

**EFEKTIVITAS PEMBERIAN ALKALOID UBUR – UBUR (*Bougainvillia sp.*)  
MELALUI PERENDAMAN TERHADAP JUMLAH BAKTERI *Vibrio harveyi*  
PADA IKAN KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*)**

**SKRIPSI  
BUDIDAYA PERAIRAN**

**OLEH:  
MARIA DINA ROSITA  
NIM.0310850047**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERIKANAN  
MALANG  
2007**





**EFEKTIVITAS PEMBERIAN ALKALOID UBUR-UBUR (*Bougainvillia sp.*)  
MELALUI PERENDAMAN TERHADAP JUMLAH BAKTERI *Vibrio harveyi*  
PADA IKAN KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*)**

*Skripsi Sebagai Salah Satu Prasyarat untuk Memperoleh Gerlar Sarjana pada  
Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang*

Oleh :

**MARIA DINA ROSITA  
NIM. 0310850047**

**DOSEN PENGUJI I**

**(Ir. ELLANA SANOESI)  
TANGGAL :**

**DOSEN PENGUJI II**

**(Ir. H. SYAMSUDDIN. D.)  
TANGGAL :**

**MENYETUJUI,  
DOSEN PEMBIMBING I**

**(Ir. SRI ANDAYANI, MS)  
TANGGAL :**

**DOSEN PEMBIMBING II**

**(Ir. M. FADJAR, MSc)  
TANGGAL :**

**MENGETAHUI,  
KETUA JURUSAN**

**(Ir. MAHENO SRI WIDODO, MS)  
TANGGAL :**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa atas Rahmat, Berkat dan Karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.

Atas terselesaikannya laporan skripsi ini penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Ayah dan Ibu serta Si Kembar yang telah mendukung saya.
2. Ir. Sri Andayani, MS., selaku dosen pembimbing I
3. Ir. M. Fadjar, MSc., selaku dosen pembimbing II.
4. Ir. H. Syamsuddin Dalimunthe, selaku dosen penguji I.
5. Ir. Ellana Sanoesi, selaku dosen penguji II.
6. Wiwien Mukti Andriyani, S.Pi, selaku dosen pembimbing lapang.
7. Segenap pihak di Balai Budidaya Air Payau Situbondo.
8. Spesial thanx DaooZ atas doa dan dukungannya, dan my friend Naza, Nursy
9. Teman-teman team “Ubur-Ubur” (Neng Apip, Lek Na, Almarhum Mak Cumie, Mak Cemonk, Nyonya Meyria-Gra, Mami Farel, Bu Ninis, dan Om Fred), serta teman-teman BP03 atas dukungannya.
10. Mb. Titin PPI dan semua orang yang turut berjasa dan tidak disebutkan namanya.

Malang, Juli 2007

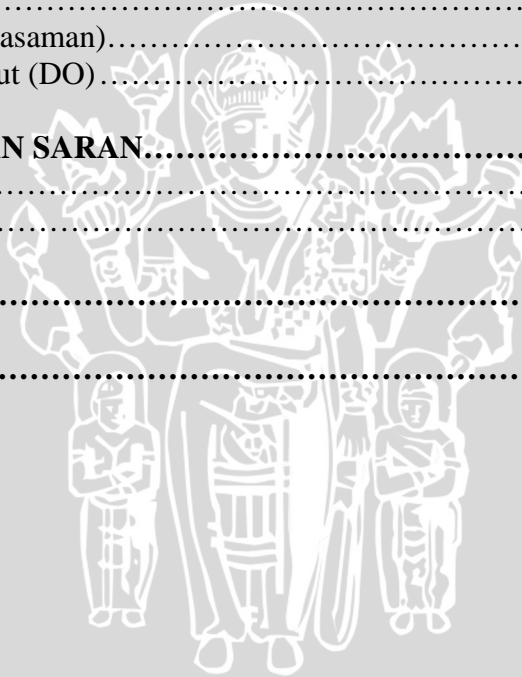
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>RINGKASAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xi</b>
<b>1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Kegunaan Penelitian.....	5
1.5 Hipotesis.....	6
1.6 Tempat dan Waktu.....	6
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>7</b>
2.1 Ikan Kerapu Macan ( <i>Epinephelus fuscoguttatus</i> ).....	7
2.1.1 Klasifikasi Ikan Kerapu.....	7
2.1.2 Morfologi Ikan Kerapu.....	7
2.1.3 Penyebaran dan Habitat.....	8
2.1.4 Benih Kerapu.....	9
2.2 Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .....	10
2.2.1 Klasifikasi.....	10
2.2.2 Biologi.....	10
a. Morfologi.....	10
b. Metabolisme dan Pertumbuhan.....	10
c. Reproduksi.....	11
d. Ciri-Ciri Serangan.....	12
2.2.3 Habitat dan Daerah Penyebaran.....	13
2.3 <i>Bougainvillia sp</i> .....	14
2.3.1 Klasifikasi.....	14
2.3.2 Biologi.....	15
a. Morfologi.....	15
b. Habitat dan Penyebaran.....	16
c. Reproduksi.....	17
2.3.3 Toksin dan Bioaktif Ubur-Ubur.....	17

2.3.4 Alkaloid Ubur-Ubur, <i>Bougainvillia sp.</i> .....	18
2.4 Immunostimulan.....	20
2.5 Sistem Kekebalan (Imunitas) Pada Ikan .....	22
2.5.1 Imunitas .....	22
2.5.2 Penggolongan Sistem Imun .....	22
a. Sistem Imun Non-Spesifik.....	22
b. Sistem Imun Spesifik.....	23
2.5.3 Immunologi Ikan.....	23
2.5.4 Sistem Imun Pada Insang.....	25
2.5.5 Sistem Imun Pada Limpa.....	25
2.6 Kualitas Air.....	26
a. Suhu Air.....	26
b. Oksigen Terlarut.....	27
c. pH.....	28
<b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN.....</b>	<b>29</b>
3.1 Materi Penelitian .....	29
3.1.1 Hewan Uji.....	29
3.1.2 Media Penelitian .....	29
3.1.3 Pakan.....	29
3.1.4 Peralatan Penelitian.....	29
3.1.4 Bahan Penelitian.....	31
3.2 Metode Penelitian.....	32
3.3 Rancangan Penelitian.....	33
3.4 Prosedur Penelitian .....	34
3.4.1 Persiapan Penelitian .....	34
3.4.1.1 Pencucian Peralatan Penelitian.....	34
3.4.1.2 Aklimatisasi Benih Ikan.....	35
a. Aklimatisasi Benih Kerapu Macan dalam Bak Aklimatisasi.....	35
b. Seleksi dan Sanitasi Benih Kerapu Macan.....	35
c. Aklimatisasi Benih Kerapu Macan dalam Bak Percobaan.....	36
3.4.1.3 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	37
3.4.1.4 Pembuatan Media TCBSA, NA, dan NB.....	37
3.4.1.5 Pembuatan Biakan Bakteri <i>V. harveyi</i> untuk Penginfeksi.....	38
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian .....	39
3.4.2.1 Pemberian Immunostimulan.....	39
a. Pemberian Immunostimulan Hari ke-Nol.....	39
b. <i>Booster</i> Immunostimulan.....	40
3.4.2.2 Proses Penginfeksi Bakteri <i>V. harveyi</i> .....	40
3.4.2.3 Isolasi, Perhitungan dan Identifikasi Bakteri.....	41

a. Isolasi Bakteri.....	41
b. Perhitungan Bakteri.....	41
c. Identifikasi Bakteri.....	42
3.5. Parameter Uji.....	44
3.5.1 Parameter Utama.....	44
3.5.2 Parameter Penunjang.....	44
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>45</b>
4.1 Pewarnaan Gram.....	45
4.2 Jumlah Total Bakteri <i>V. harveyi</i> yang Terdapat Pada Insang Ikan Kerapu Macan Selama 5 x 24 Jam.....	45
4.3 Jumlah Total Bakteri <i>V. harveyi</i> yang Terdapat Pada Limpa Ikan Kerapu Macan Setelah 5 x 24 Jam.....	50
4.4 Gejala Klinis Ikan Kerapu Yang Terinfeksi <i>Vibrio harveyi</i> .....	55
4.5 Analisa Kualitas Air.....	56
4.4.1 Suhu.....	56
4.4.2 pH (Derajat Keasaman).....	57
4.4.3 Oksigen Terlarut (DO).....	57
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>58</b>
5.1 Kesimpulan.....	58
5.2 Saran.....	58
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>59</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>65</b>



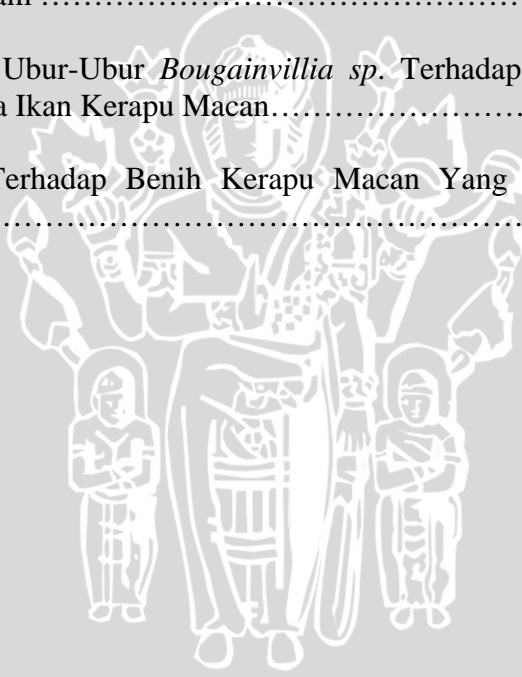
## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerapu Macan.....	7
2. <i>Bougainvillia sp</i> .....	14
3. Struktur Dasar Alkaloid.....	19
4. Struktur Senyawa Alkaloid Ubur-Ubur, <i>Bougainvillia sp</i> .....	20
5. Denah Percobaan .....	34
6. Grafik Pertumbuhan Bakteri <i>V. harveyi</i> Pada Insang Ikan Kerapu Macan Selama 5 Hari Masa Infeksi.....	46
7. Grafik Pengaruh Pemberian Alkaloid Ubur-Ubur, <i>Bougainvillia sp</i> Terhadap Jumlah Total Bakteri <i>V. harveyi</i> Pada Insang Ikan Kerapu macan, <i>Epinephelus fuscoguttatus</i> Hari ke-5.....	48
8. Grafik Pengaruh Pemberian Alkaloid Ubur-Ubur, <i>Bougainvillia sp</i> Terhadap Jumlah Total Bakteri <i>V. harveyi</i> pada Limpa Ikan Kerapu Macan Setelah 5x24 jam (Dalam $10^5$ cfu/ml).....	50
9. Grafik Pengaruh Pemberian Alkaloid Ubur-Ubur, <i>Bougainvillia sp</i> Terhadap Jumlah Total Bakteri <i>V. harveyi</i> Pada Limpa Ikan Kerapu macan, <i>Epinephelus fuscoguttatus</i> Hari ke-5.....	52
10. Diagram Proses Pertahanan Ikan Terhadap Hadirnya Bakteri.....	54



**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Jumlah Total Bakteri <i>V. harveyi</i> Pada Insang Ikan Kerapu Macan Selama 5 Hari Masa Infeksi .....	46
2. Efektivitas Alkaloid Ubur-Ubur <i>Bougainvillia sp.</i> Terhadap Jumlah Bakteri <i>V. harveyi</i> Pada Insang Ikan Kerapu Macan .....	49
3. Jumlah Total Bakteri <i>V. harveyi</i> Pada Limpa Ikan Kerapu Macan Selama 5x24 jam Masa Infeksi.....	50
4. Analisa Sidik Ragam Pertumbuhan Bakteri <i>V. harveyi</i> pada Limpa Ikan Kerapu Macan Setelah 5x24 jam .....	51
5. Efektivitas Alkaloid Ubur-Ubur <i>Bougainvillia sp.</i> Terhadap Jumlah Bakteri <i>V. harveyi</i> Pada Limpa Ikan Kerapu Macan.....	53
6. Hasil Pengamatan Terhadap Benih Kerapu Macan Yang Terinfeksi Oleh Bakteri <i>V. harveyi</i> .....	55



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Gambar Benih Ikan Kerapu Macan ( <i>Epinephelus fuscoguttatus</i> ).....	65
2. Gambar Bak Pemeliharaan Ikan Kerapu Macan.....	66
3. Gambar Pakan Ikan Kerapu Macan .....	67
4. Gambar Bahan Aktif Alkaloid Ubur-Ubur, <i>Bougainvillia sp</i> .....	68
5. Gambar Biakan Murni Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .....	69
6. Gambar Alat dan Bahan Penanaman Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .....	70
7. Penghitungan Konsentrasi Bakteri Untuk Uji Tantang .....	71
8. Cara Perhitungan Konsentrasi Alkaloid Ubur-Ubur, <i>Bougainvillia sp</i> Untuk Perendaman .....	72
9. Gambar Preparat Bakteri Setelah Pewarnaan Gram (1000x) .....	74
10. Data Perhitungan Jumlah Total Bakteri Yang Menginfeksi Ikan Kerapu Macan .....	75
11. Efektifitas Bahan Imunostimulan Alkaloid Ubur-Ubur <i>Bougainvillia sp</i> Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .....	92
12. Gambar Benih Kerapu Macan Yang Terinfeksi Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .....	93

## RINGKASAN

**MARIA DINA ROSITA.** Skripsi tentang Efektivitas Pemberian Alkaloid Ubur-Ubur (*Bougainvillia sp*) Terhadap Jumlah Bakteri *Vibrio harveyi* Pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). (dibawah bimbingan **Ir. SRI ANDAYANI, MS** dan **Ir. M. FADJAR, MSc**).

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama dan Lingkungan BBPAP Situbondo pada bulan Desember 2006-Februari 2007.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi mengenai efektivitas pemberian bahan aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia sp.*) terhadap jumlah bakteri *Vibrio harveyi* yang menginfeksi ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) setelah dilakukan ujiantang.

Kegunaan dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam menggunakan bahan aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia sp.*) sebagai imunostimulan untuk mencegah serangan bakteri *V. harveyi* pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang diberikan melalui perendaman.

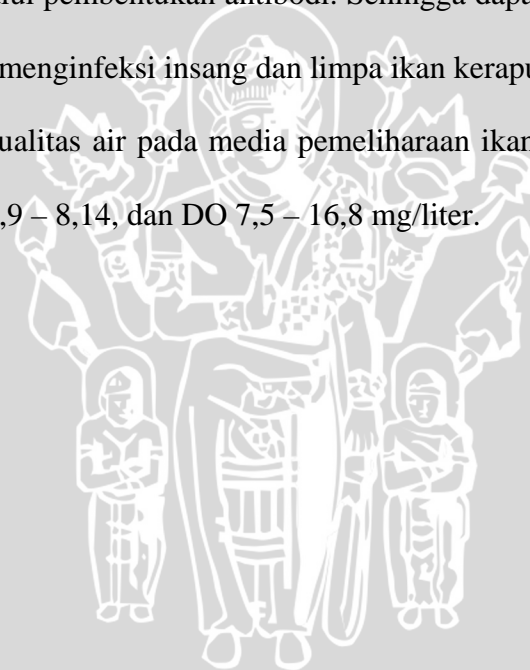
Metode yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat suatu hasil yang dapat menegaskan hubungan antar variabel atau parameter yang diamati. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan dua kali ulangan. Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini adalah perbedaan dosis bahan aktif alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia sp* yang diberikan melalui perendaman yakni A (6,4 ppm), B (8,4ppm), C (10,4 ppm) dan D (12,4 ppm).

Hasil penelitian yang diperoleh yaitu efektifitas pemberian alkaloid ubur-ubur, *Bougainvillia sp* dengan dosis 12,4 ppm setelah hari ke-5 masa penginfeksi ternyata

dapat menekan jumlah total bakteri *V. harveyi* yang menginfeksi ikan kerapu macan pada insang sebesar 93 % dengan jumlah bakteri sampai  $0,035 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}$ , sedangkan pada limpa dengan dosis yang sama mampu menekan jumlah bakteri *V. harveyi* sebesar 91,47 % dengan jumlah bakteri sampai  $0,04 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}$ .

Penelitian ini memberikan kesimpulan bahwa bahan alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia sp.*) yang diberikan melalui perendaman dengan semakin meningkatnya dosis maka dapat meningkatkan kekebalan nonspesifik ikan kerapu macan yang ditandai dengan meningkatnya jumlah sel fagositosis. Selain itu juga dapat meningkatkan kekebalan spesifik melalui pembentukan antibodi. Sehingga dapat menekan jumlah total bakteri *V. harveyi* yang menginfeksi insang dan limpa ikan kerapu macan.

Nilai kisaran kualitas air pada media pemeliharaan ikan kerapu macan adalah: suhu  $27,2 - 29^\circ \text{ C}$ , pH  $6,9 - 8,14$ , dan DO  $7,5 - 16,8 \text{ mg/liter}$ .



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ikan Kerapu merupakan salah satu ikan laut yang memiliki nilai ekonomis sangat tinggi. Oleh karena itu ikan jenis ini banyak dibudidayakan dan menjadi komoditas ekspor penting terutama ke negara Singapura, Taiwan, dan Hongkong (Handayani *et al.*, 2004). Salah satunya yaitu ikan Kerapu macan, dimana ikan Kerapu Macan mempunyai potensi dan peluang pasar yang sangat menjanjikan karena paling laris dan harganya mahal. Akan tetapi persoalan yang sampai saat ini masih menjadi kendala pokok adalah penyediaan benih yang terbatas, baik dari segi jumlah maupun kualitasnya.

Salah satu kendala terbesar yang selalu dihadapi pada kegiatan budidaya ikan kerapu adalah terjadinya serangan bakteri patogen terutama pada stadia larva dan benih. Terjadinya serangan bakteri patogen ini menimbulkan penurunan kualitas dan produksi pada usaha pembenihan ikan kerapu bahkan kematian dan kegagalan panen (Nuchsin, 2004).

Vibriosis merupakan salah satu penyakit yang sering menyerang jenis Kerapu. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Vibrio sp* yang timbul bersifat patogen atau hanya sebagai sekunder (Koesharyani dan Zafran, 1997). Tingkat mortalitas yang ditimbulkan akibat serangan bakteri ini sangat tinggi mencapai 90% dalam waktu singkat (Handayani, *et al* 2004). Menurut Austin dan Austin (1987) dalam Handayani *et al.*, (2004) spesies *Vibrio* yang bersifat patogen adalah *Vibrio alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae*, *V. carchariae*, *V. anguillarum*, *V. damsela*. *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio*

*parahaemoliticus* adalah bakteri gram negatif yang menyebabkan kematian massal pada pembenihan kerapu (Maftuch *et al.*, 2004).

Infeksi *Vibrio* pada ikan secara umum dikenal sebagai *haemorrhagic septicemia* dengan luka yang meluas pada kulit, nekrosis fokal pada liver, spleen, ginjal dan jaringan lain (Yanuhar *et al.*, 2004). Menurut Moriarty (1997) dalam Andayani dan Sukoso (2006), tingkat penyerangan bakteri *Vibrio harveyi* pada pembenihan ikan kerapu macan dapat dihitung dalam beberapa jam. Penyerangan jenis bakteri *Vibrio* ini dapat mengakibatkan hancurnya organ dalam benih ikan, dan adanya luka pada bagian kulit

Untuk mengendalikan penyakit, khususnya penyakit bakterial, selama ini digunakan berbagai jenis antibiotik. Namun ternyata penggunaan antibiotik dapat menimbulkan strain baru bakteri yang resisten, sehingga tidak efektif dalam penanggulangan penyakit (Rantetondok *et al.*, 2004). Bahkan penggunaan obat – obatan dan antibiotik kurang efektif dan dapat menurunkan mutu lingkungan serta dapat memberikan pengaruh sampingan yang merugikan. Menurut Rosily (1987) dalam Rantetondok *et al.* (2004), terdapat sekitar 200 strain baru dari bakteri *Vibrio* yang resisten terhadap antibiotik. Salah satu pencegahan yang lebih efektif yaitu dengan cara menerapkan prinsip imunoprofilaksis yang merupakan suatu pencegahan penyakit yang dilakukan untuk meningkatkan kekebalan tubuh terhadap berbagai penyakit. Untuk meningkatkan ketahanan dan respon kebal ikan adalah dengan penggunaan imunostimulan (Purbomartono, 2004).

Imunostimulan merupakan sekelompok senyawa biologi dan sintesis yang dapat meningkatkan respon imun non-spesifik. Aplikasi imunostimulan sudah banyak diterapkan pada beberapa jenis ikan baik melalui pakan, perendaman maupun melalui

suntikan (Rosa dan Johnny, 2003). Ada beberapa bahan yang dapat digunakan untuk imunostimulan seperti glucan, dinding sel bakteri (LPS), polisakarida vitamin C dosis tinggi, HUFA'S, caretenoids, fucol dan peptidoglycan. Secara umum ada 10 kelompok yaitu produk bakteri, jamur, yeast, ikatan partikel terlarut dengan  $\beta$ -glucan, glycan-polisakarida, chitosan, peptida, ekstrak tumbuhan dan hewan, bahan sintesis, dan cytokines (Kamiso, 2004).

Dengan semakin berkembangnya bidang farmakologi kelautan, maka imunostimulan dapat menggunakan bahan aktif binatang laut seperti senyawa aktif alkaloid ubur-ubur dari jenis *Bougainvillia sp.*, dimana selama ini ubur- ubur belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat yang ternyata mengandung bahan aktif yang dapat digunakan sebagai bakterisida sehingga tidak lagi mengandalkan imunostimulan yang ada dipasaran dimana harganya sangat mahal. Menurut Fadjar, *et al.* (2003), menyatakan bahwa senyawa bioaktif ubur – ubur yang diperoleh dari klas hydrozoa menunjukkan aktivitas kuat terhadap bakteri pada ikan dan udang. Demikian pula menurut penelitian Andayani (2005), menggunakan senyawa alkaloid ubur-ubur, *Bougainvillia sp.* sebagai bakterisida dapat menghambat pertumbuhan dan infeksi oleh bakteri *V. harveyi*.

