

**PENGARUH EKSTRAK KASAR *Holothuria scabra* TERHADAP ERITROSIT,
DEFERENSIAL LEUKOSIT DAN HEMATOKRIT IKAN PATIN (*Pangasius* sp.)
YANG TERINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

**Oleh :
WHINDA INDUSTRIANAYA CINTIA DEWI
NIM. 105080501111018**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

**PENGARUH EKSTRAK KASAR *Holothuria scabra* TERHADAP ERITROSIT,
DEFERENSIAL LEUKOSIT DAN HEMATOKRIT IKAN PATIN (*Pangasius* sp.)
YANG TERINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

**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 :

WHINDA INDUSTRIANAYA CINTIA DEWI

NIM. 105080501111018



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK KASAR *Holothuria scabra* TERHADAP ERITROSIT,
DEFERENSIAL LEUKOSIT DAN HEMATOKRIT IKAN PATIN (*Pangasius sp.*)
YANG TERINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Oleh :

WHINDA INDUSTRANAYA CINTIA DEWI
NIM. 105080501111018

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 23 juli 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I

(Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D)
NIP. 19460320 197303 1 001
Tanggal :

Dosen Penguji I

(Ir. Heny Suprastyani, MS)
NIP. 19620904 198701 2 001
Tanggal :

Dosen Pembimbing I

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

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. Maftuch, M. Si)
NIP. 19660825 199203 1 001
Tanggal :

Mengetahui
Ketua Jurusan

(Dr. Ir. Arning W. Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal

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 penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 23 Juli 2014

Mahasiswa,

Whinda Industranaya C D

UCAPAN TERIMA KASIH

Atas selesainya laporan ini, tak lupa penulis mengucapkan terimakasih kepada :

- Kedua Orang Tua dan kakak ku tercinta untuk doa, kasih sayang dan dukungan yang tidak pernah putus selama ini.
- Teman-teman satu tim penelitian "Holoturia" yang banyak memberikan bantuan dan support
- Keluarga Besar Budidaya Perairan Angkatan 2010 (Saudara '10), yang telah banyak membantu dan memberi semangat.
- Laboran yang banyak memberikan dukungan dan masukan yang berharga dalam penelitian ini



Malang, 23 Juli 2014

Penulis

RINGKASAN

WHINDA INDUSTRANAYA. Pengaruh Ekstrak Kasar *Holothuria scabra* Terhadap Eritrosit, Deferensial Leukosit Dan Hematokrit Ikan Patin (*Pangasius* sp.) Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. (dibawah bimbingan **Prof.Dr. Ir.Sri Andayani, M. S dan Dr. Ir. Maftuch, M. Si**)

Ikan patin (*Pangasius* sp.) sebagai ikan air tawar yang dibudidayakan memiliki potensi yang sangat besar. Akhir-akhir ini, masyarakat banyak yang memelihara ikan tersebut tidak hanya untuk memenuhi keperluan gizi keluarga, akan tetapi dijadikan sebagai lahan wirausaha untuk mendapatkan penghasilan. Masalah terbesar yang sering dianggap serius menjadi penghambat budidaya ikan adalah munculnya penyakit. Penyakit yang disertai gangguan hama dapat menyebabkan pertumbuhan ikan menjadi sangat lambat (kekerdilan), padat tebar sangat rendah, lebih lama, dan ini berarti meningkatnya biaya produksi. Tahap lanjut penyakit dan gangguan hama tidak hanya menyebabkan menurunnya hasil panen (produksi) tetapi juga dapat menyebabkan kegagalan panen. Salah satu alternatif penanggulangan penyakit, serta peningkatan kekebalan ikan adalah menggunakan imunostimulan. Imunostimulan merupakan senyawa kimia, obat atau bahan lainnya yang mampu meningkatkan mekanisme respon imunitas ikan. Imunostimulan yang digunakan yaitu ekstrak *H. scabra*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak teripang pasir (*H. scabra*) sebagai imunostimulan terhadap hematologi ikan patin (*Pangasius* sp.) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* serta konsentrasi ekstrak teripang pasir (*H. scabra*) yang optimal pada ikan patin (*Pangasius* sp...). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Sentra Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya, Laboratorium Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malik Ibrahim Malang Malang pada tanggal 3 Februari sampai 29 April 2014.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu eksperimen, sedangkan rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri dari tiga perlakuan ditambah dengan dua kontrol yaitu kontrol positif dan negatif dengan 3 (tiga) kali ulangan. Sebagai perlakuan pemberian konsentrasi ekstrak *H. scabra* yaitu A = konsentrasi 50 ppm, B = konsentrasi 100 ppm, C = konsentrasi 150 ppm dan K(+) = konsentrasi 0 ppm. Parameter utama pada penelitian ini adalah analisis statistik parameter utama adalah total eritrosit, deferensial leukosit dan hematokrit pada ikan patin (*Pangasius* sp.), sebagai parameter penunjang adalah pH, suhu dan oksigen terlarut.

Berdasarkan hasil penelitian untuk meningkatkan sistem imun ikan patin adalah dengan menggunakan perendaman ekstrak kasar *H.scabra optimal* sebesar 100 ppm. Hal ini dapat diamati melalui paramter hematologi diantaranya Presentase monosit sebelum diinfeksi adalah 11.1% dan sesudah diinfeksi adalah 12.05%. Presentase neutrofil sebelum diinfeksi adalah 10.8% dan sesudah diinfeksi adalah 12,%. Data kualitas air selama pengamatan menunjukkan bahwa rata-rata kualitas air berada pada kisaran normal diantaranya suhu berkisar antara 25-26 °C, DO berkisar antara 5,64-6,39 ml/l dan pH berkisar antara 7,63-7,79.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, karena atas limpahan nikmat serta karunia-Nya, maka penyusunan laporan skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Laporan skripsi dengan judul “Pengaruh Ekstrak Kasar *Holothuria scabra* Terhadap Eritrosit, Deferensial Leukosit Dan Hematokrit Ikan Patin (*Pangasius* sp.) Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*” ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Laporan ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada tanggal pada tanggal 3 Februari sampai 29 April 2014.

