran 9. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{(12,600)^2 + (12,066)^2 + (11,806)^2 + (10,753)^2}{2} - FK \\
 &= \frac{559,357}{2} - FK \\
 &= 279,679 - 278,775 \\
 &= 0,904 \\
 \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 0,910 - 0,904 \\
 &= 0,006
 \end{aligned}$$

Analisa Sidik Ragam Pertumbuhan Bakteri *Vibrio* spp. Pada Insang Ikan Kerapu Macan Setelah 3 x 24 jam (dalam Log)

Sumber	db	JK	KT	Fhit	5%	1%
Perlakuan	3	0,904	0,301	200,667**	6,59	16,69
Acak	4	0,006	0,0015			
Total	7	0,91				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata

Uji BNT Untuk 5% dan 1%

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \frac{\sqrt{2KT \text{ Acak}}}{\text{Ulangan}} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 0,0015}}{2} \\
 &= 0,039
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ 5\%} \times \text{SED} \\
 &= 2,776 \times 0,039 \\
 &= 0,108
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ 1\%} \times \text{SED} \\
 &= 4,604 \times 0,039 \\
 &= 0,1796
 \end{aligned}$$

Lampiran 9. (Lanjutan)

Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rataan	A = 6,300	B = 6,033	C = 5,903	D = 5,377	Notasi
A = 6,300	-				a
B = 6,033	0,267**	-			b
C = 5,903	0,397**	0,130*	-		c
D = 5,377	0,923**	0,565**	0,526**	-	d

Tabel Uji Polinomial Orthogonal Pertumbuhan Bakteri

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	12,600	-3	+1	-1
B	12,066	-1	-1	+3
C	11,806	+1	-1	-3
D	10,753	+3	+1	+1
Q = Σ(Ci*Ti)		-5,801	-0,519	-1,067
Kr = (Σ Ci²) r		40	8	40
JK = Q² / Kr		0,841	0,034	0,029

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,904				
Linier	1	0,841	0,841	560**	7,71	21,20
Kuadratik	1	0,034	0,034	22,667**		
Kubik	1	0,029	0,029	19,333*		
Acak	4	0,006	0,0015			
Total	7	-				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,841}{0,841 + 0,0015}$$

$$= 0,993$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}}$$

Lampiran 9. (Lanjutan)

$$= \frac{0,034}{0,034 + 0,0015}$$

$$= 0,850$$

Persamaan Umum : $Y = b_0 + b_1x$

Perlakuan	X (Dosis)	Y (Rata-rata)	XY	X ²
A	0,5	19,95	9,975	
B	0,75	10,80	8,1	
C	1,0	8	8	
D	1,25	2,40	3	
Total	3,5	41,15	29,075	

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum(x^2) - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$= \frac{29,075 - \frac{3,5 \times 41,15}{4}}{3,376 - \frac{(3,5)^2}{4}}$$

$$= -22,144$$

$$b_0 = Y - b_1x$$

$$= \left(\frac{\sum y}{n}\right) - b_1\left(\frac{\sum x}{n}\right)$$

$$= \left(\frac{41,15}{4}\right) - (-22,144)\left(\frac{3,5}{4}\right)$$

$$= 29,664$$

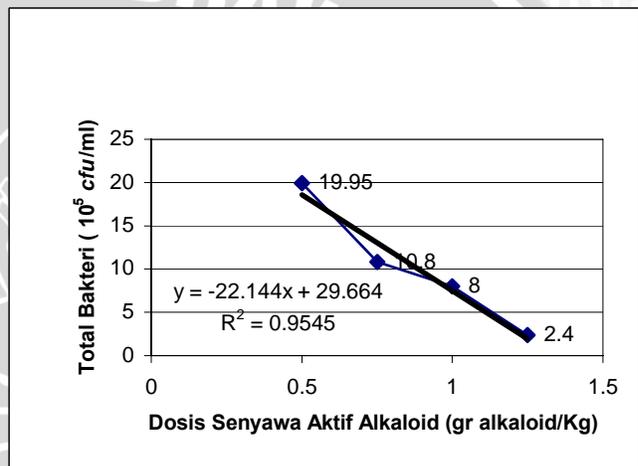
$$Y = b_0 + b_1x$$

$$Y = 29,664 - 22,144x$$

3. Setelah 5 x 24 Jam (10⁵cfu/ml) dan Dalam Log

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II
K	18,2	15,3
A	0,39/4,59	0,35/4,54
B	0,20/4,30	0,27/4,43
C	0,18/4,26	0,11/4,04
D	0,08/3,90	0,05/3,70