Oleh karena kemampuan bahan aktif alkaloid ubur- ubur *Bougainvillia sp.* sebagai bakterisida, yang dapat menekan pertumbuhan dan menghambat infeksi bakteri *V. harveyi*, sehingga diperlukan kajian lebih lanjut tentang kemampuan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia sp.* sebagai imunostimulan untuk dapat meningkatkan pola pertahanan dan tanggap kebal ikan kerapu macan terhadap serangan bakteri *V. harveyi* khususnya untuk mengetahui ketahanan tubuhnya dengan mengamati jumlah bakteri dalam organ dalam ikan kerapu setelah diinfeksi *V. harveyi*.

## 1.2 Perumusan Masalah

Ikan Kerapu Macan merupakan salah satu ikan laut ekonomis tinggi yang diminati oleh masyarakat bahkan pembenihannya semakin berkembang karena ikan kerapu ini memiliki harga dan pangsa pasar yang menjanjikan. Namun masih banyak kendala dalam kegiatan pembenihan kerapu yaitu penyediaan benih yang terbatas, baik dari segi jumlah dan kualitasnya yang disebabkan oleh tingginya tingkat kematian ikan kerapu akibat adanya serangan bakteri.

Salah satu penyakit yang sering menyerang jenis kerapu adalah Vibriosis. Vibriosis adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio sp.* Bakteri penyebab utama penyakit ini, bersifat gram negatif. sifat dari bakteri gram negatif yang lebih ganas daripada gram positif. Menurut Moriarty (1997) dalam Andayani dan Sukoso (2006), tingkat penyerangan bakteri *V. harveyi* pada pembenihan ikan kerapu macan dapat dihitung dalam beberapa jam. Penyerangan bakteri jenis *Vibrio* ini dapat mengakibatkan hancurnya organ dalam benih ikan dan adanya luka pada bagian kulit.

Untuk mengendalikan penyakit, khususnya penyakit bakterial, selama ini digunakan berbagai jenis antibiotik. Namun ternyata penggunaan antibiotik dapat menimbulkan strain baru bakteri yang resisten, sehingga tidak efektif dalam penanggulangan penyakit.

Ubur – ubur dari spesies *Bougainvillia sp.* merupakan salah satu produk laut yang dapat dimanfaatkan melalui proses ekstraksi terlebih dahulu menghasilkan senyawa – senyawa bioaktif. Senyawa tersebut merupakan golongan alkaloid yang dapat digunakan sebagai zat anti bakterial. Bahan aktif alkaloid yang terkandung dalam ubur – ubur ini yaitu 1 Benzil alkohol, 4 oktil 2,5 piperidin (Afriardhini, 2004).



Pemberian imunostimulan dari alkaloid ubur – ubur *Bougainvillia sp.* melalui metode perendaman diduga dapat merangsang peningkatan ketahanan tubuh dari ikan Kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*).

Metode ini dilakukan didasarkan bahwa obat atau zat dapat diserap ikan melalui insang dan kulit dari air. Menurut Nabib dan Pasaribu (1989), metode perendaman menyebabkan proses immunitas yang lebih efektif, karena antigen lebih lama kontak dengan ikan.

Pemberian Imunostimulan dengan metode perendaman diduga dapat mengurangi jumlah bakteri *V. harveyi* yang menginfeksi ikan kerapu macan.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah pemberian bahan aktif alkaloid ubur – ubur *Bougainvillia sp.* melalui perendaman dapat mengurangi jumlah total bakteri *V. harveyi* yang menginfeksi ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) setelah dilakukan ujiantang.

### **1.4 Kegunaan Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dalam penggunaan bahan aktif alkaloid ubur – ubur *Bougainvillia sp.* sebagai imunostimulan untuk mencegah serangan bakteri *V. harveyi* pada ikan Kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang diberikan melalui perendaman.

### 1.5 Hipotesis

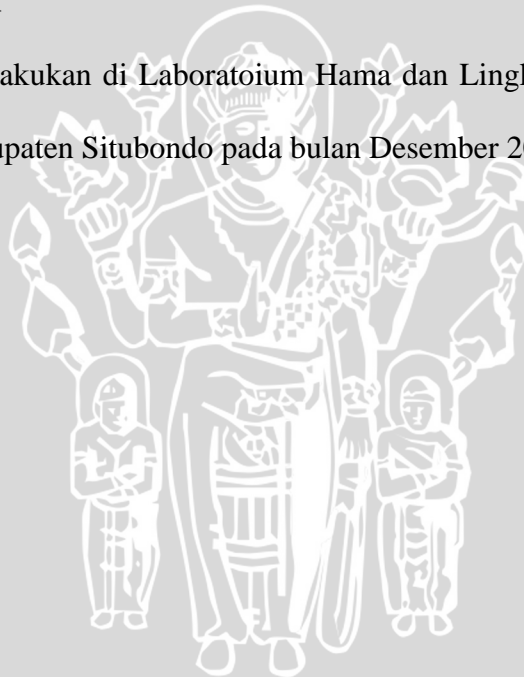
Hipotesis yang akan diuji dalam penelitian ini adalah

$H_0$  : Diduga dengan pemberian alkaloid ubur – ubur (*Bougainvillia sp.*) dengan cara perendaman tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah total bakteri *V. harveyi* yang menginfeksi ikan kerapu macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*).

$H_1$  : Diduga dengan pemberian alkaloid ubur – ubur (*Bougainvillia sp.*) dengan cara perendaman memberikan pengaruh terhadap jumlah total bakteri *V. harveyi* yang menginfeksi ikan kerapu macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*).

### 1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratoium Hama dan Lingkungan Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Kabupaten Situbondo pada bulan Desember 2006 – Februari 2007.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus* Forskal)

#### 2.1.1 Klasifikasi Kerapu Macan

Menurut Randall (1987) dalam Subyakto dan Cahyaningsih (2003), Klasifikasi Kerapu macan atau kerapu tiger yaitu sebagai berikut :

Phylum : Chordata

Subphylum : Vertebrata

Class : Osteichtyes

Subclass : Actinopterigi

Ordo : Percomorphi

Subordo : Percoidea

Family : Serranidae

Genus : *Epinephelus*

Spesies : *Epinephelus fuscoguttatus*



Image © E. Schloegl

Gambar 1. Kerapu macan (<http://www.kerapu/foto.com>)

#### 2.1.2 Morfologi Kerapu Macan

Kerapu macan termasuk dalam genus *Epinephelus*. Bentuk tubuhnya menyerupai kerapu Lumpur, tetapi tubuh kerapu macan lebih tinggi, kulit tubuhnya juga dipenuhi dengan bintik – bintik gelap yang rapat. Sirip dadanya berwarna kemerahan, sedangkan sirip – sirip yang lain mempunyai tepi coklat kemerahan. Pada garis rusuknya, terdapat 110-114 buah sisik (Kordi, 2001). Bentuk badan kerapu macan memanjang dan gepeng (*compressed*), tetapi kadang – kadang ada juga yang agak bulat. Mulutnya lebar serong keatas dan bibir bawahnya menonjol keatas. Rahang atas dan bawah dilengkapi gigi-gigi geratan yang berderet dua baris, ujungnya lancip, dan kuat.

Sementara itu, ujung luar bagian depan dari gigi baris luar adalah gigi-gigi yang besar (Subyakto dan Cahyaningsih, 2003).

### 2.1.3 Penyebaran dan Habitat

Ikan kerapu macan hidup di habitat berkarang sehingga populer juga dengan nama kerapu karang. Dalam perdagangan Internasional, ikan kerapu macan dikenal dengan nama *flower* atau *carpet cod* (Kordi, 2001). Daerah penyebaran kerapu macan adalah Afrika Timur, kepulauan Ryukyu (Jepang Selatan), Australia, Taiwan, Mikronesia, dan Polinesia (Subyakto dan Cahyaningsih, 2003). Menurut Weber dan Beaufort (1931) dalam Subyakto dan Cahyaningsih, perairan di Indonesia yang populasi kerapunya cukup banyak adalah perairan pulau Sumatera, Jawa, Sulawesi, Pulau Buru, dan Ambon.

Kerapu muda biasanya hidup di perairan karang pantai dengan kedalaman 0,5 - 3 m. setelah menginjak dewasa (burayak) berpindah keperairan yang lebih dalam, yakni di kedalaman 7 – 40 m. Biasanya perpindahan ini berlangsung pada siang dan sore hari. Telur dan larva kerapu bersifat pelagis (berada di kolom air). Sementara itu kerapu muda hingga dewasa bersifat demersal atau berdiam di dasar kolam (Tampubolon dan Mulyadi, 1989). Habitat favorit larva kerapu macan adalah perairan pantai di dekat muara sungai (Subyakto dan Cahyaningsih, 2003).

Pada siang hari, larva kerapu biasanya tidak muncul ke permukaan air. Sebaliknya, pada malam hari, larva kerapu banyak muncul ke permukaan air. Hal ini sesuai dengan sifat kerapu sebagai organisme nokturnal, yakni pada siang hari lebih banyak bersembunyi di liang – liang karang dan pada malam hari aktif bergerak di kolom air untuk mencari makanan (Subyakto dan Cahyaningsih, 2003).

#### 2.1.4 Benih

Benih merupakan larva yang telah menyerupai bentuk ikan dewasa. Pada benih kerapu kanibalisme merupakan sifat biologi yang secara alamiah tidak dapat dihilangkan. Dilihat dari proses terjadinya, sifat ini mulai menonjol setelah larva menyerupai bentuk ikan dewasa (benih) dan mulai berkurang setelah benih mencapai ukuran panjang 7-10 cm pada umur lebih dari 35 hari. Benih yang ukurannya lebih besar akan memangsa yang lebih kecil dan ini merupakan fase kritis yang ke-4 pada budidaya kerapu. Upaya yang dapat ditempuh untuk mengatasi hal tersebut adalah melakukan pendederan terhadap benih sebelum benih digunakan untuk pembesaran. Dengan demikian pada masa-masa kritis, penanganan harus lebih intensif. Faktor penting lainnya yaitu kebiasaan hidup, jenis pakan dan kebiasaan pakan, penyebaran dan lain sebagainya (Anonymous,2004).

Pakan merupakan faktor yang memegang peranan penting untuk menunjang keberhasilan kegiatan pendederan. Sebelum pendederan dilakukan *weaning* (membiasakan makan) yang merupakan suatu cara yang dilakukan untuk merubah kebiasaan benih dari satu jenis pakan ke jenis pakan lain yang akan diberikan selanjutnya. Pakan hendaknya mempunyai kandungan nutrisi sesuai untuk benih serta dalam kondisi baik. Kebutuhan nutrisi untuk benih kerapu harus memiliki kadar protein yang tinggi karena tergolong hewan karnivora. Jenis pakan yang umum digunakan adalah pakan buatan dan ikan segar. Pemberian pakan sebaiknya diberikan secara *ad libitum* sebanyak 5-6 kali dalam sehari. Selama pemberian pakan, diusahakan tidak ada pakan yang tersisa agar tidak menimbulkan efek yang merugikan. Kelebihan pakan yang tersisa, akan menimbulkan pembusukan sehingga mempercepat proses penurunan kualitas air yang mengakibatkan stress pada ikan (Anonymous, 2004).

## 2.2 Bakteri *Vibrio harveyi*

### 2.2.1 Klasifikasi

Menurut Bergey (1962) dalam Dwijoseputro (2003), klasifikasi dari *Vibrio harveyi* adalah sebagai berikut :

Phylum	: Protophyta
Class	: Schyzomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Sub Ordo	: Pseudomonadineae
Famili	: Spirillaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Species	: <i>Vibrio harveyi</i>

### 2.2.2 Biologi

#### a. Morfologi

Bakteri *Vibrio spp* tergolong dalam famili Vibrionaceae, yang mempunyai tubuh berbentuk batang dan mempunyai kemampuan untuk bergerak karena dilengkapi dengan flagel (Kordi, 2001). Menurut Inglis *et al.* (2003), genus vibrio termasuk bakteri gram – negatif yang berbentuk lurus atau batang yang bengkok dengan ukuran 0,5-0,8  $\mu\text{m}$  x 1,4-2,6  $\mu\text{m}$ . bakteri ini tidak membentuk spora dan bergerak dengan monotrichous atau multitrichous yang dibungkus oleh flagel polar.

#### b. Metabolisme dan Pertumbuhan

*Vibrio spp.* bersifat anaerobik fakultatif, dimana metabolisme dapat dilakukan dengan oksigen ataupun tanpa oksigen (fermentasi), selain itu bakteri ini dapat tumbuh

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

Faktor-faktor yang sangat mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah faktor abiotik dan faktor biotik. Faktor biotik terdiri atas makhluk-makhluk hidup, sedangkan faktor abiotik terdiri atas faktor alam fisika dan kimia. Misalnya, temperatur, pH (kebasahan), nilai osmotik dari medium, radiasi oleh sinar biasa dan radiasi oleh sinar sinar yang lain, dan penghancuran secara mekanik. Medium yang paling cocok untuk kehidupan bakteri vibrio adalah medium yang isotonis terhadap isi sel bakteri (Dwijoseputro, 2003).

Pada umumnya bakteri vibrio tumbuh dengan baik pada media air laut dimana ion sodium akan memacu pertumbuhan spesies ini (Inglis *et al.*, 2003). Bakteri *Vibrio spp* termasuk bakteri kemoorganik dan tumbuh dalam medium mineral yang mengandung D-Glukosa dan  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (Bauman *et al.*, 1984).

### **c. Reproduksi**

Bila bakteri diinokulasikan ke dalam suatu medium yang sesuai dan pada keadaan yang optimum bagi pertumbuhannya, maka terjadi kenaikan jumlah yang amat tinggi dalam waktu yang relatif pendek. Pada beberapa spesies, populasi (panen sel terbanyak yang dapat diperoleh) tercapai dalam waktu 24 jam, populasinya dapat mencapai 10 sampai 15 milyar sel bakteri per mililiter. Perbanyakannya seperti ini disebabkan oleh pembelahan sel secara aseksual (Pelczar dan Chan, 1986).

Menurut Dwijoseputro (2003), pada umumnya bakteri hanya mengenal satu macam pembiakan saja, yaitu pembiakan secara aseksual atau vegetatif. pembiakan ini berlangsung sangat cepat, jika faktor-faktor luar menguntungkan. Pelaksanaan

pembiakan yaitu dengan pembelahan diri atau *devisio*. Pembelahan diri dapat dibagi menjadi 3 fase, yaitu:

1. Fase pertama, dimana sitoplasma terbelah oleh sekat yang tumbuh tegak lurus pada arah memanjang.
2. Sekat tersebut diikuti oleh suatu dinding yang melintang. Dinding melintang ini tidak selalu merupakan penyekat yang sempurna, ditengah-tengah sering ketinggalan suatu lubang kecil, dimana protoplasma kedua sel baru masih tetap berhubungan. Hubungan protoplasma itu disebut *plasmodesmida*.
3. Fase terakhir adalah terpisahnya kedua sel. Ada bakteri yang segera berpisah, yaitu yang satu terlepas sama sekali daripada yang lain, setelah dinding melintang menyekat secara sempurna. Bakteri yang semacam ini merupakan koloni yang merata, jika dipiara pada medium padat. Sebaliknya, bakteri-bakteri yang dindingnya lebih kokoh itu tetap bergandeng-gandengan setelah pembelahan. Bakteri merupakan koloni yang kasar permukaannya.

#### **d. Ciri – Ciri Serangan**

Umumnya ikan kerapu yang diserang Vibriosis memperlihatkan gejala-gejala seperti kehilangan nafsu makan (anorexia), kulit ikan menjadi gelap atau pucat, 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, 2001). Bila Vibriosis menyerang pada stadium gelondongan (benih yang masih kecil), gejala klinisnya tidak begitu jelas. Seluruh tubuhnya tertutup



oleh lapisan lendir yang tebal dengan disertai luka-luka kecil yang tidak pecah.

Menurut Zafran *et al.*, (1998) dalam Kamiso (2004), gejala eksternal penyakit Vibriosis yaitu warna punggung kehitam-hitaman, nafsu makan turun atau hilang, eritema pangkal sirip dan dalam mulut, hemoragik pada alat kelamin dan dubur. Apabila penyakit berkembang haemoragik dan nekrotik akan meluas terutama pada otot daging dan terjadi erosi kulit. Sedangkan gejala internalnya adalah haemoragik dan nekrotik pada usus dan otot daging, empedu dan hati lengket, ginjal membengkak, kematian ikan terutama karena tidak berfungsinya organ tubuh dan kekurangan O<sub>2</sub>.

Jalan masuk (portal of entry) species vibrio menuju ikan adalah melalui saluran gastrointestinal, insang, kulit, kemudian infeksi vibrio berupa luka yang meluas pada kulit, nekrosis pada liver, spleen, ginjal dan jaringan lain (Yanuhar *et al.*, 2004).

Serangan bakteri ini bersifat akut pada dosis tinggi yaitu 10<sup>8</sup> CFU/ikan, dengan gejala berbahaya dalam waktu singkat sekitar 24 jam. Sedangkan pada dosis yang lebih rendah yaitu 10<sup>6</sup> CFU/ikan. Gejala yang timbul akibat serangan *V. parahaemoliticus* pada kerapu antara lain adalah kondisi ikan yang tampak lemah, kehilangan keseimbangan, adanya gerakan whirling, timbul nekrosis, adanya hemoragik, tampak warna kemerahan pada bagian operculum, pangkal pinna dorsalis, pinna abdominalis dan fovea nasalis.

### 2.2.3 Habitat dan Daerah Penyebaran

Bakteri *Vibrio spp* termasuk jenis bakteri halofil, yaitu bakteri yang dapat hidup pada salinitas tinggi. Bakteri ini dapat ditemukan di habitat – habitat akuatik dengan kisaran salinitas yang luas dan beberapa spesies ditemukan di habitat air tawar (Bauman *et al.*, 1984).

Bakteri ini bersifat ada dimana – mana, terutama pada perairan yang kandungan bahan organiknya tinggi dan sangat umum pada lingkungan laut dan estuari serta berasosiasi dengan hewan laut (Inggris *et al.*, 2003).

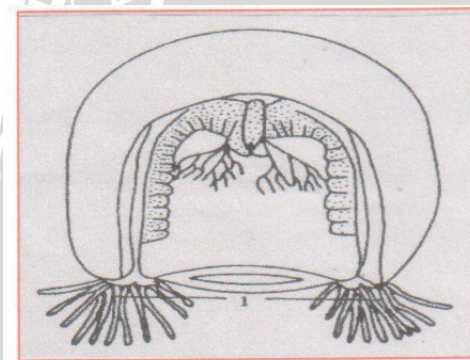
Medium yang paling cocok bagi kehidupan bakteri adalah medium yang isotonis terhadap sel bakteri. Jika bakteri ditempatkan di dalam suatu larutan yang hipertonik terhadap isi sel bakteri, maka bakteri akan mengalami plasmolisis. Sedangkan jika bakteri ditempatkan dalam larutan yang hipotonik terhadap isi sel, maka air cenderung masuk ke dalam sel sehingga sel membengkak dan akhirnya pecah (Dwijoseputro, 2003).

### 2.3 *Bougainvillia* sp.

#### 2.3.1 Klasifikasi

Menurut Storer and Robert (1957), klasifikasi dari Ubur – ubur *Bougainvillia* sp. adalah sebagai berikut :

Phylum	: Coelenterata
Class	: Hydrozoa
Ordo	: Hydroidea
Sub Ordo	: Anthomedusae
Family	: Bougainvillidae
Genus	: Bougainvillia
Spesies	: <i>Bougainvillia</i> sp



Gambar 2. *Bougainvillia* sp (Wickstead, 1965)

## 2.3.2 Biologi

### a. Morfologi

Bentuk ubur-ubur hampir seperti lonceng atau payung dimana bagian atas disebut ex-umbrella dan bagian bawah disebut sub-umbrella, tentakel menggantung ditepi velum dan berjumlah 4-16, tentakel ini kaya akan nematocyst yang merupakan racun pada ubur-ubur (Wijarni dan Diana, 1984).

*Bougainvillia sp.* termasuk dalam kelas Hydrozoa. Kebanyakan dari kelompok hewan ini berkoloni, beberapa jenis Hydrozoa memiliki nematosista yang kuat dan dapat menyebabkan iritasi dan sakit jika dasar dari kulit kita bersentuhan dengan hewan ini. Sebagian besar badannya sangat halus, berenda, berbentuk seperti belukar yang melekat pada dasar laut, dan sering dikira alga dan dalam satu koloni dapat dijumpai berbagai macam polip yaitu polip untuk makan, polip untuk bertahan yang menyengat dan polip perkembangbiakan yang menghasilkan bentuk berbeda yang dinamakan medusa untuk perkembangbiakan seksual (Romimohtarto dan Sri Juwana, 2005). Menurut Storer and Robert (1957), *Bougainvillia sp.* bersifat sesil atau menempel didasar laut, berkoloni, tidak mempunyai dinding penyekat pada rongga enteronnya, gonophorenya telanjang, gonad berada didalam manubrium, tidak terdapat statocyst dan medusanya panjang.

Menurut Radiopoetra (1991), 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 Penyebaran**

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 tergantung 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 berenang dekat permukaan atau dalam, serta hidup pada perairan yang dangkal di daerah tropis dan sub tropis. Sehingga secara garis besar ubur-ubur tersebar luas di semua perairan laut. Hydrozoa memiliki tubuh sangat rapuh, sehingga hydroid biasanya hidup diperaian yang tidak terlalu bergolak. Teluk merupakan habitat yang sangat baik. Hewan ini mengambang di permukaan laut dan bergerak menurut arah angin (Romimohtarto dan Sri Juwana, 2005). Menurut Storer and Robert (1957), hydroid hidup di perairan laut yang dangkal baik yang bersifat soliter maupun berkoloni.

