

**PENGARUH EKSTRAK KAYU BATU (*Alstonia acuminata*) SEBAGAI
IMMUNOSTIMULAN DITINJAU DARI HISTOLOGI IKAN KERAPU MACAN
(*Epinephelus fuscoguttatus*)**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh :

FITRI SUKMANINGTYAS

NIM. 0810853005



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2012**

**PENGARUH EKSTRAK KAYU BATU (*Alstonia acuminata*) SEBAGAI
IMMUNOSTIMULAN DITINJAU DARI HISTOLOGI IKAN KERAPU MACAN
(*Epinephelus fuscoguttatus*)**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh :

FITRI SUKMANINGTYAS

NIM. 0810853005



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2012**

SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK KAYU BATU (*Alstonia acuminata*) SEBAGAI
IMMUNOSTIMULAN DITINJAU DARI HISTOLOGI IKAN KERAPU MACAN
(*Epinephelus fuscoguttatus*)

Oleh :

FITRI SUKMANINGTYAS

NIM. 0810853005

Menyetujui,

Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Maftuch, MSi)
NIP. 19660825 199203 1 001

Tanggal:

Dosen Pembimbing I

(Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS)
NIP. 1961106 198602 2 001

Tanggal:

Dosen Penguji II

(Dr. Ir. Anik Martinah H., MSc)
NIP. 19610310 198701 2 001

Tanggal:

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, MS)
NIP. 19590807 198601 1 001

Tanggal:

Mengetahui,
Ketua Jurusan

(Dr. Ir. Happy Nursyam, MS)
NIP. 19600322 198601 1 001

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 27 Agustus 2012

Mahasiswa

Fitri Sukmaningtyas



UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

- Puji syukur yang sebesar-besarnya kepada Allah SWT.
- Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS dan Bapak Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, MS selaku dosen pembimbing.
- Bapak Dr. Ir. Maftuch, Msi dan Ibu Dr. Ir. Anik Martinah H., MSc selaku dosen penguji
- Sujud dan terima kasih yang dalam penulis persembahkan kepada Ibunda dan Ayahanda tercinta, atas dorongan yang kuat, kebijaksanaan dan do'a.
- Mas'ku (Agus Khurniawan) yang selalu memberikan semangat dan motivasi.
- Bu Jen yang telah banyak memberikan bantuan, bimbingan dan semangat.
- Teman-temanku tercinta (Pertiwi, Jeny, MbK Dwi, Tetri, Dini, Kiki, Aini dan Elok) yang telah banyak membantu dan memberikan motivasi.
- Teman-teman BJT (Bajak Tambak) tercinta terimakasih atas persaudaraannya selama ini, akan selalu kurindu selamanya.
- Teman-teman Veteran Dalam no.9 (Ulfa, MbK Narmi, MbK Neni, MbK Rosa, Tiara, Rahma, Ega, Pan-pan, Lilik dan Zenit) yang selalu menemani dan memberi dukungan.

Malang, 27 Agustus 2012

Penulis

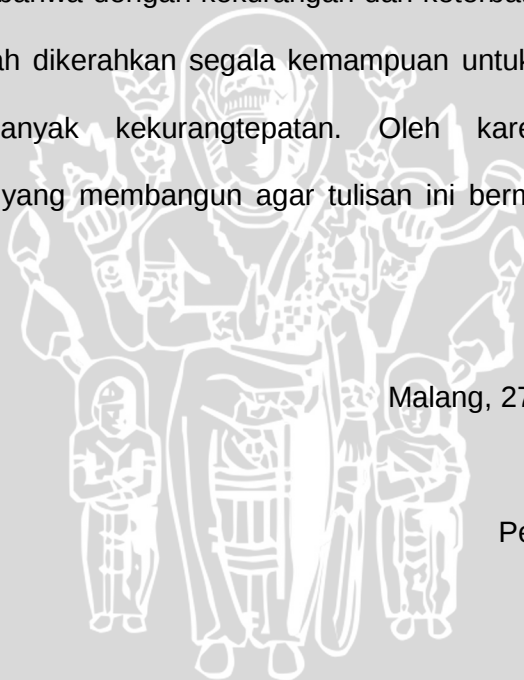
KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul Pengaruh Ekstrak Kayu Batu (*Alstonia acuminata*) Sebagai Immunostimulan Ditinjau Dari Histologi Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fucoguttatus*). Dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan meliputi pemberian *A. acuminata* sebagai immunostimulan, histologi insang dan hati, gejala klinik penginfeksi bakteri, serta kualitas air selama pemeliharaan.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangtepatan. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 27 Agustus 2012

Penulis



DAFTAR ISI

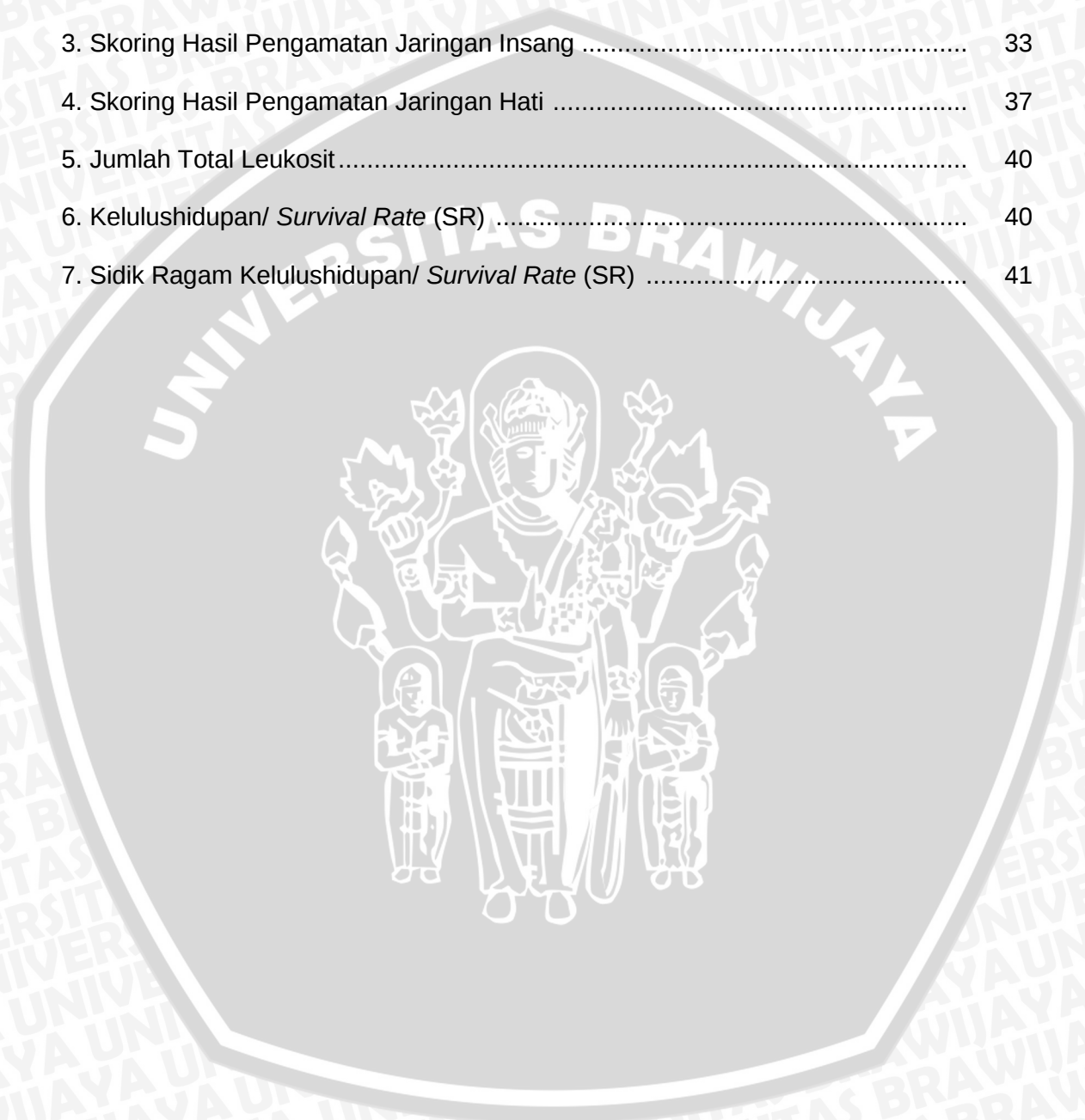
Halaman

RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Kegunaan Penelitian	4
1.5. Hipotesis	4
1.6. Tempat dan Waktu	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Biologi Ikan Kerapu Macan (<i>Epinephelus fuscoguttatus</i>)	5
2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2. Habitat	6
2.1.3. Kualita Air.....	7
1. Oksigen Terlarut.....	7
2. Derajat Keasaman.....	7
3. Salinitas.....	7
4. Suhu.....	7
2.1.2. Penyakit.....	8
2.2. <i>Alstonia acuminata</i>	8
2.2.1. Klasifikasi dan Morfologi	9
2.2.2. Habitat dan Penyebaran	9
2.2.3. Manfaat	10
2.3 <i>Vibrio harveyi</i>	10
2.3.1. Klasifikasi dan Morfologi	10
2.3.2. Perkembangbiakan.....	11
2.3.3. Habitat dan Penyebaran.....	12
2.4. Immunostimulan.....	13
2.4.1. Pengertian.....	13
2.4.2. Pemberian Immunostimulan	15
2.5. Histologi.....	17
2.5.1. Pengertian.....	17
2.5.2. Pembuatan Preparat	17
2.6. Insang.....	19
2.6.1. Pengertian.....	19
2.6.2. Fungsi	20
2.6.2. Kerusakan.....	20
2.7. Hati.....	21

2.7.1. Pengertian	21
2.7.2. Fungsi	21
2.7.2. Kerusakan	22
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	23
3.1. Materi Penelitian	23
3.1.1. Alat	23
3.1.2. Bahan	23
3.2. Metode Penelitian	24
3.3. Rancangan Penelitian	24
3.4. Prosedur Penelitian	26
3.4.1. Persiapan Ekstrak	26
3.4.2. Strilisasi	27
3.4.3. Persiapan Ikan	27
3.4.4. Perlakuan Ekstrak	26
3.4.5. Perlakuan Bakteri	27
3.4.6. Pengambilan Jaringan	27
3.5. Parameter Uji	28
3.5.1. Parameter Utama	28
3.5.2. Parameter Penunjang	28
3.6. Analisa Data	28
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1. Gambaran Histologi dan Histopatologi Insang	30
4.4.1. Histologi Insang Normal	30
4.4.2. Histopatologi Perlakuan	31
4.2. Gambaran Histologi dan Histopatologi Hati	35
4.2.1. Histologi Hati Normal	35
4.2.2. Histopatologi Perlakuan	36
4.3. Total Leukosit	39
4.4. Kelulushidupan/ <i>Survival Rate</i> (SR)	41
4.5. Pengamatan Kualitas Air	42
5. KESIMPULAN DAN SARAN	43
5.1. Kesimpulan	43
5.2. Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	48

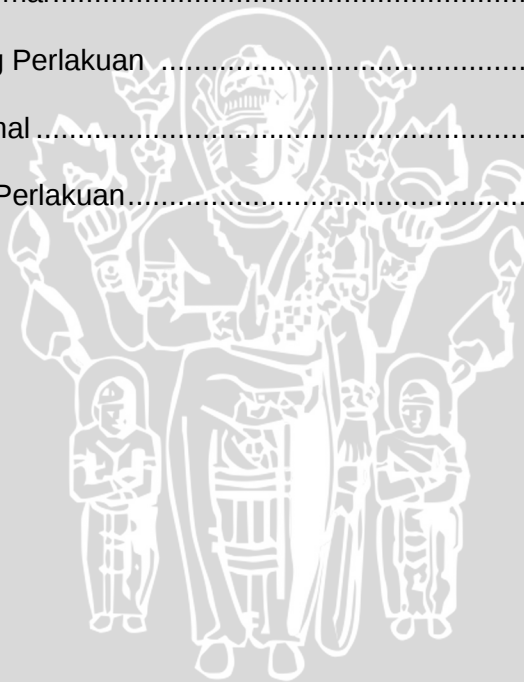
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Metode Pemberian Immunostimulan.....	16
2. Kekurangan dan Kelebihan Pemberian Immunostimulan	16
3. Skoring Hasil Pengamatan Jaringan Insang	33
4. Skoring Hasil Pengamatan Jaringan Hati	37
5. Jumlah Total Leukosit.....	40
6. Kelulushidupan/ <i>Survival Rate</i> (SR)	40
7. Sidik Ragam Kelulushidupan/ <i>Survival Rate</i> (SR)	41



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Kerapu Macan.....	5
2. Tumbuhan <i>Alstonia acuminata</i>	9
3. <i>Vibrio harveyi</i>	11
4. Insang Ikan Normal	19
5. Hati Ikan Normal	21
6. Denah Penelitian	25
7. Alur Perhitungan Skoring	29
8. Histologi Insang Normal.....	30
9. Histopatologi Insang Perlakuan	32
10. Histologi Hati Normal	35
11. Histopatologi Hati Perlakuan.....	36



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan	48
2. Gambar Biakan Murni Bakteri <i>Vibrio harveyi</i>	50
3. Formula Larutan BNF.....	51
4. Bak-bak Percobaan	52
5. Pembuatan Preparat.....	53
6. Nilai Skoring	55
7. Data Kerusakan Edema.....	58
8. Data Kerusakan Hiperlasia	63
9. Data Kerusakan Hipertropi.....	68
10. Data Kerusakan Hemorrhagic.....	73
11. Data Kerusakan Nekrosis	78
12. Data Kerusakan Inflamasi.....	83
13. Data <i>Survival Rate</i>	88

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu produk perikanan laut yang merupakan komoditas ekspor unggulan adalah ikan kerapu. Produksi kerapu selama ini didominasi dari hasil tangkapan dan budidaya keramba di laut. Data terakhir pada tahun 2008 produksi ikan kerapu mencapai 267,19 ton. Jenis ikan kerapu yang merupakan komoditas ekspor adalah ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*), kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*), dan kerapu lumpur (*Epinephelus coioides*), napoleon (*Heilinus undulates*) (Sukadi, 2005).

Kerapu macan umumnya dikenal dengan istilah “groupers” dan mempunyai peluang pasar baik dipasaran domestik maupun pasaran internasional, selain nilai jual yang cukup tinggi (Anonymous, 2012^a).

Permintaan pasar akan komoditas ini stabil bahkan cenderung meningkat dari tahun ke tahun. Dengan demikian pengembangan usaha budidaya ikan kerapu ini mempunyai prospek yang cukup baik. Namun kendala utama dalam budidaya ikan kerapu ini adalah tingkat mortalitas yang tinggi ketika dalam proses pemeliharaan sampai panen. Salah satu penyebab utama kematian yang tinggi pada budidaya ikan kerapu adalah karena serangan penyakit ikan yang dapat menyebabkan kematian secara massal (Prajitno, 2008).

Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan kerapu adalah *Vibrio* spp. Serangan bakteri *Vibrio* spp yang pathogen pada ikan kerapu yaitu *V. harveyi*. Tingkat penyerangan bakteri *V. harveyi* pada pembenihan ikan kerapu macan dapat dihitung dalam beberapa jam. Penyerangan bakteri *Vibrio* ini dapat mengakibatkan hancurnya organ dalam benih ikan, dan adanya luka pada bagian kulit (Moriati, 1997).

Usaha pengendalian penyakit bakterial pada budidaya ikan kerapu selama ini masih tertumpu pada penggunaan bahan kimia dan obat-obatan antibiotik. Penggunaan obat-obatan atau antibiotik mempunyai beberapa keuntungan mudah didapat dan efeknya lebih cepat teramati. Namun demikian, penggunaan obat-obatan atau antibiotik secara terus-menerus akan menimbulkan masalah, yaitu timbulnya resistensi, adanya residu pada tubuh ikan. Salah satu alternatif untuk mengatasi masalah ini dilakukan dengan memanfaatkan ekstrak kayu batu (*Alstonia acuminata*) sebagai immunostimulan. Menurut Heyne (1988), berdasarkan penelitian pendahuluan untuk pengujian daya tahan tubuh ikan kerapu macan terhadap bakteri *V. harveyi* menggunakan *A. scholaris* dan *A. acuminata*, ternyata *A. acuminata* yang memiliki daya hambat lebih besar (15 mm) dibanding *A. scholaris* (12 mm). Mekanisme yang menyebabkan penghambatan dalam pertumbuhan bakteri adalah kandungan yang terdapat dalam ekstrak kayu batu (*Alstonia acuminata*) yang dapat meningkatkan jumlah leukosit dari $4,53 \times 10^6$ sel/mm³ menjadi $6,7 \times 10^5$ sel/mm³.

Kayu pule batu (*Alstonia acuminata*) atau (*Alstonia spectabilis* B. Br) adalah jenis tanaman herbal yang dikenal sebagai tanaman darat yang telah lama digunakan masyarakat sebagai obat tradisional. Secara tradisional, kulitnya dimanfaatkan untuk penyakit lever, malaria, asma dan sakit perut (Anonymous, 2012^b).

Penelitian mengenai penggunaan tanaman darat dari genus *Alstonia* untuk jenis misalnya *A. scholaris* telah banyak dilakukan, namun untuk jenis *A. acuminata* masih jarang diteliti. Berdasarkan uraian diatas diperlukan upaya penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kayu batu (*Alstonia acuminata*) pada benih ikan kerapu macan yang dilihat dari struktur jaringan insang dan hati melalui pengamatan histologi.

1.2 Perumusan Masalah

Ikan kerapu macan merupakan salah satu spesies kerapu dengan nilai ekonomi tinggi dan mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan sebagai ikan budidaya karena mempunyai harga jual yang cukup tinggi dan bernilai ekspor. Kerapu macan merupakan komoditas perikanan laut yang bernilai tinggi dan menjadi salah satu komoditas unggulan di Indonesia. Selama ini budidaya ikan kerapu keterbatasan benih baik dalam kualitas, kuantitas, maupun kontinuitas. Akibat rendahnya sintasan pada pembenihan karena adanya infeksi bakteri patogen yang pada kondisi puncak wabah dapat menyebabkan mortalitas sampai 100% (Triana, 2010)

Dalam budidaya ikan kerapu macan serangan penyakit yang sering menyerang adalah bakteri *V. harveyi*. Usaha pengendalian penyakit bakterial pada budidaya ikan kerapu selama ini masih tertumpu pada penggunaan bahan kimia dan obat-obatan antibiotik. Penggunaan bahan kimia dan obat-obatan antibiotik secara terus-menerus dapat menimbulkan masalah yaitu resistensi. Oleh karena itu, alternatif yang digunakan untuk mengatasi masalah tersebut adalah dengan memanfaatkan ekstrak kayu batu (*Alstonia acuminata*) yang mengandung ekitamin dan vitamin sebagai penghasil immunostimulan yang diharapkan dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh ikan, sehingga mampu menurunkan kemungkinan berkembangnya penyakit yang menyerang organisme khususnya pada benih ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang dilihat dari struktur jaringan insang dan hati melalui pengamatan histologi.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *A.acuminata* yang digunakan sebagai immunostimulan dengan dosis yang

berbeda dilihat dari histologi atau jaringan insang dan jaringan hati ikan kerapu macan (*E. fuscoguttatus*).

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah diharapkan dapat memberikan informasi mengenai keberadaan *A. acuminata* sebagai penghasil immunostimulan dapat meningkatkan sistim pertahanan tubuh ikan, sehingga mampu menurunkan kemungkinan berkembangnya penyakit yang menyerang organismme khususnya pada benih ikan kerapu macan (*E. fuscoguttatus*). Meningkatnya sistim pertahanan tubuh ikan kerapu macan dapat dilihat dari histologi atau jaringan insang dan hati ikan kerapu macan (*E. fuscoguttatus*).

1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga tidak ada pengaruh pemberian ekstrak *Alstonia acuminata* sebagai imunstimulan ditinjau dari histologi benih ikan kerapu macan (*E. fuscoguttatus*).