Lampiran 9. (Lanjutan)



Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Total	Rata-rata
A	4,59	4,54	9,13	4,565
B	4,30	4,43	8,73	4,365
C	4,26	4,04	8,30	4,150
D	3,90	3,70	7,603	3,801
Total			33,760	

$$FK = \frac{(33,760)^2}{8} = \frac{1139,738}{8} = 142,467$$

$$JK \text{ Total} = (4,59)^2 + (4,54)^2 + \dots + (3,70)^2 - FK$$

$$= 143,187 - 142,467$$

$$= 0,720$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{(9,13)^2 + (8,73)^2 + (8,30)^2 + (7,603)^2}{2} - FK$$

$$= \frac{286,265}{2} - FK$$

$$= 143,133 - 142,467$$

$$= 0,666$$

$$JK \text{ Acak} = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$$

$$= 0,720 - 0,666$$

$$= 0,054$$

Analisa Sidik Ragam Pertumbuhan Bakteri *Vibrio* spp. Pada Insang Ikan Kerapu Macan Setelah 5 x 24 jam

Sumber	db	JK	KT	Fhit	5%	1%
Perlakuan	3	0,666	0,222	16,44*	6,59	16,69
Acak	4	0,054	0,0135			
Total	7					

Keterangan : * Berbeda nyata

Uji BNT Untuk 5% dan 1%

$$SED = \frac{\sqrt{2KT \text{ Acak}}}{Ulangan}$$

Lampiran 9. (Lanjutan)

$$= \frac{\sqrt{2 \times 0,0135}}{2}$$

$$= 0,116$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t \text{ } 5\% \times \text{SED} \\ &= 2,776 \times 0,116 \\ &= 0,322 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= t \text{ } 1\% \times \text{SED} \\ &= 4,604 \times 0,116 \\ &= 0,534 \end{aligned}$$

Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rataan	A = 4,565	B = 4,365	C = 4,150	D = 3,801	Notasi
A = 4,565	-				a
B = 4,365	0,2 ^{ns}	-			b
C = 4,150	0,415*	0,215 ^{ns}	-		b
D = 3,801	0,764**	0,564**	0,349*	-	c

Tabel Uji Polinomial Orthogonal Pertumbuhan Bakteri

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	9,13	-3	+1	-1
B	8,73	-1	-1	+3
C	8,30	+1	-1	-3
D	7,60	+3	+1	+1
Q = Σ(Ci*Ti)		-5,011	-0,297	-0,237
Kr = (Σ Ci ²) r		40	8	40
JK = Q ² / Kr		0,628	0,011	0,0014

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,666	-			
Linier	1	0,628	0,628	46,159**	7,71	21,20
Kuadratik	1	0,011	0,011	0,815 ^{ns}		
Kubik	1	0,0014	0,0014	0,104 ^{ns}		
Acak	4	0,054	0,0135			
Total	7					

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata
 * Berbeda nyata
 ns Tidak berbeda nyata

Lampiran 9. (Lanjutan)

Persamaan Umum : $Y = b_0 + b_1x$

Perlakuan	X (Dosis)	Y (Rata-rata)	XY	X ²
A	0,5	0,370	0,185	0,25
B	0,75	0,235	0,176	0,5625
C	1,0	0,145	0,145	1
D	1.25	0,065	0,081	1,5625
Total	3,5	0,815	0,587	3,375