### c. Reproduksi

Menurut Radiopoetra (1991), Ubur-ubur adalah coelenterata yang bersifat planktonik dan fase yang paling dominan atau paling lama adalah medusa.

Medusa yang keluar dari lubang pada ujung gonotheca berbentuk seperti payung dan pada tepinya dikelilingi oleh tentakel. Mulut terletak pada sisi konkaf yang bermuara pada enteron. Medusa ini terdapat 4 buah saluran radial yang berhubungan dengan saluran cincin pada pinggir tubuhnya. Pada fase medusa terdapat alat kelamin terpisah jantan dan betina. Pembuahan terjadi didalam air, didalam maupun diluar tubuh pembuahan di dalam tubuh terjadi dimana sperma dilepaskan oleh jantan dan masuk kedalam ovum kemudian terjadi pembuahan sedangkan pembuahan diluar tubuh terjadi dimana sel telur dibuahi diluar tubuh (Wijarni dan Diana, 1984).

#### 2.3.3 Toksin dan Bioaktif Ubur – Ubur

Menurut Wijarni dan Diana (1984), ubur-ubur dikenal sebagai binatang pengganggu di perairan dekat pantai karena dapat menyebabkan rasa gatal pada kulit bila tersentuh. Hal ini disebabkan adanya sel penyengat atau *nematocyst* yang terdapat di dalam jaringan epidermisnya, baik pada tentakel maupun dibagian tubuh lainnya. Sel-sel penyengat letaknya tersebar pada tentakel, lengan mulut dan pada permukaan mulut dalam jumlah besar. Fungsi *nematocyst* adalah untuk melumpuhkan musuh atau mangsa sebelum dimasukkan ke dalam mulut.

Sebagian besar bahan aktif yang di ekstraksi dari lautan adalah toksin. Sebenarnya toksin adalah molekul yang mempunyai aktifitas fisiologi yang kuat dengan fungsi khusus. Toksin mempunyai potensi untuk digunakan sebagai obat walaupun kadang-kadang tidak dapat digunakan secara langsung sebagai obat. Ekstraksi bahan

aktif dari laut sudah banyak dilakukan, sebagai contoh bahan antibiotik, anti cendawan pada jenis monera; anti virus dari protista; antibiotik, faktor perusak dan faktor pertumbuhan dari jenis spons; serta bahan anti koagulan dan neurohormonal dari beberapa jenis coelenterata. Ekstrak alkohol dan etanol dari 2000 spesies organisme laut telah diuji di berbagai negara maju dan golongan tersebut ternyata mengandung senyawa sitotoksik, antibakteri, antibiotik, antitumor, maupun antikanker diantaranya golongan coelenterata (Angka dan Suhartono, 2000).

Menurut Scheuer (1978), coelenterata dari kelas hydrozoa mempunyai zat bioaktif dari golongan terpenoid, sesterpen, variabelin, ketosteroid, metilsteroid glikosida peptide dan asam fenolat. Menurut Fadjar *et al.* (2003), menyatakan bahwa senyawa bioaktif ubur – ubur dari klas hydrozoa menunjukkan aktivitas kuat terhadap bakteri pada ikan dan udang.

#### **2.3.4 Alkaloid Ubur-Ubur, *Bougainvillia sp.***

Bahan bioaktif yang dikandung golongan coelentrata salah satunya adalah alkaloid. Menurut Guralnik (1972), alkaloid biasanya tanpa warna, berbentuk kristal, dan merupakan zat organik yang pahit. Alkaloid dapat memiliki efek toksin pada sistem manusia dan hewan.

Sumber-sumber alkaloid adalah pada tanaman berbunga, angiosperma. Pada tahun-tahun berikutnya penemuan sejumlah besar alkaloid terdapat pada hewan, serangga, organisme laut, mikroorganisme dan tanaman rendah. Kebanyakan alkaloid yang telah diisolasi berupa padatan kristal dengan titik lebur tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi. Sedikit alkaloid yang berbentuk amorf, dan beberapa seperti nikotin dan koniin berupa cairan. Kebanyakan alkaloid tidak berwarna, tetapi beberapa senyawa yang kompleks spesies aromatik berwarna. Garam alkaloid dan alkaloid

quartener sangat larut dalam air. Kebanyakan alkaloid bersifat basa. Sifat tersebut tergantung pada adanya pasangan elektron pada nitrogen (Sastrohamidjojo, 1996).

Menurut Robinson (1995), fungsi dari alkaloid yaitu sebagai berikut :

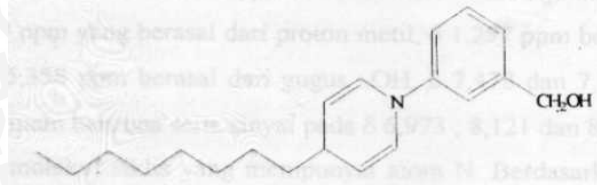
- Alkaloid diperkirakan berfungsi sebagai hasil buangan nitrogen seperti urea dan asam urat pada binatang (pendapat ini tidak berlaku lagi)
- Alkaloid dapat melindungi tumbuhan dari serangan penyakit atau pemangsa tumbuhan.
- Beberapa jenis alkaloid mungkin bertindak sebagai tandon penyimpanan nitrogen meskipun banyak alkaloid ditimbun dan tidak mengalami metabolisme lebih lanjut dan sangat kekurangan oksigen.
- Alkaloid dapat berlaku sebagai pengatur tubuh, karena dari segi struktur beberapa alkaloid menyerupai pengatur tumbuh.
- Alkaloid sebagian besar bersifat basa, dapat mengganti basa mineral dalam mempertahankan kesetimbangan ion daalam tumbuhan.

Struktur dasar dari alkaloid berdasarkan Fessenden dan Fessenden (1984) adalah sebagai berikut:



Gambar 3. Struktur Dasar Alkaloid

Sedangkan sesuai dengan hasil penelitian Farid, Fadjar dan Andayani (2004), stuktur dari alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia sp.*) dalam ekstrak kloroform yang diperoleh berdasarkan data dari spectra UV-Vis, NMR dan IR, dapat ditunjukkan pada Gambar 4 sebagai berikut :



### 1-benzilalkohol, 4-oktil piperidin

Gambar 4. Struktur Senyawa Alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia sp.*

## 2.4 Immunostimulan

Immunostimulan adalah sekelompok senyawa biologi dan sintesis yang dapat meningkatkan respon imun non-spesifik. Jadi immunostimulan merupakan senyawa yang dapat merangsang aktivitas kekebalan tubuh atau senyawa yang dapat meningkatkan ketahanan dan tanggap kebal ikan (Roza dan Johnny, 2003). Ada beberapa bahan yang dapat digunakan untuk immunostimulan seperti glucan, dinding sel bakteri (LPS), polisakarida, vitamin C dosis tinggi, HUFA'S, caretenoids, fucoli, dan peptidoglycan (Kamiso, 2004). Menurut Almendras (2001) dalam Kamiso (2004), secara umum ada 10 kelompok yaitu : (1) produk bakteri, (2) jamur, (3) yeast, (4) ikatan partikel terlarut dengan  $\beta$ -glukan, (5) glycan-polisakarida, (6) chitosan, (7) peptida, (8) ekstrak tumbuhan dan hewan, (9) bahan sintesis, dan (10) cytokines.

Proses peningkatan resistensi ikan terhadap infeksi penyakit dengan immunostimulan, tidak melalui respon imun - spesifik, tetapi melalui mekanisme pertahanan non-spesifik ikan tersebut. Sehingga penggunaan immunostimulan sangat efektif untuk meningkatkan immunokompetensi dan pola pertahanan ikan terhadap penyakit sehingga dapat menghambat serangan bakteri maupun virus (Sakai, 1998).

Menurut Anderson (1974), mekanisme masuknya antigen dari immunostimulan pada tubuh ikan dengan metode perendaman dapat melalui insang, dan kulit. Antigen akan ditangkap oleh spesifik reseptor dan diproses oleh makrofag, kemudian pesan



tersebut akan dikirim ke organ limposit. Di dalam limposit ini, antigen akan digandakan dan antibodi spesifik diproduksi. Selanjutnya antibodi dibawa masuk melewati sel menuju peredaran darah dalam kapiler insang untuk diedarkan ke seluruh jaringan tubuh.

Aplikasi Immunostimulan sudah banyak diberikan pada beberapa jenis ikan dan udang baik melalui pakan, perendaman maupun melalui suntikan (Johny dan Roza, 2003).

Menurut Dalimunthe (2006), ada beberapa metoda yang dapat digunakan dalam pengobatan terhadap penyakit ikan termasuk dalam pemberian immunostimulan yaitu sebaagai berikut :

- Perendaman

Metode ini dilakukan didasarkan bahwa obat atau zat dapat diserap ikan melalui insang dan kulit dari air. Menurut Nabib dan Pasaribu (1989), metode perendaman menyebabkan proses immunitas yang lebih efektif, karena antigen lebih lama kontak dengan ikan.

Metode perendaman cocok untuk budidaya intensif dan prosedurnya dapat dilakukan oleh masyarakat pada umumnya tanpa membutuhkan keahlian khusus seperti pada metode injeksi. Metode ini efektif untuk ikan – ikan kecil (< 5 gr) dan tidak menimbulkan stress. Dosis optimal pemberian imunostimulan melalui perendaman yaitu 2-10 mg/l dengan waktu perendaman minimal 10 menit sampai 1 jam (Galindo dan Hosokawa, 2004).

- Penyuntikan

Penyuntikan dapat dilakukan secara intramuskular dan intraperitonial. Penyuntikan intramuskular dilakukan pada punggung ikan diatas linealateralis.

Sedangkan penyuntikan intraperitonial dilakukan di depan dada dan perut. Metode ini seringkali menimbulkan stress pada ikan.

- Ditambahkan pada pakan

Metode ini dapat dilakukan untuk ikan dalam jumlah besar. Pelaksanaannya adalah dengan mengencerkan obat yang digunakan dengan air kemudian disemprotkan pada pakan ikan atau pellet. Cara lain yang dapat ditempuh yaitu dengan mencampurkan obat dengan bahan makanan ikan kemudian dicetak menjadi bentuk pellet. Tetapi metode ini kurang efektif karena terjadi pemborosan immunostimulan apabila pakan yang dioplos dengan immunostimulan tidak dimakan oleh ikan.

## **2.5 Sistem Kekebalan (Immunitas) pada Ikan**

### **2.5.1 Immunitas**

Immunitas adalah semua mekanisme fisiologis yang membantu organisme untuk mengenal benda benda asing pada dirinya, untuk menetralkan, menyisihkan, atau memetabolisasi benda asing tersebut dengan atau tanpa kerusakan pada jaringannya sendiri (Bellanti, 1993). Menurut Fujaya (2004), kekebalan adalah kemampuan organisme untuk melawan semua jenis organisme atau toksin yang cenderung merusak jaringan dan organ.

### **2.5.2 Penggolongan Sistem Imun**

Terdapat 2 sistem Imun yaitu sistem imun non-spesifik dan sistem imun spesifik.

#### **a. Sistem Imun Non-spesifik**

Komponen-komponen sistem imun non-spesifik adalah pertahanan fisik dan kimiawi seperti epitel dan substansi antimikroba yang diproduksi pada permukaan epitel. Berbagai jenis protein dalam darah termasuk diantaranya komponen-komponen sistem

komplemen, mediator sistem inflamasi lainnya dan berbagai sitokin, sel-sel fagosit yaitu sel-sel polimorfonuklear dan makrofag serta sel *natural killer* (NK). Salah satu upaya tubuh untuk mempertahankan diri terhadap masuknya antigen, misalnya antigen bakteri, adalah menghancurkan bakteri bersangkutan secara non-spesifik dengan proses fagositosis (Kresno, 2001).

### **b. Sistem Imun Spesifik**

Sistem imun spesifik adalah system kekebalan khusus yang membentuk antigen dan membuat limfosit peka untuk segera menyerang dan menghancurkan organisme spesifik atau toksin (Fujaya, 2004). Terdapat 2 macam yaitu: sistem imun spesifik humoral (sel B), menghasilkan antibodi yang berfungsi sebagai pertahanan terhadap infeksi ekstra seluler virus dan bakteri. Sedangkan sistem imun spesifik seluler (sel T) untuk pertahanan terhadap bakteri yang hidup intraseluler, virus, jamur, parasit, dan keganasan (Wiedosari, 2005).

### **2.5.3 Immunologi Ikan**

Ikan merupakan rantai penghubung antara invertebrata dan vertebrata tingkat tinggi. Meskipun system imun belum selengkap pada vertebrata tinggi tetapi jauh lebih berkembang dibandingkan sistem imun pada invertebrata. Ikan memiliki kemampuan respon imun humoral dan yang diperantarai sel (*cell-mediated immune response*). Selain itu sudah mulai terdapat respon imun spesifik terhadap antigen (immunoglobulin) serta organ limfoid (organ yang merespon antigen), myeloid (organ penghasil darah), yaitu pada ginjal dan hati. Tetapi respon imun baru terbentuk sempurna manakala ikan sudah dewasa. Meskipun pada larva atau ikan muda sudah terbentuk respon imun tetapi kerjanya kurang efisien, sehingga rentan terhadap penyakit (Irianto, 2005).

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 kedalam jaringan maka respon ikan dilanjutkan kerespon pertahanan spesifik dengan memproduksi antibodi (Anderson, 1974 ; Roit, 1994 *dalam* Maftuch, 2005).

Proses pengenalan antigen terjadi dalam respon pertahanan spesifik. Kondisi ini pertama antigen diolah oleh makrofag dan diberikan pada sel B pada waktu difiksasi pada permukaan makrofag dan sel T pembantu didekatnya juga menanggapi antigen yang sama. Makrofag pengolah antigen ini ditandai dengan pemilikan antigen membran sel. Makrofag akan meningkatkan tanggap sel B dengan mengeluarkan bahan pembantu yang larut yang dikenal sebagai interleukin 1 yang akan menggiatkan sel T pembantu. Sekali dirangsang oleh bahan pembantu ini, permukaan sel B mulai mengalir dan antigen terikat membran menjadi terpusat pada bagian kecil (tudung) pada permukaan sel. Sesudah penudungan, sel B yang sedang tanggap membesar dan mulai membelah diri berulang kali. Setelah beberapa hari, sel perlahan-lahan berdiferensiasi menjadi dua populasi sel yaitu sel plasma yang memperoleh kemampuan menghasilkan antibodi dan populasi lain berfungsi sebagai sel memori (Tizard, 1982).

Saat antigen memasuki tubuh, dihadap oleh barisan siaga limfosit yang memiliki antibodi yang berbeda-beda sesuai dengan tempat pengenalan antigen yang dimiliki masing-masing. Antigen akan berikatan dengan reseptor yang benar-benar cocok. Limfosit dengan reseptor yang telah mengikat antigen menerima sinyal pemacuan dan berkembang menjadi sel plasma dan karena limfosit dirancang hanya membuat satu antibodi maka yang akan disekresi sel plasma akan identik dengan

reseptor limfosit aslinya sehingga ikatan dengan antigensangat baik dan antigen memilih antibodi yang mengenalnya secara efektif (Roitt, 2002).

#### 2.5.4 Sistem Imun Pada Insang

Insang terdiri dari dua rangkaian yang tersusun atas empat lengkungan tulang rawan dan tulang keras (holobrankhia) yang menyusun sisi faring. Masing-masing holobrankhia memiliki dua hemibrankhia yang menonjol dari pangkal posterior lengkung insang. Hemibrankhia terdiri dari dua baris filamen tipis panjang disebut lamellae primer dan mengalami perluasan oleh adanya lamellae sekunder. Insang dilengkapi lapisan sel penghasil mucus dan sel yang mensekresi ammonia dan kelebihan garam. Pada bagian tepi tengah anterior dilengkapi *gill rakers* untuk menyaring partikel-partikel pakan. Letak insang, struktur dan mekanisme kontak dengan lingkungan menjadikan insang sangat rentan terhadap perubahan kondisi lingkungan serta menjadi tempat yang tepat bagi berlangsungnya infeksi oleh agensia patogenik (Irianto, 2005).

Menurut Kumar dan Tembhe (1996) dalam Irianto (2005), insang dilengkapi dengan sejumlah glandula yang dikenal sebagai glandula brankhial, yaitu se epitel insang yang mengalami spesialisasi. Glandula tersebut adalah glandula mukosa dan glandula asidofilik (sel-sel klorida). Glandula mukosa berupa sejumlah sel-sel tunggal berbentuk buah pear atau oval dan menghasilkan mukus dan terdapat baik pada lengkung insang, filament insang maupun lamellae sekunder.

#### 2.5.5 Sistem Imun Pada Limpa

Limpa adalah kumpulan cairan jaringan yang mengalir dalam kapiler limfatik kedalam pembuluh limfa yang lebih besar yang disebut vasa limfatika (Bellanti, 1993). Limpa berfungsi menyaring darah, dimana proses penyaringan membuang partikel antigen dan sel darah yang tua. Disamping itu, limpa menyimpan eritrosit dan trombosit

dan melaksanakan eritropoiesis. Limpa terbagi atas dua bagian yaitu satu bagian untuk penyimpanan eritrosit, untuk penjeratan antigen dan untuk eritropoiesis, yang disebut pulpa merah, dan bagian yang 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 darah. Reaksi limpa terhadap antigen terjadi dalam pulpa putih ini. Antigen yang masuk akan dijerat paling tidak sebagian, di dalam limpa yang diambil oleh makrofag baik yang terdapat di zone pembatas maupun yang membatasi sinusoid pulpa merah. Sel ini membawa antigen ke folikel primer dalam pulpa putih dan dari sana sesudah beberapa hari, sel penghasil antibodi bermigrasi. Sel penghasil antibodi ini menempati zone pembatas dan pulpa merah, dan di daerah inilah produksi antibodi itu pertama kali ditemukan. Bila antigen memasuki limpa, dimulailah penjeratan limfosit. Yang biasanya melewati secara bebas organ ini. Proses ini terjadi sebagai akibat interaksi antara antigen dan makrofag, dimana penjeratan ini bermanfaat untuk mengumpulkan sel peka-antigen di tempat yang dekat dengan tempat antigen terkumpul dan dengan demikian menambah efisiensi tanggap kebal (Tizard, 1982).

## **2.6 Kualitas Air**

Air yang digunakan dalam pemeliharaan ikan Kerapu harus berada dalam kondisi yang optimal. Beberapa parameter yang perlu diperhatikan yaitu :

### **a. Suhu Air**

Ikan merupakan hewan ektotermik yang berarti tidak menghasilkan panas tubuh, sehingga suhu tubuhnya tergantung atau menyesuaikan pada suhu lingkungan sekelilingnya. Ikan memiliki derajat toleransi terhadap suhu dengan kisaran tertentu yang sangat berperan bagi pertumbuhan, inkubasi telur, konversi pakan dan resistensi

terhadap penyakit. Suhu tinggi dapat menyebabkan gangguan status kesehatan untuk jangka panjang, misalnya stress yang ditandai dengan tubuh lemah, kurus, dan tingkah laku abnormal. Pada suhu rendah, ikan menjadi lebih rentan terhadap infeksi fungi dan bakteri patogen akibat melemahnya system imun (Irianto, 2005).

Suhu yang baik bagi kehidupan ikan Kerapu berkisar antara  $20^{\circ}\text{C}$  –  $35^{\circ}\text{C}$ . namun suhu yang ideal adalah  $27^{\circ}\text{C}$  –  $32^{\circ}\text{C}$  dengan perubahan yang tidak ekstrem. Perubahan suhu yang ekstrem akan berpengaruh terhadap proses metabolisme atau nafsu makan, aktivitas tubuh dan susunan syaraf (Kordi, 2001). Menurut Tseng dan Ho (1988), suhu air optimum untuk pertumbuhan kerapu antara  $22^{\circ}\text{C}$  –  $28^{\circ}\text{C}$ , jika suhu air turun sampai dibawah  $15^{\circ}\text{C}$ , dapat menyebabkan ikan tidak mau makan dan aktivitasnya berkurang.

Suhu merupakan faktor penting dalam respon imun ikan. Menurut Mac Arthur dan Fletcher (1985), proses pembunuhan bakteri pada ikan sangat peka terhadap suhu, hal ini dapat menerangkan mengapa selama musim dingin ikan kurang mampu melawan serangan bakteri. Selanjutnya menurut Nabib dan Pasaribu (1989), kondisi suhu yang rendah cenderung memperlambat atau meniadakan pembentukan antibodi. Suhu dibawah suhu kritis mengakibatkan reaksi kekebalan tidak dapat berkembang, berbeda antara spesies ikan sesuai dengan batas lingkungannya. Pada spesies ikan air panas, antibodi tidak akan diproduksi bila dipelihara pada media air bersuhu dibawah  $12^{\circ}\text{C}$ . sebaliknya pada ikan yang hidup di air dingin, antibodi masih dapat diproduksi pada suhu  $5^{\circ}\text{C}$ .

#### **b. Oksigen Terlarut**

Kelarutan oksigen merupakan faktor lingkungan yang terpenting bagi pertumbuhan ikan kerapu. Kandungan oksigen yang rendah dapat menyebabkan ikan

kehilangan nafsu makan, sehingga mudah terserang penyakit dan pertumbuhannya lambat. Biota air membutuhkan oksigen sebagai penunjang kebutuhan lingkungan bagi spesies tertentu dan kebutuhan konsumtif yang dipengaruhi oleh kebutuhan metabolisme. Dengan demikian bila oksigen terlarut rendah, ikan tidak hanya mengalami keterlambatan pertumbuhan, melainkan juga kematian (Kordi, 2001).