H_1 : Diduga ada pengaruh pemberian ekstrak *Alstonia acuminata* sebagai imunstimulan ditinjau dari histologi benih ikan kerapu macan (*E. fuscoguttatus*)

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilaksanakan di Unit Pengelola Budidaya Laut Probolinggo (UPBL) Jawa Timur pada bulan November 2011 – Maret 2012.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi kerapu macan (Gambar 1) menurut Lagler, (1962) dalam Antoro, (1998) adalah sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Osteichthyes
Sub kelas	: Actinopterygi
Bangsa	: Perciodea
Suku	: Serranidae
Marga	: Epinephelus
Jenis	: <i>Epinephelus fuscoguttatus</i>



Gambar 1. Ikan Kerapu Macan (*E. fuscoguttatus*) (Anonymous, 2012^b)

Kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) mempunyai bentuk badan yang memanjang gepeng (*compressed*) atau agak membulat, mulut lebar serong ke atas dengan bibir bawah menonjol ke atas. Rahang bawah dan atas dilengkapi dengan gigi-gigi geratan berderet dua baris, lancip dan kuat serta ujung luar bagian depan adalah gigi-gigi terbesar. Sirip ekor umumnya membulat

(rounded), sirip punggung memanjang dimana bagian jari-jarinya yang keras berjumlah kurang lebih sama dengan jari-jari lunaknya, jari-jari sirip yang keras berjumlah 6-8 buah, sedangkan sirip dubur berjumlah 3 buah, jari-jari sirip ekor berjumlah 15-17 dan bercabang dengan jumlah 13-15. Perut bagian bawah agak keputihan dan pada badannya terdapat titik berwarna merah kecoklatan serta tampak pula 4-6 baris warna gelap yang melintang hingga ke ekornya. (Antoro, 1998).

Ikan kerapu bentuk tubuhnya agak rendah, moncong panjang memipih dan menajam, maxillary lebar diluar mata, gigi pada bagian sisi dentary 3 atau 4 baris, terdapat bintik putih coklat pada kepala, badan dan sirip, bintik hitam pada bagian dorsal dan posterior (Koesharyani, 1999).

Kaerapu macan memiliki sifat hermaphrodit protogini (*protogynous hermaphrodite*) yang berarti setelah mencapai ukuran tertentu akan berganti kelamin (*change sex*) dari betina dewasa menjadi jantan. Transformasi dari betina menjadi jantan peralihan kelamin ini dapat dipercepat dengan bantuan *methyl testeron* secara oral (Ghufron dan Kordi, 2001)

2.1.2 Habitat Ikan Kerapu Macan (*E. fuscoguttatus*)

Ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) habitatnya di daerah karang, maka sering disebut ikan karang dan termasuk salah satu jenis ikan buas (*carnivore*). Ikan kerapu akan sangat baik pertumbuhannya bila dipelihara pada air laut dengan pH berkisar antara 8,0 sampai 8,2. Habitat benih ikan kerapu macan adalah pantai yang banyak ditumbuhi algae jenis *reticulata* (Tampubolon dalam Mulyadi, 2009).

Benih kerapu macan dapat hidup di perairan karang pantai dengan kedalaman 0,5-3 meter, selanjutnya menginjak masa dewasa beruaya ke perairan yang lebih dalam antara 7-40 meter, biasanya ruaya ini berlangsung pada siang dan senja hari. Telur dan larva bersifat pelagis sedangkan kerapu

muda hingga dewasa bersifat demersal. Habitat favorit larva dan kerapu lumpur muda adalah perairan pantai dekat muara sungai dengan dasar pasir berkarang yang banyak ditumbuhi padang lamun (Antoro dan Widiastuti, 2004).

2.1.3 Kualitas Air Untuk Ikan Kerapu Macan (*E. fuscoguttatus*)

1. Oksigen Terlarut

Menurut Ghufron dan Kordi (2001), kelarutan oksigen (O_2), merupakan factor lingkungan yang terpenting bagi pertumbuhan ikan kerapu di tambak. Kandungan oksigen yang rendah dapat menyebabkan ikan kehilangan nafsu makan, sehingga mudah terserang penyakit dan pertumbuhannya lambat. Bagi pembesaran ikan kerapuk ditambak, jumlah oksigen terlarut optimal tidak boleh kurang dari 4 ppm. Menurut Antoro dan Widiastuti, (2004), untuk pertumbuhan ikan kerapu kandungan oksigen terlarut lebih besar dari 3,5 ppm.

2. Derajat Keasaman (pH)

Ikan kerapu biasa hidup diperairan karang dengan pH 7,6 – 8,7 (Anonymous, 2012^e). Menurut Ghufron dan Kordi (2001), menyatakan bahwa untuk budidaya ikan kerapu paling baik diperairan dengan pH 7,6 – 8,9 yang merupakan kisaran umum pH air laut.

3. Salinitas

Salinitas (kadar garam) merupakan konsentrasi garam dalam air laut. Salinitas ini berpengaruh terhadap tekanan osmotik sel tubuh. Ikan kerapu macan (*E. fuscoguttatus*) umumnya menyukai salinitas 30 – 35 ppt (Ghufron dan Kordi, 2001). Menurut Antoro dan Widiastuti, (2004), salinitas 30 – 33 ppt cocok untuk pertumbuhan ikan kerapu.

4. Suhu

Suhu yang paling optimal untuk ikan kerapu adalah 27 – 32 °C (Ghufron dan Kordi, 2001). Menurut Antoro dan Widiastuti, (2004), suhu 24 – 31 °C cocok untuk pertumbuhan ikan kerapu.

2.1.4 Penyakit Yang Sering Menyerang Kerapu Macan (*E. fuscoguttatus*)

Budidaya ikan kerapu terkendala adanya keterbatasan benih baik dalam kualitas, kuantitas, maupun kontinuitas. Akibat rendahnya sintasan pada pembenihan karena adanya infeksi bakteri patogen yang pada kondisi puncak wabah dapat menyebabkan mortalitas sampai 100%. Bakteri yang mampu menyebabkan penyakit pada ikan kerapu (patogen) terdiri dari anggota spesies *Vibrio anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi* dan *V. marinus*. Bakteri-bakteri tersebut menyebabkan kematian pada ikan laut hingga mencapai 80-90% (Triana, 2010)

Penyebab kematian benih ikan kerapu macan di hatcheri di antaranya karena penyakit infeksi virus. Penyakit infeksi virus yang menimbulkan kematian massal pada benih ikan kerapu adalah jenis dari *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dan virus irido (Jhonny *et al.*, 2010).

2.2 *Alstonia acuminata*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan darat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Gentinales
Suku	: Apocynaceae
Marga	: <i>Alstonia</i>
Spesies	: <i>Alstonia acuminata</i> (Anonymous, 2012 ^o)



Gambar 2. Tumbuhan *Alstonia acuminata* (Pratyush, 2001)

Pule (*Alstonia acuminata*) adalah pohon evergreen tropis yang umum ditemukan di Asia selatan. Sejauh ini hampir semua bagian tanaman seperti batang, daun, kulit dan akar bersifat sebagai antimikroba. Berbagai alkaloid (ditamine dan ekitamine) juga ditemukan di kulit kayu pule (Pratyush *et al.*, 2011). Pule juga merupakan pohon besar yang memiliki tinggi 40 m, kulit berwarna abu-abu, memiliki buah berwarna coklat dan daun lebar meruncing kearah dasar (Meena *et al.*, 2011).

Tanaman ini merupakan pohon (Gambar 2) sedang dengan ketinggian 40 m dan berbatang lurus. dibandingkan dengan jenis lainnya yang sesuku. Pulau merupakan pohon yang paling besar diantara Apocynaceae lainnya dengan diameter 40 - 60 cm. Mendeskripsikan jenis ini sebagai pohon kecil hingga besar, dengan tinggi 36 m, garis tengah hingga 80 cm (Sidiyasa dan Kessler, 1998).

Pohon, 10-40 m, batang hingga lebih dari 60 cm; tangkai daun 2-8 mm, kelopak bunga dan mahkota putih. Batang pohon kadang-kadang digunakan untuk ukiran kecil. Buah dan bunga tersedia sepanjang tahun (Soerianegara dan Lemmens, 1994).

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Tanaman pulau (*Alstonia spp*) merupakan tanaman yang bernilai ekonomis, multi fungsi dan mempunyai prospek besar untuk dikembangkan. *Alstonia acuminata* (pule batu) umumnya tersebar di daerah Ambon, *A. scholaris*

(pulai lame) banyak tersebar di seluruh daerah di Indonesia pada ketinggian 900 m di atas permukaan laut (Effendi *et al.*, 2011).

Habitat umum di hutan sampai ketinggian 450 m. Distribusi. Umum di dataran rendah, dan dalam primer dan sekunder hutan (Soerianegara dan Lemmens, 1994).

2.2.3 Manfaat Dari Kandungan Ekstrak *A. acuminata*

Berdasarkan penelitain Kulkarni (2008), menyatakan bahwa pule disebut juga sebagai kayu batu yang berasal dari tanaman hutan, tanaman ini banyak mengandung ditamine dan ekitamina yang bermanfaat sebagai imunstimulan dan antimikroba. Hal ini dibuktikan dengan meningkatnya total protein plasma pada tikus yang diberi ekstrak *Alstonia acuminata* dari 4,56 g/dl menjadi 4,82 g/dl.

Menurut Pratyush *et al.*, (2011) untuk mempelajari efek imunstimulan dari kandungan vitamin dan ekitamin yang banyak ditemukan kulit *Alstonia acuminata*, ekstrak *A. acuminata* diberikan secara oral pada tikus satu kali sehari selama 7 hari berturut-turut. Hasil dari pemberian ekstrak *A. acuminata* menunjukkan meningkatnya aktivitas fagositik imunstimulan tikus. Ekstrak *Alstonia* juga mengandung rhazimanine yang dapat menghambat pertumbuhan sel tumor. Pada manusia yang mengkonsumsi rhazimanine 4 mg/ml selama 2 minggu dapat mengurangi resiko 6,67 % tumbuhnya tumor.

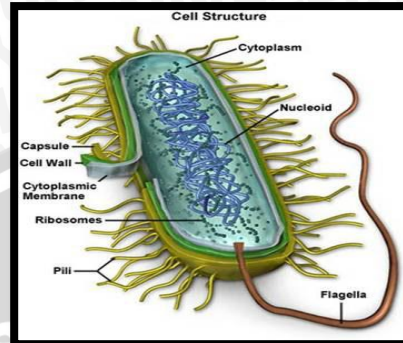
2.3 *Vibrio Harveyi*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Bergey (1962) dalam Dwidjoseputro (1998) klasifikasi dari *Vibrio harveyi* (Gambar 3) adalah sebagai berikut:

Filum	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonadales

Famili : Spirillaceae
Genus : Vibrio
Spesies : *Vibrio harveyi*



Gambar 3. *Vibrio Harveyi* (Feliatra, 1999)

Secara umum ciri-ciri *Vibrio* yaitu berbentuk koma atau batang pendek, bengkok atau lurus, bersel tunggal, mempunyai alat gerak berupa flagella kutub tunggal (monotoric flagel), termasuk gram negatif, ukuran sel $0,1 - 0,4 \mu$, tidak membentuk spora, oksidase positif, katalase positif, serta proses fermentasi karbohidratnya tidak membentuk gas (Jawestz et al., 1984 dalam Agung, 2007).

Vibrio dalam mikrofauna yang umumnya berada pada lingkungan laut estuary. Secara bakteriologi berbentuk batang bengkok dengan ukuran lebar $0,5 - 0,8 \mu$ dan panjang $1,4 - 2,6 \mu$. Sebagian besar *vibrio* berenang aktif dan geraknya disebabkan oleh gerakan rotasi flagel (Schlagel dan Schmidt, 1994)

2.3.2 Perkembangbiakan *Vibrio Harveyi*

Bakteri *vibrio* yang pathogen dapat hidup di bagian tubuh organism lain baik di luar tubuh dengan jalan menempel, maupun pada organ tubuh bagian dalam seperti hati, usus dan sebagainya. *vibrio* yang bersifat patogen yaitu dengan mengeluarkan toksin ganas dan seringkali mengakibatkan kematian pada manusia dan hewan (Feliatra, 1999).

Vibrio harveyi 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 dengan glutamate (Holt, 1997). Bakteri ini memiliki enzim oksidase yang bersifat fermentative (Rukyani *et al.*, 1992)

2.3.3 Habitat dan Penyebaran Bakteri

Bakteri *V. harveyi* termasuk jenis bakteri halofil, yaitu bakteri yang dapat hidup pada salinitas tinggi. Dapat ditemukan di habitat-habitat aquatic dengan kisaran salinitas yang luas, sangat umum pada lingkungan estuari dan laut serta terdapat pada permukaan intestinal hewan laut. Beberapa spesies ditemukan di habitat air tawar (Bauman *et al.*, 1984)

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

2.3.4 Tingkat Patogenitas

Menurut Murdjani (2002), penyakit *Vibriosis* mula-mula ditemukan oleh Canesterini pada tahun 1983 di Italia, dan pada saat ini *vibriosis* merupakan penyakit yang umum dijumpai dan merupakan masalah yang serius diseluruh usaha budidaya ikan di laut dan air payau di dunia. Berdasarkan hasil penelitian Tempo dan Susianingsih (2004) dalam Firdiansyah (2007), ditemukan sebanyak 15 spesies bakteri *Vibrio* baik pada air maupun pada tanah tambak yaitu : *V. alginolyticus*, *V. campbelhi*, *V. cholera*, *V. fishery*, *V. harveyi*, *V. marinus*, *V. mimicus*, *V. metschnikovii*, *V. natriegen*, *V. ordalli*, *V. parahaemolyticus*, *V. splendidus*, *V. tubuashi* dan *V. leiognathi*

Bakteri *Vibrio* sp. bersifat oportunistik dan merupakan bakteri yang sangat ganas dan berbahaya pada budidaya air payau dan laut karena dapat bertindak sebagai pathogen primer dan sekunder. Sebagai pathogen primer bakteri masuk kedalam tubuh ikan melalui kontak langsung, sedangkan sebagai pathogen

sekunder bakteri menginfeksi ikan yang terserang penyakit lain misalnya parasit. Faktor virulen pada *Vibrio* terutama adalah plasmid. Perbedaan jenis plasmid yang dimiliki akan membedakan tingkat keganasan (Murdjani, 2002)

Kasimo (1986), menyatakan bahwa tingkat perbedaan keganasan juga disebabkan karena perbedaan target organ dan kemampuan berkembang ditarget organ. Semakin banyak organ vital yang diserang, semakin tinggi suhu air diatas optimal dan semakin kecil ukuran ikan akan semakin tinggi tingkat kematian. Gejala yang ditimbulkan oleh penyakit *Vibriosis* tergantung tingkat serangan, yang dibedakan menjadi kronis dan akut. Beberapa gejala yang terlihat adalah punggung kehitam-hitaman, bercak merah pada pangkal sirip, sisik tegak, bergerak lambat, keseimbangan terganggu dan nafsu makan berkurang.

Menurut Ransom (1978), tanda-tanda lainnya adalah jumlah leukosit akan menurun, bakteri banyak terdapat dalam darah (*septicemia*). Ikan mati diduga karena adanya toksin, kehilangan cairan pada saluran pencernaan bagian belakang, dan tidak berfungsi sebagai organ.

2.4 Imunostimulan

2.4.1 Pengertian Imunostimulan

Imunostimulan merupakan sekelompok senyawa biologi dan sintetis yang dapat meningkatkan respon imun non-spesifik. Bahan imunostimulan dapat berasal dari biota misalnya tumbuh-tumbuhan, hewan dan makhluk hidup lainnya (Andayani, 2011). Imunostimulan adalah peningkatan kekebalan spesifik dan non spesifik yang digunakan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit ikan pada sistem budidaya dari bahan alami yang efektif, aman untuk manusia dan lingkungan (Sukenda, Jamal, Wahyuningrum dan Hasan, 2008). Sel-sel sistem imun tersebar di seluruh tubuh dan ditemukan di dalam sumsum tulang, timus,

darah, kelenjar getah bening, limpa, saluran nafas, saluran cerna, saluran urin dan jaringan. Pertahanan imun terdiri atas sistem imun non-spesifik dan sistem imun spesifik (Baratawijaya, 2004).

Sistem imun spesifik adalah sistem kekebalan khusus yang membentuk antigen dan membuat limfosit peka untuk segera menyerang dan menghancurkan organisme spesifik atau toksin (Fujaya, 2004). Sistem imun spesifik mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Benda asing yang pertama kali muncul dalam tubuh segera dikenal oleh sistem imun spesifik sehingga terjadi sensitifitas sel-sel sistem imun tersebut. Benda asing yang sama, bila muncul kembali akan dikenal lebih cepat, kemudian dihancurkan olehnya. Oleh karena sistem tersebut hanya dapat menyingkirkan benda asing yang dikenal sebelumnya, maka sistem ini disebut sistem imun spesifik (Baratawidjaja, 2004). Ada dua jenis sistem imun spesifik, yakni sistem imun spesifik imun humoral dan sistem imun spesifik selular. Sistem imun spesifik humoral sistem imun yang didapat karena tubuh membentuk antibodi yang mampu menyerang penginvasi (Fujaya, 2004) dan menurut Baratawidjaja (2004), pemeran utama dalam sistem imun spesifik humoral adalah limfosit B atau sel B. Sedangkan sistem imun spesifik selular sesuai yang dikemukakan oleh Fujaya (2004) adalah sistem imun yang dicapai melalui pembentukan limfosit dalam jumlah besar yang secara khusus menyerang penginvasi. Jadi pemeran utama sistem imun spesifik selular ini adalah limfosit T (Baratawidjaja, 2004).

Sistem imun non-spesifik adalah mekanisme fisiologi imunitas non-spesifik berupa komponen normal tubuh yang selalu ditemukan pada individu sehat dan siap mencegah mikroba masuk tubuh dan dengan cepat menyingkirkan mikroba tersebut, non-spesifik karena tidak ditujukan terhadap mikroba tertentu. Mekanismenya tidak menunjukkan spesifitas terhadap bahan

asing dan mampu melindungi tubuh terhadap banyak patogen potensial. Sistem imun spesifik mempunyai kemampuan untuk mengenal benda yang dianggap asing bagi dirinya. Untuk menghancurkan benda asing yang berbahaya bagi tubuh, sistem imun spesifik dapat bekerja tanpa bantuan sistem imun non-spesifik (Baratawijaya, 2004). Kedua sistem terjalin erat, dan keduanya melibatkan partisipasi sel-sel dan faktor-faktor yang dapat larut yang dapat berpindah-pindah (Sibernagl, 1990).

Salah satu upaya pencegahan infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) di hatcheri adalah dengan cara meningkatkan respon imun non-spesifik ikan dengan menggunakan imunostimulan. Imunostimulan merupakan sekelompok senyawa biologi dan sintetis yang dapat meningkatkan tanggap kebal spesifik dan non-spesifik (Jhonny *et al.*, 2007).

Tanda awal dari respon imun adalah *inflamasi* yang merupakan reaksi dari tubuh terhadap injuri seperti invasi agen infeksius. Terjadi proses ini dapat ditandai dengan tiga hal yaitu pertama terjadi peningkatan aliran darah kedaerah infeksi, kedua peningkatan permeabilitas kapiler yang menyebabkan reaksi sel endothel, sehingga terjadi reaksi silang antara molekul besar dan sel endothelial dan ketiga adalah terjadi migrasi leukosit dan magrofag dari kapiler ke jaringan sekitar (Rantam, 2003).

2.4.2 Pemberian Imunostimulan

Aplikasi imunostimulan lebih baik jika diberikan pada ikan muda karena sistem kekebalan tubuh non spesifik terus berkembang, hal ini sesuai dengan Mac Arthur dan Fletcer (1985) dalam Firdiansyah (2007) yang menyebutkan bahwa pada ikan-ikan muda system kekebalan non spesifik lebih menonjol karena organ-organ limfoid masih dalam perkembangan sehingga imunostimulan dapat dipergunakan sehingga alternative pencegahan penyakit pada benih ikan kerapu macan selain vaksinasi. Menurut Jhonny *et al.*, (2001) aplikasi

imunostimulan sudah banyak diterapkan pada beberapa jenis ikan baik melalui pakan, perendaman maupun melalui suntikan. Imunostimulan sudah terbukti efektif meningkatkan ketahanan udang terhadap penyakit.