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum(x^2) - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$= \frac{0,587 - \frac{3,5 \times 0,815}{4}}{3,375 - \frac{(3,5)^2}{4}}$$

$$= -0,404$$

$$b_0 = Y - b_1x$$

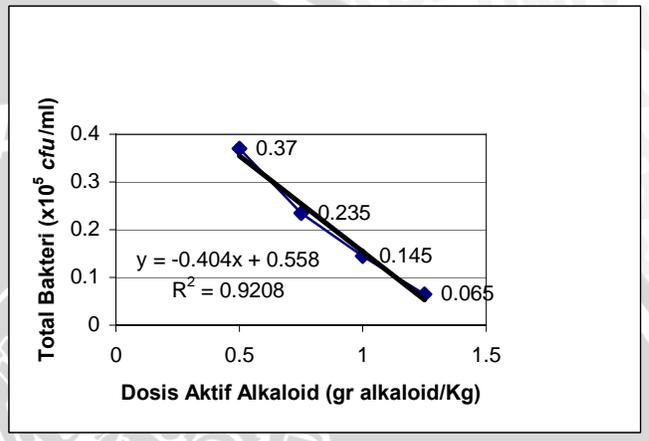
$$= \left(\frac{\sum y}{n}\right) - b_1\left(\frac{\sum x}{n}\right)$$

$$= \left(\frac{0,815}{4}\right) - (-0,404)\left(\frac{3,5}{4}\right)$$

$$= 0,558$$

$$Y = b_0 + b_1x$$

$$Y = 0,558 - 0,404 x$$



Lampiran 10. Efektifitas Bahan Imunostimulan Alkaloid Ubur-ubur *Bougainvilla* sp. Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio* spp.

A. Efektifitas Pada Insang Ikan Kerapu Macan

$$\text{Perlakuan (A)} = \frac{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,37 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 84,58\%$$

$$\text{Perlakuan (B)} = \frac{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,235 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 90,21\%$$

$$\text{Perlakuan (C)} = \frac{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,145 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 93,96\%$$

$$\text{Perlakuan (D)} = \frac{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,065 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 97,29\%$$

B. Efektifitas Pada limpa Ikan Kerapu Macan

$$\text{Perlakuan (A)} = \frac{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,415 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 82,71\%$$

$$\text{Perlakuan (B)} = \frac{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,275 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 88,54\%$$

$$\text{Perlakuan (C)} = \frac{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,115 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 95,21\%$$

$$\text{Perlakuan (D)} = \frac{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,075 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{2,4 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 96,88\%$$

Lampiran 11. Data Perhitungan Jumlah Total Koloni Bakteri *Vibrio* spp. Pada Limpa Ikan Kerapu Macan (10^5 cfu/ml) dan Dalam Log

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II
K	2,24/5,35	2,04/5,31
A	0,41/4,61	0,42/4,62
B	0,26/4,42	0,29/4,46
C	0,11/4,04	0,12/4,08
D	0,09/3,95	0,06/3,78

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Total	Rata-rata
A	4,61	4,62	9,23	4,165
B	4,42	4,46	8,88	4,440
C	4,04	4,08	8,12	4,060
D	3,95	3,78	7,73	3,865
Total			33,960	

$$FK = \frac{(33,960)^2}{8} = \frac{1153,282}{8} = 144,160$$

$$JK \text{ Total} = (4,61)^2 + (4,62)^2 + \dots + (3,78)^2 - FK$$

$$= 144,883 - 144,160$$

$$= 0,723$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{(9,23)^2 + (8,88)^2 + (8,12)^2 + (7,73)^2}{2} - FK$$

$$= \frac{289,735}{2} - FK$$

$$= 144,867 - 144,160$$

$$= 0,707$$

$$JK \text{ Acak} = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$$

$$= 0,723 - 0,707$$

$$= 0,016$$

Analisa Sidik Ragam Pertumbuhan Bakteri *Vibrio* spp. Pada Limpa Ikan Kerapu Macan Setelah 5 x 24 Jam (dalam Log)

Sumber	db	JK	KT	Fhit	5%	1%
Perlakuan	3	0,707	0,236	59**	6,59	16,69
Acak	4	0,016	0,004			
Total	7	0,723				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata

Lampiran 11. (Lanjutan)