Oksigen diperlukan ikan untuk katabolisme yang menghasilkan energi bagi aktivitas seperti berenang, reproduksi, dan pertumbuhan. Kekurangan oksigen dapat berakibat mortalitas ikan. Pada dasarnya konsentrasi oksigen terlarut 5 mg/liter merupakan kandungan oksigen yang dianjurkan untuk kesehatan ikan yang optimum. Sensitivitas terhadap kadar oksigen terlarut yang rendah sangat spesifik untuk tiap jenis ikan. Pada umumnya jika kandungan oksigen terlarut turun menjadi 3-4 mg/liter, ikan akan mengalami stress (Irianto, 2005).

Untuk pemeliharaan ikan Kerapu, jumlah oksigen terlarut optimal tidak boleh kurang dari 4 ppm (Kordi, 2001).

### c. pH

Derajat keasaman atau pH dipergunakan untuk memperoleh gambaran mengenai kemampuan suatu perairan dalam memproduksi garam – garam mineral (Kordi, 2001). Kondisi perairan dengan pH netral atau sedikit basa sangat ideal untuk kehidupan ikan air laut. Perairan dengan pH rendah dapat mengakibatkan aktivitas tubuh menurun atau ikan menjadi lemah, lebih mudah terkena infeksi dan biasanya diikuti dengan tingkat mortalitas tinggi (Sudjiharno *et al.*, 1999).

Budidaya ikan kerapu paling baik dilakukan diperairan dengan pH 7,6-8,9 yang merupakan kisaran umum pH air laut (Kordi, 2001).



### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang berukuran 7 – 8 cm dengan umur D<sub>90</sub> yang didapat dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo. Gambar benih ikan kerapu macan yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 1.

##### 3.1.2 Media Penelitian

Media penelitian yang digunakan adalah air laut dengan salinitas 33 ppt. Ikan dipelihara dalam bak berisi air dengan volume 15 liter sebanyak 10 buah (4 perlakuan dengan 2 kali ulangan dan 2 kontrol), dengan kepadatan 10 ekor setiap bak. Gambar bak pemeliharaan ikan kerapu macan dapat dilihat pada Lampiran 2.

##### 3.1.3 Pakan

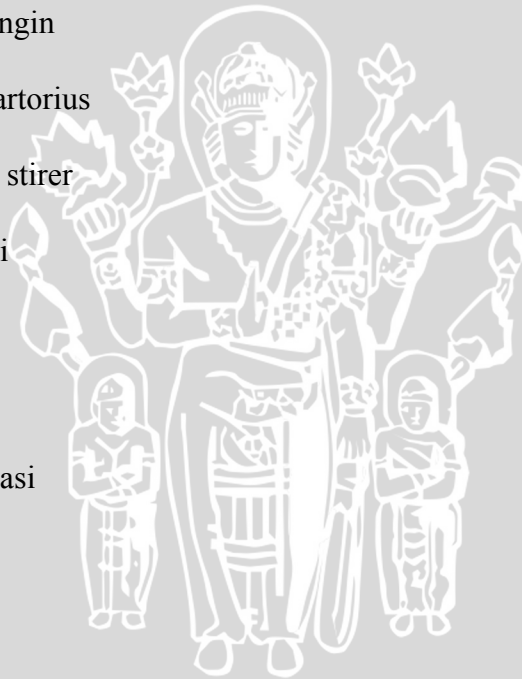
Pakan yang akan diberikan berupa ikan rucah (Lampiran 3). Pakan diberikan secara *add libitum* dengan frekuensi pemberian pakan sebanyak dua kali dalam sehari, yaitu pada pukul 07.00 dan 16.00.

##### 3.1.4 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Bak bervolume 15 liter
- Peralatan aerasi
- Timbangan analitik
- Gelas ukur 0,5 liter dan 1 liter

- Pipet mikro
- Termometer
- Oksimeter
- pH meter
- Refraktometer
- Petridish
- Autoklaf
- Inkubator
- Lemari pendingin
- Timbangan sartorius
- Hot plate dan stirer
- Tabung reaksi
- Api Bunsen
- Erlenmeyer
- Kawat inokulasi
- Pipet tetes
- Obyek glass
- Mikroskop
- Karet penghisap
- Coloni Counter
- Apendof
- Erlenmeyer 500 ml dan 1 liter
- Hockey stick



- Sectio set
- Mikroskop
- Obyek glass
- Paralon
- Botol semprot

### 3.1.5 Bahan penelitian

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Ikan kerapu macan umur 90 hari (D<sub>90</sub>)
- Air laut
- Air tawar
- Ikan rucah
- Ekstrak cair ubur-ubur *Bougainvillia sp.* komersial (Lampiran 4).
- Biakan murni bakteri *Vibrio harveyi* (Lampiran 5).
- TCBSA (*Thiosulfat Citrate Bilesalt Sukrose Agar*)
- NB (*Nutrient Broth*)
- NA (*Nutrient Agar*)
- NaCl
- KCl
- MgSO<sub>4</sub>
- Kapas
- Koran
- Spiritus
- Aluminium foil

- Aquadest
- Alkohol 70 % dan 95%
- Mc Farland
- Kristal violet
- Gram's Iodin
- Safranin
- Tissue

### 3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah suatu bentuk observasi dibawah kondisi buatan, dimana kondisi tersebut dibuat dan diatur oleh si peneliti. Artinya pada dasarnya adalah mengadakan percobaan untuk melihat hasil, dan hasil percobaan akan menegaskan kedudukan kausal antara variabel – variabel yang diselidiki. Dengan demikian, penelitian ekperimental adalah penelitian yang dilakukan dengan manipulasi terhadap obyek penelitian serta adanya kontrol. Tujuan dari penelitian eksperimental adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan – perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol untuk perbandingan (Nazir, 1988).

Teknik pengambilan data yang dilakukan adlah dengan cara observasi langsung, yaitu teknik pengambilan data dimana peneliti mengadakan pengamatan secara langsung terhadap gejala – gejala subyek yang diteliti, baik pengamatan yang dilakukan dalam kondisi yang sebenarnya maupun yang dilakukan didalam kondisi buatan yang khusus diadakan (Surachmad, 1989).

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL), yaitu rancangan yang biasa digunakan dalam skala laboratorium ataupun ruangan tertutup lainnya, dimana perlakuan bisa diatur atau dikendalikan sehingga faktor yang lain bersifat homogen. Menurut Gasperz (1991), beberapa keuntungan dari penggunaan RAL adalah:

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 dan data hilang lebih kecil

Adapun rumus dari model RAL adalah sebagai berikut:

$$Y = \mu + T + \varepsilon$$

Keterangan:

Y : nilai pengamatan

$\mu$  : nilai rata-rata harapan

T : pengaruh perlakuan

$\varepsilon$  : galat

Standar penentuan dosis alkaloid yang digunakan dalam penelitian ini didasarkan pada dosis alkaloid dalam penelitian Heramawati (2005), yakni 0,4 ppm-8,4 ppm. menurut Heramawati (2005), pada dosis 6,4 ppm-8,4 ppm pengaruh senyawa aktif alkaloid ubur – ubur, *Bougainvillia sp.* belum memberikan nilai yang high significant atau significant terhadap kelulushidupan kepiting bakau (*Scylla sp*), namun memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap penurunan pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

Sehingga standard untuk penentuan perbedaan dosis yang dipakai dalam penelitian ini adalah 6,4.

Perlakuan yang dilakukan terdiri dari 4 perlakuan dengan 2 kali ulangan serta kontrol, dan penempatan dilakukan secara acak (random). Sebagai perlakuan adalah perbedaan dosis senyawa alkaloid ubur – ubur, *Bougainvillia sp.* yaitu sebagai berikut :

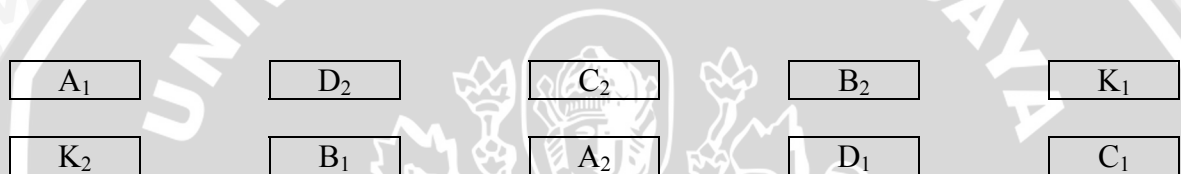
A = 6,4 ppm

B = 8,4 ppm

C = 10,4 ppm

D = 12,4 ppm

Adapun denah percobaan dapat dilihat pada Gambar 5. berikut ini:



Gambar 5. Denah Percobaan

Keterangan:

- 1,2 : ulangan  
 A, B, C, D : perlakuan  
 K : kontrol

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Persiapan Penelitian

##### 3.4.1.1 Pencucian Peralatan Pemeliharaan

Peralatan yang akan digunakan untuk pemeliharaan hewan uji terlebih dahulu dicuci dengan kaporit, dibiarkan semalam, dicuci dengan deterjen lalu dibilas dengan air tawar dan dikeringkan.

### 3.4.1.2 Aklimatisasi Benih Ikan

#### a. Aklimatisasi benih ikan kerapu macan dalam bak aklimatisasi

Untuk menghindari stress maka ikan perlu diaklimatisasi terlebih dahulu dengan cara:

- Bak aklimatisasi berkapasitas 30 liter diisi dengan air laut sebanyak 20 liter dengan salinitas 28 – 33 ppt.
- Thermostat dipasang pada bak aklimatisasi untuk mempertahankan suhu optimum antara 28 – 32° C.
- Ikan D<sub>90</sub> dengan ukuran 7 – 8 cm diapungkan dalam kemasan kantong plastik pada bak aklimatisasi selama beberapa menit sampai suhu di dalam kantong plastik dan di bak aklimatisasi sama.
- Benih dilepaskan secara perlahan-lahan ke dalam bak aklimatisasi.
- Salinitas pada kondisi optimm dipertahankan antara 28 – 33 ppt.
- Aklimatisasi dilakukan selama ± 3 hari setelah itu dilakukan seleksi benih.

#### b. Seleksi dan Sanitasi benih ikan Kerapu macan

Seleksi benih ini bertujuan untuk mendapatkan benih yang sehat dan memiliki ukuran yang homogen, sedangkan sanitasi bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme pathogen, terutama bakteri *V. harveyi* yang berasal dari panti pembenihan asal benih.

Seleksi dan sanitasi benih dilakukan dengan cara-cara sebagai berikut :

- Benih diambil dari bak aklimatisasi dengan menggunakan *scoop net* tetapi masih tetap diletakan di dalam air.

- Benih diukur panjangnya menggunakan penggaris. Benih yang dipakai sebagai sampel adalah benih yang memiliki ukuran panjang berkisar antara 8-10 cm.
  - Benih yang telah diukur dipindah ke bak yang telah disediakan untuk diamati kondisinya, mulai dari gerakannya (lincah/aktif, berenang normal dan bergerombol), kondisi kesehatannya (organ tubuh lengkap, tidak cacat, tidak tampak kelainan bentuk) serta respon terhadap pakan yang diberikan sangat responsif
  - Untuk menguji apakah benih mengandung bakteri *V. harveyi*, dapat dilakukan dengan cara menggoreskan jarum ose pada badan benih untuk dibiakkan pada media TCBSA pada suhu 30° C selama 24 jam. Koloni yang tidak tumbuh pada media TCBSA menandakan bahwa benih tersebut bebas bakteri *V. harveyi*. Hal ini penting dilakukan agar benih betul-betul murni dan agar bakteri yang ada dalam bak-bak percobaan adalah bakteri yang diinfeksi secara in vivo ketika penelitian.
  - Selanjutnya, benih yang bebas bakteri siap dipindahkan ke bak-bak percobaan.
  - Semua prosedur dilakukan dengan sangat hati – hati untuk mencegah terjadinya stress yang bisa mengakibatkan kematian.
- c. Aklimatisasi benih ikan Kerapu macan dalam bak – bak percobaan**
- Benih ikan kerapu macan setelah diseleksi dipindahkan dari bak penampungan ke bak – bak percobaan yang telah disiapkan. tiap bak berisi 10 liter air laut dan dilengkapi dengan peralatan aerasi.
  - Kepadatan benih dalam bak percobaan adalah 10 ekor/bak atau 1 ekor/liter
  - Benih diberi pakan berupa ikan rucah secara *add libitum* dengan frekuensi 2 kali sehari.



- Kualitas air pada bak percobaan diupayakan tetap berada pada kondisi optimum (salinitas 28-35 ppt, suhu antara 28-32° C, oksigen terlarut tidak  $\leq 5$  ppm).
- Benih diaklimatisasi di bak – bak percobaan selama satu hari.

#### 3.4.1.3 Sterilisasi Alat dan Bahan

- Alat-alat yang akan disterilisasi dibungkus dengan menggunakan kertas perkamen atau kertas koran, kemudian dibungkus dengan menggunakan benang.
- Air secukupnya dituang ke dalam autoklaf, kemudian alat yang telah dibungkus kertas perkamen dimasukkan ke dalam autoklaf dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara silang.
- Kompor pemanas dinyalakan, setelah beberapa saat monometer akan menunjukkan angka 1 atm, jika terjadi kelebihan tekanan buka kran udara hingga monometer menunjukkan angka 1 atm kembali.
- Ketika sampai suhu 121° C dan monometer menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit.
- Kompor dimatikan dan kran dibuka untuk mengurangi tekanan. Tunggu beberapa saat sampai termometer dan monometer menunjukkan angka 0 (nol) lalu buka penutup autoklaf secara silang.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam inkubator, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

#### 3.4.1.4 Pembuatan media TCBSA, NB dan NA

- Media TCBSA diambil dan ditimbang, untuk setiap pembuatan media TCBSA sebanyak 1000 ml maka dibutuhkan TCBSA sebanyak 88 gram.

- Pupuk KCL; MgSO<sub>4</sub> dan NaCl masing-masing ditimbang sebanyak 0,75 gr; 6,94 gr; 13,4 gr, untuk setiap pembuatan media TCBSA 1000 ml.
- Bahan-bahan di atas semuanya dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan ditambahkan akuades steril sesuai dengan kebutuhan bahan yang ditimbang sebelumnya.
- Media dipanaskan di hot plate dan di beri pengaduk stirer agar TCBSA tidak menggumpal. Ambil tabung erlenmeyer dari atas hot plate jika sudah berbuih.
- Media TCBSA dituangkan ke dalam masing-masing petri dengan perlakuan aseptis di atas bunsen, tunggu hingga agar memadat setelah itu balik media agar, supaya uap air tidak menetes atau jatuh pada media agar yang akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri menjadi swab.
- 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.

#### **3.4.1.5 Pembuatan Biakan Bakteri *Vibrio harveyi* untuk Penginfeksi**

- Biakan bakteri murni *V. harveyi* disiapkan dan diperbanyak dengan cara meremajakan kembali pada tabung-tabung reaksi yang berisi NA.
- NB dibuat dan diletakkan dalam tabung reaksi sesuai dengan keperluan.
- Biakan bakteri dimasukkan ke dalam tabung kurang lebih untuk 4 ml NB diambil biakan bakteri sebanyak 5 ose. Alat-alat yang digunakan dalam penanaman bakteri dapat dilihat pada Lampiran 6.
- Biakan bakteri dimasukkan ke dalam inkubator selama 18 – 24 jam dan diatur pada suhu 37° C.

- Larutan standard Mc Farland I, II dan III dibuat untuk mengetahui kepadatan bakteri yang dihasilkan nantinya, dimana larutan tersebut adalah campuran dari  $H_2SO_4$  1 % dengan  $BaCl_2$  1 %.
- Kepadatan larutan standard Mc Farland I, II, dan III tersebut nantinya akan menghasilkan kepadatan bakteri  $3 \times 10^8$ ;  $6 \times 10^8$  dan  $9 \times 10^8$  sel/ml.
- Bakteri yang digunakan untuk menginfeksi ikan nantinya menggunakan kepadatan  $0,5 \times 10^5$  sel/ml. Sehingga untuk mendapatkan bakteri tersebut harus dilakukan perhitungan pengenceran dengan menggunakan rumus:  $N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$ . Perhitungan dosis bakteri yang digunakan untuk penginfeksian dapat dilihat pada Lampiran 7.

### 3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.2.1 Pemberian Immunostimulan

##### a. Pemberian Immunostimulan hari ke-Nol

- Bak sebanyak 8 buah diisi dengan air laut sebanyak 10 liter.
- Kondisi suhu dan salinitas disamakan dengan suhu dan salinitas pada bak percobaan.
- Alkaloid ubur – ubur, *Bougainvillia sp.* sebagai immunostimulan dimasukkan ke dalam bak dengan volume berdasarkan pada dosis, yakni : perlakuan A= 51,2 ml; B= 67,2 ml; C= 83,2 ml dan D= 99,2 ml (Cara perhitungan lihat Lampiran 8).
- Aerasi dihidupkan dan dibiarkan selama 10 menit dan selanjutnya benih dengan kepadatan 10 ekor/bak dimasukkan kedalam bak perendaman.
- Alkaloid dimasukkan dan dicampur secara merata dengan air.
- Setelah 1 jam, benih diangkat dan dipindahkan kembali ke bak – bak percobaan.

- Benih diamati perkembangannya setiap hari selama 7 hari serta pengukuran kualitas air dan pergantian air.

#### b. **Booster Immunostimulan**

- Proses ini dilakukan pada hari ke-8
- Dosis alkaloid ubur- ubur diaplikasikan pada perlakuan "booster" sama dengan perlakuan immunostimulan hari ke-nol dan bak diisi air dengan volume 10 liter, yakni : A= 51,2 ml; B= 67,2 ml; C= 83,2 ml; dan D= 99,2 ml.
- Alkaloid dimasukkan dan dicampur secara merata dengan air.
- Perlakuan selanjutnya sama dengan immunostimulan hari ke-nol (kepadatan benih 10 ekor/bak).

#### 3.4.2.2 Proses Penginfeksi Bakteri *V.harveyi*

Proses penginfeksi dilakukan dengan cara menginfeksi bakteri kedalam bak-bak percobaan yang telah diisi ikan yang dilakukan pada hari ke 8 setelah *booster* immunostimulan. Prosesnya dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- Ikan kerapu macan dimasukkan kedalam aquarium masing – masing percobaan sebanyak 10 ekor/bak.
- Bakteri yang sudah siap pada media NB dalam tabung erlenmeyer diambil dengan menggunakan pipet tetes dan dapat langsung diinfeksi dengan kepadatan konsentrasi bakteri yang diinfeksi sebanyak  $0,5 \times 10^5$  sel/ml dengan volume 0,5 ml/bak.
- Mekanisme infeksi bakteri ini dilakukan secara in-vivo dan ikan dipelihara selama 7 hari.

### 3.4.2.3 Isolasi, Perhitungan dan Identifikasi Bakteri

#### a. Isolasi Bakteri

- Isolasi bakteri *V. 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

#### b. Penghitungan Bakteri

Menurut Taslihan (1996), penghitungan 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.

##### 1. Untuk sampel berupa air

- Dibuat seri pengenceran sbb:  $0$ ;  $10^{-1}$ ;  $10^{-2}$ ;  $10^{-3}$ ;  $10^{-4}$ ;  $10^{-5}$  dengan bahan pengencer berupa Trisalt; dengan cara diambil 1 ml dari larutan dengan tingkat 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 ke media, kemudian ratakan dengan menggunakan Hockey stick yang disterilkan dengan pembakaran.
- Kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan posisi plate terbalik.
- Hitunglah koloni yang tumbuh, jumlah bakteri yang dihitung antara koloni 20-200. Apabila koloni sangat melimpah diberi catatan TNTC

(Too Numerous To Count), apabila terkontaminasi maka ditulis Cont. Misalkan terdapat 80 koloni yang diamati pada daerah pengenceran  $10^{-4}$  maka jumlah bakteri larutan asal (0,1 ml) yaitu  $80 \times 10^5$  sel/0,1 ml atau  $80 \times 10^5$  cfu (*colony forming unit*)/ml

## 2. Untuk 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 sampel yang berupa air.
- Prosedur selanjutnya sama dengan seperti pada penghitungan bakteri pada media air.

### c. Identifikasi Bakteri.

Identifikasi bakteri dilakukan 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 (1996), cara-cara tersebut dapat dilakukan dengan pengecatan gram dan pengecatan flagel.

#### 1. Pengamatan Morfologi Bakteri.

- Medium TCBSA di petridish diinokulasi secara aseptik dengan biakan bakteri secara goresan dengan menggunakan jarum ose.
- Inkubasi pada suhu kamar selama 24 jam.
- Kemudian diamati bentuk koloni, bentuk elevasi, tepi dan struktur dalam.

## 2. Pengecatan Bakteri.

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

### 3.5 Parameter Uji

#### 3.5.2 Parameter Utama

Parameter utama penelitian ini adalah menghitung jumlah total bakteri *V. harveyi* pada insang dan limpa pada benih kerapu macan yang dipelihara pada unit – unit percobaan. Perhitungan dilakukan setelah diuji tantang dengan bakteri *V. harveyi*.

#### 3.5.3 Parameter Penunjang

Parameter penunjang adalah kualitas air pemeliharaan benih kerapu macan selama penelitian yang meliputi suhu, oksigen terlarut, dan pH.





## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan bakteri dilakukan setelah bakteri *Vibrio harveyi* diinokulasi pada media hidup ikan kerapu macan dan diinokulasi pada media agar untuk dihitung kepadatan dari koloni bakteri *V. harveyi*.