Menurut Galindo dan Hosokawa (2004), kondisi dan metode pemeliharaan yang berbeda telah memberikan cara berbeda dalam penerapan pemberian imunostimulan. Metode dasar pemberian imunostimulan umumnya melalui tiga metode yaitu penyuntikan, perendaman dan oral. Metode pemberian imunostimulan pada ikan dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini :

Tabel 1. Metode pemberian imunostimulan pada ikan

Cara	Dosis	Waktu Ekspos
Penyuntikan	Bervariasi	1 atau 2 dosis
Perendaman	2-10 mg/l	10 menit sampai beberapa jam
Oral	0,01-4%	Beberapa hari atau lebih

Sedangkan untuk kelebihan dan kekurangan metode pemberian imunostimulan dapat dilihat dari Table 2 berikut ini :

Tabel 2. Kelebihan dan kekurangan metode pemberian imunostimulan

Metode	Kelebihan	Kekurangan
Penyuntikan	Cara imunostimulan paling efektif, hemat untuk ikan besar.	Pemeliharaan intensif, butuh tenaga ekstra. Potensi ikan untuk stres tinggi. Berat ikan harus >10-15g.
Perendaman	Dilakukan pada ikan kecil (<5g). Metode paling ekonomis pelaksanaan perendaman non-stressing.	Cocok untuk budidaya intensif. Keampuhan dibawah metode injeksi. Pengangkatan ikan berpotensi menimbulkan stres.
Oral	Tidak berpotensi menimbulkan stres. Dapat digunakan pada segala ukuran ikan. Butuh sedikit tenaga dan biaya.	Keampuhan rendah. Butuh banyak bahan imunostimulan untuk mencapai tingkat proteksi.

2.5 Histologi

2.5.1 Pengertian Histologi

Menurut Bevelander dan Ramaley (1988) histologi berasal dari bahasa Yunani (histos yaitu jaringan) adalah suatu ilmu yang menguraikan struktur dari hewan serta tumbuhan secara rinci, dan hubungan antara struktur pengorganisasian sel dan jaringan dan fungsi-fungsi yang mereka lakukan.

Histologi struktur tubuh dan organ ikan secara umum sama dengan hewan bertulang belakang tingkat tinggi. Akan tetapi, ikan diperairan memiliki spesifik karakteristik morfologi dan fisiologi yang berbeda dengan hewan darat. Jaringan ikan terkadang berbeda dengan jaringan pada manusia dan jenis binatang lain (Hibiya, 1982).

2.5.2 Pembuatan Preparat Dalam Histologi

Cara pembuatan sediaan histologi ikan menurut Vinterana (2008) diawali dengan proses biopsi dan otopsi jaringan ikan. Jaringan yang dapat diambil seperti otak, hati, jantung, limpa, ginjal, usus, kulit, sirip, insang, mata, dan daging. Proses selanjutnya adalah fiksasi dengan tujuan menghentikan metabolisme secara cepat, mencegah kerusakan jaringan, mengeringkan materi materi yang lembek, larutan fiksasi yang digunakan adalah formalin 10% dan Davidson's dengan perbandingan antara larutan fiksasi dengan jaringan 1;10 selama 24 sampai 48 jam.

Tahapan setelah jaringan difiksasi adalah tissue processing dengan menggunakan alat automatic tissue processor, laju proses yang terjadi didalam alat ini ada tiga tahap yaitu "dehydration" yang bertujuan mengeluarkan air didalam jaringan, proses ini dilakukan secara bertahap tapi tuntas, larutan yang digunakan untuk proses ini adalah alkohol dengan presentase meningkat mulai dari alkohol 70%, 80%, 85%, dan 100%. Proses selanjutnya adalah tahap

“clearing”, tahapan ini dilakukan bila kita menggunakan paraffin sebagai media tanam, larutan yang digunakan adalah xylene.

Proses selanjutnya adalah embedding, dalam teknik ini pertama-tama yang harus diperhatikan adalah posisi jaringan yang sebelumnya telah diletakkan didalam cetakan khusus, pengaturan posisi jaringan didalam cetakan nantinya akan sangat berpengaruh pada penampakan/ penampilan jaringan tersebut saat diamati dengan mikroskop. Setelah pengaturan posisi selesai dilanjutkan dengan penuangan paraffin kedalam cetakan yang sebelumnya telah dicairkan didalam wax dispenser dengan suhu 45°C, langkah selanjutnya adalah penutupan cetakan dengan cassette yang tadinya sudah diberi tanda, hal yang perlu diperhatikan dalam tahapan ini adalah diusahakan agar cassette juga terendam dengan parafin sampai dengan batas yang terdapat pada casete dan setelah itu kemudian parafin didinginkan sampai mengeras dan setelah itu jaringan tersebut dikeluarkan dari cetakan.

Proses selanjutnya setelah embedding adalah pemotongan *sectioning* jaringan yang bertujuan untuk menghasilkan hasil pemotongan antara 5-8 μm dengan menggunakan alat yang dinamakan mikrotom. Blok paraffin diletakkan pada holder, permukaan blok dipotong bagian tepinya sehingga hanya disisakan bagian paraffin yang ada jaringanya. Setelah diatur sedemikian rupa agar permukaan sayatan sejajardengan mata pisau, setelah dipotong hasil dari pemotongan yang tipis menyerupai pita ditaruh diatas permukaan alkohol 50% dimana didalam tempat itu telah tersedia slide glass, jadi ketika slide glass diangkat, jaringan juga akan ikut melekat pada slide glass, langkah selanjutnya supaya pita sayatan tersebut tidak jatuh saat pewarnaan, slide tersebut dihangatkan dengan Bunsen agar sisa-sisa paraffin didekat jaringan yang terpotong melekat pada slide glass, dan langkah selanjutnya adalah pewarnaan.

Pewarnaan perlu dilakukan karena objek dengan ketebalan 5 mikrometer.

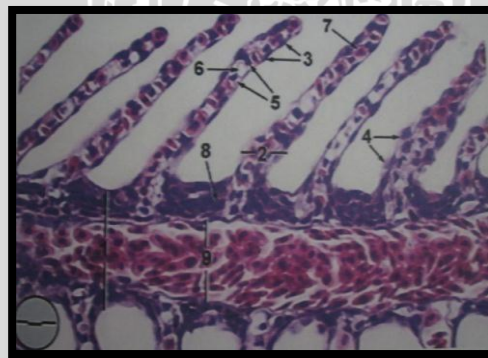
Hematoxylin akan memberi warna biru pada nukelus, sementara eosin memberi warna merah muda pada sitoplasma.

2.6 Insang

2.6.1 Pengertian Insang

Insang merupakan komponen penting dalam pertugaran gas (oksigen) hampir pada semua jenis ikan. Pada insang juga terjadi proses penyaringan makanan yang akan masuk kedalam tubuh ikan, jika material yang masuk bukan makanan maka akan dibuang melalui celah insang (Fujaya, 2004)

Menurut Kurniasih (1999) insang terdiri atas 2 set dari 4 holobranch yang membentuk dinding pharynx. Tiap holobranch terdiri atas 2 hemibranch yang masing-masing mempunyai filament tipis dan panjang yang menjulur keluar. Permukaan lamella 1 diperluas dengan adanya tonjolan sepanjang permukaan dorsal dan ventral. Lamella 2 mempunyai selapis sel epitel yang tebal dan ditunjang oleh sel pilar.



Gambar 4. Bagian Dari Insang Ikan Kerapu Macan. (1) lamella primer, (2) lamella sekunder, (3) sel epitel, (4) sel mucus, (5) sel tiang, (6) rongga kapelir (lakuna), (7) eritrosit tanpa rongga kapiler, (8) sel basal tidak terdiferensiasi, dan (9) sinus venous tengah. Perbesaran 100x (Barlianto, 2008).

2.6.2 Fungsi Dari Insang

Pada umumnya dalam insang ikan bertulang sejati terdapat empat pasang lengkung insang, dan lima sampai tujuh pasang lengkung insang pada

Chondrichthyes. Pada lengkung insang bagian depan terdapat tapis insang dan di bagian belakang terdapat filamen insang. Selain untuk pernapasan, tapis insang juga melindungi filament insang yang lembut dari kikisan material yang masuk, dan menghalangi material yang dimakan keluar melalui insang (Rahardjo, 2011).

Insang merupakan komponen penting dalam pertukaran gas. Insang terbentuk dari lengkungan tulang rawan yang mengeras, dengan beberapa filamen insang didalamnya. Tiap-tiap filament insang terdiri atas banyak lamella, yang merupakan tempat pertukaran gas. Tugas ini ditunjang oleh struktur lamella yang tersusun atas sel-sel tiang sebagai penyangga pada bagian dalam. Pinggiran lamella yang tidak menempel pada lengkung insang sangat tipis, ditutupi oleh epitelium dan mengandung jaringan pembuluh darah kapiler (Fujaya 2004).

2.6.3 Kerusakan Yang Terjadi Pada Insang

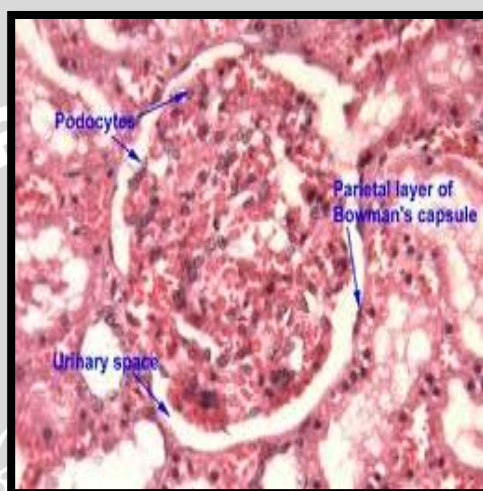
Kerusakan insang biasanya ditandai dengan pembesaran sel-sel pada insang. Dan terjadinya pembengkakan pada lamella sekunder karena terjadi proses edema hipertropi. Edema hipertropi lamella sekunder yaitu penimbunan cairan yang berlebihan di ruang interseluler sekaligus peningkatan ukuran sel pada lamella sekunder (Kurniasih, 1999 *dalam* Barlianto, 2008).

Ikan yang mengalami hipertropi dan hiperlasia apabila terjadi kerusakan pada insang. Hipertropi adalah pembengkakan dari suatu jaringan, organ, atau bagian tertentu dari tubuh yang biasanya terjadi pada lamella insang. Sedangkan hiperlasia yaitu meningkatnya ukuran sel pada lamella insang (Kurniasih, 1999).

2.7 Hati

2.7.1 Pengertian Hati

Hati merupakan kelenjar terbesar didalam tubuh, konsistennya lunak dan terletak di bawah diafragma dalam rongga abdomen atas. Hati terletak diantara vena dalam system pencernaan, hati mudah rusak oleh bahan-bahan toksis yang diserap (Leeson, Roland, Thomas dan Anthony, 1995).



Gambar 5. Hati Ikan Kerapu Macan Perbesaran 100x (Anonymaus⁶, 2012)

Hati adalah kelenjar campuran yang dikelilingi oleh kapsul yang tipis jaringan ikat, kapsul Glisson, parenkim yang terdiri lobulus dan lobuli. Hati memiliki dua jenis irigasi : satu dibentuk oleh arteri hepatika, yang menyediakan darah arteri ke kelenjar dan yang lainnya berasal dari vena portal, yang membawa darah dari esophagic dan gastrointestinal tracts ke limpa dan pancreas (Petcoff, 2006).

2.7.2 Fungsi Dari Hati

Hati merupakan organ vital yang berfungsi sebagai detoksifikasi dan mensekresikan bahan kimia yang digunakan untuk proses pencernaan. Hati berperan penting dalam proses metabolisme dan transformasi bahan pencemar dari lingkungan (Setyowati, Dewi dan Nurlita, 2010).

Fungsi hati bermacam-macam. Hati penting untuk metabolisme lipid, karena lipid diangkut di dalam darah sebagai lipoprotein, dan lipoprotein ini dibentuk didalam hati. Hati juga menawarkan berbagai bahan toksik dalam edaran darah (Leeson, 1995).

2.7.3 Kerusakan Yang Terjadi Di Hati

Kerusakan jaringan sel atau organ hati biasanya meliputi degenerasi melemak hati merupakan akumulasi lemak yang bersifat abnormal didalam sitoplasma dari sel-sel ber-parenchym. Perubahan yang terjadi biasanya ditandai dengan adanya vacuole yang besarnya bervariasi. Infiltrasi melemak hati ditandai dengan adanya lemak di dalam sel-sel adiposus yang ditimbun di dalam jaringan yang secara normal tidak mengandung lemak. Infiltrasi glikogen ditandai oleh adanya timbunan yang abnormal dari glikogen di dalam sel, perubahan yang terjadi biasanya sel-sel yang terkena akan membengkak terlihat adanya vacuole yang jelas di dalam sitoplasma. Nekrosis adalah kematian yang terjadi secara cepat pada bagian yang terbatas pada suatu jaringan dari individu tertentu saat masih hidup. Macam-macam nekrosis antara lain : nekrosis koagulasi, nekrosis kaseosa, nekrosis likuafatif dan nekrosis fokal (Kurniasih, 1999).

Hati berperan penting dalam proses metabolisme dan transformasi bahan pencemar dari lingkungan. Dengan demikian hati merupakan organ yang paling banyak mengakumulasi zat toksik sehingga mudah terkena efek toksik. Sebagian zat toksik yang masuk ke dalam tubuh setelah diserap oleh sel akan dibawa ke hati oleh vena porta hati, sehingga hati berpotensi mengalami kerusakan. Dengan adanya zat toksik maka dapat mempengaruhi struktur histologi hati sehingga dapat mengakibatkan patologi hati seperti pembengkakan sel, rangkaian nekrosis atau bridging necrosis, degenerasi intralobular dan fokal nekrosis, fibrosis, dan cirrhosis (Setyowati *et al.*, 2010).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat-alat Penelitian

Adapun peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut (Lampiran 1):

- Bak plastik volume 30 liter
- Aerator
- Filter
- Alat section set
- Botol film
- Sesar
- Termometer
- Refraktometer
- Selang
- Mikroskop

3.1.2 Bahan-bahan Penelitian

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut (Lampiran 1):

- Ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscogutattus*)
- Biakan murni bakteri *Vibrio harveyi* (Lampiran 2)
- Ekstrak *A.acuminata*
- Formalin 10 % (Lampiran 3)
- Tissue
- Kertas label

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental, dimana metode ini merupakan metode penelitian yang memungkinkan peneliti memanipulasi variabel dan meneliti akibatnya. Metode eksperimental ini bertujuan untuk mencari hubungan sebab akibat dengan memanipulasi satu atau lebih variabel pada satu atau lebih kelompok eksperimental dan membandingkan hasilnya dengan kelompok kontrol yang tidak mengalami manipulasi (Hasan, 2002).

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung, yaitu penyelidik mengadakan pengamatan terhadap gejala-gejala subyek yang diselidiki baik secara langsung dalam situasi yang sebenarnya maupun dalam situasi buatan atau dengan perantara sebuah alat, baik alat yang sudah ada maupun yang sengaja dibuat untuk keperluan khusus (Surachmad, 1998).

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, rumah kaca dan peternakan. Karena media homogen, maka media atau tempat percobaan tidak mempengaruhi pada respon yang diamati (Sastrosupadi, 2000).

Model untuk RAL adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

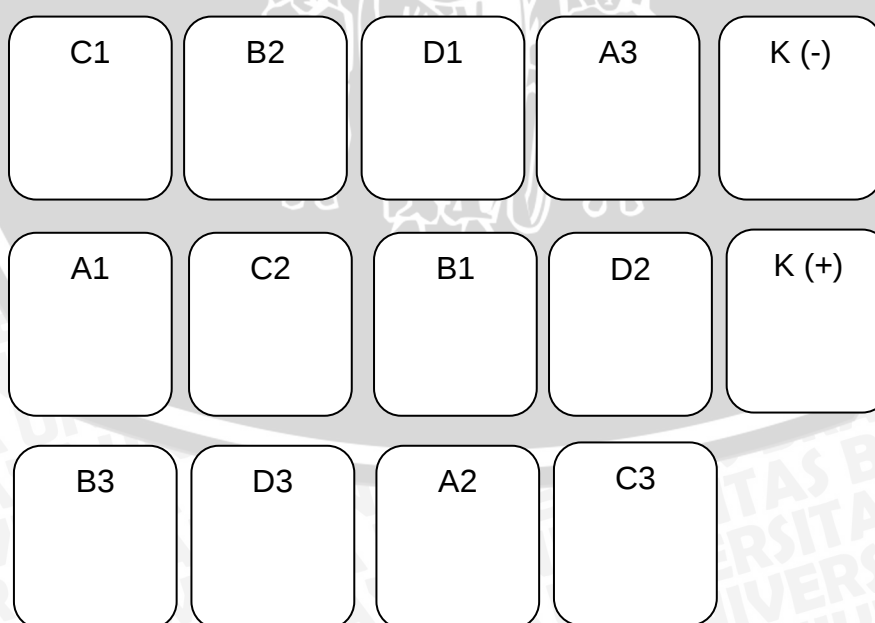
Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = nilai rata-rata

T_i = pengaruh perlakuan ke-i

ϵ_{ij} = pengaruh kesalahan (galat) percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Penelitian ini dilakukan menggunakan 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan pada masing-masing perlakuan dan ditambah dengan kontrol. Perlakuan yang diberikan adalah pemberian ekstrak *Alstonia acuminata* dengan dosis yang berbeda. Pada uji pendahuluan digunakan dosis 10, 100 dan 1000 ppm. Dari uji pendahuluan tersebut didapatkan dosis 100 ppm, sehingga pada saat penelitian dosis yang digunakan yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm, dengan kepadatan bakteri yang diberikan pada saat penelitian adalah 10^7 untuk masing-masing perlakuan. Empat perlakuan ekstrak *Alstonia acuminata* tersebut akan diamati pengaruhnya terhadap histologi insang dan hati ikan kerapu macan (*E. fuscoguttatus*). Penempatan perlakuan dilakukan secara acak dengan denah penelitian seperti pada Gambar 6.



Gambar 6 : Denah penelitian (Hasil pengacakan)

Keterangan :

A : Perlakuan Dosis 50 ppm

B : Perlakuan Dosis 100 ppm

C : Perlakuan Dosis 150 ppm

D : Perlakuan Dosis 200 ppm

K (-) : Kontrol Bakteri

K (+) : Kontrol (Normal)

1,2,3,4 : Ulangan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan ekstrak *Alstonia acuminata*

- Kulit kayu *Alstonia acuminata* sebanyak 273,86 gr dipotong kecil-kecil dan diangin-anginkan.
- Dihaluskan dengan blender
- Dimaserasi 3 x 24 jam dengan 2,5 L methanol
- Disaring dan dipekatkan dengan *evaporator* $\pm 40^{\circ}\text{C}$
- Dipartisi dengan 4x100 mL *n*-heksan- H_2O
- Diperoleh hasil sebanyak 4,0248 gr

3.4.2 Sterilisasi Bak-bak Percobaan

- Bak plastik yang akan digunakan dipersiapkan terlebih dahulu
- Bak plastik di cuci dengan deterjen sampai debu dan kotoran-kotoran yang melekat hilang, kemudian dibilas dengan air sampai bersih dan bau deterjen hilang
- Bak plastik dikeringkan sampai kering
- Bak plastik disusun berdasarkan denah percobaan (Lampiran 4)
- Masing-masing bak plastik diisi dengan air sebanyak 20 liter

- Bak plastik yang telah diisi air kemudian diberi aerasi

3.4.3 Persiapan Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)

Ikan kerapu macan dimasukkan kedalam bak plastik yang sudah diisi air dan diberi aerasi sebanyak 6 ekor untuk setiap bak plastik.