Uji BNT Untuk 5% dan 1%

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \frac{\sqrt{2KT \text{ Acak}}}{\text{Ulangan}} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 0,004}}{2} \\
 &= 0,063
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ 5\%} \times \text{SED} \\
 &= 2,776 \times 0,063 \\
 &= 0,175
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ 1\%} \times \text{SED} \\
 &= 4,604 \times 0,063 \\
 &= 0,290
 \end{aligned}$$

Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rataan	A = 4,615	B = 4,440	C = 4,060	D = 3,865	Notasi
A = 4,615	-				a
B = 4,440	0,175*	-			b
C = 4,060	0,105 ^{ns}	0,38**	-		c
D = 3,865	0,3**	0,57**	0,195*	-	d

Tabel Uji Polinomial Orthogonal Pertumbuhan Bakteri

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	9,23	-3	+1	-1
B	8,88	-1	-1	+3
C	8,12	+1	-1	-3
D	7,73	+3	+1	+1
Q = Σ(Ci*Ti)		-5,25	-0,04	0,78
Kr = (Σ Ci ²) r		40	8	40
JK = Q ² / Kr		0,689	0,0002	0,013

Lampiran 11. (Lanjutan)

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,707				
Linier	1	0,689	0,689	172,25**	7,71	21,20
Kuadratik	1	0,0002	0,0002	0,05 ^{ns}		
Kubik	1	0,013	0,013	3,25 ^{ns}		
Acak	4	0,016	0,004			
Total	7					

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,689}{0,689 + 0,016}$$

$$= 0,982$$

Persamaan Umum : Y = b₀ + b₁x

Perlakuan	X (Dosis)	Y (Rata-rata)	XY	X ²
A	0,5	0,415	0,206	0,25
B	0,75	0,275	0,206	0,5625
C	1,0	0,115	0,115	1
D	1,25	0,075	0,094	1,5625
Total	3,5	0,88	0,621	3,375

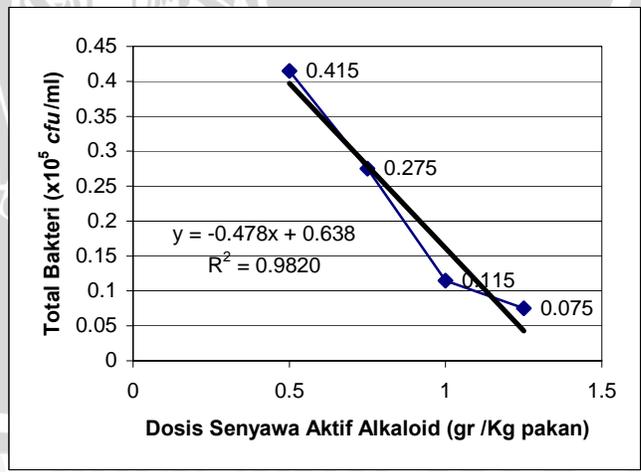
$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum(x^2) - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$= \frac{0,621 - \frac{3,5 \times 0,88}{4}}{3,375 - \frac{(3,5)^2}{4}}$$

$$= -0,478$$

$$b_0 = Y - b_1x$$

$$= \left(\frac{\sum y}{n}\right) - b_1\left(\frac{\sum x}{n}\right)$$



Lampiran 11. (Lanjutan)

$$= \left(\frac{0,88}{4} \right) - (-0,478) \left(\frac{3,5}{4} \right)$$
$$= 0,638$$

$$Y = b_0 + b_1x$$

$$Y = 0,638 - 0,478x$$



Lampiran 12. Gambar Gejala Klinis Dan Patologis Ikan Uji (Kerapu Macan)



Keterangan; Perubahan gejala klinik ikan kerapu macan pasca uji tantangan. A. bercak merah (*petikiae*) ; B. mulut dan sirip ekor kemerah-merahan ; C. kerusakan sirip (*fin rot*) ; D. tubuh kehitam-hitaman (*melanisasi*) ; E. lendir berlebih ; F. luka (*ulcer*) pada jaringan kulit dan otot (perlakuan K)