Berdasarkan hasil pewarnaan, sel bakteri *V. harveyi* yang dilihat pada mikroskop dengan perbesaran 1000x mempunyai bentuk batang lurus atau bengkok, bewarna pucat atau merah muda. Gambar sel bakteri *Vibrio* dapat dilihat pada Lampiran 9. Menurut Pelczar dan Chan (1986), ketika pemberian kristal violet atau ungu kristal (UK) sel bakteri gram negatif akan menyerap warna ungu. Setelah pemberian Yodium (Y), terbentuk kompleks UK-Y dan sel tetap berwarna ungu, dengan adanya alkohol menyebabkan terekstraksinya lipid sehingga memperbesar daya rembes atau permeabilitas dinding sel, dan kompleks ungu kristal – yodium (UK-Y) hilang dari sel dan pemberian safranin membuat sel menyerap warna merah dari safranin.

Genus *vibrio* termasuk bakteri gram – negatif yang berbentuk lurus atau batang yang bengkok dengan ukuran 0,5-0,8  $\mu\text{m}$  x 1.4-2,6  $\mu\text{m}$ . bakteri ini tidak membentuk spora dan bergerak dengan monotrichous atau multitrichous yang dibungkus oleh flagel polar (Inglis *et al.*, 1993).

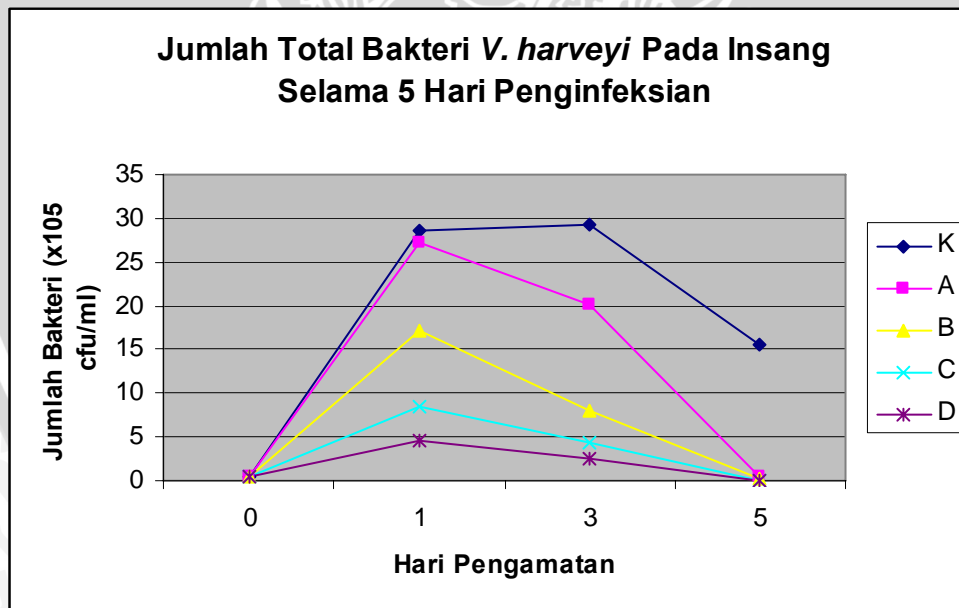
### 4.2 Jumlah Total Bakteri *V. harveyi* yang Terdapat Pada Insang Ikan Kerapu Macan Selama 5 x 24 Jam Masa Infeksi

Jumlah total bakteri *V. harveyi* pada insang ikan kerapu macan selama 5 hari masa infeksi setelah dilakukan perendaman dengan bahan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Jumlah Total Bakteri *V. harveyi* Pada Insang Ikan Kerapu Macan Selama 5 Hari Masa Infeksi. (Jumlah Total Bakteri Dalam 10<sup>5</sup> cfu/ ml)**

Hari	Dosis Alkaloid (ppm)				
	0	6,4	8,4	10,4	12,4
0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
1	28,5	27,3	17,25	8,45	4,5
3	29,3	20,1	7,95	4,25	2,5
5	10,5	0,35	0,195	0,08	0,035

Berdasarkan hasil pada tabel diatas diketahui bahwa, jumlah total bakteri *V. harveyi* pada insang ikan kerapu macan mengalami penurunan dari hari pertama sampai hari kelima masa infeksi, tetapi pada kontrol tanpa pemberian alkaloid jumlah bakteri justru mengalami peningkatan. Untuk mengetahui pengaruh pemberian alkaloid ubur- ubur *Bougainvillia* sp. terhadap jumlah total bakteri *V. harveyi* pada insang ikan kerapu macan dapat dilihat jelas pada Gambar 6.

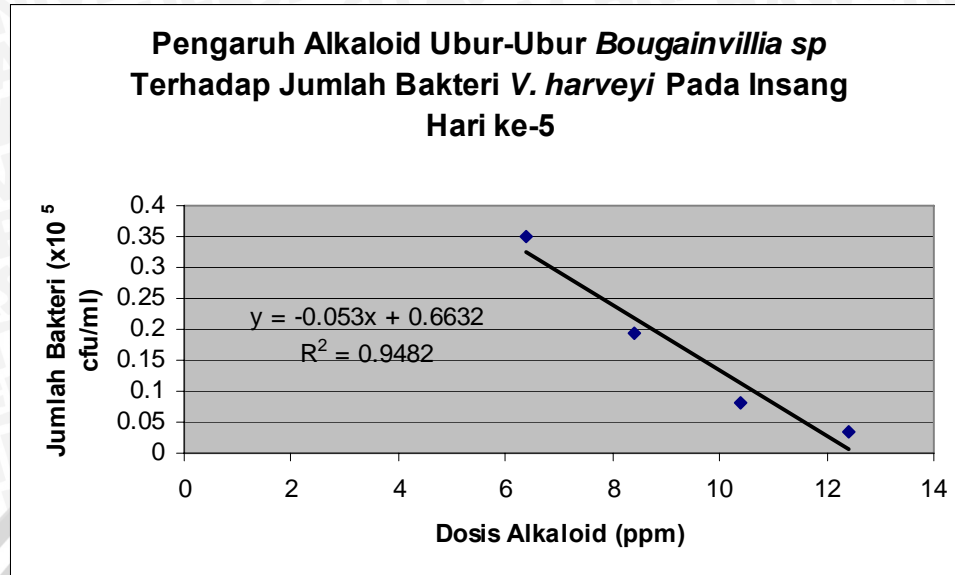


**Gambar 6. Grafik Pertumbuhan Bakteri *V. harveyi* Pada Insang Ikan Kerapu Macan Selama 5 Hari Masa Infeksi**

Berdasarkan grafik diatas, dapat dilihat bahwa jumlah total bakteri *V. Harveyi* terus mengalami penurunan setelah 1x 24 jam sampai 5x24 jam masa penginfeksi. Dimana semakin meningkatnya dosis pemberian alkaloid, jumlah total bakteri semakin rendah.

Selanjutnya dilakukan analisa sidik ragam untuk mengetahui pengaruh pemberian alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia sp.* dengan dosis yang berbeda terhadap jumlah total bakteri pada insang setelah 1x24 jam masa penginfeksi. Data hasil sidik ragam jumlah bakteri *V. harveyi* pada insang untuk hari ke 1, 3, dan 5 disajikan pada Lampiran 10. Berdasarkan analisa sidik ragam, didapatkan hasil yang berbeda sangat nyata (*Highly Significant*). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan pemberian alkaloid ubur-ubur, *Bougainvillia sp.* memberikan pengaruh terhadap jumlah total bakteri *V. harveyi* pada insang ikan kerapu macan.

Hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dan regresi polinomial orthogonal untuk data jumlah bakteri *V. harveyi* pada insang hari ke 1, 3, dan 5 dapat dilihat pada Lampiran 10. Dari hasil regresi menunjukkan bahwa perlakuan D lebih baik dari C, B, dan A seperti dapat dilihat untuk 5 x 24 jam digambarkan secara linier dengan persamaan  $Y = 0,6632 \cdot 10^5 - 0,053 \cdot 10^5 x$  dimana koefisien korelasi (r) sebesar 0,9738 dengan jumlah bakteri sebesar  $0,035 \cdot 10^5$  cfu/ ml. Grafik regresi pengaruh alkaloid ubur – ubur, *Bougainvillia sp* terhadap jumlah total bakteri pada insang hari ke-5 disajikan pada Gambar 7.



**Gambar 7. Grafik Pengaruh Pemberian Alkaloid Ubur-Ubur, *Bougainvillia sp* Terhadap Jumlah Total bakteri *V. harveyi* pada Insang Ikan Kerapu macan, *Epinephelus fuscoguttatus* hari ke-5.**

Penurunan jumlah bakteri *V. harveyi* pada insang ikan kerapu macan disebabkan karena pada insang dilengkapi dengan glandula mukosa berupa sejumlah sel – sel tunggal berbentuk oval dan menghasilkan mukus dan terdapat baik pada lengkung insang, filament insang maupun lamellae sekunder, dimana mukus mempunyai fungsi perlindungan, menurunkan gesekan, antipatogen, membantu pertukaran ion, gas dan air (Kumar dan Tembhe, 1996 dalam Irianto, 2005). Mukus selain sebagai pelindung fisik juga pelindung kimiawi karena mengandung lisozim, komplemen, protein – protein komplemen dan protease mirip tripsin yang dapat merusak sel-sel bakteri gram negatif. Lisozim dapat menghancurkan dinding sel bakteri (peptidoglikan) (Rijkers, 1982 dalam Irianto, 2005).

Penurunan jumlah bakteri *V. harveyi* juga disebabkan karena pemberian bahan imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia sp.* melalui perendaman akan

meningkatkan kekebalan seluler yang bersifat nonspesifik pada tubuh ikan kerapu macan. Salah satu tanda meningkatnya daya tahan oleh pemberian imunostimulan adalah dengan adanya meningkatnya kemampuan fagositosis, karena adanya peningkatan jumlah dan kemampuan sel fagositosis (Kamiso, 2004). Alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia sp.* termasuk dalam senyawa imunomodulator yang dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik dan non spesifik. Yang terjadi yaitu induksi non spesifik baik mekanisme pertahanan seluler dan humoral. Induktor ini sedikit bekerja sebagai antigen, tetapi sebagian bekerja sebagai mitogen yaitu menaikkan proliferasi sel yang berperan pada imunitas. Sel tujuannya yaitu makrofag, granulosit, limfosit T dan B karena senyawa induktor ini terutama menstimulasi mekanisme pertahanan seluler (Widianto, 1987).

Berdasarkan data jumlah bakteri *V. harveyi* pada hari ke-1 dan hari ke-5 ujiantang, dapat dihitung seberapa besar efektifitas alkaloid ubur – ubur *Bougainvillia sp.* dengan dosis yang berbeda terhadap jumlah total bakteri *V. harveyi* seperti dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Efektifitas Alkaloid Ubur-Ubur *Bougainvillia sp.* Terhadap Jumlah Total Bakteri *V. harveyi* Pada Insang Ikan Kerapu Macan.**

Dosis	Σ Bakteri Awal (CFU/ ml)	Σ Bakteri Akhir (CFU/ ml)	Efektifitas (%)
<b>A = 6,4 ppm</b>	0,5. 10 <sup>5</sup>	0,350. 10 <sup>5</sup>	30
<b>B = 8,4 ppm</b>	0,5. 10 <sup>5</sup>	0,195. 10 <sup>5</sup>	61
<b>C = 10,4 ppm</b>	0,5. 10 <sup>5</sup>	0,08. 10 <sup>5</sup>	84
<b>D = 12,4 ppm</b>	0,5. 10 <sup>5</sup>	0,035. 10 <sup>5</sup>	93

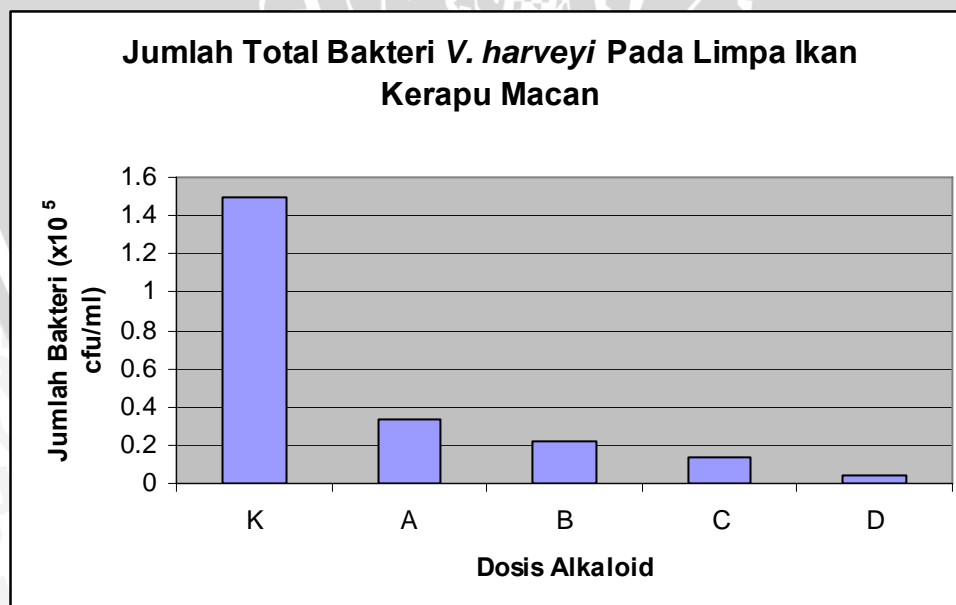
Berdasarkan tabel diatas, efektifitas alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia sp.* tertinggi didapatkan pada dosis maksimum 12,4 ppm dengan efektifitas sebesar 93%, dimana penurunan jumlah bakteri sangat besar sampai hari kelima masa infeksi.

Sedangkan pada dosis perlakuan B= 8,4 ppm dan C= 10,4 ppm, nilai efektifitasnya hanya sebesar 61 % dan 84 %. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa dosis pemberian alkaloid sebesar 12,4 ppm paling efektif menurunkan jumlah total bakteri *V. harveyi* pada ikan kerapu macan. Menurut Sakai (1988), faktor utama yang menentukan tingkat kerja atau pengaruh suatu senyawa adalah tergantung pada dosis dan kepekatan senyawa itu sendiri. Semakin tingginya dosis alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia sp.*, penurunan jumlah bakteri *V. harveyi* pada insang semakin tinggi.

#### 4.3. Jumlah Total Bakteri *V. harveyi* yang Terdapat Pada Limpa Ikan Kerapu Macan Setelah 5 x 24 Jam Masa Infeksi

**Tabel 3. Jumlah Total Bakteri *V. harveyi* pada Limpa ikan Kerapu Macan Selama 5x24 jam Masa infeksi (Jumlah Total Bakteri dalam  $10^5$  cfu/ml)**

Hari	Dosis Alkaloid (ppm)				
	0	6,4	8,4	10,4	12,4
0	0,469	0,469	0,469	0,469	0,469
5	1,5	0,335	0,22	0,135	0,04



**Gambar 8. Grafik Pengaruh Pemberian Alkaloid Ubur-Ubur, *Bougainvillia sp.* Dengan Dosis yang Berbeda Terhadap Jumlah Total Bakteri *V. harveyi* Pada Limpa Ikan Kerapu Macan Selama 5x24 jam**

Dari tabel dan gambar 8 diatas dapat dilihat, bahwa semakin tinggi dosis pemberian alkaloid, terjadi penurunan jumlah total bakteri *V. harveyi* dimana dengan dosis maksimum pada perlakuan D (12,4 ppm) paling baik dalam menekan jumlah bakteri *V. harveyi* dalam limpa ikan kerapu macan. Selanjutnya dilakukan analisa sidik ragam untuk mengetahui pengaruh pemberian alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia sp.* dengan dosis yang berbeda terhadap jumlah total bakteri pada limpa ikan kerapu macan setelah 5x24 jam. Data hasil analisa sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 8.

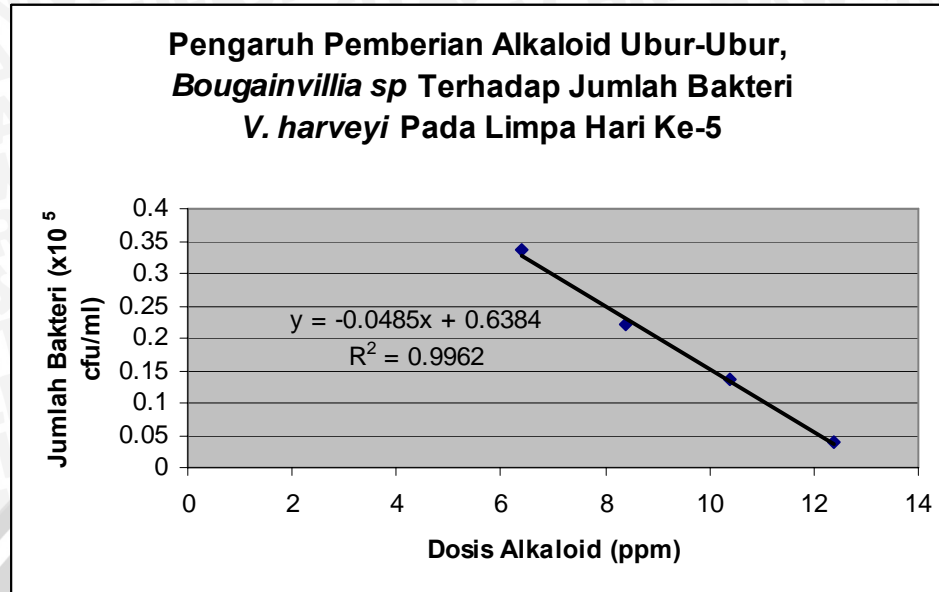
**Tabel 4. Analisa Sidik Ragam Pertumbuhan Bakteri *V. harveyi* Pada Limpa Ikan Kerapu Macan Setelah 5 x 24 jam**

Sumber	db	JK	KT	Fhit	5%	1%
Perlakuan	3	2,02405	0,6747	250,8178**	6,59	16,69
Acak	4	0,01075	0,0027			
Total	7	2,0				

Keterangan : \*\* = Berbeda sangat nyata

Berdasarkan analisa sidik ragam diatas, didapatkan hasil yang berbeda sangat nyata. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan pemberian alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia sp* memberikan pengaruh terhadap jumlah total bakteri pada limpa ikan kerapu macan. Sedangkan untuk hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Lampiran 10.

Berdasarkan hasil regresi polynomial orthogonal (Lampiran 10), didapatkan hubungan dosis imunostimulan dengan jumlah total bakteri *V. harveyi* yang terdapat pada limpa ikan kerapu macan selama 5 x 24 jam dengan dosis maksimum 12,4 ppm diperoleh persamaan  $Y = 0,6384 \cdot 10^5 - 0,0485 \cdot 10^5 x$  dimana koefisien korelasi (r) sebesar 0,9959 dengan jumlah bakteri sebesar  $0,04 \cdot 10^5$  cfu/ ml (Gambar 9).



**Gambar 9. Grafik Pengaruh Pemberian Alkaloid Ubur-Ubur, *Bougainvillia sp* terhadap Jumlah Total Bakteri *V. harveyi* pada Limpa Ikan Kerapu Macan, *Epinephelus fuscoguttatus* hari ke-5.**

Dari semua data yang diperoleh dapat dikatakan bahwa semakin tinggi dosis bahan imunostimulan dari ubur-ubur *Bougainvillia sp*. yang diberikan melalui perendaman, akan meningkatkan daya tahan tubuh ikan kerapu macan. Hal tersebut terbukti dengan meningkatnya dosis imunostimulan maka jumlah penyerangan bakteri terhadap tubuh ikan baik pada insang maupun limpa ikan semakin kecil. Salah satu tanda meningkatnya daya tahan oleh pemberian imunostimulan adalah dengan adanya meningkatnya kemampuan fagositosis. Untuk mengetahui seberapa efektif pengaruh imunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia sp*. terhadap jumlah bakteri *V. harveyi* yang menginfeksi limpa ikan kerapu macan dapat dilihat pada Tabel 5. Perhitungan efektivitas alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia sp*. dapat dilihat pada Lampiran 11.