3.4.4 Perlakuan Menggunakan Ekstak *A. acuminata*

- Ikan yang telah dimasukkan kedalam bak plastik direndam ekstrak *A. acuminata* dengan dosis 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm, dibiarkan selama 1 jam. Perendaman 1 jam diperoleh hasil dari uji pendahuluan yang dilakukan, perendaman lebih dari 1 jam mengakibatkan ikan mati.
- Setelah 1 jam ikan diambil dan dimasukkan kedalam wadah pemeliharaan. Ikan yang direndam ekstrak *A. acuminata* dengan dosis 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm ditempatkan di tempat yang terpisah
- Dalam setiap perlakuan, dilakukan ulangan sebanyak 3 kali

3.4.5 Perlakuan Menggunakan Bakteri *Vibrio harveyi*

- Ikan yang telah direndam ekstrak *A. acuminata* diberi bakteri *Vibrio harveyi* dengan kepadatan 10^7 untuk setiap dosis.
- Ikan dipelihara selama 7 hari

3.4.6 Pengambilan Jaringan Insang dan Hati

- Setelah pemeliharaan selama 7 hari ikan dilakukan pembedahan ikan menggunakan section set
- Diambil jaringan insang dan hati
- Dimasukkan kedalam botol film yang telah diisi dengan alkohol 10 % kemudian dibuat preparat (Lampiran 5)

- Preparat yang sudah jadi diamati dibawah mikroskop

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama dari penelitian ini adalah pengamatan histologi ikan kerapu macan (*E. fuscoguttatus*). Pengamatan ini dilakukan untuk melihat gambaran antara jaringan insang dan hati pada ikan yang tanpa perlakuan ekstrak, pemberian ekstrak dan setelah diinfeksi setelah pemeliharaan 7 hari.

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang penelitian ini adalah kualitas air dan total leukosit dalam darah ikan kerapu macan (*E. fuscoguttatus*).

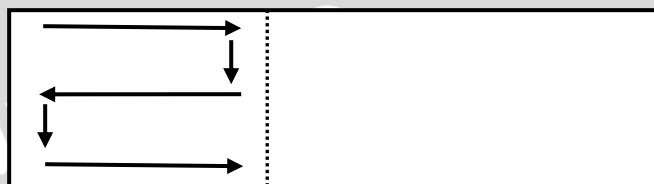
3.6 Analisa Data

Analisis data kelulushidupan dan jumlah kerusakan jaringan dilakukan secara statistik mempergunakan program SPSS 16 for windows. Data yang didapatkan terlebih dahulu di uji kenormalannya menggunakan *kolmogorov-smirnov*. Apabila $\text{sig} > 0,05$ maka dilanjutkan analisis keragaman menggunakan ANOVA sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur. Apabila hasil uji berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji Tukey atau BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perbedaan antar dua perlakuan. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil kelulushidupan (SR) dan jumlah kerusakan jaringan, digunakan uji polynomial orthogonal yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan terbaik.

Untuk mengetahui tingkat kerusakan jaringan insang dan hati ikan kerapu macan yang telah diberi imunostimulan ekstrak *A. acuminata* dengan dosis yang

berbeda maka dilakukan analisis statistik pemberian skoring dengan metode semi kuantitatif (Gaspersz, 1991 *dalam* Santoso dan Nurliani, 2005).

Menurut Kakkilaya (2002) yang digunakan untuk menghitung jumlah area yang terwarnai dilakukan secara manual dengan menghitung persentasenya. Pembacaan dimulai dari tepi kiri (sesuai dengan posisi ekor preparat) ke arah kepala kemudian turun kebawah dan kearah ekor kembali (gerak zigzag) dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Alur Perhitungan Skoring (Gerak Zigzag) (Kakkilaya, 2002)

Pada metode semi kuantitatif dilihat dari luas bidang pandang sehingga mendapatkan hasil yang maksimal pada tingkat kerusakan jaringan. Setiap bidang lapang pandang diamati kemudian dpersentasekan dengan pemberian skor dari angka 1 sampai 4. Angka 1 mempunyai tingkat presentase kerusakan jaringan 0-5%, angka 2 mempunyai tingkat presentase kerusakan jaringan 6-25%, angka 3 mempunyai tingkat presentase kerusakan jaringan 26-50% dan 4 mempunyai tingkat presentase kerusakan jaringan >50% (Siswandari *dalam* Izzah, 2011)

Berdasarkan gambar irisan jaringan dilakukan perhitungan jumlah sel yang mengalami kerusakan berdasarkan jenis dan jumlah, dengan menggunakan rumus perhitungan kerusakan sel yang digunakan Kim (2006) :

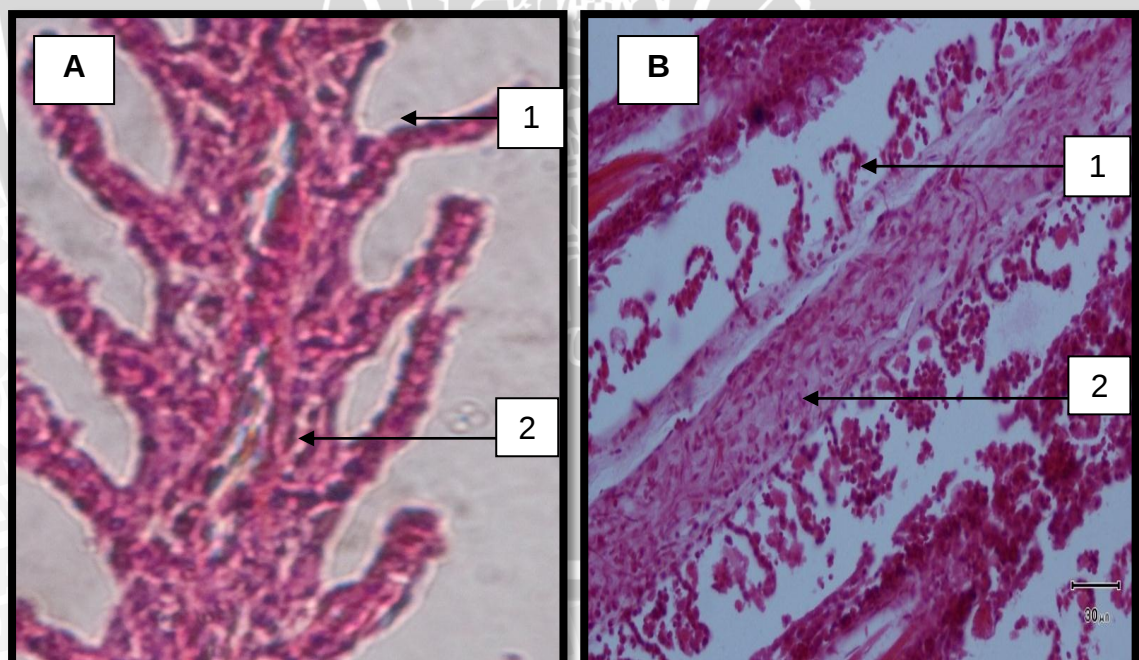
$$\text{Presentase kerusakan} = \frac{\text{Jumlah Sel Yang Rusak} \times 100 \%}{\text{Jumlah Sel Analisis}}$$

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Gambaran Histologi Dan Histopatologi Insang

4.1.2 Gambaran Histologi Insang Ikan Sehat

Insang merupakan organ yang sangat vital bagi ikan. Sebagian besar kematian ikan disebabkan oleh kerusakan organ insang akibat bahan pencemar atau patogen. Insang sangat dipengaruhi oleh perubahan fisika, kimia dan biologi air. Hal ini terjadi karena ikan pada setiap waktu berhubungan secara langsung dengan air (lingkungan) untuk pernapasan eksternalnya. Berdasarkan hasil penelitian, kondisi insang ikan kerapu macan sebelum perlakuan memperlihatkan bentuk histologi yang normal dengan penampakan filamen dan lamella, sedangkan pada insang yang terinfeksi bakteri terlihat banyak terjadi kerusakan pada lamela yang ditunjukkan dengan terjadinya pembengkakan atau sel-sel yang membesar dan perubahan struktur lamela (Gambar 8).



Gambar 8. (A). Histologi insang normal Tanda panah no 1. Lamela insang; 2. Sel pilar dan (B). insang yang terinfeksi bakteri. Tanda panah no 1. Lamela insang mengalami kerusakan sel eritrosit; 2. Sel pilar mengalami edema. Pembasaran 400x.

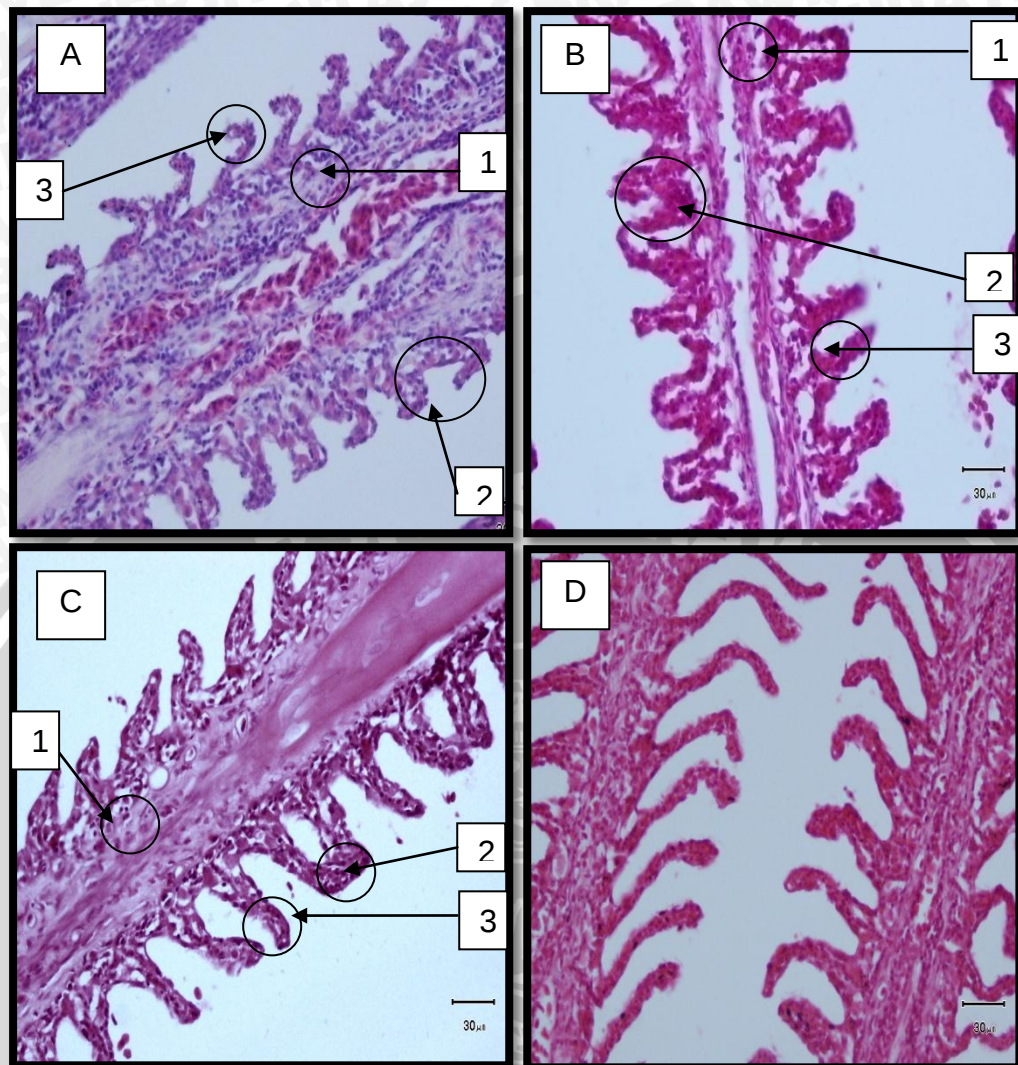
Golongan ikan bertulang sejati mempunyai satu celah insang yang masing-masing terletak pada tiap sisi kepala dibawah tutup insang yang terdiri dari beberapa keping tulang. Jumlah lengkung insang yang terdapat pada insang bertulang sejati ada lima pasang, tetapi hanya empat yang mempunyai filamen insang. Pada beberapa ikan, lengkung insang yang kelima berubah menjadi gigi pharyngeal yang digunakan untuk menggerus makanan (Rahardjo *et al.*, 2011). Permukaan lamella insang tertutup oleh sel epitel dan terdapat banyak caliper darah yang menyebar pada sel tiang secara parallel disepanjang permukaan (Hibaya, 1982 dalam Dangebun, 2010).

Hampir semua ikan, insangnya merupakan komponen penting dalam pertukaran gas. Insang merupakan organ respirasi yang secara langsung berhubungan dengan perairan. Secara sederhana insang merupakan alat yang terdiri atas lamella-lamela yang halus, atau filament yang menjulur keluar dari permukaan yang tampak (Rachman, 2003). Lamela tersusun atas sel-sel epidermis tipis dan sel-sel pendukung berbentuk batang yang disebut sel tiang (pillar cel) yang mendukung aliran darah ke insang (Irianto, 2005).

Tiap-tiap filamen insang terdiri atas banyak lamella yang merupakan tempat pertukaran gas. Tugas ini ditunjang oleh struktur lamella yang tersusun atas sel-sel epitel tipis pada bagian luar membaran dasar, dan sel-sel tiang penyangga (Fujaya, 2004).

4.1.2 Gambaran Histopatologi Perlakuan Pada Insang Ikan

Pada ikan yang terinfeksi bakteri *V. Harveyi* dan dilakukan perendaman dengan ekstrak *A. acuminata*, menunjukkan bahwa pemberian dosis immunostimulan ekstrak *A. acuminata* yang berbeda berpengaruh terhadap perbedaan tingkat pemulihan yang terjadi pada jaringan insang (Gambar 9).



Gambar 9. Histologi insang ikan perlakuan ekstrak *A. acuminata*, (A) konsentrasi ;50 ppm; (B) konsentrasi 100 ppm; (C) konsentrasi 150 ppm; (D) konsentrasi 200 ppm. (1) edema; (2) hiperplasia lamela; (3) hipertropi lamela. Pembesaran 400X

Pada perlakuan A, B, dan C dengan dosis ekstrak *A. acuminata* 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm rata-rata mengalami kerusakan yang berbeda. Akan tetapi pada perlakuan D dengan dosis ekstrak 200 ppm jaringan insang sudah tampak seperti insang normal. Dari hasil analisa data keragaman satu arah (*one way anova*) didapatkan bahwa edema, hiperlasia dan hipertropi berbeda sangat nyata, hal ini dapat dilihat pada Lampiran 7, 8 dan 9. Untuk data skoring kerusakan jaringan dapat dilihat pada Table 3 pengamatan jaringan insang.

Tabel 3. Skoring dan Notasi Hasil Pengamatan Jaringan Insang Perlakuan

No	Bentuk Kerusakan Jaringan	Perlakuan					Normal
		50 ppm	100 ppm	150 ppm	200 ppm	Bakteri	
1	Edema	3,3 ^{cd}	3,0 ^c	2,1 ^b	1,2 ^a	3,7 ^d	1,0
2	Hiperplasia	3,2 ^{cd}	2,8 ^{bc}	2,4 ^b	1,3 ^a	3,7 ^d	1,0
3	Hipertropi	3,3 ^{cd}	3,0 ^c	2,1 ^b	1,1 ^a	3,7 ^d	1,0

Ket : Nilai 1 kerusakan ringan (0 – 5 %), nilai 2 kerusakan sedang (6 – 25 %), nilai 3 kerusakan berat (26 – 50 %) dan nilai 4 kerusakan sangat berat (> 50 %). a, b, c dan d (notasi tingkat kerusakan jaringan)

Pada tabel 3 bentuk kerusakan jaringan yang mengalami edema didapatkan notasi cd, c, b, a dan d, hiperplasia didapatkan notasi cd, bc, b, a dan d dan hipertropi didapatkan notasi cd, c, b, a dan d. Notasi tersebut menunjukkan perlakuan 50 ppm dengan notasi cd tingkat kerusakannya lebih rendah dibanding perlakuan bakteri dengan notasi d. Perlakuan 100 ppm dengan notasi c tingkat kerusakan lebih rendah dibanding perlakuan 50 ppm. Perlakuan 150 ppm dengan notasi b tingkat kerusakan lebih rendah dibanding perlakuan 100 ppm, dan untuk . perlakuan 200 ppm dengan notasi a tingkat kerusakan lebih rendah dibanding perlakuan 150 ppm (Lampiran 6).

Perlakuan A pada dosis 50 ppm mengalami tingkat kerusakan jaringan yang berat (26-50%). Sesuai dengan tingkat skoring dari beberapa kriteria kerusakan jaringan diantaranya terjadi edema, hiperplasia, dan hipertropi kerusakan yang terjadi sebagai akibat pemberian dosis imunostimulan yang kecil sehingga menyebabkan sistem kekebalan tubuh non spesifik tidak dapat bekerja secara maksimal yang menyebabkan kerusakan pada jaringan akibat infeksi bakteri. Menurut Jawetz *et al.*, (1996) bahwa dosis immonustimulan yang terlalu

kecil menyebabkan pengaruh dalam sistem imun kecil selain itu juga dapat berubah menjadi toksin.

Perlakuan B dengan dosis 100 ppm menunjukkan tingkat kerusakan jaringan yang berat (26-50%). Sedangkan untuk perlakuan C dengan dosis 150 ppm menunjukkan tingkat kerusakan sedang (6-25%). Hal ini dibuktikan dengan adanya nilai skoring pada setiap kriteria jaringan tidak terlalu tinggi dan tidak terlalu. Insang yang mengalami perubahan epithelia tidak lagi dapat menyaring partikel-partikel halus yang dapat menyebabkan hiperlasia pada lamela sekunder sehingga terjadi penurunan dalam pengambilan oksigen dalam air (Oluri *et al.*, 2006)

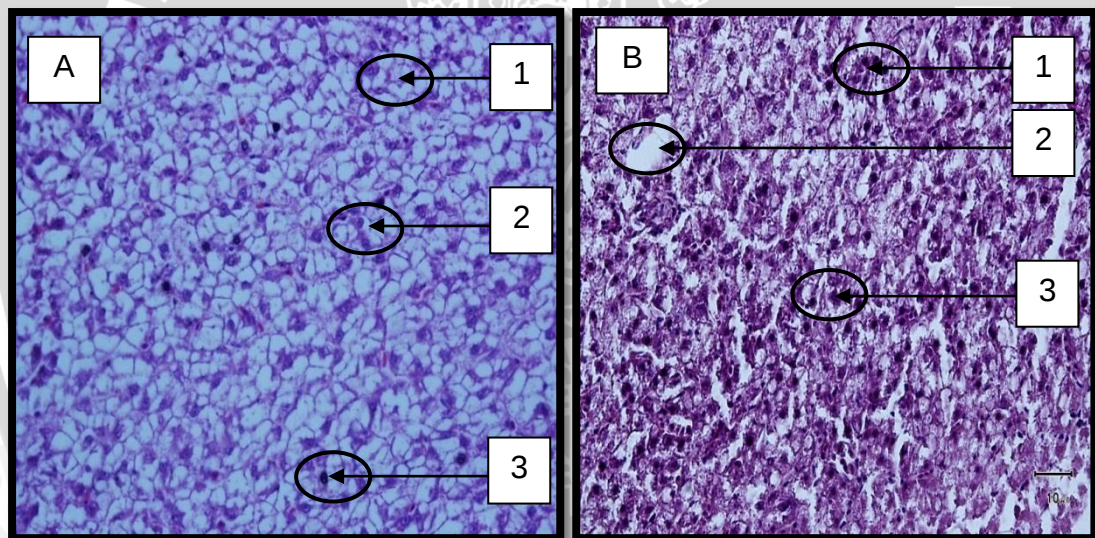
Perlakuan dosis 200 ppm struktur jaringan insang sudah tampak seperti insang normal dengan tingkat kerusakan ringan (0-5%). Hal ini dibuktikan dengan adanya nilai skoring pada setiap kriteria jaringan tidak terlalu tinggi. Edema yaitu penimbunan cairan yang berlebih di ruang interseluler, sedangkan hiperplasia yaitu peningkatan ukuran sel pada lamela yang menyebabkan menyatunya lamela insang (Mahardika *et al.*, 2004). Hal ini sesuai dengan pendapat Jawet *et al.*, (1996) edema sebagai salah satu respon peradangan, ini dimulai dengan pelebaran arteriola dan kapiler lokal yang menyebabkan pengeluaran plasma. Sedangkan hiperplasia dapat ditemukan pada organ yang terdiri dari sel-sel atau lembaran-lembaran seperti lamela insang.