**Tabel 5. Efektifitas Alkaloid Ubur-Ubur *Bougainvillia sp.* Terhadap Jumlah Total Bakteri *V. harveyi* Pada Limpa Ikan Kerapu Macan.**

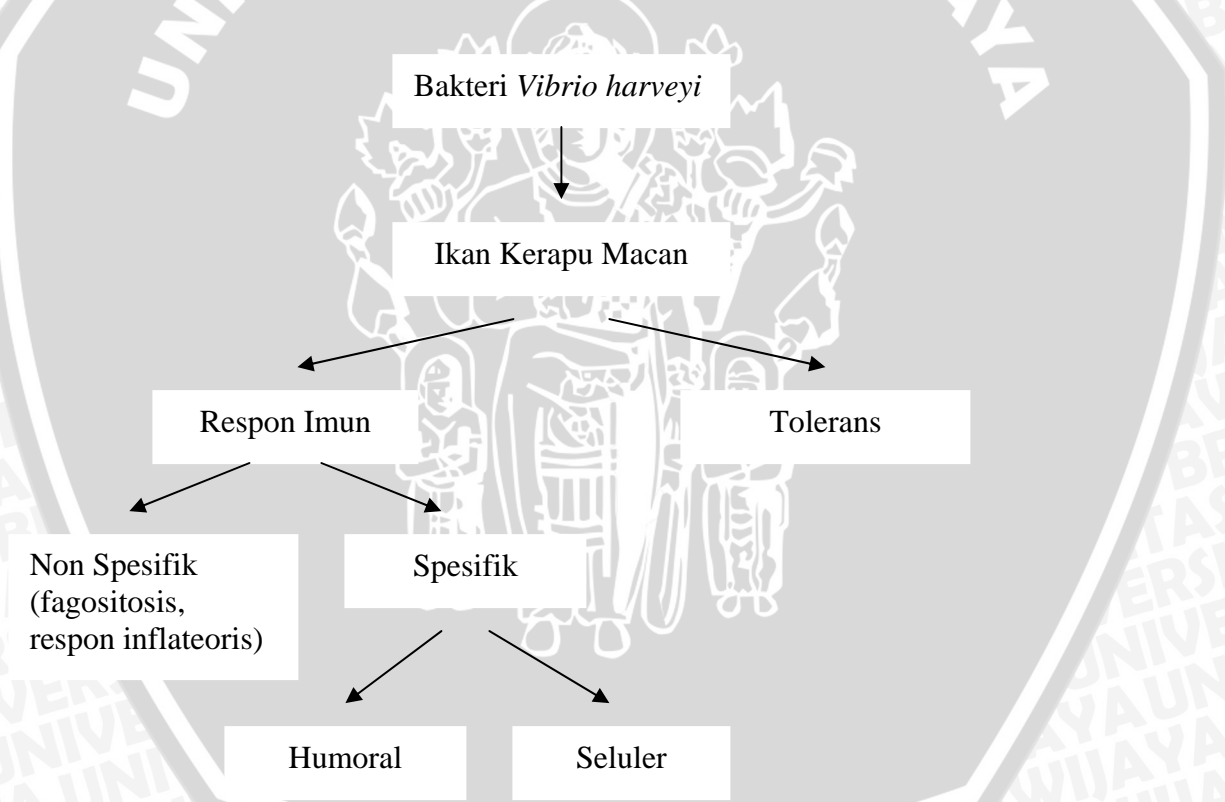
Dosis	Σ Bakteri Awal (CFU/ ml)	Σ Bakteri Akhir (CFU/ ml)	Efektifitas (%)
<b>A = 6,4 ppm</b>	0,469. 10 <sup>5</sup>	0,335. 10 <sup>5</sup>	28,57
<b>B = 8,4 ppm</b>	0,469. 10 <sup>5</sup>	0,22. 10 <sup>5</sup>	53,09
<b>C = 10,4 ppm</b>	0,469. 10 <sup>5</sup>	0,135. 10 <sup>5</sup>	71,22
<b>D = 12,4 ppm</b>	0,469. 10 <sup>5</sup>	0,04. 10 <sup>5</sup>	91,47

Berdasarkan tabel diatas, efektifitas alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia sp.* dalam menurunkan jumlah total bakteri *V. harveyi* pada limpa ikan kerapu macan tertinggi didapatkan pada dosis 12,4 ppm dengan efektifitas sebesar 91,47%. Semakin tingginya dosis alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia sp.*, penurunan jumlah bakteri *V. harveyi* pada limpa semakin tinggi. Selain itu dari tabel diatas dapat dilihat bahwa jumlah bakteri pada limpa lebih kecil jika dibandingkan pada insang. Hal ini disebabkan karena insang merupakan organ yang langsung berhubungan dengan media tempat bakteri diinfeksi, sedangkan limpa merupakan organ dalam sehingga ketika bakteri masuk tubuh ikan maka akan dihadapi oleh sel-sel imun dalam tubuh.

Penurunan jumlah bakteri pada limpa juga disebabkan karena dengan pemberian alkaloid dapat memacu respon imun yang terdapat pada limpa itu sendiri. Pada ikan teleostei limpa telah berkembang sempurna sehingga limfosit T siap untuk bekerja jika ada antigen yang masuk. Limpa dibedakan dalam jaringan merah dan putih sebagai situs interaksi dan respon antigen yang masuk (Irianto, 2005). Jika bakteri dapat mengatasi garis pertahanan pertama (kulit, selaput dan lendir), respon kekebalan pertama dirangsang yaitu fagositosis dimana sesudah menginvasi jaringan yang lebih dalam, bakteri dapat dimakan oleh makrofag jaringan. Tetapi jika bakteri tidak dapat dibunuh pada tempat masuk, bakteri tersebut dapat melanjutkan ke dalam inang melalui saluran

limfa ke limfonodi regional. dalam limfonodi, bakteri bertemu dengan elemen-elemen sistem fagositik (makrofag) yang merupakan prasyarat untuk respon imun awal spesifik (Bellanti, 1993). Selain itu jika antigen memasuki limpa maka terjadi penjeratan limfosit yang biasanya melewati secara bebas organ ini, dimana penjeratan ini bermanfaat untuk mengumpulkan sel peka antigen di tempat yang dekat dengan tempat antigen terkumpul sehingga menambah efisiensi tanggap kebal dan pada akhirnya dihasilkan antibodi dan sel memori (Tizard, 1982).

Mekanisme pertahanan ikan terhadap hadirnya benda asing termasuk bakteri *Vibrio harveyi* dapat dilihat pada Gambar 10.



**Gambar 10. Diagram Proses Pertahanan Ikan Terhadap Hadirnya Bakteri (Bellanti,1993).**

#### 4.4 Gejala Klinis Ikan Kerapu Macan Yang Terinfeksi *Vibrio harveyi*

Berdasarkan pengamatan terhadap benih ikan kerapu macan setelah ujiantang, maka diperoleh data tentang gejala - gejala klinis ikan yang terserang bakteri *Vibrio harveyi* seperti dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6. Hasil Pengamatan Terhadap Benih Kerapu Macan yang Terinfeksi Oleh Bakteri *V. harveyi***

Waktu Penginfeksian	Tanda-Tanda (Gejala) Klinis
Hari ke-1	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Berenang abnormal, berada didasar bak</li> <li>• Nafsu makan berkurang</li> <li>• Insang dan kulit serta organ dalam masih normal</li> </ul>
Hari ke-2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ikan berenang tidak normal di permukaan atau didasar bak</li> <li>• Warna tubuh tampak pucat dan berlendir banyak</li> <li>• Nafsu makan berkurang</li> </ul>
Hari ke-3	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ikan tidak mau makan</li> <li>• Ikan berenang abnormal di permukaan air</li> <li>• Sirip ekor dan operkulum berwarna kemerah-merahan (Lihat Lampiran 12)</li> <li>• Beberapa ikan organ dalamnya dan insang tampak pucat</li> </ul>
Hari ke-4	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ikan selalu berenang ke permukaan air</li> <li>• Ikan tidak mau makan</li> <li>• Tubuh berlendir banyak dan berwarna hitam pucat</li> <li>• Sirip ekor rusak dan berwarna kemerahan</li> </ul>
Hari ke-5	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ikan tidak mau makan, berenang ke permukaan air</li> <li>• Tubuh berlendir banyak dan amis</li> <li>• Organ dalam mengalami pembengkakan dan beberapa tampak hancur (Lihat Lampiran 12)</li> <li>• Insang pucat, operkulum berwarna kemerahan serta terjadi hemoragik</li> <li>• Sirip ekor berwarna kemerahan dan beberapa tampak rusak</li> </ul>

Infeksi mikroorganisme melibatkan beberapa tahap, yaitu diawali dengan perlekatan atau adesi (*attachment*) pada permukaan inang yang dapat diikuti dengan pemasukan kedalam sel host, diikuti dengan tahap invasi dan penyebaran lokal atau

sistemik dalam tubuh inang, multiplikasi, biasanya terjadi kerusakan inang. Tahap terakhir adalah pengeluaran dari tubuh inang (Riani, 2004 dalam Yanuhar *et al.*, 2004).

Infeksi bakteri *Vibrio* pada ikan secara umum dikenal sebagai *haemorrhagic septicemia* dengan luka yang meluas pada kulit, nekrosis pada *liver*, *spleen*, ginjal dan jaringan yang lain. Beberapa faktor yang termasuk dalam patogenitas vibriosis pada ikan adalah produksi haemolysis, protease, kapsul dan protein pengikat besi. (Wang *et al.*, 2000 dalam Yanuhar *et al.*, 2004).

#### 4.5 Analisa Kualitas Air

Sebagai data penunjang dalam penelitian ini maka dilakukan pengamatan dan pengukuran kualitas air yang merupakan parameter penunjang. Hasil pengamatan terhadap kualitas air media selama penelitian masih memberikan nilai pada kisaran yang diinginkan oleh benih kerapu macan untuk membentuk pola pertahanan terhadap serangan penyakit, khususnya infeksi oleh bakteri pathogen seperti *V. harveyi*. Dalam hubungannya dengan kelulushidupan dan daya kebal benih kerapu macan yang terinfeksi bakteri, kualitas air media memegang peranan yang sangat penting, karena timbulnya penyakit atau infeksi oleh bakteri salah satunya disebabkan karena kondisi lingkungan perairan yang tidak seimbang dan tidak menyediakan aspek higienis bagi ikan yang dibudidayakan. Parameter kualitas air yang diukur yaitu suhu, pH dan kadar oksigen terlarut.

##### 4.5.1 Suhu

Pada pengukuran suhu didapatkan kisaran antara 27,2 – 29° C. Nilai ini masih masuk ke dalam kisaran suhu optimal untuk pertumbuhan ikan laut. Sebagaimana menurut Kordi (2001), suhu yang baik bagi kehidupan ikan Kerapu berkisar antara 20° C – 35° C. namun suhu yang ideal adalah 27° C – 32° C dengan perubahan yang tidak

ekstrem. Perubahan suhu yang cukup ekstrim akan berpengaruh terhadap proses metabolisme atau nafsu makan.

Suhu tinggi dapat menyebabkan gangguan status kesehatan untuk jangka panjang, misalnya stress yang ditandai dengan tubuh lemah, kurus, dan tingkah laku abnormal. Selain itu pada saat suhu meningkat, sel – sel bakteri segera memperbanyak diri dengan cepat, pada saat tersebut kecepatan respon imun menghadapi infeksi kalah cepat, sehingga dapat menyebabkan kematian sebelum respon imun dapat mengatasi infeksi. Sedangkan pada suhu rendah, akibat yang ditimbulkan antara lain ikan menjadi lebih rentan terhadap infeksi fungi dan bakteri patogen akibat melemahnya sistem imun (Irianto, 2005).

#### **4.5.2 Derajat Keasaman (pH)**

Nilai derajat keasaman (pH) berkisar antara 6,9 – 8,14. Budidaya ikan kerapu paling baik dilakukan diperairan dengan pH 7,6-8,9 yang merupakan kisaran umum pH air laut (Kordi, 2001). Menurut Volk and Wheeler (1993), bahwa konsentrasi ion hidrogen larutan sangat mempengaruhi aktivitas suatu enzim. Hal ini karena asam amino yang merupakan pusat aktif enzim harus berada dalam keadaan ionisasi yang tepat agar menjadi aktif. Dan enzim hanya dapat bekerja secara baik dengan aktivitas yang maksimum bila kondisi pH optimal antara 6 – 8.

Kenaikan pH melebihi batas yang dapat ditoleransi akan menyebabkan penyakit atau stress. Sedangkan pada kondisi pH rendah yang bersifat kronik, dapat terjadi gangguan kesehatan berupa terhambatnya pertumbuhan dan pada kondisi pH rendah akut, ikan menjadi hiperaktif, nervous dan produksi mukus insang yang berlebihan dan pada akhirnya menyebabkan gangguan pernafasan (Irianto,2005).

### 4.5.3 Oksigen Terlarut

Oksigen terlarut (DO) pada media pemeliharaan ini berkisar antara 7,5 – 16,8 mg/liter. Untuk pemeliharaan ikan Kerapu, jumlah oksigen terlarut optimal tidak boleh kurang dari 4 ppm (Kordi, 2001).

Kekurangan oksigen dapat berakibat mortalitas ikan. Pada dasarnya konsentrasi oksigen terlarut 5 mg/liter merupakan kandungan oksigen yang dianjurkan untuk kesehatan ikan yang optimum. Sensitivitas terhadap kadar oksigen terlarut yang rendah sangat spesifik untuk tiap jenis ikan. Pada umumnya jika kandungan oksigen terlarut turun menjadi 3-4 mg/liter, ikan akan mengalami stress (Irianto, 2005)



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian didapat kesimpulan sebagai berikut:

1. Bahan imunostimulan alkaloid Ubur-ubur, *Bougainvillia sp.* yang diberikan melalui perendaman ternyata dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh pada ikan baik spesifik maupun non spesifik serta dapat menekan jumlah total bakteri *Vibrio harveyi* pada insang dan limpa ikan kerapu macan.
2. Efektifitas pemberian alkaloid ubur-ubur, *Bougainvillia sp.* dengan dosis 12,4 ppm ternyata dapat menekan jumlah total bakteri *V. harveyi* yang menginfeksi ikan kerapu macan pada insang sebesar 93 % dengan jumlah bakteri sampai  $0,035 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}$ , sedangkan pada limpa dengan dosis yang sama mampu menekan jumlah bakteri *V. harveyi* sebesar 91,47 % dengan jumlah bakteri sampai  $0,04 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}$ .
3. Nilai kisaran kualitas air pada media pemeliharaan ikan kerapu macan adalah: suhu  $27,2 - 29^\circ \text{ C}$ , pH  $6,9 - 8,14$ , dan DO  $7,5 - 16,8 \text{ mg/liter}$ .

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian disarankan:

1. Penggunaan dosis imunostimulan alkaloid ubur – ubur *Bougainvillia sp.* melalui perendaman adalah berkisar 12,4 ppm.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metode pemberian bahan imunostimulan pada ikan melalui injeksi atau menggunakan spesies ikan lain dan pengaplikasian dengan jenis bakteri lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afriandini, K., 2004. **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.)**. Skripsi. Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Brawijaya. Malang. Tidak diterbitkan.
- Al Qodri, 1999. **Pemilihan Lokasi dalam Pembenihan Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*)**. Departemen Pertanian. Direktorat Jenderal Perikanan. Balai Budidaya Laut – Lampung. Lampung.
- Andayani, S dan Sukoso. 2006. **Pengaruh Pemberian Senyawa Aktif Alkaloid Ubur-Ubur (*Bougainvillia* sp) terhadap Perubahan Hematologi Darah Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) Setelah Diinfeksi *Vibrio Harveyi***. Prosiding Seminar nasional Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. hal. 88.
- Anderson, D. P. 1974. **Fish Immunology**. In : **Diseases of Fishes. Research Immunologist**. T. F. H. Publications, Inc. Ltd. The British Crown Colony of Hongkong. 218 pp.
- Angka, S. L dan M. T. Suhartono. 2000. **Bioteknologi Hasil Laut**. Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan. IPB. Bogor. 149 hal.
- Anonymous. 2004. **Pembenihan Ikan Kerapu**. Departemen Kelautan dan Perikanan Direktorat Jendral Perikanan Budidaya Balai Budidaya Laut Lampung. Lampung. 120 hal.
- 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 Bacterology**. Williams and Wilkins Baltimore. USA. 258 pp.
- Bellanti, J.A. 1993. **Imunologi III**. Alih Bahasa A. Samik Wahab dkk. Penerbit Gajahmada University Press. Yogyakarta. 647 hal.
- Dalimunthe, S. 2006. **Manajemen Penyakit Ikan (Diktat Kuliah)**. Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang
- Dwidjoseputro, D. 2003. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. Penerbit Djambatan. Jakarta. 207 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, No. 1. Vol.15: 28-32.
- Fessenden, R.J dan J.S. Fessenden. 1997. **Kimia Organik**. Jilid I. Edisi ketiga. Alih bahasa : A.H. Pudjaatmaka. Erlangga. Jakarta. 551 hal.



- Fujaya, Y. 2004. **Fisiologi Ikan. Dasar Pengembangan Teknik Perikanan.** Penerbit Rineka Cipta. Jakarta. 179 hal.
- Galindo-Villegas, J dan H. Hosokawa. 2004. **Immunostimulants : Towards Temporary Prevention of Diseases in Marine Fish.** Kochi University, Faculty of Agriculture. Kochi. Japan. 287-288 hal.
- Gasperz, V. 1991. **Metode Perencanaan Percobaan.** CV Armico. Bandung. 472 hal.
- Guralnik, D.B. 1972. **Webster New World Dictionary.** Second Edition. The World Publishing Company. New York.
- Handayani, F. T, Kamiso, Nitimulyo, Alim Isnansetyo, Triyanto, dan M. Murdjani. 2004. **Patogenitas *Vibrio parahaemolyticus* pada Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*).** Prosiding Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV. Purwokerto. Hal. 151-154.
- 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. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. Tidak diterbitkan.
- Holt, J.G. 1979. **The Sorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.** The William and Wilkins Company Baltimore. USA. 350 pp.
- Inglis, V, R. J. Robert and N. R. Bromage. 1993. **Bacterial Diseases of Fish.** Blackwell Science. Oxford. 312 pp.
- Irianto, A. 2005. **Patologi Ikan Teleostei.** Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 256 hal.
- Istiqomah, I., Triyanto, A. Isnansetyo, Kamiso, H. N., dan M. Murdjani. 2004. **Patogenesitas *Vibrio fluvialis* Yang Diisolasi dari Kerapu Tikus, *Cromileptes altivelis*.** Prosiding Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV. Purwokerto. hal. 155-160.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg. 1996. **Medical Microbiology.** 20<sup>th</sup> Edition. Alih Bahasa : dr. Edi Nugroho, dr. R. F. Maulany; Editor : dr. Irawati Setiawan. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 752 hal.
- Kamiso. 2004. **Status Penyakit Ikan Dan Pengendaliannya Di Indonesia.** Prosiding Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV. Purwokerto. hal. 13-21.
- Koesharyani, I. dan Zafran. 1997. **Studi Tentang Penyakit Bakterial Pada Ikan Kerapu.** Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. No. 3. Thn. IV.

- Kordi, K. M. G.H. 2001. **Usaha Pembesaran Ikan Kerapu di Tambak**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 115 hal.
- Kresno, S.B. 2001. **Imunologi. Diagnosis dan Prosedur Laboratorium**. Edisi Keempat. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 437 hal.
- Mac Arthur, J. I and T. C. Fletcher. 1985. **Phagocytosis in Fish**. In : Fish Immunology. Academic Press. London.
- Maftuch, U. Yanuhar, Satuman, Sukoso, dan Sumarno. 2004. **Karakterisasi pili *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio parahaemolyticus* sebagai Faktor Virulensi Bakteri Patogen**. Prosiding Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV. Purwokerto. hal. 128-135.
- Nabib, R dan H. F. Pasaribu. 1989. **Patologi dan Penyakit Ikan**. Departemen P dan K. Ditjen Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi. IPB. 158 hal.
- Nazir, M. 1988. **Metode Penelitian**. Ghalia Indonesia. Jakarta. 212 hal.
- Nuchsin, R dan A. Hatmanti. 2004. **Beberapa Jenis Bakteri Penghambat Bakteri Patogen *Vibrio harveyi* yang Diperoleh dari Tempat Budidaya Kerapu di Bojonegara, Banten**. Prosiding Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV. Purwokerto. hal. 47-51.
- Pelczar, M. I. dan E. C. S, Chan. 1986. **Dasar-dasar Mikrobiologi. Jilid I**. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 443 hal.
- Purbomartono, C. 2004. **Peningkatan Ketahanan Tubuh Udang Melalui Pemberian Immunostimulan Levamisole**. Prosiding Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV. Purwokerto. hal. 104-109.
- Radiopoetra. 1991. **Zoology**. Erlangga. Jakarta. 619 hal.
- Rantetondok, A, H. M. N. Nessa, L. Muslimin, A. Tahir dan M. Hatta. 2004. **Pengaruh Immunostimulan  $\beta$ -Glucan Dan Lipopolisakarida Terhadap Respon Imun : Aktivitas Letupan Respirasi (Deteksi Anion Superoksida) Intraseluler Pada Udang Windu (*Penaeus monodon Fabricus*)**. Prosiding Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV. Purwokerto. hal. 1-8.
- Robinson, T., 1995. **Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi**. Penerbit ITB. Bandung. 367 hal.
- Roitt, I. M. 2002. **Essential Immunology Edisi 8**. Widya Medika. Jakarta. 781 hal.
- Romimohtarto, K dan Sri Juwana. 2005. **Biologi Laut Ilmu Pengetahuan Tentang Biota Laut**. Djambatan. Jakarta. 236 hal.

- Roza, Des dan Fris Johnny. 2003. **Peningkatan Kekebalan Larva Ikan Kerapu Bebek, *Cromileptes altevis* Dengan Menggunakan Immunostimulan Terhadap Infeksi VNN.** Laporan Penelitian Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol – Bali. hal. 80-85.
- Sakai, M. 1998. **Current Research Status of Fish Immonostimulant.** Faculty of Agriculture, Miyazaki University. Miyazaki-Japan. 23 pp.
- Sanoesi, E, S. Andayani, dan M. Fadjar. 2002. **Introduksi Pemanfaatan Silase Ikan Rucah Sebagai Bahan Pakan terhadap Pertumbuhan dan Kelulushidupan Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*).** Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati.
- Sastrohamidjoyo, H. 1996. **Sintesis Bahan Alami.** Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 243 hal.
- Scheuer, P. J. 1978. **Produk Alami Lautan.** Academic Press Inc. New York. 387 pp.
- Storer, T. I and Robert. L. Usinger. 1957. **General Zoology.** Mc Graw-Hill Book Company. Germany. 664 pp.
- Subyakto, S dan S. Cahyaningsih. 2003. **Pembenihan Kerapu Skala Rumah Tangga.** Agromedia Pustaka. Jakarta. 62 hal.
- Sudjiharno dan Tjahjo Winanto, 1999. **Pemilihan Lokasi Pembenihan Ikan Kerapu Macan dan Pembenihan Kerapu Macan.** Departemen Pertanian. Direktorat Jenderal Perikanan. Balai Budidaya Lampung.
- Surachmad, W. 1989. **Pengantar Penelitian Ilmiah : Dasar, Metode dan Teknik.** Edisi Ketujuh. Bandung. 127 hal.
- Tampubolon, G. H, E. Mulyadi. 1989. **Synopsis Ikan Kerapu di Perairan Indonesia.** Balitbangkan. Semarang.
- Taslihan, Arief. 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. 1998. **An Introduction to Veterinary Immunology.** Terjemahan : Mazduki dan S. Hardjosworo. **Pengantar Immunology Veteriner.** Universitas Airlangga. Surabaya. 497 hal.
- Tseng, W. Y dan Ho, S. K. 1988. **The Biology and Culture of Red Grouper.** Chien Cheng Publisher. Koahsing, R. OC. Hongkong. p. 134.
- Volk dan Wheeler. 1993. **Mikrobiologi Dasar.** Edisi 5. Erlangga. Jakarta. 340 hal.
- Wiedosari, Ening. 2005. **Metode Ilmiah Dalam Perkembangan Imunologi.** Balai Penelitian Verteriner. Bogor. 4 hal.

Wijarni dan D. Arfiati . 1984. **Diktat Avertebrata Air**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 259 hal.

Yanuhar, U, Maftuch, Satuman, Sukoso, dan Sumarno. 2004. **Karakterisasi Molekul Adesi Protein Pili *Vibrio alginolyticus* Dan *Vibrio parahaemolyticus* Pada Sel Epitel Ikan Kerapu Tikus *Cromileptes altivelis***. Prosiding Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV. Purwokerto. Hal. 25-32.



LAMPIRAN

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



Lampiran 2. Gambar Bak Pemeliharaan Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)



Lampiran 3. Pakan Ikan Kerapu Macan



Lampiran 4. Gambar Bahan Aktif Alkaloid Ubur-Ubur, *Bougainvillia sp*





Lampiran 5. Gambar Biakan Murni Bakteri *Vibrio harveyi*



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



**Lampiran 7. Penghitungan Konsentrasi Bakteri Untuk Uji Tantang**

$$\text{Stok Bakteri } \textit{Vibrio harveyi} (N_1) = 9 \times 10^8$$

$$\text{Kepadatan yang diinginkan } (N_2) = 0,5 \times 10^5$$

$$\text{Volume air media } (V_2) = 10 \text{ Liter}$$

Penghitungan menggunakan Rumus :

$$N_1 * V_1 = N_2 * V_2$$

Maka volume bakteri yang diberikan pada media adalah :

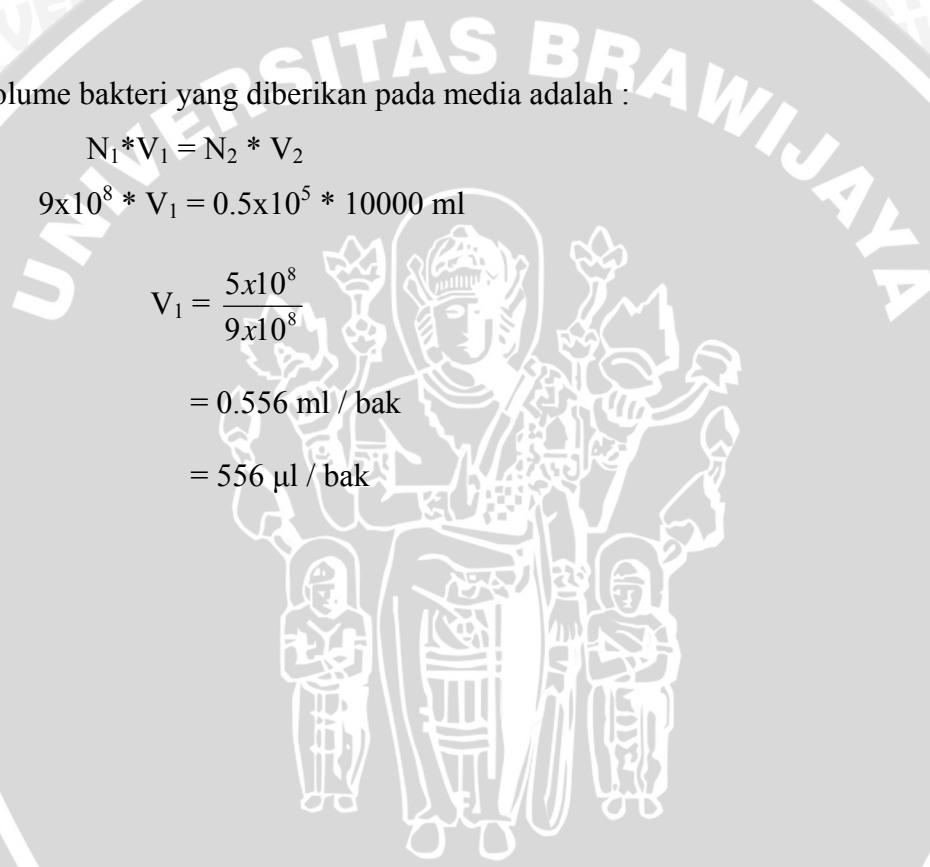
$$N_1 * V_1 = N_2 * V_2$$

$$9 \times 10^8 * V_1 = 0,5 \times 10^5 * 10000 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{5 \times 10^8}{9 \times 10^8}$$

$$= 0,556 \text{ ml / bak}$$

$$= 556 \mu\text{l / bak}$$



### Lampiran 8. Cara Perhitungan Konsentrasi Alkaloid Ubur-Ubur, *Bougainvillia sp* Untuk Perendaman

#### a. Perendaman Hari Ke- Nol

Stok Alkaloid = 1.250 ppm (mg/l)

Volume Air Media = 10 liter

Jumlah Benih = 10 ekor/bak

Pengenceran menggunakan Rumus :

$$N_1 * V_1 = N_2 * V_2$$

1. Dosis 6,4 ppm

$$6,4 \text{ ppm} * 10 \text{ L} = 1.250 \text{ ppm} * V_1$$

$$64 \text{ mg} = 1.250 \text{ ppm} * V_1$$

$$64 \text{ mg} / 1.250 \text{ ppm} = 0,0512 \text{ L}$$

$$= 51,2 \text{ ml}$$

2. Dosis 8,4 ppm

$$8,4 \text{ ppm} * 10 \text{ L} = 1.250 \text{ ppm} * V_1$$

$$84 \text{ mg} = 1.250 \text{ ppm} * V_1$$

$$84 \text{ mg} / 1.250 \text{ ppm} = 0,0672 \text{ L}$$

$$= 67,2 \text{ ml}$$

3. Dosis 10,4 ppm

$$10,4 \text{ ppm} * 10 \text{ L} = 1.250 \text{ ppm} * V_1$$

$$104 \text{ mg} = 1.250 \text{ ppm} * V_1$$

$$104 \text{ mg} / 1.250 \text{ ppm} = 0,0832 \text{ L}$$

$$= 83,2 \text{ ml}$$

4. Dosis 12,4 ppm

$$12,4 \text{ ppm} * 10 \text{ L} = 1.250 \text{ ppm} * V_1$$

$$124 \text{ mg} = 1.250 \text{ ppm} * V_1$$

$$124 \text{ mg} / 1.250 \text{ ppm} = 0,0992 \text{ L}$$

$$= 99,2 \text{ ml}$$

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

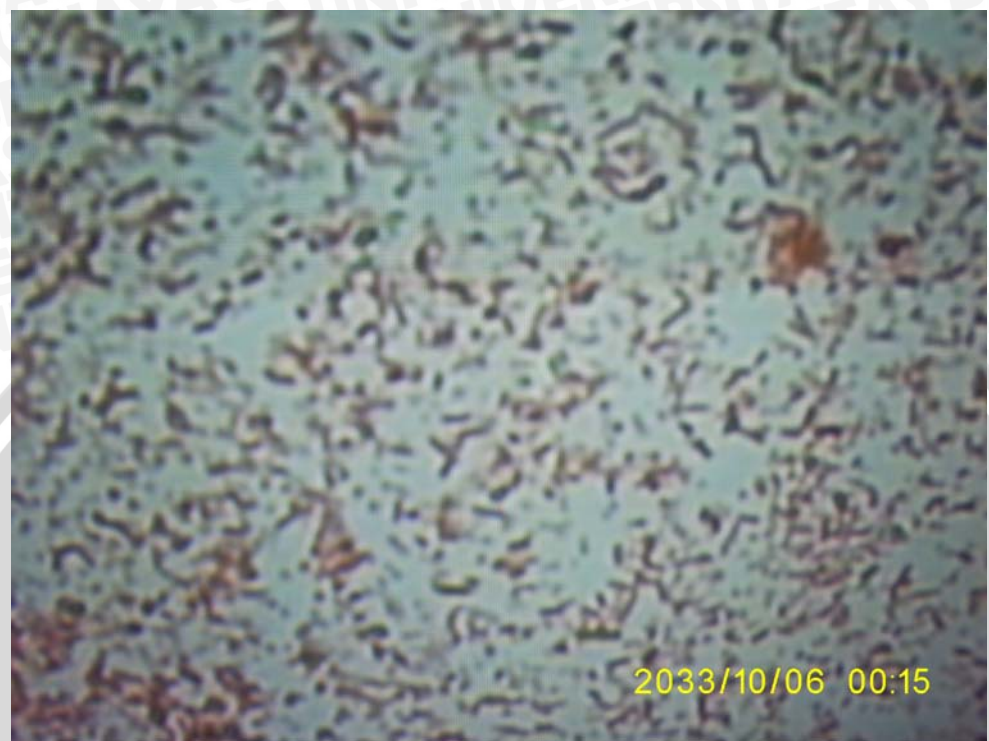
$$\begin{aligned}\Sigma \text{Kebutuhan Alkaloid (2 x ulangan)} &= 2 \times (51.2 + 67.2 + 83.2 + 99.2) \\ &= 2 \times 300.8 \text{ ml} \\ &= 601.6 \text{ ml}\end{aligned}$$

"*Booster*" Immunostimulan dilakukan dengan pemberian dosis yang sama dengan dosis perendaman yang pertama. Sehingga jumlah total kebutuhan alkaloid :

$$\begin{aligned}\Sigma \text{Total Kebutuhan Alkaloid} &= 2 \times 601.6 \text{ ml} \\ &= 1203.2 \text{ ml}\end{aligned}$$



Lampiran 9. Gambar Preparat Bakteri Setelah Pewarnaan Gram (1000x)



**Lampiran 10. Data Perhitungan Jumlah Total Bakteri Yang Menginfeksi Ikan Kerapu Macan.**

**A. Data Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* Pada Insang Ikan Kerapu macan (CFU/ml)**

**1. Setelah 1 x 24 jam.**

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II
<b>K</b>	28. 10 <sup>5</sup>	29. 10 <sup>5</sup>
<b>A</b>	27,9. 10 <sup>5</sup>	26,7. 10 <sup>5</sup>
<b>B</b>	17,3. 10 <sup>5</sup>	17,2. 10 <sup>5</sup>
<b>C</b>	8,9. 10 <sup>5</sup>	8,0. 10 <sup>5</sup>
<b>D</b>	4,4. 10 <sup>5</sup>	4,6. 10 <sup>5</sup>

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Total	Rata-rata
<b>A</b>	6,446	6,427	12,873	6,437
<b>B</b>	6,238	6,236	12,474	6,237
<b>C</b>	5,949	5,903	11,852	5,926
<b>D</b>	5,643	5,663	11,306	5,653
<b>Total</b>	-	-	<b>48,505</b>	<b>24,253</b>
<b>K</b>	6,447	6,462	12,909	6,455

$$FK = \frac{(48,505)^2}{8} = \frac{2352,7350}{8} = 294,0919$$

$$JK \text{ Total} = (6,446)^2 + (6,427)^2 + \dots + (5,663)^2 - FK$$

$$= 294,8066 - 294,0919$$

$$= 0,7147$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{(12,873)^2 + (12,474)^2 + (11,852)^2 + (11,306)^2}{2} - FK$$

$$= \frac{589,6103}{2} - FK$$

$$= 294,8052 - 294,0919$$

$$= 0,7133$$

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

$$= 0,7147 - 0,7133$$

$$= 0,0014$$

**Lampiran 10. (Lanjutan)**

**Analisa Sidik Ragam Pertumbuhan Bakteri *V. harveyi* Pada Insang Ikan Kerapu Macam Setelah 1 x 24 jam**

Sumber	db	JK	KT	Fhit	5%	1%
Perlakuan	3	0,7133	0,2378	679,4285**	6,59	16,69
Acak	4	0,0014	0,00035			
Total	7	0,7147				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata

**Uji BNT Untuk 5% dan 1%**

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \frac{\sqrt{2KT \text{ Acak}}}{\text{Ulangan}} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 0,00035}}{2}
 \end{aligned}$$

$$= 0,0187$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ 5\%} \times \text{SED} \\
 &= 2,776 \times 0,0187 \\
 &= 0,0519
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ 1\%} \times \text{SED} \\
 &= 4,604 \times 0,0187 \\
 &= 0,0861
 \end{aligned}$$

**Tabel Uji Beda Nyata Terkecil**

Rataan	A = 6,437	B = 6,237	C = 5,926	D = 5,653	Notasi
A = 6,437	-				a
B = 6,237	0,200**	-			b
C = 5,926	0,511**	0,311**	-		b
D = 5,653	0,784**	0,584**	0,273**	-	b

Keterangan : \*\* = Berbeda Sangat Nyata



**Lampiran 10. (Lanjutan)**

**Tabel Uji Polinomial Orthogonal Pertumbuhan Bakteri**

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	12,873	-3	+1	-1
B	12,474	-1	-1	+3
C	11,852	+1	-1	-3
D	11,306	+3	+1	+1
<b>Q = Σ(Ci*Ti)</b>		-5,323	-0,147	0,299
<b>Kr = (Σ Ci<sup>2</sup>) r</b>		40	8	40
<b>JK = Q<sup>2</sup> / Kr</b>		<b>0,7084</b>	<b>0,0027</b>	<b>0,002235</b>

**Tabel Sidik Ragam Regresi**

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,7133	-	-		
Linier	1	0,7084	0,7084	2024 <sup>**</sup>	7,71	21,20
Kuadratik	1	0,0027	0,0027	7,7171 <sup>*</sup>		
Kubik	1	0,0022	0,0022	6,3857 <sup>ns</sup>		
Acak	4	0,0014	0,00035			
Total	7	0,7147				

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

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

$$= \frac{0,7084}{0,7084 + 0,0014}$$

$$= 0,99803$$

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

$$= \frac{0,002701}{0,002701 + 0,0014}$$

$$= 0,6586$$

**Lampiran 10. (Lanjutan)**

**Persamaan Umum :  $Y = b_0 + b_1x$**

Perlakuan	X (Dosis)	Y (Rata-rata)	XY	X <sup>2</sup>
A	6,4	27,3. 10 <sup>5</sup>	174,72. 10 <sup>5</sup>	40,96
B	8,4	17,25. 10 <sup>5</sup>	144,9. 10 <sup>5</sup>	70,56
C	10,4	8,45. 10 <sup>5</sup>	87,88. 10 <sup>5</sup>	108,16
D	12,4	4,5. 10 <sup>5</sup>	55,8. 10 <sup>5</sup>	153,76
<b>Total</b>	<b>37,6</b>	<b>57,5. 10<sup>5</sup></b>	<b>463,3. 10<sup>5</sup></b>	<b>373,44</b>

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

$$= \frac{463,3 \cdot 10^5 - \frac{37,6 \cdot 57,5 \cdot 10^5}{4}}{373,44 - \frac{(37,6)^2}{4}}$$

$$= -3,86 \cdot 10^5$$

$$b_0 = Y - b_1x$$

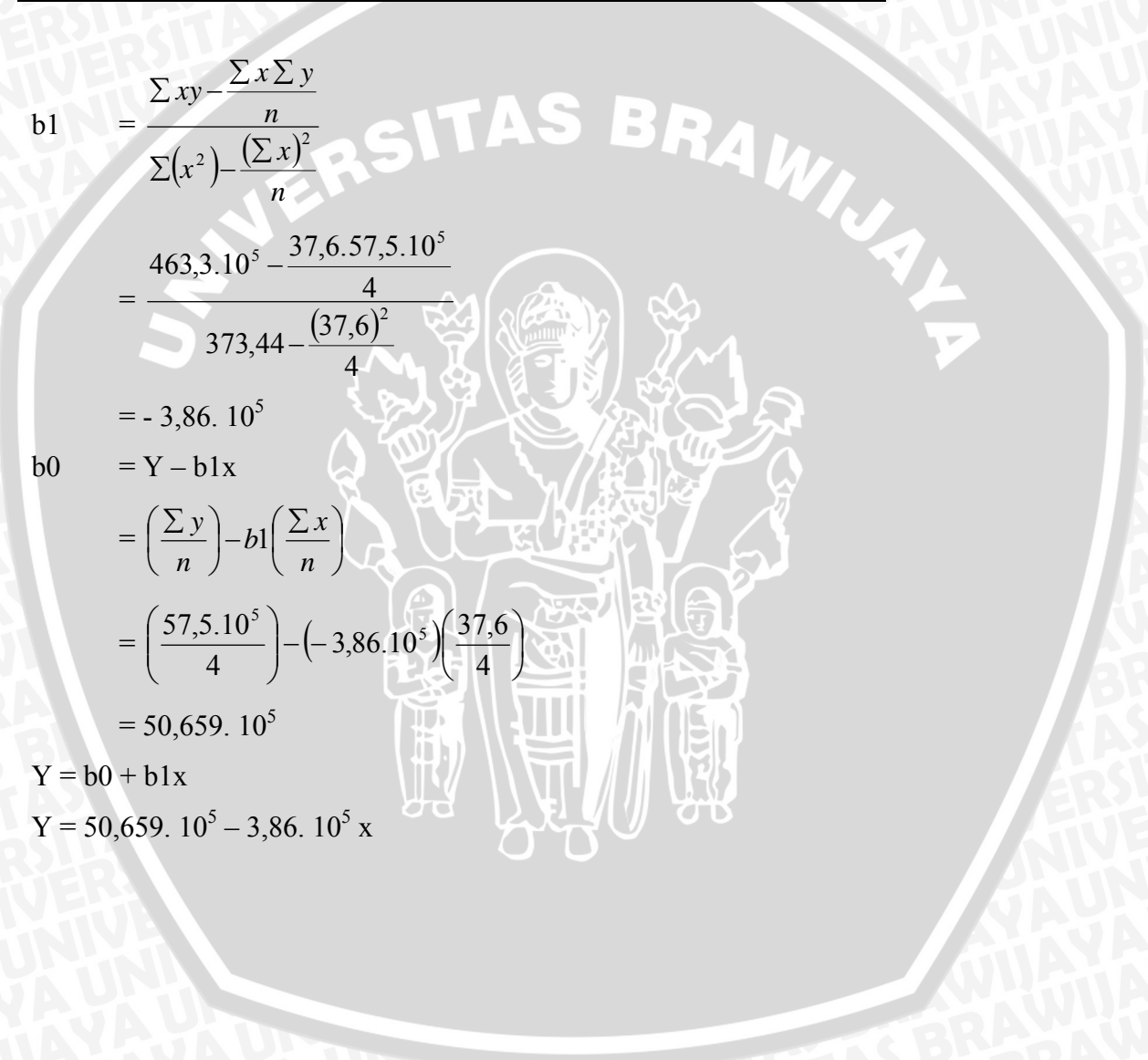
$$= \left(\frac{\sum y}{n}\right) - b_1\left(\frac{\sum x}{n}\right)$$

$$= \left(\frac{57,5 \cdot 10^5}{4}\right) - (-3,86 \cdot 10^5)\left(\frac{37,6}{4}\right)$$

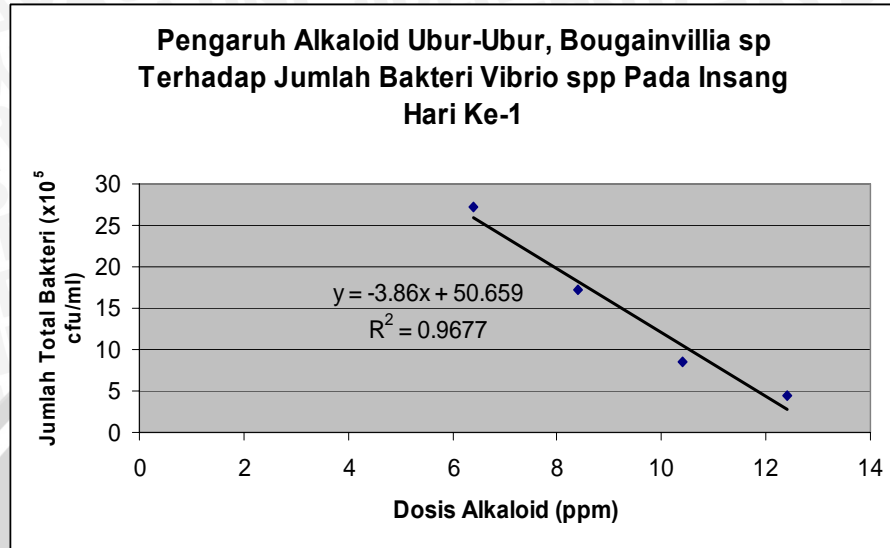
$$= 50,659 \cdot 10^5$$

$$Y = b_0 + b_1x$$

$$Y = 50,659 \cdot 10^5 - 3,86 \cdot 10^5 x$$



**Lampiran 10. (Lanjutan)**



**2. Setelah 3 x 24 jam (CFU/ml)**

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II
<b>K</b>	29,1. 10 <sup>5</sup>	29,2. 10 <sup>5</sup>
<b>A</b>	19,4. 10 <sup>5</sup>	20,8. 10 <sup>5</sup>
<b>B</b>	7,8. 10 <sup>5</sup>	8,1. 10 <sup>5</sup>
<b>C</b>	4,4. 10 <sup>5</sup>	4,1. 10 <sup>5</sup>
<b>D</b>	2,4. 10 <sup>5</sup>	2,6. 10 <sup>5</sup>