Hipertropi yang terjadi pada ikan perlakuan dikarenakan beberapa sel epitel membesar sehingga mengubah ukuran lamela sekunder. Lebih lanjut dijelaskan Saloso (2011), hipertropi pada insang disebabkan perkembangan dan penumpukan virion yang berkembang dalam inti sel. Inti sel yang membengkakan akan menekan cairan sel, tekanan yang besar terhadap dinding sel melebihi toleransi elastisitas dinding sel sehingga menyebabkan sel pecah dan lisis.

4.2 Gambaran Histologi Dan Histopatologi Hati

4.2.1 Gambaran Histologi Hati Ikan Sehat

Hati merupakan organ penting yang mensekresikan bahan untuk proses pencernaan. Organ ini pada umumnya merupakan suatu kelenjar yang kompak, berwarna merah kecoklatan tersusun oleh sel-sel hati (*hepatosit*). Di sekitar hati terdapat organ berbentuk kantong kecil bult, oval atau memanjang berwarna hijau kebiruan. Organ ini disebut kantong empedu yang berfungsi menampung cairan empedu (Fujaya, 2004). Berdasarkan hasil penelitian, kondisi hati ikan kerapu macan sebelum perlakuan memperlihatkan bentuk histologi yang normal sedangkan pada hati yang terinfeksi bakteri terlihat terjadi kerusakan pada sel-sel hati (Gambar 10)



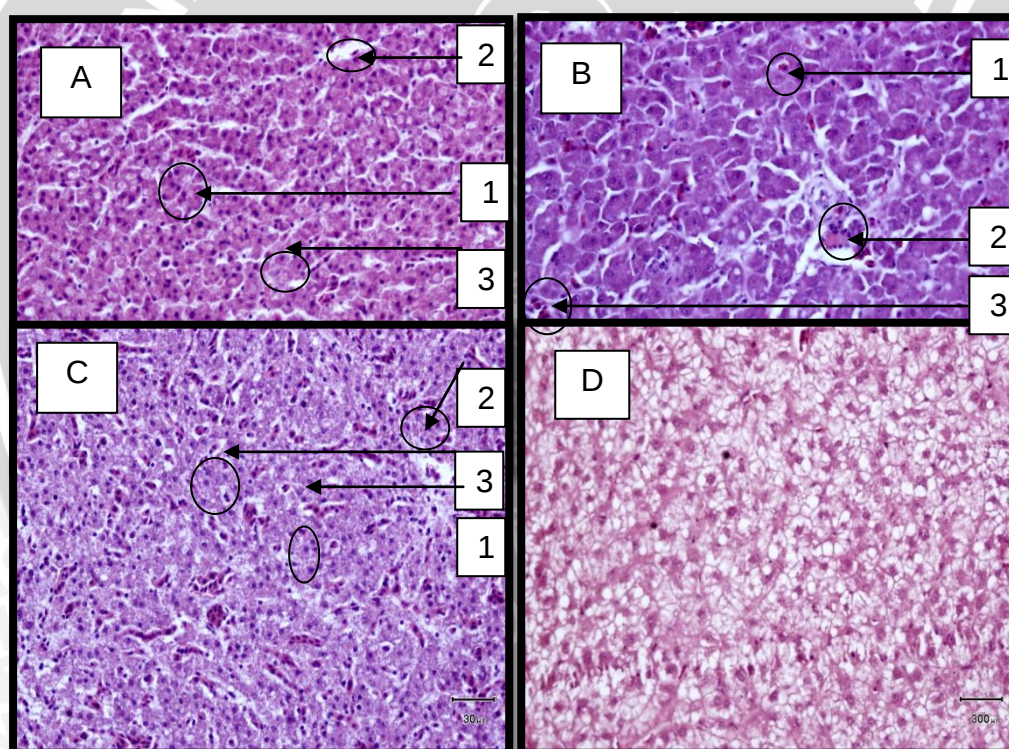
Gambar 10: Histologi hati normal (A) tanda panah no 1. Hepatosit; 2. Sinusoid; 3. Inti sel. Dan hati yang terinfeksi bakteri (B) tanda panah no 1. Hepatosit mengalami *inflamasi*; 2. Sinusoid mengalami nekrosis pada sel hati; 3. Inti sel mengalami *hemorrhagic*. Pembasaran 400x.

Hepatosit atau sel-sel hati merupakan unit terkecil dari organ hati. Seperti halnya pada sel yang lain, organel pada sel hati meliputi : membran sel, inti, mitokondria, retikulum endoplasmatik granula dan badan golgi. Bahan cadangan nutrien yang umum terdapat pada sel hati adalah butiran lemak dan glikogen (Effendi *et al.*, 2001)

Pada gambaran hati terlihat penampakan sel-sel hepatosit, dimana sel-sel hepatosit memiliki bentuk yang menyerupai plat tipis atau lembaran-lembaran yang terpisah oleh sinusoida-sinusoida yang tersebar secara radial (Bevelander dan Rameley, 1988)

4.2.2 Gambaran Histopatologi Perlakuan Pada Hati Ikan

Pada ikan yang terinfeksi bakteri *V. Harveyi*, dilakukan pengobatan dengan perendaman ekstrak *A. acuminata*. Hasil penelitian di bawah ini menunjukkan bahwa pemberian dosis immunostimulan ekstrak *A. acuminata* yang berbeda berpengaruh terhadap perbedaan tingkat pemulihan yang terjadi pada jaringan hati (Gambar 11).



Gambar 11. Histopatologi hati ikan perlakuan ekstrak *A. acuminata*, (A) konsentrasi ;50 ppm; (B) konsentrasi 100 ppm; (C) konsentrasi 150 ppm; (D) konsentrasi 200 ppm. (1) *hemorrhagic*; (2) nekrosis; (3) peradangan (*inflamasi*). Pembesaran 400x.

Pada perlakuan A, B, dan C dengan dosis ekstrak *A. acuminata* 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm rata-rata mengalami kerusakan yang berbeda. Akan tetapi pada perlakuan D dengan dosis ekstrak 200 ppm jaringan hati sudah tampak

seperti hati normal. Dari hasil analisa data keragaman satu arah (*one way anova*) didapatkan bahwa *hemorrhagic*, nekrosis dan *inflamasi* berbeda sangat nyata, hal ini dapat dilihat pada Lampiran 10, 11 dan 12. Untuk data skoring kerusakan jaringan dapat dilihat pada Table 4 pengamatan jaringan hati.

Tabel 4. Skoring dan Notasi Hasil Pengamatan pada jaringan Hati

No	Bentuk Kerusakan Jaringan	Perlakuan					
		50 ppm	100 ppm	150 ppm	200 ppm	Bakteri	Normal
1	<i>Hemorrhagic</i>	3,3 ^{cd}	2,8 ^c	2,3 ^b	1,3 ^a	3,6 ^d	1,0
2	Nekrosis	3,2 ^c	3,0 ^c	2,1 ^b	1,1 ^a	3,6 ^d	1,0
3	<i>Inflamasi</i>	3,3 ^{cd}	2,8 ^c	2,1 ^b	1,0 ^a	3,7 ^d	1,0

Ket : Nilai 1 kerusakan ringan (0 – 5 %), nilai 2 kerusakan sedang (6 – 25 %), nilai 3 kerusakan berat (26 – 50 %) dan nilai 4 kerusakan sangat berat (> 50 %). a, b, c dan d (notasi tingkat kerusakan jaringan)

Pada tabel 4 bentuk kerusakan jaringan yang mengalami *hemorrhagic* didapatkan notasi cd, c, b, a dan d, nekrosis didapatkan notasi c, c, b, a dan d sedangkan untuk *inflamasi* didapatkan notasi cd, c, b, a dan d . Notasi tersebut menunjukkan perlakuan 50 ppm dengan notasi cd tingkat kerusakanya lebih rendah dibanding perlakuan bakteri dengan notasi d. Perlakuan 100 ppm dengan notasi c tingkat kerusakan lebih rendah dibanding perlakuan 50 ppm. Perlakuan 150 ppm dengan notasi b tingkat kerusakan lebih rendah dibanding perlakuan 100 ppm, dan untuk . perlakuan 200 ppm dengan notasi a tingkat kerusakan lebih rendah dibanding perlakuan 150 ppm (Lampiran 6).

Perlakuan A, B, dan C dengan dosis 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm memperlihatkan terjadinya *hemorrhagic*, nekrosis dan *inflamasi*. Histopatologi hati yang mengalami *hemorrhagic* dan nekrosis pada sel-sel hati ditandai dengan terbentuknya gumpalan-gumpalan darah berwarna hitam disekitar jaringan hati dan adanya rongga kosong yang melebar. Menurut Kurniasih (1999) keluarnya

darah dari pembuluh darah, baik keluar tubuh maupun ke dalam jaringan tubuh adalah *hemorrhagic*.

Pada perlakuan A dan B tingkat kerusakan lebih berat (26-50%) dibandingkan perlakuan C (5-25%). Hal ini dapat dilihat dari nilai skoring (Lampiran 6) pada masing-masing perlakuan dengan kriteria jaringan yang mengalami *hemorrhagic*, nekrosis dan *inflamasi*. Nekrosis yang terjadi pada sel-sel hepatosit diperkirakan sebagai akibat infeksi bakteri yang mengeluarkan toksin dan dapat merusak sel-sel hati dengan rusaknya sel hepatosit akan memudahkan bakteri masuk kedalam jaringan hati dan menimbulkan kerusakan yang lebih besar (Murdjani, 2002). Pengumpulan sel darah (marginasi) pada organ disebabkan karena timbulnya proses peradangan akibat infeksi *V. harveyi* disebut *inflamasi*. *Inflamasi* timbul sebagai reaksi perlindungan saat terjadi serangan yang disebabkan oleh infeksi pathogen, dengan ditandai banyaknya limfosit dan leukosit disekitar pembuluh darah (Hibiya, 1982).

Pemberian ekstrak *A. acuminata* dosis 200 ppm (perlakuan D) tingkat kerusakan jaringan lebih ringan (0-5%). Kerusakan pada perlakuan D dapat dilihat dari nilai skoring yang lebih kecil dengan tingkat *hemorrhagic*, nekrosis dan *inflamasi*. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada dosis 200 ppm ekstrak *A. acuminata* berfungsi sebagai imunostimulan yang dapat meningkatkan imun non spesifik ikan kerapu macan khususnya jumlah leukosit dalam darah dan nampak normalnya jaringan hati dalam pengamatan mikroskopik.

Sel darah sangat berhubungan dengan patologi, terutama untuk memperoleh gambaran kondisi ikan sehat atau sakit. Sel darah mempunyai peran sangat penting dalam sistem kekebalan, terutama leukosit atau sel darah putih. Leukosit berfungsi melawan dan mempertahankan tubuh dari benda asing yang berhasil masuk kedalam tubuh (Jhonny *et al.*, 2003).

4.3 Presentase Total Leukosit

Proses pembentukan leukosit pada mamalia terbatas pada sumsum tulang, limpa dan limfnode. Sedangkan pada ikan selin pada tempat-tempat tersebut juga pada ginjal dan thimus turut berperan pada proses pembentukan leukosit. Fungsi primer sel darah putih adalah melindungi tubuh dari infeksi. Sel ini bekerja sama dengan erat bersama protein respon imun, immunoglobulin dan komplemen (Hoffbrand dan Atul, 2005).

Diferensial leukosit terdiri dari monosit, limfosit, dan neutrofil. Monosit berfungsi sebagai fagosit terhadap benda-benda asing yang berperan sebagai agen penyakit. Limfosit berfungsi sebagai penghasil antibody untuk kekebalan tubuh dari gangguan penyakit. Neutrofil berperan dalam respon kekebalan terhadap serangan organisme patogen dan mempunyai sifat fagositik. Neutrofil dalam darah akan meningkat bila terjadi infeksi dan berperan sebagai pertahanan pertama dalam tubuh (Alamamda *et al.*, 2007)

Perubahan jumlah total leukosit dapat dijadikan indikator adanya infeksi tertentu pada ikan. Aktivitas pagositik yang dilakukan oleh sel-sel leukosit akan meningkat pada awal infeksi dan mengalami penurunan pada infeksi kronis (Anderson dan Siwicki, 1993 *dalam* Suhermanto *et al.*, 2011). Hasil pengamatan total leukosit ikan kerapu macan disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Presentase Total Leukosit

PERLAKUAN	Total Leukosit ($\times 10^3$ sel/ml)
Normal	25,711
Bakteri	38,666
50 ppm	39,411
100 ppm	44,795
150 ppm	60,825

200 ppm	70,995
---------	--------

Peningkatan sel darah putih menunjukkan bahwa kondisi ikan yang kurang baik sehingga ikan berusaha menstabilkan kondisi tubuh. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Hastuti (2011), leukosit total dalam darah menunjukkan kondisi kesehatan ikan. Ikan yang mengalami stres yang disebabkan oleh perubahan kondisi lingkungan maupun karena benda asing akan memperlihatkan respons kenaikan jumlah sel leukosit.

4.4 Kelulushidupan / Survival Rate (SR)

Kelulushidupan adalah perbandingan antara jumlah individu yang hidup pada akhir penelitian dengan jumlah individu yang hidup pada awal penelitian. Dari hasil penelitian tentang pengaruh ekstrak kayu batu (*Alstonia acuminata*) sebagai immunostimulan ditinjau dari histologi ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) menghasilkan tingkat kelulushidupan yang berbeda-beda, lebih lengkapnya dapat dilihat pada Tabel 6 dan Lampiran 13.

Tabel 6. Data kelulushidupan ikan kerapu macan selama penelitian

Perlakuan	Ulangan (%)			Total (%)	Rata-rata (%)
	1	2	3		
50 ppm	100	66,67	0	166,67	55,56
100 ppm	100	100	16,67	216,67	72,22
150 ppm	100	100	66,67	266,67	88,89
200 ppm	83,33	100	100	283,33	94,44
Bakteri	16,67	0	16,67	33,34	11,11

Berdasarkan data kelulushidupan pada Tabel 6 diketahui bahwa persentase kelulushidupan tertinggi yaitu pada pemberian *A. acuminata* dengan dosis 200 ppm sebesar 94,44%. Hal ini diduga karena peran senyawa aktif yang terkandung dalam *A. acuminata* mampu meningkatkan sistem imun ikan kerapu macan. Berdasarkan penelitin Kulkarni (2008), menyatakan bahwa pule disebut juga sebagai kayu batu yang berasal dari tanaman hutan, tanaman ini banyak

mengandung ditamine dan ekitamina yang bermanfaat sebagai imunstimulan dan antimikroba.

Nilai kelulushidupan ikan kerapu macan di akhir penelitian berkisar antara 11,11% - 94,44%. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap kelulushidupan maka dilakukan perhitungan statistik menggunakan SPSS 16 pada Lampiran 13 dan didapatkan hasil sidik ragam yang dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Sidik ragam tingkat kelulushidupan ikan kerapu macan

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	Signifikansi
Perlakuan	4	13443,689	3360,922	3,076	0,068
Acak	10	10925,630	1092,563		
Total	14	24369,319			

Keterangan: * tidak berbeda nyata

Hasil perhitungan sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Alstonia acuminata* sebagai imunstimulan ikan kerapu macan tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kelulushidupan ikan kerapu macan, dimana ($p > 0,05$).

Persentase kelulushidupan ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dipengaruhi oleh faktor abiotik seperti kemampuan menyesuaikan diri dengan lingkungan, penanganan manusia, padat tebar, kompetitor, umur serta predator. Pada penelitian ini saat pemeliharaan menggunakan bak plastik volume 30 liter yang menyebabkan ikan sulit beradaptasi karena di alam bebas habitat ikan kerapu macan di daerah karang. Hal ini sesuai dengan pendapat Tampubolon dalam Mulyadi (2009), ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) habitatnya di daerah karang, maka sering disebut ikan karang dan termasuk salah satu jenis ikan buas (*carnivore*).

4.5 Pengamatan Kualitas Air

Selama penelitian dilakukan pengukuran kualitas air media uji, yaitu : suhu, pH, oksigen terlarut, dan salinitas. Hasil pengukuran menjelaskan bahwa kualitas air media masih dalam kisaran toleransi untuk pemeliharaan ikan kerapu macan. Suhu media pemeliharaan berkisar antara $27,9^{\circ}\text{C}$ – $30,5^{\circ}\text{C}$. Setiadharna (2008), menjelaskan suhu $28,0^{\circ}\text{C}$ – $31,3^{\circ}\text{C}$ merupakan kisaran yang layak bagi kehidupan ikan kerapu macan. Suhu air berpengaruh langsung terhadap kehidupan ikan kerapu macan melalui laju metabolismenya dan juga berpengaruh terhadap daya larut gas-gas termasuk oksigen serta berbagai reaksi kimia dalam air.

Pada penelitian dilakukan salinitas media pemeliharaan ikan kerapu macan berkisar antara 30-33 ppt dan kandungan oksigen terlarut (DO) berkisar antara 4,8-5,0 mg/L, sedangkan pH berkisar antara 7,8-8,2. Ikan kerapu masih mampu hidup pada salinitas 29-35 ppt dan kandungan oksigen terlarut (DO) berkisar antara 3,9-5,2 mg/L (Mansyur dan Utojo, 2008). Menurut Paulo dalam Supriyono *et al.*, (2010) yang menyatakan bahwa kisaran pH yang ideal untuk ikan kerapu adalah 6,5-8,5.

5. Kesimpulan dan Saran

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak *Alstonia acuminata* memberikan pengaruh terhadap gambaran histologi insang dan hati ikan kerapu macan. Semakin tinggi dosis yang diberikan gambaran histologi insang dan hati ikan kerapu macan tampak seperti normal.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan untuk pemberian ekstrak *Alstonia acuminata* sebagai immunostimulan ikan kerapu macan dengan dosis 200 ppm.



DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous 2012^a. Epinephelus Catfishes From Indonesia. www.pangafish.com
<http://zipcodezoo.com>. Diakses tanggal 20 Januari 2012.
- _____, 2012^b. Manfaat Tumbuhan di Alam. <http://zipcodezoo.com>. Diakses tanggal 20 Januari 2012.
- _____, 2012^c. Imunostimulan. www.pangafish.com. Diakses tanggal 20 Januari 2012.
- _____, 2012^d. Taksonomi Alstonia. www.osnami.com Diakses tanggal 20 Januari 2012.
- Agung, M. 2007. Penelusuran Efektifitas Beberapa Bahan Sebagai Kandidat Antibakteri Dalam Mengatasi Penyakit Vibriosis Pada Udang Windu. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Padjadjaran. Jatinangoro. 36 hlm.
- Almanda, Intan E., Noor S.H., dan Agung Budiharjo. 2007. Penggunaan Metodologi Hematologi dan Pengamatan Endroparasit Darah untuk Penetapan Kesehatan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) di Kolam Budidaya Desa Mangkubumen Boyolali. *Biodiversitas*. **8** (1): 34-38.
- Andayani, Sri. 2011. Aktivitas Fagosit Makrofag Dan Histopatologi Ginjal Ikan Kerapu Macan Setelah Diberi Imunstimulan Alkaloid Ubur (*Bougainvillea* sp) Dan Diinfeksi *Vibrio Harveyi*. *Berk Panel*. Hayati Edisi Khusus. **6B** : 13-17.
- Antoro, S., Widiastuti, E., 2004. Pembenihan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*).. Balai Budidaya Laut Lampung. Departemen Pertanian Direktorat Jenderal Perikanan. Lampung. 84 hlm.
- Barlianto, Dony. 2008. Aplikasi Imunostimulan Khamir Laut Pada Ikan Patin (*Pangasius* sp.) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dengan Pengamatan Histopatologi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Brawijaya Malang. Tesis.
- Bauman, P.A.L., Furniss and J.V. Lee. 1984. Facultatively Anaerobic Gram Negative Rods: Genus I *Vibrio*. in : Krieg N.R and Holt J.G (Ed). *Bergey's Manual Of Sytematic Bacteriology*. William and Wilkins Baltimore. USA. P. 518-538 .
- Dwijoseputro, D. 1998. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Penerbit Djambatan. Jakarta 215 hlm.
- Effendi, Rachman., Anita Hafsari dan Zuraida. 2011. Kajian Tata Niaga Kulit Pulai (*Alstonia scholaris*) Sebagai Bahan Baku Obat Hipertensi (Antihipertensi) Di Propinsi Jawa Tengah. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*. **8** (5) : 315-321.
- Feliatra. 1999. Identifikasi Bakteri Patogen (*Vibrio* sp) Di Perairan Nongsa Batam Provinsi Riau. *Jurnal Natur Indonesia*. **11** (1) : 28 – 33.

Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan. Dasar Pengembangan Teknik Perikanan. Rineka Cipta. Jakarta. 179 hlm.

Galindo-Vilegas, J dan H.Hosokawa, 2004. Immunostimulants. Toward Temporary Prevention of Diseases in Marine Fish. Kochi University, Faculty of Agriculture. Laboratory of Fish Nutrition 3200 Monobe, Nankoku, Kochi 783-8502 JAPAN.

Hastuti, Sri dan Subandiyono. 2011. Performa Hematologis Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Dan Kualitas Air Mesia Pada Sistem Budidaya Dengan Penerapan Kolam Biofiltrasi. *Jurnal Saintek Perikanan*. **6** (2): 1-5.

Izzah, Nailul. 2011. Analisis Histopatologi Insang Dan Hepatopankreas Pada Udang Windu (*Penaeus monodon Fabricius*) Yang Diinfeksi *Vibrio harveyi* Pasca Pemberian Immunostimulan Pili. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Brawijaya Malang. Skripsi.

Jhonny, F., K. Mahardika, I.N.A. Giri dan D. Roza. 2007. Penambahan Vitamin C Dalam Pakan Untuk Meningkatkan Imunitas Benih Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) Terhadap Infeksi Viral Nervous Necrosis. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **6** (1) : 43-53.

_____, Des Roza, dan Indah Mastuti. 2010. Aplikasi Immunostimulan Untuk Meningkatkan Imunitas Non-Spesifik Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) Terhadap Penyakit Infeksi Di Hatcheri. Prosiding Forum Teknologi Akuakultur.

_____, Zafran., Des Roza, dan Ketut Mahardika. 2003. Hematologis Beberapa Spesies Ikan Laut Budidaya. *Jurnal Penelitian Indonesia*. **9** (4): 65-71.

Kim, Y., E. N., Powell and K. A. Ashton. 2006. Histopathology analysis. In: Histological Techniques for Marine Bivalve Molluscs: Update. NOAA Tech. Mem. NOS NCCOS 27, Silver Spring pp. 19-52.

Koesharyani, I., Zafran, F. Jhonny, dan Tridjoko, 1999. Respon Ikan Kerapu Bebek, *Cromileptes altivelis*, Terhadap Immunostimulan Peptodoglikan Melalui Suntikan. Loka Penelitian Perikanan Pantai Gondol-Bali. Laporan Penelitian. 5 hlm.

Kulkarni, Mrugaya P dan Archana R Juvekar. 2008. Effect of *Alstonia scholaris* (Linn) R.Br. on stress and cognition in mice. *Indian Journal of Experimental Biology*. **47** : 47-52.

Kurniasih. 1999. Deskripsi Histopatologi Dari Beberapa Hewan Penyakit Ikan. Pusat Karantina Pertanian. Jakarta. 50 hlm.

Kurniasih. 1999. Penuntun Proses Jaringan Dan Atlas Histologi Ikan. Pusat Karantina Pertanian. Jakarta. 50 hlm.

Leeson, C. Roland, Thomas S. Leeson dan Anthony A. Paparo. Textbook of Histology. Terjemahan oleh dr. S. Koesparto Siswojo, dan dr. Jan

Tambajong. Buku Ajar Histologi. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 622 hlm.

Mahardika, K., Zafran., Johnny, F., Roza, D. 2004. Tingkat Kerentanan Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) Dalam Berbagai Umur Terhadap Infeksi Iridovirus. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. Badan Riset Kelautan Dan Perikanan. Departemen Kelautan Dan Perikanan. **10** (1).

Mansyur, Abdul., dan Utojo. 2008. Perencanaan Lokasi Untuk Pengembangan Budidaya Ikan Kerapu (*Epinephelus* SPP) Di Perairan Muara Sungai Dabong Dan Padang Tikar, Kabupaten Pontianak, Kalimantan Barat. *Torani* . **18** (1): 9-18.

Meena., Garg Nikita dan Nain Jaspreet. 2011. Penelaahan Etnobotani, Fitokimia dan Farmakologi Profil Pule. *IRJP*. **2** (1) : 49-54.

Moriaty., D.J.W. 1997. The role of Mikro Organism in Aquaculture Ponds. *J. Aquaculture*. (151). 333-349.

Mulyadi, 2009. Pengaruh Senyawa Bioaktif Total Fenol Rumput Laut *Sargassum duplicatum* Terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dan Uji Tantang dengan *Aeromonas hydrophila*. Tesis.

Olurin, K.B., Olojo, E.A.A., Mbaka, G.O. dan Akindele, A.T. 2006. Histopathological Responses of The Gill and Liver Tissues of *Clarias gariepinus* fingerlings to The Herbicide Glyphosate. *African Journal of Biotechnology*. **5** (24): 2480-2487.

Petcoff, Gladys M., Alcira O. Díaz, Alicia H. Escalante dan Adriana L. Goldemberg. 2006. Histology of the liver of *Oligosarcus jenynsii* (Ostariophysi, Characidae) from Los Padres Lake, Argentina. *Iheringia, Sér. Zool., Porto Alegre*, **96** (2) : 205-208.

Prajitno, A. 2008. Penyakit Ikan – Udang Virus. Universitas Negeri Malang Press. Malang. 106 hlm.

Pratyush, Kumar., Chandra Shekhar Mirsa, Joel James, Lipin Dev M. S., Arum Kumar Thlmiiyl Veettill dan Thankamani V. 2011. Ethnobotanical and Pharmacological Study of *Alstonia* (Apocynaceae) – A review. *Sci and Rea* **3** (8): 1394-1403.

Pratyush, Kumar., CS Mirsa, Joel James, Lipin Dev MS, Arun Kumar Thlmiiyl Veettill dan Thankamani V. 2011. Kinetika Inhibisi Dari *E.Coli* Dengan Ekstrak Akar Metanol Pule. *IJPSR*. **2** (11): 2884-2888.

Raharjo, M.F., Djadja S. Sjafei, Ridwan Affandi dan Sulistiono. 2011. Iktiologi. Lubuk Agung. Bandung. 130 hlm.

Rukyani, A., E. Silvia, A. Sunarto, dan Taufik. 1992. Peningkatan Respon Kebal Non Spesifik pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp) dengan Pemberian Immunostimulan (B-glukan). *Jurnal Penelitian Perik.Indo*. **3** (1): 1-15.

Saloso, Yuliana. 2011. Senyawa Bioaktif Makroalga Coklat *Padina australis* Sebagai Antibakteri Alami Dalam Pengendalian *Vibrio alginolyticus* Pada Budidaya Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). Disertasi. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang.

Setiadharna, Tony., Agus Prijono, Nyoman A.G., dan Tridjoko. 2008. Manajemen Pakan Induk Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) Untuk Peningkatan Pemijahan dan Kualitas Telur. *J Ris Akuakultur*. **3** (1): 13-18.

Setyowati, Adhelia., Dewi Hidayati, Awik P.D.N., dan Nurlita Abdulgani. 2010. Studi Histopatologi Hati Ikan Belanak (*Mugil cephalus*) Di Muara Sungai Aloo Sidoarjo. Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Sidiyasa. 1998. Taxonomy, Phylogeny, and Wood anatomy of alstonia (Apocynaceae) BLUMEA supplement 11. Journal of Plant Taxonomi and Plant Geography. Rijks Herbarium. Netherland.

Soerianegara, I. and R.H.M.J. Lemmens. 1994. Plant Recources of South-East Asia **5** (1) Timber Trees Major : Comersials Timbers Prosea Bogor.

Suhermanto, Achmad., Sri Handayani dan Maftuch. 2001. Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Untuk Meningkatkan Leukosit Dan Diferensial Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Kelautan*. **4** (2): 1907-9931.

Sukadi dan Fatuchri. 2005. Profil Perikanan Budidaya (Acuaculture Profile). Departemen Kelautan dan Perikanan. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Jakarta. 38 hlm.

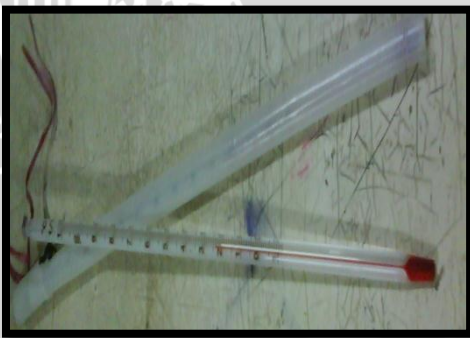
Sukenda, L. Jamal, D. Wahjuningrum dan A. Hasan. 2008. Penggunaan Kitosan Untuk Pencegahan Infeksi *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **7** (2) : 159-169.

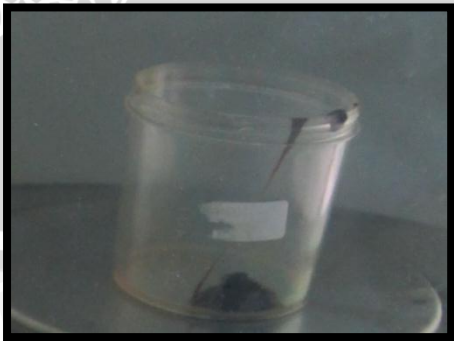
Supriyono, Eddy., Budiyaniti, dan Tatag Budiardi. 2010. Respon Fisiologi Benih Ikan Kerapu Macan *Epinephelus fuscoguttatus* Terhadap Penggunaan Minyak Sereh dalam Transportasi Tertutup dengan Kepadatan Tinggi. *Ilmu Kelautan*. **15** (2): 103-112.

Triana, Hidayah St. 2010. Analisa Fragmen Dna Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang Tahan dan Rentan Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Ilmu Dasar*. **11** (1) : 8-16.

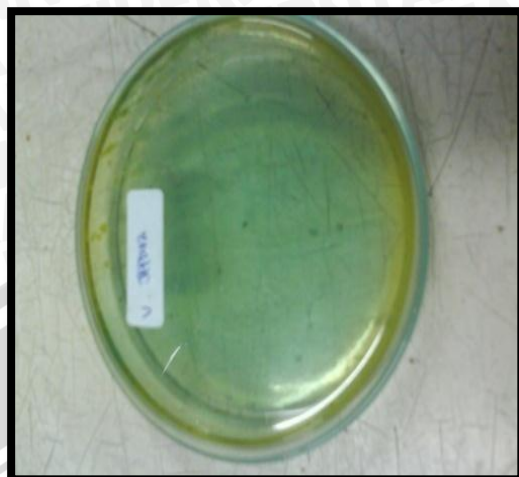
LAMPIRAN

Lampiran 1 : Alat dan Bahan

No	Nama Alat dan Bahan	Gambar
1	Refraktometer	
2	pH Meter	
3	Termometer	

4	Mikroskop	
5	DO Meter	
6	Timbangan Digital	
7	Ekstrak Alstonia acuminata	

Lampiran 2. Biakan Murni *Vibrio Harveyi*



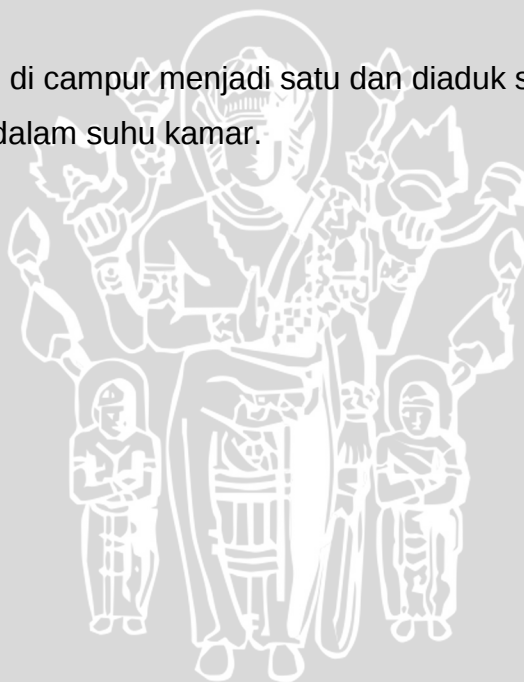
Lampiran 3. Formula Larutan Buffer Netral Formalin (BNF)

Bahan yang digunakan :

- | | |
|--|--------|
| • Formalin 10% | 250 ml |
| • Monobasic sodium phosphate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) | 4 gr |
| • Anhydrous dibasic sodium phosphate (Na_2HPO_4) | 6 gr |
| • Aquades | 750 ml |

Cara pembuatan :

Semua bahan di campur menjadi satu dan diaduk samapi rata kemudian disimpan dalam suhu kamar.



Lampiran 4. Bak – Bak Percobaan



Lampiran 5. Pembuatan preparat

Pembuatan preparat histologi dan histopatologi ini dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi RSSA Malang

1. Tahap Fiksasi

Jaringan insang dan hati diiris dengan ukuran 0,5 x 0,5 cm². Jaringan tersebut kemudian direndam dalam larutan fiksatif yaitu formalin 10% selama 24 jam.

2. Tahap Dehidrasi

Jaringan direndam dalam alkohol 70% selama 24 jam. Jaringan selanjutnya direndam dalam alkohol 80%, 95%, 100% xylol + alkohol (3:1), xylol + alkohol (1:1), xylol selama 30 menit.

3. Tahap Parafinasi.

Jaringan direndam dengan menggunakan paraffin xylol, paraffin I, paraffin II, paraffin III dalam oven bersuhu 50-60°C selama 30 menit. Selanjutnya terhadap jaringan tersebut dilakukan embedding atau pengeblokan dengan cara memasukkan jaringan dalam cetakan berisi paraffin cair. Jaringan didinginkan hingga mengeras pada suhu kamar minimal 24 jam.

4. Tahap Deparafinasi

Blok paraffin yang berisi jaringan dipotong dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 mikron. Jaringan yang terpotong diletakkan di air hangat untuk mencegah hasil pemotongan melengkung selanjutnya diletakkan diatas gelas objek dan dikeringkan sampai jaringan menempel sempurna pada permukaan gelas objek. Preparat potongan jaringan dicelupkan secara berturut-turut pada larutan xylol, alkohol 100%, 95%, 80%, 70% masing-masing selama 3-

5 menit, kemudian preparat potongan jaringan dicelupkan dalam akuades selama 5 menit.

5. Tahap Pewarnaan

Preparat potongan jaringan dicelupkan dalam larutan pewarna haemotoksilin selama 5-10 menit kemudian dibilas dengan air mengalir. Preparat potongan jaringan kemudian dicelupkan ke dalam eosin selama 5-10 menit lalu dibilas dengan air mengalir

6. Tahap Dehidrasi

Preparat potongan jaringan dicelupkan kembali secara berturut-turut pada larutan etanol 70%, 80%, 95%, 100% selama 3-5 menit dilanjutkan dengan alkohol absolute selama 3 menit. Preparat potongan jaringan selanjutnya dicelupkan dalam xylol selama 5 menit.

7. Tahap Mouting

Preparat dilem dengan menggunakan DPX mounting medium, kemudian ditutup dengan cover glass jangan sampai terjadi gelembung. Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai lem mengering kemudian diamati dibawah mikroskop. Dengan pewarnaan HE, inti yang bersifat asam akan berwarna ungu tua oleh Haematoksilin yang bersifat basa, sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan berwarna merah oleh eosin yang bersifat asam.

Lampiran 6. Nilai Skoring Pada Histopatologi Insang dan Hati Ikan Kerapu Macan

SKORING TEST PADA HISTOPATOLOGI

Organ	Kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	Area Lapangan Pandang					Rata-rata ulangan	Rata-rata Perlakuan
				LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5		
Insang	Edema	A	1	2	3	4	3	4	3,2	3,3
			2	3	4	4	3	3	3,4	
			3	4	3	3	4	3	3,4	
		B	1	3	4	3	3	3	3,2	3,0
			2	3	2	3	3	3	3,0	
			3	2	3	3	3	3	2,8	
		C	1	1	2	3	2	2	2,0	2,1
			2	2	2	3	1	2	2,0	
			3	2	3	2	2	3	2,4	
		D	1	1	2	1	2	1	1,4	1,2
			2	2	1	1	1	1	1,2	
			3	1	1	1	1	1	1,0	
		Bakteri	1	4	4	3	4	4	3,8	3,7
			2	3	3	3	4	4	3,4	
			3	4	4	4	3	4	3,8	
		Normal	1	1	1	1	1	1	1,0	1,0
			2	1	1	1	1	1	1,0	
			3	1	1	1	1	1	1,0	
	Hipertropi	A	1	4	2	3	3	4	3,2	3,2
			2	3	3	3	4	3	3,2	
			3	3	3	4	3	3	2,8	
		B	1	3	2	3	4	3	3,0	2,8
			2	3	2	3	3	2	2,8	
			3	2	4	3	2	3	2,8	
		C	1	3	2	2	3	2	2,4	2,4
			2	2	2	3	3	2	2,4	
			3	2	2	3	2	3	2,4	
		D	1	1	1	2	1	1	1,4	1,3
			2	1	1	2	1	1	1,2	
			3	2	2	1	1	1	1,4	
		Bakteri	1	3	2	3	4	4	3,2	3,7
			2	4	4	4	3	4	3,8	
			3	4	3	4	4	3	3,6	
		Normal	1	1	1	1	1	1	1,0	1,0
			2	1	1	1	1	1	1,0	
			3	1	1	1	1	1	1,0	
	Hiperplasi	A	1	2	3	4	3	4	3,2	3,3
			2	3	4	4	3	3	3,4	
			3	4	3	3	4	3	3,4	
		B	1	3	4	3	3	3	3,2	3,0
			2	3	2	3	3	3	3,0	
			3	2	3	3	3	3	2,8	
		C	1	2	3	2	2	1	2,0	2,1
			2	2	2	2	1	2	1,8	
			3	2	3	3	2	2	2,4	
		D	1	1	1	1	2	1	1,2	1,1
			2	1	1	1	1	1	1,0	
			3	1	2	1	1	1	1,2	
		Bakteri	1	4	4	3	4	4	3,8	3,7

		Normal	2	2	4	4	4	4	3,6	1,0
			3	4	3	4	4	4	3,8	
	1		1	1	1	1	1	1,0		
	2		1	1	1	1	1	1,0		
	3		1	1	1	1	1	1,0		

Organ	Kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	Area Lapangan Pandang					Rata-rata ulangan	Rata-rata Perlakuan
				LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5		
Hati	Hemorrhagic	A	1	3	2	4	4	3	3,2	3,3
			2	4	3	3	3	4	3,4	
			3	2	4	3	3	3	3,0	
		B	1	3	2	3	4	3	3,0	2,8
			2	3	2	3	3	2	2,8	
			3	2	4	3	2	3	2,8	
		C	1	2	2	3	2	2	2,2	2,3
			2	3	2	2	3	2	2,4	
			3	2	2	3	2	3	2,4	
		D	1	1	2	1	2	1	1,4	1,3
			2	1	1	1	2	2	1,4	
			3	2	1	1	1	1	1,2	
	Bakteri		1	3	4	4	4	3	3,6	3,6
			2	4	4	3	4	2	3,4	
			3	4	4	3	4	4	3,8	
		Normal	1	1	1	1	1	1	1,0	1,0
			2	1	1	1	1	1	1,0	
			3	1	1	1	1	1	1,0	
	Nekrosis	A	1	3	3	3	4	3	3,0	3,2
			2	3	3	4	3	3	3,2	
			3	3	2	4	3	4	3,2	
		B	1	3	4	3	3	3	3,2	3,0
			2	3	2	3	3	3	3,0	
			3	2	3	3	3	3	2,8	
		C	1	3	2	3	1	2	2,2	2,1
			2	2	2	1	2	3	2,0	
			3	2	3	2	1	2	2,0	
		D	1	1	1	1	1	1	1,0	1,1
			2	1	2	1	1	1	1,2	
			3	1	1	1	1	1	1,0	
		Bakteri	1	4	3	4	4	4	3,8	33,6
			2	2	4	3	4	4	3,4	
			3	3	4	4	4	3	3,6	
		Normal	1	1	1	1	1	1	1,0	1,0
			2	1	1	1	1	1	1,0	
			3	1	1	1	1	1	1,0	
	Inflamasi	A	1	3	3	3	3	3	3,0	3,3
			2	3	4	4	3	4	3,6	
			3	4	3	2	3	4	3,2	
		B	1	3	2	3	4	3	3,0	2,8
			2	3	2	3	3	2	2,8	
			3	2	4	3	2	3	2,8	
		C	1	2	2	2	1	3	2,0	2,1
			2	3	3	1	2	2	2,0	
			3	2	2	2	2	3	2,2	
		D	1	1	1	1	1	1	1,0	1,0

			2	1	1	1	1	1	1,0	
			3	1	1	1	1	1	1,0	
			1	4	4	4	3	4	3,8	
		Bakteri	2	3	4	4	4	3	3,6	3,7
			3	4	3	4	4	4	3,8	
			1	1	1	1	1	1	1,0	
		Normal	2	1	1	1	1	1	1,0	1,0
			3	1	1	1	1	1	1,0	

Keterangan : Nilai 1 = Ringan (kerusakan 0 – 5%)

Nilai 2 = Sedang (kerusakan 6 – 25%)

Nilai 3 = Berat (kerusakan 26 – 50%)

Nilai 4 = Sangat Berat (kerusakan > 50%)



Lampiran 7. Data hasil kerusakan jaringan Insang yang terjadi Edema

Kerusakan	Perlakuan	Ulangan	LUAS BIDANG PANDANG					Rata-Rata
			LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	
Edema	50 ppm	1	2	3	4	3	4	3,2
		2	3	4	4	3	3	3,4
		3	4	3	3	4	3	3,4
	100 ppm	1	3	4	3	3	3	3,2
		2	3	2	3	3	3	3,0
		3	2	3	3	3	3	2,8
	150 ppm	1	1	2	3	2	2	2,0
		2	2	2	3	1	2	2,0
		3	2	3	2	2	3	2,4
	200 ppm	1	1	2	1	2	1	1,4
		2	2	1	1	1	1	1,2
		3	1	1	1	1	1	1,0
	Bakteri	1	4	4	3	4	4	3,8
		2	3	3	3	4	4	3,4
		3	4	4	4	3	4	3,8

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Edema
N		15
Normal Parameters ^a	Mean	2,67
	Std. Deviation	,940
Most Extreme Differences	Absolute	,181
	Positive	,114
	Negative	-,181
Kolmogorov-Smirnov Z		,703
Asymp. Sig (2-tailed)		,707

a. Test distribution is Normal.