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Total	Rata-rata
<b>A</b>	6,318	6,288	12,606	6,303
<b>B</b>	5,892	5,908	11,800	5,900
<b>C</b>	5,643	5,613	11,256	5,628
<b>D</b>	5,380	5,415	10,795	5,398
<b>Total</b>	-	-	<b>46,457</b>	<b>23,229</b>
<b>K</b>	6,464	6,465	12,929	6,465

$$FK = \frac{(46,457)^2}{8} = \frac{2158,2528}{8} = 269,7816$$

$$JK \text{ Total} = (6,318)^2 + (6,288)^2 + \dots + (5,415)^2 - FK$$

$$= 270,6920 - 269,7816$$

$$= 0,9104$$

**Lampiran 10. (Lanjutan)**

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{(12,606)^2 + (11,800)^2 + (11,256)^2 + (10,795)^2}{2} - FK \\
 &= \frac{541,3808}{2} - FK \\
 &= 270,6904 - 269,7816 \\
 &= 0,9088
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 0,9104 - 0,9088 \\
 &= 0,0016
 \end{aligned}$$

**Analisa Sidik Ragam Pertumbuhan Bakteri *V. harveyi* Pada Insang Ikan Kerapu Macan Setelah 3 x 24 jam**

Sumber	db	JK	KT	Fhit	5%	1%
Perlakuan	3	0,9088	0,3029	757,25**	6,59	16,69
Acak	4	0,0016	0,0004			
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>0,9104</b>				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata

**Uji BNT Untuk 5% dan 1%**

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \frac{\sqrt{2KT \text{ Acak}}}{\text{Ulangan}} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 0,0004}}{2} \\
 &= 0,02
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ 5\%} \times \text{SED} \\
 &= 2,776 \times 0,02 \\
 &= 0,0555
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ 1\%} \times \text{SED} \\
 &= 4,604 \times 0,02 \\
 &= 0,092
 \end{aligned}$$

**Lampiran 10. (Lanjutan)**

**Tabel Uji Beda Nyata Terkecil**

Rataan	A = 6,303	B = 5,900	C = 5,628	D = 5,398	Notasi
A = 6,303	-				a
B = 5,900	0,403**	-			b
C = 5,628	0,675**	0,272**	-		b
D = 5,398	0,905**	0,502**	0,23**	-	b

**Tabel Uji Polinomial Orthogonal Pertumbuhan Bakteri**

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	12,606	-3	+1	-1
B	11,800	-1	-1	+3
C	11,256	+1	-1	-3
D	10,795	+3	+1	+1
Q = Σ(Ci*Ti)		-5,977	0,345	-0,179
Kr = (Σ Ci <sup>2</sup> ) r		40	8	40
JK = Q <sup>2</sup> / Kr		0,8931	0,0149	0,000801

**Tabel Sidik Ragam Regresi**

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,9088				
Linier	1	0,8931	0,8931	2232,75**	7,71	21,20
Kuadratik	1	0,0149	0,0149	37,25**		
Kubik	1	0,000801	0,000801	2,0025 <sup>ns</sup>		
Acak	4	0,0016	0,0004			
Total	7	0,9104				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,8931}{0,8931 + 0,0016} \\
 &= 0,9982
 \end{aligned}$$

**Lampiran 10. (Lanjutan)**

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

$$= \frac{0,0149}{0,0149 + 0,0014}$$

$$= 0,9141$$

**Persamaan Umum :  $Y = b_0 + b_1x$**

Perlakuan	X (Dosis)	Y (Rata-rata)	XY	X <sup>2</sup>
A	6,4	20,1. 10 <sup>5</sup>	128,64. 10 <sup>5</sup>	40,96
B	8,4	7,95. 10 <sup>5</sup>	66,78. 10 <sup>5</sup>	70,56
C	10,4	4,25. 10 <sup>5</sup>	44,2. 10 <sup>5</sup>	108,16
D	12,4	2,5. 10 <sup>5</sup>	31. 10 <sup>5</sup>	153,76
<b>Total</b>	<b>37,6</b>	<b>34,8. 10<sup>5</sup></b>	<b>270,62. 10<sup>5</sup></b>	<b>373,44</b>

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

$$= \frac{270,62 \cdot 10^5 - \frac{37,6 \cdot 34,8 \cdot 10^5}{4}}{373,44 - \frac{(37,6)^2}{4}}$$

$$= -2,825 \cdot 10^5$$

$$b_0 = Y - b_1x$$

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

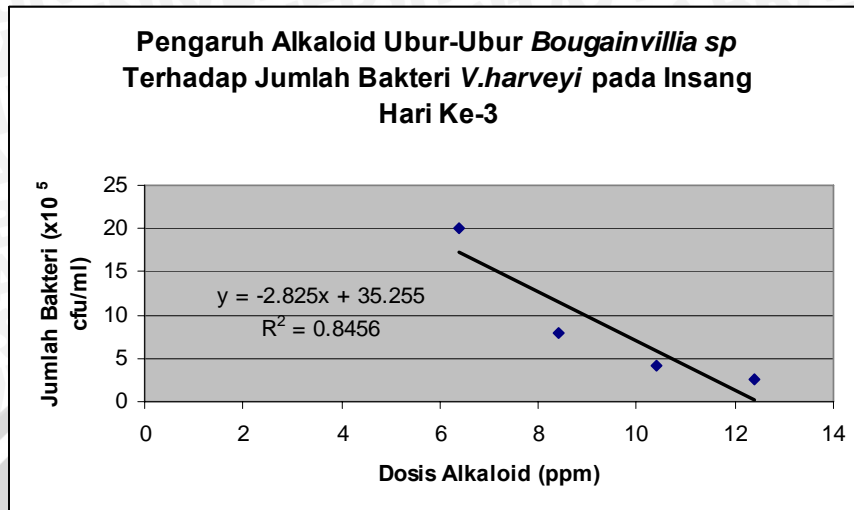
$$= \left(\frac{34,8 \cdot 10^5}{4}\right) - (-2,825 \cdot 10^5)\left(\frac{37,6}{4}\right)$$

$$= 35,255 \cdot 10^5$$

$$Y = b_0 + b_1x$$

$$Y = 35,255 \cdot 10^5 - 2,825 \cdot 10^5 x$$

Lampiran 10. (Lanjutan)



3. Setelah 5 x 24 jam (CFU/ml)

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II
<b>K</b>	10. 10 <sup>5</sup>	11. 10 <sup>5</sup>
<b>A</b>	0,3. 10 <sup>5</sup>	0,4. 10 <sup>5</sup>
<b>B</b>	0,21. 10 <sup>5</sup>	0,18. 10 <sup>5</sup>
<b>C</b>	0,09. 10 <sup>5</sup>	0,07. 10 <sup>5</sup>
<b>D</b>	0,03. 10 <sup>5</sup>	0,04. 10 <sup>5</sup>

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Total	Rata-rata
<b>A</b>	4,477	4,602	9,079	4,539
<b>B</b>	4,322	4,255	8,577	4,289
<b>C</b>	3,954	3,845	7,799	3,899
<b>D</b>	3,477	3,602	7,079	4,289
<b>Total</b>	-	-	<b>32,534</b>	<b>17,016</b>
<b>K</b>	6,000	6,041	12,041	6,021

$$FK = \frac{(32,534)^2}{8} = \frac{1058,4612}{8} = 132,3076$$

$$JK \text{ Total} = (4,477)^2 + (4,602)^2 + \dots + (3,602)^2 - FK$$

$$= 133,4887 - 132,3076$$

$$= 1,1811$$

**Lampiran 10. (Lanjutan)**

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{(9,079)^2 + (8,577)^2 + (7,799)^2 + (7,079)^2}{2} - FK \\
 &= \frac{266,9298}{2} - FK \\
 &= 133,4649 - 132,3076 \\
 &= 1,1573
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 1,1811 - 1,1573 \\
 &= 0,0238
 \end{aligned}$$

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

Sumber	db	JK	KT	Fhit	5%	1%
Perlakuan	3	1,1573	0,3858	64,8347**	6,59	16,69
Acak	4	0,0238	0,00595			
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>1,1811</b>				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata

**Uji BNT Untuk 5% dan 1%**

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \frac{\sqrt{2KT \text{ Acak}}}{\text{Ulangan}} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 0,00595}}{2}
 \end{aligned}$$

$$= 0,0771$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ 5\%} \times \text{SED} \\
 &= 2,776 \times 0,0771 \\
 &= 0,2141
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ 1\%} \times \text{SED} \\
 &= 4,604 \times 0,0771 \\
 &= 0,3550
 \end{aligned}$$



**Lampiran 10. (Lanjutan)**

**Tabel Uji Beda Nyata Terkecil**

Rataan	A = 4,539	B = 4,289	C = 3,899	D = 3,540	Notasi
A = 4,539	-				a
B = 4,289	0,250*	-			b
C = 3,899	0,640**	0,390**	-		c
D = 3,540	0,999**	0,749**	0,359**	-	c

**Tabel Uji Polinomial Orthogonal Pertumbuhan Bakteri**

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadrat	Kubik
A	9,079	-3	+1	-1
B	8,577	-1	-1	+3
C	7,799	+1	-1	-3
D	7,079	+3	+1	+1
<b>Q = Σ(Ci*Ti)</b>		-6,778	-0,218	0,334
<b>Kr = (Σ Ci<sup>2</sup>) r</b>		40	8	40
<b>JK = Q<sup>2</sup> / Kr</b>		<b>1,1485</b>	<b>0,0059</b>	<b>0,0028</b>

**Tabel Sidik Ragam Regresi**

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,1573				
Linier	1	1,1485	1,1485	193,0252**	7,71	21,20
Kuadrat	1	0,0059	0,0059	0,9916 <sup>ns</sup>		
Kubik	1	0,0028	0,0028	0,4706 <sup>ns</sup>		
Acak	4	0,0238	0,00595			
Total	7	1,1811				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata  
<sup>ns</sup> Tidak berbeda nyata

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

$$= \frac{1,1485}{1,1485 + 0,0238}$$

$$= 0,9797$$

**Lampiran 10. (Lanjutan)**

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

$$= \frac{0,0059}{0,0059 + 0,0238}$$

$$= 0,1986$$

**Persamaan Umum :  $Y = b_0 + b_1x$**

Perlakuan	X (Dosis)	Y (Rata-rata)	XY	X <sup>2</sup>
A	6,4	0,35. 10 <sup>5</sup>	2,240. 10 <sup>5</sup>	40,96
B	8,4	0,195. 10 <sup>5</sup>	1,638. 10 <sup>5</sup>	70,56
C	10,4	0,08. 10 <sup>5</sup>	0,832. 10 <sup>5</sup>	108,16
D	12,4	0,035. 10 <sup>5</sup>	0,434. 10 <sup>5</sup>	153,76
<b>Total</b>	<b>37,6</b>	<b>0,660. 10<sup>5</sup></b>	<b>5,144. 10<sup>5</sup></b>	<b>373,44</b>

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

$$= \frac{5,144.10^5 - \frac{37,6.0,660.10^5}{4}}{373,44 - \frac{(37,6)^2}{4}}$$

$$= -0,053. 10^5$$

$$b_0 = Y - b_1x$$

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

$$= \left(\frac{0,660.10^5}{4}\right) - (-0,053.10^5)\left(\frac{37,6}{4}\right)$$

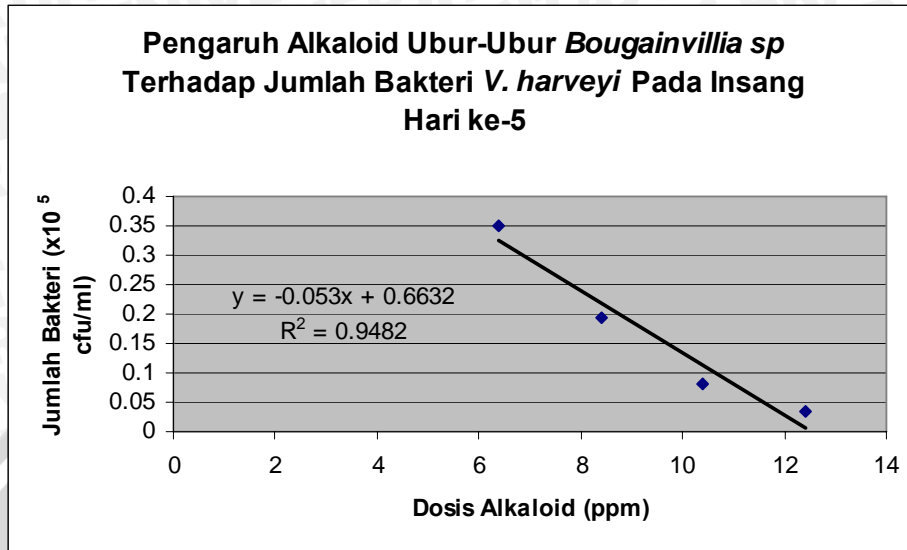
$$= 0,6632. 10^5$$

$$Y = b_0 + b_1x$$

$$Y = 0,6632. 10^5 - 0,053. 10^5 x$$



Lampiran 10. (Lanjutan)



**B. Data Pertumbuhan Bakteri *V. harveyi* Pada Limpa Ikan Kerapu Macan setelah 5x24 jam (CFU/ml)**

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II
K	2,5. 10 <sup>5</sup>	2,3. 10 <sup>5</sup>
A	0,33. 10 <sup>5</sup>	0,34. 10 <sup>5</sup>
B	0,21. 10 <sup>5</sup>	0,23. 10 <sup>5</sup>
C	0,10. 10 <sup>5</sup>	0,17. 10 <sup>5</sup>
D	0,05. 10 <sup>5</sup>	0,03. 10 <sup>5</sup>

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Total	Rata-rata
A	4,519	4,531	9,050	4,525
B	4,322	4,362	8,684	4,342
C	4,000	4,230	8,230	4,115
D	3,699	3,477	7,176	3,588
<b>Total</b>	-	-	<b>33,140</b>	<b>16,570</b>
K	5,398	5,362	10,760	5,380

$$FK = \frac{(33,14)^2}{8} = \frac{1098,2596}{8} = 137,2825$$

$$JK \text{ Total} = (4,519)^2 + (4,531)^2 + \dots + (3,477)^2 - FK$$

$$= 138,3231 - 137,2825$$

$$= 1,0406$$

**Lampiran 10. (Lanjutan)**

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{(9,050)^2 + (8,684)^2 + (8,230)^2 + (7,176)^2}{2} - FK \\
 &= \frac{276,5422}{2} - FK \\
 &= 138,2711 - 137,2825 \\
 &= 0,9886
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 1,0406 - 0,9886 \\
 &= 0,0519
 \end{aligned}$$

**Analisa Sidik Ragam Pertumbuhan Bakteri *V. harveyi* Pada Limpa Ikan Kerapu Macan Setelah 5 x 24 jam**

Sumber	db	JK	KT	Fhit	5%	1%
Perlakuan	3	0,9886	0,3295	25,3462**	6,59	16,69
Acak	4	0,0519	0,0130			
Total	7	1,0406				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata

**Uji BNT Untuk 5% dan 1%**

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \frac{\sqrt{2KT \text{ Acak}}}{\text{Ulangan}} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 0,0130}}{2}
 \end{aligned}$$

$$= 0,1140$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ 5\%} \times \text{SED} \\
 &= 2,776 \times 0,1140 \\
 &= 0,3165
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ 1\%} \times \text{SED} \\
 &= 4,604 \times 0,1140 \\
 &= 0,5249
 \end{aligned}$$

## Lampiran 10. (Lanjutan)

Tabel Uji Beda Nyata Terkecil

Rataan	A = 4,525	B = 4,342	C = 4,115	D = 3,588	Notasi
A = 4,525	-				a
B = 4,342	0,183 <sup>ns</sup>	-			b
C = 4,115	0,410*	0,227 <sup>ns</sup>	-		c
D = 3,588	0,937**	0,754**	0,527**	-	d

Keterangan : \*\* = Berbeda Sangat Nyata  
 \* = Berbeda Nyata  
 ns = Tidak Berbeda Nyata

Tabel Uji Polinomial Orthogonal Pertumbuhan Bakteri

Perlakuan (x)	Data (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	9,050	-3	+1	-1
B	8,684	-1	-1	+3
C	8,230	+1	-1	-3
D	7,176	+3	+1	+1
Q = $\sum(Ci*Ti)$		-6,076	-0,688	-0,512
Kr = $(\sum Ci^2) r$		40	8	40
JK = $Q^2 / Kr$		0,9229	0,0592	0,00655

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,9886				
Linier	1	0,9229	0,9229	70,9923**	7,71	21,20
Kuadratik	1	0,0592	0,0592	4,5538 <sup>ns</sup>		
Kubik	1	0,00655	0,00655	0,5038 <sup>ns</sup>		
Acak	4	0,0519	0,0130			
Total	7	1,0406				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata

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

$$= \frac{0,9229}{0,9229 + 0,0519}$$

$$= 0,9468$$

**Lampiran 10. (Lanjutan)**

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kuadrat} &= \frac{JK \text{ Kuadrat}}{JK \text{ Kuadrat} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,0592}{0,0592 + 0,0519} \\
 &= 0,5329
 \end{aligned}$$

**Persamaan Umum :  $Y = b_0 + b_1x$**

Perlakuan	X (Dosis)	Y (Rata-rata)	XY	X <sup>2</sup>
A	6,4	0,335. 10 <sup>5</sup>	2,144. 10 <sup>5</sup>	40,96
B	8,4	0,22. 10 <sup>5</sup>	1,848. 10 <sup>5</sup>	70,56
C	10,4	0,135. 10 <sup>5</sup>	1,404. 10 <sup>5</sup>	108,16
D	12,4	0,04. 10 <sup>5</sup>	0,496. 10 <sup>5</sup>	153,76
<b>Total</b>	<b>37,6</b>	<b>0,73. 10<sup>5</sup></b>	<b>5,892. 10<sup>5</sup></b>	<b>373,44</b>

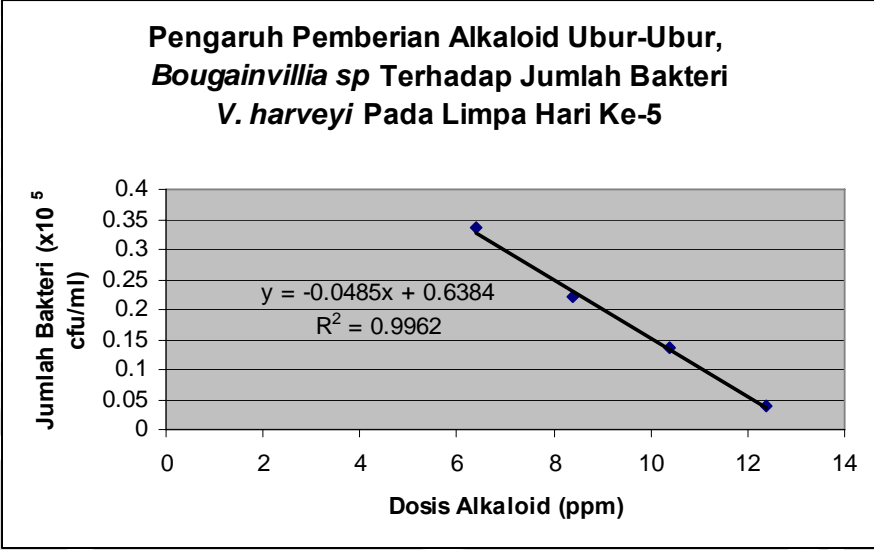
$$\begin{aligned}
 b_1 &= \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum(x^2) - \frac{(\sum x)^2}{n}} \\
 &= \frac{5,892.10^5 - \frac{37,6.0,73.10^5}{4}}{373,44 - \frac{(37,6)^2}{4}} \\
 &= -0,0485. 10^5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 b_0 &= Y - b_1x \\
 &= \left(\frac{\sum y}{n}\right) - b_1\left(\frac{\sum x}{n}\right) \\
 &= \left(\frac{0,73.10^5}{4}\right) - (-0,0485.10^5)\left(\frac{37,6}{4}\right) \\
 &= 0,6384. 10^5
 \end{aligned}$$

$$Y = b_0 + b_1x$$

$$Y = 0,6384. 10^5 - 0,0485. 10^5 x$$

Lampiran 10. (Lanjutan)



**Lampiran 11. Efektivitas Bahan Imunostimulan Alkaloid Ubur-ubur *Bougainvillia* sp. Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi*.**

**A. Efektivitas Pada Insang Ikan Kerapu Macan.**

$$\text{Perlakuan (A)} = \frac{0,5 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,195 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{0,5 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 61\%$$

$$\text{Perlakuan (B)} = \frac{0,5 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,115 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{0,5 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 77\%$$

$$\text{Perlakuan (C)} = \frac{0,5 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,08 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{0,5 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 84\%$$

$$\text{Perlakuan (D)} = \frac{0,5 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,035 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{0,5 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 93\%$$

**B. Efektivitas Pada Limpa Ikan Kerapu Macan**

$$\text{Perlakuan (A)} = \frac{0,469 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,335 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{0,469 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 28,57\%$$

$$\text{Perlakuan (B)} = \frac{0,469 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,22 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{0,469 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 53,09\%$$

$$\text{Perlakuan (C)} = \frac{0,469 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,135 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{0,469 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 71,22\%$$

$$\text{Perlakuan (D)} = \frac{0,469 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml} - 0,04 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}}{0,469 \cdot 10^5 \text{ cfu/ml}} \times 100\% = 91,47\%$$



**Lampiran 12. Gambar Benih Kerapu Macan yang Terinfeksi Bakteri *Vibrio harveyi***



Gambar Benih Kerapu Macan yang terinfeksi bakteri *Vibrio harveyi*  
(Tampak operculum dan sirip ekor berwarna kemerah-merahan)



Gambar Organ dalam Ikan Kerapu Macan setelah Terinfeksi Bakteri *Vibrio harveyi*  
(Tampak hancur dan berwarna pucat)