Nilai Z = 0,703 ($\alpha > 0,05$) jadi, data diatas normal

Perlakuan

Edema					
perlakuan	Rata - rata	Standar Deviasi	Standar Error	Nilai kepercayaan 95%	
				Terendah	Tertinggi
0	3,67	,231	,133	3,09	4,24
50	3,33	,115	,067	3,05	3,62
100	3,00	,200	,115	2,50	3,50
150	2,13	,231	,133	1,56	2,71
200	1,20	,200	,115	,70	1,70
Total	2,67	,940	,243	2,15	3,19

ANOVA

Edema					
Sumber Keragaman	Jk	db	Kt	F hitung	Sig.
Perlakuan	11,973	4	2,993	74,833	,000
Acak	,400	10	,040		
Total	12,373	14			

Nilai Sig < α = 0,05 berarti data berbeda sangat nyata

Multiple Comparisons

Edema Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata –rata Perbandingan (I-J)	Standar Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Terendah	Tertinggi
0	50	,333	,163	,314	-,20	,87
	100	,667*	,163	,015	,13	1,20
	150	1,533*	,163	,000	1,00	2,07
	200	2,467*	,163	,000	1,93	3,00
50	0	-,333	,163	,314	-,87	,20
	100	,333	,163	,314	-,20	,87
	150	1,200*	,163	,000	,66	1,74
	200	2,133*	,163	,000	1,60	2,67
100	0	-,667*	,163	,015	-1,20	-,13
	50	-,333	,163	,314	-,87	,20
	150	,867*	,163	,002	,33	1,40
	200	1,800*	,163	,000	1,26	2,34
150	0	-1,533*	,163	,000	-2,07	-1,00
	50	-1,200*	,163	,000	-1,74	-,66
	100	-,867*	,163	,002	-1,40	-,33
	200	,933*	,163	,001	,40	1,47
200	0	-2,467*	,163	,000	-3,00	-1,93
	50	-2,133*	,163	,000	-2,67	-1,60
	100	-1,800*	,163	,000	-2,34	-1,26
	150	-,933*	,163	,001	-1,47	-,40

*, Perbedaan rata – rata adalah signifikan pada tingkat 0,05.

* = tidak berbeda nyata

Edema
Tukey HSD

Perlakuan	Subset untuk alpha = 0,05				Notasi
	1	2	3	4	
200	1,20				a
150		2,13			b
100			3,00		c
50			3,33	3,33	cd
0				3,67	d
Sig,	1,000	1,000	,314	,314	

Kelompok yang homogen akan ditampilkan.

ANOVA

Edema

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		11,973	4	2,993	74,833	,000
	Linear Term	Contrast	11,285	1	11,285	282,133	,000
		Deviation	,688	3	,229	5,733	,015
	Quadratic Term	Contrast	,644	1	,644	16,095	,002
		Deviation	,044	2	,022	,552	,592
	Cubic Term	Contrast	,001	1	,001	,033	,859
		Deviation	,043	1	,043	1,071	,325
	4th-order Term	Contrast	,043	1	,043	1,071	,325
Within Groups			,400	10	,040		
Total			12,373	14			

Nilai sig pada linier < 0,05 maka, hubungan variable penelitian adalah linier

Ringkasan Model

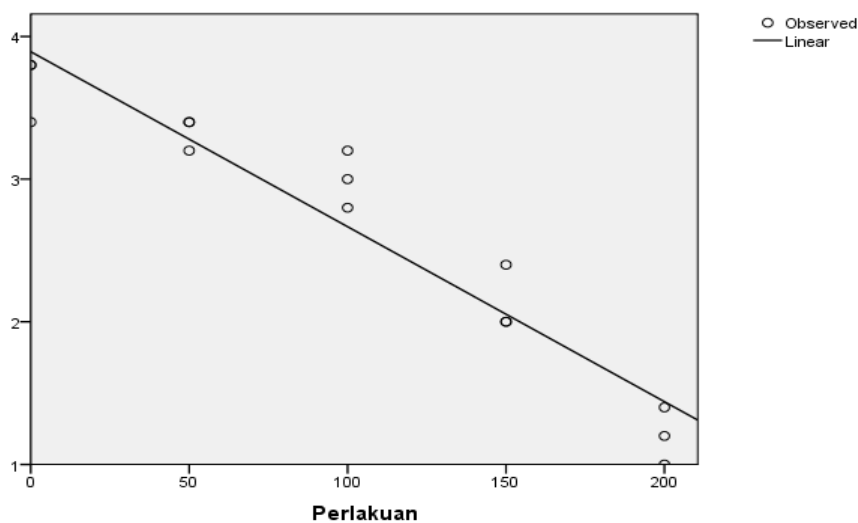
R	R ²	Penyesuaian R ²	Perkiraan Standar Error
,955	,912	,905	,289

Koefisien

	Bukan Koefisien Standar		Standar Koefisien	t	Sig.
	B	Std. Error	Beta		
Perlakuan	-,012	,001	-,955	-11,612	,000
(Constant)	3,893	,129		30,093	,000

Didapatkan persamaan $y = 3,893 - 0,012x$

Edema



Lampiran 8. Data hasil kerusakan jaringan Insang yang terjadi Hiperlasia

Kerusakan	Perlakuan	Ulangan	SEL / LUAS BIDANG PANDANG					Rata-Rata
			LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	
Hiperlasia	50 ppm	1	4	2	3	3	4	3,2
		2	3	3	3	4	3	3,2
		3	3	3	4	3	3	2,8
	100 ppm	1	3	2	3	4	3	3,0
		2	3	2	3	3	2	2,8
		3	2	4	3	2	3	2,8
	150 ppm	1	3	2	2	3	2	2,4
		2	2	2	3	3	2	2,4
		3	2	2	3	2	3	2,4
	200 ppm	1	1	1	2	1	1	1,4
		2	1	1	2	1	1	1,2
		3	2	2	1	1	1	1,4
	Bakteri	1	3	2	3	4	4	3,2
		2	4	4	4	3	4	3,8
		3	4	3	4	4	3	3,6

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hiperlasia
N		15
Normal Parameters ^a	Mean	2,64
	Std. Deviation	,790
Most Extreme Differences	Absolute	,181
	Positive	,142
	Negative	-,181
Kolmogorov-Smirnov Z		,700
Asymp, Sig, (2-tailed)		,712

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hiperlasia
N		15
Normal Parameters ^a	Mean	2,64
	Std. Deviation	,790
Most Extreme Differences	Absolute	,181
	Positive	,142
	Negative	-,181
Kolmogorov-Smirnov Z		,700
Asymp. Sig. (2-tailed)		,712

a. Test distribution is Normal.
 Nilai Z = 0,700 ($\alpha > 0,05$) jadi, data diatas normal

Perlakuan

Hiperlasia

Perlakuan	Rata - rata	Standar Deviasi	Standar Error	Nilai kepercayaan 95%	
				Terendah	Tertinggi
0	3,53	,306	,176	2,77	4,29
50	3,07	,231	,133	2,49	3,64
100	2,87	,115	,067	2,58	3,15
150	2,40	,000	,000	2,40	2,40
200	1,33	,115	,067	1,05	1,62
Total	2,64	,790	,204	2,20	3,08

ANOVA

Hiperlasia

Sumber Keragaman	Jk	db	Kt	F hitung	Sig.
------------------	----	----	----	----------	------

Perlakuan	8,389	4	2,097	60,500	,000
Acak	,347	10	,035		
Total	8,736	14			

Nilai Sig < α = 0,05 berarti data berbeda sangat nyata

Multiple Comparisons

HiperlasiaTukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata –rata Perbandingan (I-J)	Standar Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Terendah	Tertinggi
0	50	,467	,152	,070	-,03	,97
	100	,667*	,152	,009	,17	1,17
	150	1,133*	,152	,000	,63	1,63
	200	2,200*	,152	,000	1,70	2,70
50	0	-,467	,152	,070	-,97	,03
	100	,200	,152	,689	-,30	,70
	150	,667*	,152	,009	,17	1,17
	200	1,733*	,152	,000	1,23	2,23
100	0	-,667*	,152	,009	-1,17	-,17
	50	-,200	,152	,689	-,70	,30
	150	,467	,152	,070	-,03	,97

	200	1,533*	,152	,000	1,03	2,03
150	0	-1,133*	,152	,000	-1,63	-,63
	50	-,667*	,152	,009	-1,17	-,17
	100	-,467	,152	,070	-,97	,03
	200	1,067*	,152	,000	,57	1,57
200	0	-2,200*	,152	,000	-2,70	-1,70
	50	-1,733*	,152	,000	-2,23	-1,23
	100	-1,533*	,152	,000	-2,03	-1,03
	150	-1,067*	,152	,000	-1,57	-,57

*, Perbedaan rata – rata adalah signifikan pada tingkat 0,05,

* = tidak berbeda nyata

Hiperlasia

Tukey HSD

Perlakuan	Subset for alpha = 0,05				Notasi
	1	2	3	4	
200	1,33				a
150		2,40			b
100		2,87	2,87		bc
50			3,07	3,07	cd
0				3,53	d
Sig.	1,000	,070	,689	,070	

Kelompok yang homogen akan ditampilkan,

ANOVA

Hiperlasia

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
--	----------------	----	-------------	---	------

Between Groups	(Combined)		8,389	4	2,097	60,500	,000
	Linear Term	Contrast	7,701	1	7,701	222,154	,000
		Deviation	,688	3	,229	6,615	,010
	Quadratic Term	Contrast	,461	1	,461	13,297	,004
		Deviation	,227	2	,114	3,275	,081
	Cubic Term	Contrast	,225	1	,225	6,500	,029
		Deviation	,002	1	,002	,049	,828
	4th-order Term	Contrast	,002	1	,002	,049	,828
Within Groups			,347	10	,035		
Total			8,736	14			

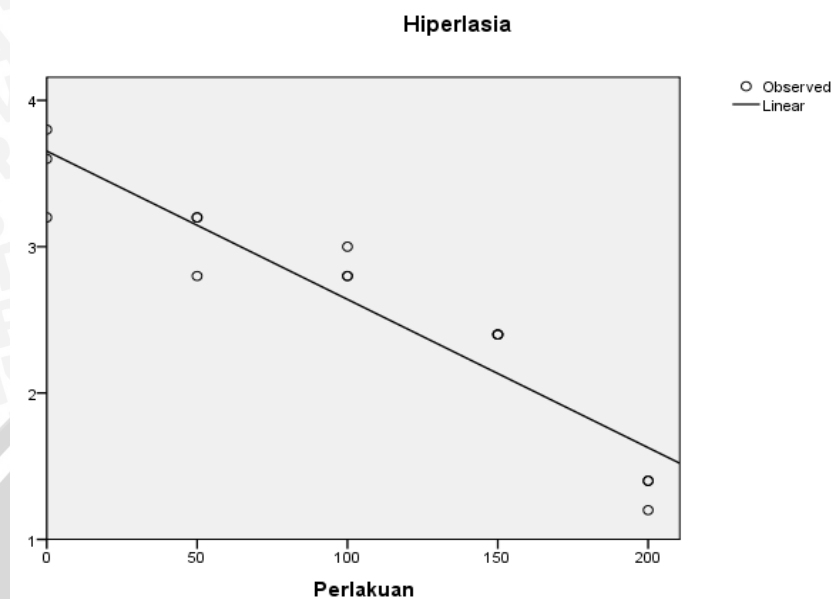
Ringkasan Model

R	R ²	Penyesuaian R ²	Perkiraan Standar Error
,939	,882	,872	,282

Koefisien

	Bukan Koefisien Standar		Standar Koefisien	t	Sig.
	B	Std. Error	Beta		
Perlakuan	-,010	,001	-,939	-9,837	,000
(Constant)	3,653	,126		28,956	,000

Didapatkan persamaan $y = 3,653 - 0,010x$



Lampiran 9. Data hasil kerusakan jaringan Insang yang terjadi Hipertropi

Kerusakan	Perlakuan	Ulangan	LUAS BIDANG PANDANG					Rata-Rata
			LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	
Hipertropi	50 ppm	1	2	3	4	3	4	3,2
		2	3	4	4	3	3	3,4
		3	4	3	3	4	3	3,4
	100 ppm	1	3	4	3	3	3	3,2
		2	3	2	3	3	3	3,0
		3	2	3	3	3	3	2,8
	150 ppm	1	2	3	2	2	1	2,0
		2	2	2	2	1	2	1,8
		3	2	3	3	2	2	2,4
	200 ppm	1	1	1	1	2	1	1,2
		2	1	1	1	1	1	1,0
		3	1	2	1	1	1	1,2
	Bakteri	1	4	4	3	4	4	3,8
		2	2	4	4	4	4	3,6

		3	4	3	4	4	4	3,8
--	--	---	---	---	---	---	---	-----

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hipertropi
N		15
Normal Parameters ^a	Mean	2,65
	Std. Deviation	,984
Most Extreme Differences	Absolute	,177
	Positive	,130
	Negative	-,177
Kolmogorov-Smirnov Z		,687
Asymp. Sig. (2-tailed)		,733

a. Test distribution is Normal,
 Nilai Z = 0,687 ($\alpha > 0,05$) jadi, data diatas normal

Perlakuan

Hipertropi

Perlakuan	Rata - rata	Standar Deviasi	Standar Error	Nilai kepercayaan 95%	
				Terendah	tertinggi
0	3,73	,115	,067	3,45	4,02
50	3,33	,115	,067	3,05	3,62
100	3,00	,200	,115	2,50	3,50
150	2,07	,306	,176	1,31	2,83
200	1,13	,115	,067	,85	1,42
Total	2,65	,984	,254	2,11	3,20

ANOVA

Hipertropi

Sumber Keragaman	Jk	db	Kt	F hitung	Sig.
Perlakuan	13,211	4	3,303	95,269	,000
Acak	,347	10	,035		
Total	13,557	14			

Nilai Sig < $\alpha = 0,05$ berarti data berbeda sangat nyata



Multiple Comparisons

Hipertropi Tukey
HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata –rata Perbandingan (I-J)	Standar Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Terendah	Tertinggi
0	50	,400	,152	,137	-,10	,90
	100	,733*	,152	,005	,23	1,23
	150	1,667*	,152	,000	1,17	2,17
	200	2,600*	,152	,000	2,10	3,10
50	0	-,400	,152	,137	-,90	,10
	100	,333	,152	,257	-,17	,83
	150	1,267*	,152	,000	,77	1,77
	200	2,200*	,152	,000	1,70	2,70

100	0	-,733*	,152	,005	-1,23	-,23
	50	-,333	,152	,257	-,83	,17
	150	,933*	,152	,001	,43	1,43
	200	1,867*	,152	,000	1,37	2,37
150	0	-1,667*	,152	,000	-2,17	-1,17
	50	-1,267*	,152	,000	-1,77	-,77
	100	-,933*	,152	,001	-1,43	-,43
	200	,933*	,152	,001	,43	1,43
200	0	-2,600*	,152	,000	-3,10	-2,10
	50	-2,200*	,152	,000	-2,70	-1,70
	100	-1,867*	,152	,000	-2,37	-1,37
	150	-,933*	,152	,001	-1,43	-,43

*, Perbedaan rata – rata adalah signifikan pada tingkat 0,05.

* = tidak berbeda nyata



Hipertropi

Tukey HSD

Perlakuan	Subset untuk alpha = 0,05				Notasi
	1	2	3	4	
200	1,13				a
150		2,07			b
100			3,00		c
50			3,33	3,33	cd
0				3,73	d
Sig,	1,000	1,000	,257	,137	

Kelompok yang homogen akan ditampilkan.

ANOVA

Hipertropi

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		13,211	4	3,303	95,269	,000
	Linear Term	Contrast	12,545	1	12,545	361,885	,000
		Deviation	,665	3	,222	6,397	,011
	Quadratic Term	Contrast	,595	1	,595	17,170	,002
		Deviation	,070	2	,035	1,011	,398
	Cubic Term	Contrast	,001	1	,001	,038	,848
		Deviation	,069	1	,069	1,984	,189
	4th-order Term	Contrast	,069	1	,069	1,984	,189
Within Groups			,347	10	,035		
Total			13,557	14			

Nilai sig pada linier < 0,05 maka, hubungan variable penelitian adalah linier

Ringkasan Model

R	R ²	Penyesuaian R ²	Perkiraan Standar Error
,962	,925	,920	,279

Koefisien

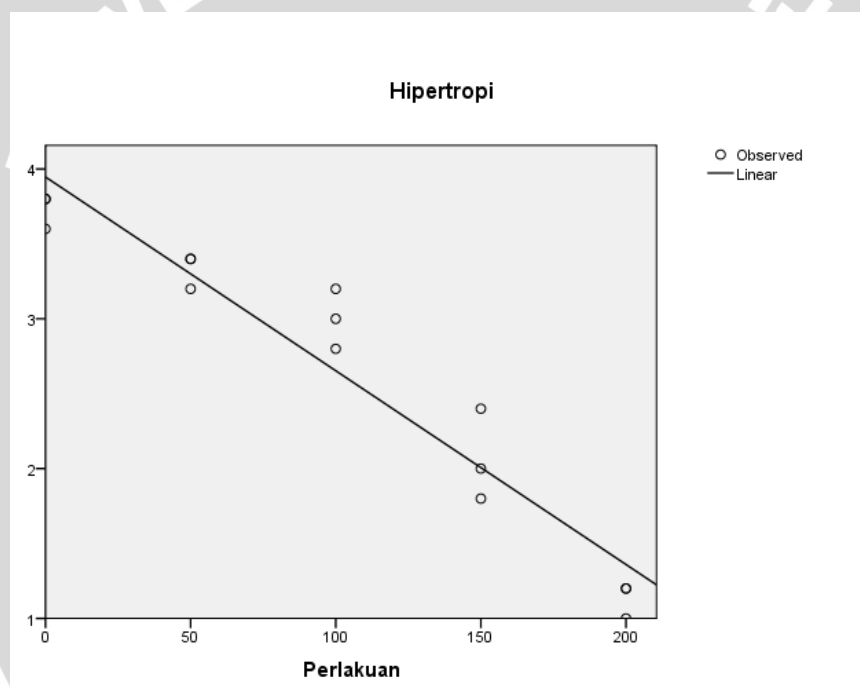
	Bukan Koefisien Standar		Standar Koefisien	t	Sig.
	B	Std, Error	Beta		

Perlakuan	-,013	,001	-,962	-12,695	,000
-----------	-------	------	-------	---------	------

Kerusakan	Perlakuan	Ulangan	SEL / LUAS BIDANG PANDANG	Rata-
-----------	-----------	---------	---------------------------	-------

(Constant)	3,947	,125		31,630	,000
------------	-------	------	--	--------	------

Didapatkan persamaan $y = 3,947 - 0,013x$



Lampiran 10. Data hasil kerusakan jaringan Hati yang terjadi Hemorrhagic

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test										5
Hemorrhagic					Hemorrhagic				3,2	
					c				3,4	
	N				15				3	
	Normal Parameters ^a	Mean		2,67				3		
		Std, Deviation		,823				2,8		
	Most Extreme Differences	Absolute		,164				2,8		
		Positive		,138				2,2		
		Negative		-,164				2,4		
	Kolmogorov-Smirnov Z				,636				2,4	
	Asymp, Sig, (2-tailed)				,813				1,4	
a. Test distribution is Normal.						4	3	3,6		
Nilai Z = 0,636 (α > 0,05) jadi, data diatas normal						4	2	3,4		
		3	4	4	3	4	4	3,8		



Perlakuan

Hemorrhagic

Perlakuan	Rata - rata	Standar Deviasi	Standar Error	Nilai Kepercayaan 95%	
				Terendah	Tinggi
0	3,60	,200	,115	3,10	4,10
50	3,20	,200	,115	2,70	3,70
100	2,87	,115	,067	2,58	3,15
150	2,33	,115	,067	2,05	2,62
200	1,33	,115	,067	1,05	1,62

Perlakuan

Hemorrhagic

Perlakuan	Rata - rata	Standar Deviasi	Standar Error	Nilai Kepercayaan 95%	
				Terendah	Tinggi
0	3,60	,200	,115	3,10	4,10
50	3,20	,200	,115	2,70	3,70
100	2,87	,115	,067	2,58	3,15
150	2,33	,115	,067	2,05	2,62
200	1,33	,115	,067	1,05	1,62
Total	2,67	,823	,213	2,21	3,12

ANOVA

Hemorrhagic

Sumber Keragaman	jk	db	kt	F hitung	Sig.
Perlakuan	9,253	4	2,313	96,389	,000
Acak	,240	10	,024		
Total	9,493	14			

Nilai Sig < $\alpha = 0,05$ berarti data berbeda sangat nyata

Multiple Comparisons

Hemorrhagic

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata-rata perbandingan (I-J)	Standar Error	Sig	Nilai Kepercayaan 95%	
					Terendah	Tertinggi

0	50	,400	,126	,061	-,02	,82
	100	,733*	,126	,001	,32	1,15
	150	1,267*	,126	,000	,85	1,68
	200	2,267*	,126	,000	1,85	2,68
50	0	-,400	,126	,061	-,82	,02
	100	,333	,126	,136	-,08	,75
	150	,867*	,126	,000	,45	1,28
	200	1,867*	,126	,000	1,45	2,28
100	0	-,733*	,126	,001	-1,15	-,32
	50	-,333	,126	,136	-,75	,08
	150	,533*	,126	,012	,12	,95
	200	1,533*	,126	,000	1,12	1,95
150	0	-1,267*	,126	,000	-1,68	-,85
	50	-,867*	,126	,000	-1,28	-,45
	100	-,533*	,126	,012	-,95	-,12
	200	1,000*	,126	,000	,58	1,42
200	0	-2,267*	,126	,000	-2,68	-1,85
	50	-1,867*	,126	,000	-2,28	-1,45
	100	-1,533*	,126	,000	-1,95	-1,12
	150	-1,000*	,126	,000	-1,42	-,58

*,Perbedaan rata – rata adalah signifikan pada tingkat 0,05.

* = tidak berbeda nyata

Hemorrhagic

Tukey HSD

Perlakuan n	Subset untuk alpha = 0,05				Notasi
	1	2	3	4	
200	1,33				a
150		2,33			b
100			2,87		c

50			3,20	3,20	cd
0				3,60	d
Sig,	1,000	1,000	,136	,061	

Kelompok yang homogen akan ditampilkan.

ANOVA

Hemorrhagic

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		9,253	4	2,313	96,389	,000
	Linear Term	Contrast	8,748	1	8,748	364,500	,000
		Deviation	,505	3	,168	7,019	,008
	Quadratic Term	Contrast	,420	1	,420	17,500	,002
		Deviation	,085	2	,043	1,778	,218
	Cubic Term	Contrast	,085	1	,085	3,556	,089
		Deviation	,000	1	,000	,000	1,000
	4th-order Term	Contrast	,000	1	,000	,000	1,000
Within Groups			,240	10	,024		
Total			9,493	14			

Nilai sig pada linier < 0,05 maka, hubungan variable penelitian adalah linier

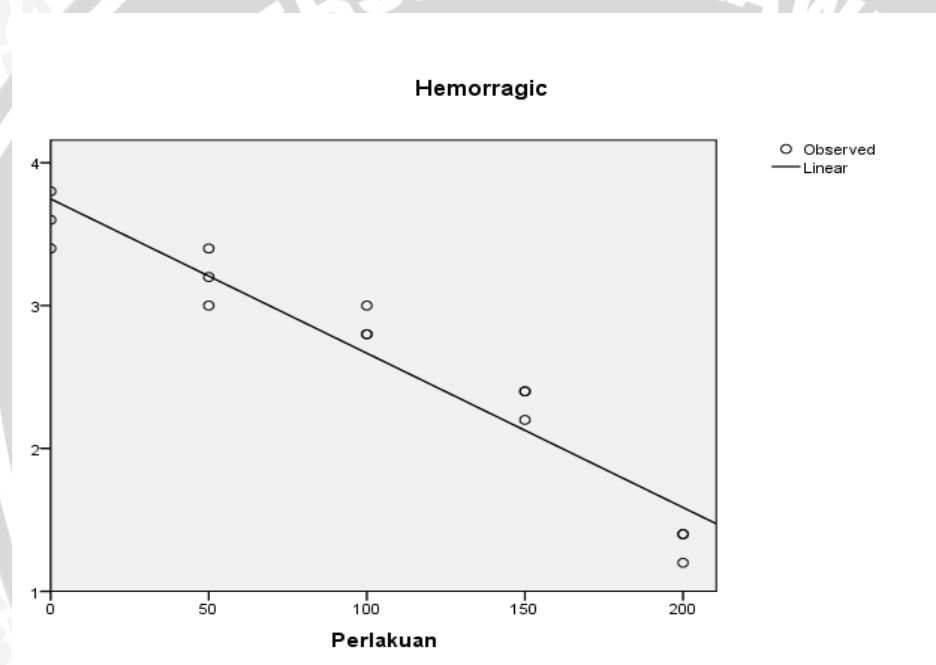
Model Summary

R	R ²	Penyesuaian R ²	Perkiraan Standar Error
,960	,921	,915	,239

Koefisien

	Bukan Koefisien Standar		Standar Koefisien	t	Sig,
	B	Std, Error	Beta		
Perlakuan	-,011	,001	-,960	-12,352	,000
(Constant)	3,747	,107		34,989	,000

Didapatkan persamaan $y = 3,747 - 0,11x$



Lampiran 11. Data hasil kerusakan jaringan Hati yang terjadi Nekrosis

Kerusakan	Perlakuan	Ulangan	Sel / LUAS BIDANG PANDANG					Rata-Rata
			LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	
Nekrosis	50 ppm	1	3	3	3	4	3	3,0

		2	3	3	4	3	3	3,2
		3	3	2	4	3	4	3,2
	100 ppm	1	3	4	3	3	3	3,2
		2	3	2	3	3	3	3,0
		3	2	3	3	3	3	2,8
	150 ppm	1	3	2	3	1	2	2,2
		2	2	2	1	2	3	2,0
		3	2	3	2	1	2	2,0
	200 ppm	1	1	1	1	1	1	1,0
		2	1	2	1	1	1	1,2
		3	1	1	1	1	1	1,0
	Bakteri	1	4	3	4	4	4	3,8
		2	2	4	3	4	4	3,4
		3	3	4	4	4	3	3,6

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Nekrosis
N		15
Normal Parameters ^a	Mean	2,59
	Std. Deviation	,961
Most Extreme Differences	Absolute	,200
	Positive	,126
	Negative	-,200
Kolmogorov-Smirnov Z		,774
Asymp. Sig. (2-tailed)		,587

a. Test distribution is Normal
 Nilai Z = 0,649 ($\alpha > 0,05$) jadi, data diatas normal

Perlakuan

Perlakuan	Nekrosis				
	Rata - rata	Standar Deviasi	Standar Error	Nilai Kepercayaan 95%	
0	3,67	,231	,133	Terendah 3,09	Tertinggi 4,24

50	3,13	,115	,067	2,85	3,42
100	3,00	,200	,115	2,50	3,50
150	2,07	,115	,067	1,78	2,35
200	1,07	,115	,067	,78	1,35
Total	2,59	,961	,248	2,05	3,12

ANOVA

Nekrosis

Sumber Keragaman	jk	db	kt	F hitung	Sig,
Perlakuan	12,651	4	3,163	118,600	,000
Acak	,267	10	,027		
Total	12,917	14			

Nilai Sig < α = 0,05 berarti data berbeda sangat nyata

Beberapa Perbandingan

Nekrosis

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata-rata perbandingan (I-J)	Standar Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Terendah	Tertinggi
0	50	,533*	,133	,017	,09	,97
	100	,667*	,133	,004	,23	1,11
	150	1,600*	,133	,000	1,16	2,04
	200	2,600*	,133	,000	2,16	3,04
50	0	-,533*	,133	,017	-,97	-,09

	100	,133	,133	,850	-,31	,57
	150	1,067*	,133	,000	,63	1,51
	200	2,067*	,133	,000	1,63	2,51
100	0	-,667*	,133	,004	-1,11	-,23
	50	-,133	,133	,850	-,57	,31
	150	,933*	,133	,000	,49	1,37
	200	1,933*	,133	,000	1,49	2,37
150	0	-1,600*	,133	,000	-2,04	-1,16
	50	-1,067*	,133	,000	-1,51	-,63
	100	-,933*	,133	,000	-1,37	-,49
	200	1,000*	,133	,000	,56	1,44
200	0	-2,600*	,133	,000	-3,04	-2,16
	50	-2,067*	,133	,000	-2,51	-1,63
	100	-1,933*	,133	,000	-2,37	-1,49
	150	-1,000*	,133	,000	-1,44	-,56

*,Perbedaan rata – rata adalah signifikan pada tingkat 0,05.

* = tidak berbeda nyata

Nekrosis

Tukey HSD

Perlakuan n	Subset untuk alpha = 0,05				Notasi
	1	2	3	4	
200	1,07				a
150		2,07			b
100			3,00		c
50			3,13		c
0				3,67	d
Sig,	1,000	1,000	,850	1,000	

Nekrosis

Tukey HSD

Perlakuan n	Subset untuk alpha = 0,05				Notasi
	1	2	3	4	
200	1,07				a
150		2,07			b
100			3,00		c
50			3,13		c
0				3,67	d
Sig.	1,000	1,000	,850	1,000	

Kelompok yang homogen akan ditampilkan.

ANOVA

Nekrosis

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		12,651	4	3,163	118,600	,000
	Linear Term	Contrast	11,781	1	11,781	441,800	,000
		Deviation	,869	3	,290	10,867	,002
	Quadratic Term	Contrast	,644	1	,644	24,143	,001
		Deviation	,226	2	,113	4,229	,047
	Cubic Term	Contrast	,065	1	,065	2,450	,149
		Deviation	,160	1	,160	6,007	,034
	4th-order Term	Contrast	,160	1	,160	6,007	,034
Within Groups			,267	10	,027		
Total			12,917	14			

Nilai sig pada linier < 0,05 maka, hubungan variable penelitian adalah linier

Model Summary

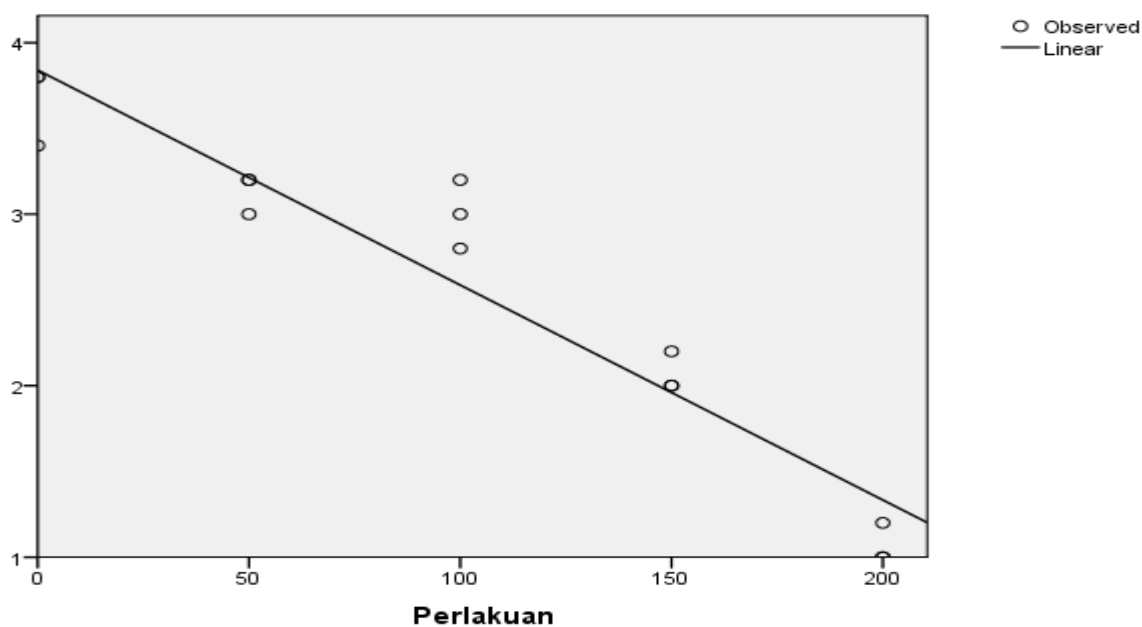
R	R ²	Penyesuaian R ²	Perkiraan Standar Error
,955	,912	,905	,296

Koefisien

	Bukan Koefisien Standar		Standar Koefisien	t	Sig.
	B	Std, Error	Beta		
Perlakuan	-,013	,001	-,955	-11,611	,000
(Constant)	3,840	,132		29,047	,000

Didapatkan persamaan $y = 3,840 - 0,13x$

Nekrosis



Lampiran 12. Data hasil kerusakan jaringan Hati yang terjadi Inflamasi

Kerusakan	Perlakuan	Ulangan	SEL / LUAS BIDANG PANDANG					Rata-Rata
			LP 1	LP 2	LP 3	LP 4	LP 5	
Inflamasi	50 ppm	1	3	3	3	3	3	3,0
		2	3	4	4	3	4	3,6
		3	4	3	2	3	4	3,2
	100 ppm	1	3	2	3	4	3	3,0
		2	3	2	3	3	2	2,8
		3	2	4	3	2	3	2,8
	150 ppm	1	2	2	2	1	3	2,0
		2	3	3	1	2	2	2,0
		3	2	2	2	2	3	2,2
	200 ppm	1	1	1	1	1	1	1,0
		2	1	1	1	1	1	1,0
		3	1	1	1	1	1	1,0
	Bakteri	1	4	4	4	3	4	3,8
		2	3	4	4	4	3	3,6
		3	4	3	4	4	4	3,8

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Inflamasi
N		15
Normal Parameters ^a	Mean	2,61
	Std. Deviation	1,018
Most Extreme Differences	Absolute	,181
	Positive	,143
	Negative	-,181
Kolmogorov-Smirnov Z		,702
Asymp. Sig. (2-tailed)		,708

a, Test distribution is Normal

Nilai Z = 0,702 ($\alpha > 0,05$) jadi, data diatas normal.

Perlakuan

Inflamasi

Perlakuan	Rata - rata	Standar Deviasi	Standar Error	Nilai Kepercayaan 95%	
				Terendah	Tertinggi
0	3,73	,115	,067	3,45	4,02
50	3,27	,306	,176	2,51	4,03
100	3,00	,200	,115	2,50	3,50
150	2,07	,115	,067	1,78	2,35
200	1,00	,000	,000	1,00	1,00
Total	2,61	1,018	,263	2,05	3,18

ANOVA

Inflamasi

Sumber Keragaman	Jk	db	Kt	F hitung	Sig
Perlakuan	14,197	4	3,549	110,917	,000
Acak	,320	10	,032		
Total	14,517	14			

Nilai Sig < α = 0,05 berarti data berbeda sangat nyata

Beberapa Perbandingan

Inflamasi
Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata-rata perbandingan (I-J)	Standar Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Terendah	Tertinggi
0	50	,467	,146	,058	-,01	,95
	100	,733*	,146	,004	,25	1,21
	150	1,667*	,146	,000	1,19	2,15
	200	2,733*	,146	,000	2,25	3,21
50	0	-,467	,146	,058	-,95	,01
	100	,267	,146	,411	-,21	,75
	150	1,200*	,146	,000	,72	1,68
	200	2,267*	,146	,000	1,79	2,75
100	0	-,733*	,146	,004	-1,21	-,25
	50	-,267	,146	,411	-,75	,21
	150	,933*	,146	,001	,45	1,41
	200	2,000*	,146	,000	1,52	2,48
150	0	-1,667*	,146	,000	-2,15	-1,19
	50	-1,200*	,146	,000	-1,68	-,72
	100	-,933*	,146	,001	-1,41	-,45
	200	1,067*	,146	,000	,59	1,55
200	0	-2,733*	,146	,000	-3,21	-2,25
	50	-2,267*	,146	,000	-2,75	-1,79
	100	-2,000*	,146	,000	-2,48	-1,52
	150	-1,067*	,146	,000	-1,55	-,59

*, Perbedaan rata – rata adalah signifikan pada tingkat 0,05.

* = tidak berbeda nyata

Inflamasi

Tukey HSD

Perlakuan n	Subset untuk alpha = 0,05				Notasi
	1	2	3	4	
200	1,00				a
150		2,07			b
100			3,00		c
50			3,27	3,27	cd
0				3,73	d
Sig	1,000	1,000	,411	,058	

Kelompok yang homogen akan ditampilkan,

ANOVA

Inflamasi

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		14,197	4	3,549	110,917	,000
	Linear Term	Contrast	13,333	1	13,333	416,667	,000
		Deviation	,864	3	,288	9,000	,003
	Quadratic Term	Contrast	,747	1	,747	23,333	,001
		Deviation	,117	2	,059	1,833	,210
	Cubic Term	Contrast	,033	1	,033	1,042	,331
		Deviation	,084	1	,084	2,625	,136
	4th-order Term	Contrast	,084	1	,084	2,625	,136
Within Groups			,320	10	,032		
Total			14,517	14			

Nilai sig pada linier < 0,05 maka, hubungan variable penelitian adalah linier

Model Summary

R	R ²	Penyesuaian R ²	Perkiraan Standar Error
,958	,918	,912	,302

The independent variable is Perlakuan.

Koefisien

	Bukan Koefisien Standar		Standar Koefisien	t	Sig.
	B	Std, Error	Beta		
Perlakuan	-,013	,001	-,958	-12,099	,000
(Constant)	3,947	,135		29,242	,000

Didapatkan persamaan $y = 3,947 - 0,13x$

Inflamasi