Tidak lupa penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, M.S, selaku dosen pembimbing 1 yang telah membimbing pelaksanaan penelitian dan penulisan laporan
2. Dr. Ir. Maftuch, M. Si, selaku dosen pembimbing 2 yang telah membimbing dan memotivasi dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan laporan

Penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan dan keterbatasan. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan. Besar harapan penulis bahwa semoga tulisan ini bermanfaat untuk semua pihak dan dapat dijadikan sebagai bahan informasi di bidang perikanan.

Malang, 23 Juli 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN ORISINALITAS.....	i
UCAPAN TERIMA KASIH.....	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1.PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	5
2.TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Biologi Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.)	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	6
2.1.2 Habitat dan Daerah Penyebaran.....	7
2.1.3 Makanan dan Kebiasaan Makan.....	8
2.2 Bakteri <i>A. hydrophila</i>	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>A. hydrophila</i>	9
2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan <i>A. hydrophila</i>	10
2.2.3 Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	11
2.3 Biologi Teripang Pasir (<i>Holothuria scabra</i>)	12
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Teripang (<i>H.scabra</i>)	12
2.3.2 Habitat dan Penyebaran Teripang (<i>H.scabra</i>)	13
2.3.3 Manfaat dan Kegunaan.....	14
2.3.4 Kandungan Bioaktif.....	15
2.3.5 Ekstraksi	16
2.4 Immunostimulan	16
2.5 Efisiensi dan Strategi dalam Pemberian Immunostimulan	17
2.6 Hematologi.....	18
2.6.1 Nilai Hematokrit	19
2.6.2 Sel Darah Merah (Eritrosit)	19
2.6.3 Limfosit	20
2.6.4 Monosit.....	21

2.6.5 Neutrofil	22
2.7 Kualitas Air	22
3. METODE PENELITIAN.....	24
3.1 Materi Penelitian	24
3.1.1 Peralatan Penelitian.....	24
3.1.2. Bahan Penelitian.....	24
3. 2 Rancangan Penelitian	24
3.3 Prosedur Penelitian	26
3.3.1 Persiapan Penelitian	26
3.3.2 Penelitian Pendahuluan	29
3.3.3 Pelaksanaan Penelitian	30
3.4 Parameter Uji	32
3.4.1 Parameter Utama	32
3.4.2 Parameter Penunjang	33
3.5 Analisis Data.....	34
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Hasil Uji Fikimia.....	35
4.2 Hasil Pengukuran Parameter Hematologi.....	36
4.2.1 Jumlah Total Eritrosit Ikan patin (<i>Pangasius</i> sp.) Sebelum dan Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	36
4.2.2 Diferensial Leukosit Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) Sebelum dan Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	42
4.2.3 Jumlah Total Hematokrit Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) Sebelum dan Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	60
4.3 Kualitas Air	66
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	68
5.1 Kesimpulan	68
5.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA.....	69
LAMPIRAN	76

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Metode Pemberian Immunostimulan pada Ikan	17
2. Ringkasan Kelebihan dan Kekurangan Metode Pemberian Immunostimulan pada Ikan.	18
3. Hasil uji fitokimia Ekstrak Kasar <i>H.scabra</i>	35
4. Jumlah eritrosit ikan patin pada setiap perlakuan ($\times 10^5$ sel/ml)	36
5. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Eritrosit Ikan patin Sebelum Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	38
6. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Eritrosit Ikan Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	38
7. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Eritrosit Ikan patin Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	40
8. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Eritrosit Ikan Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	40
9. Jumlah monosit ikan patin pada setiap perlakuan (%)	42
10. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Monosit Ikan patin Sebelum Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	44
11. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Monosit Ikan Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	44
12. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Monosit Ikan patin Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	46
13. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Monosit Ikan Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	46
14. Jumlah Limfosit Ikan Patin Pada Setiap Perlakuan (%)	48
15. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Limfosit Ikan patin Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	50
16. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Limfosit Ikan Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	50
17. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Limfosit Ikan patin Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	52

18. Uji BNT Jumlah Rata-Rata limfosit Ikan Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	52
19. Jumlah Neutrofil ikan patin pada setiap perlakuan (%).....	54
20. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Neutrofil Ikan patin Sebelum Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	56
21. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Neutrofil Ikan Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	56
22. . Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Neutrofil Ikan patin Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	58
23. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Neutrofil Ikan Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	58
24. Jumlah hematokritl ikan patin setiap perlakuan (%)	60
25. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Hematokrit Ikan patin Sebelum Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	62
26. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Hematokrit Ikan Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	62
27. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Hematokrit Ikan patin Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	64
28. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Hematokrit Ikan Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	65
29. Parameter Kualitas Air pada Media Pemeliharaan Selama Penelitian	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Patin (<i>Pangasius sp.</i>) (Mahyudin, 2010).....	7
2. (a) Koloni Bakteri <i>A. hydrophila</i> , (b) Individu <i>A. hydrophila</i> (Lallier dan Daegneult, 1984).....	9
3. Teripang Pasir (<i>H.scabra</i>) (Aras, 2013).....	13
4. Sel Darah Merah (Eritrosit) (Mones, 2008).....	20
5. Limfosit (Mones, 2008)	21
6. Monosit (Mones, 2008)	21
7. Neutrofil (Chinabut <i>et al.</i> , 1991)	22
8. Denah Penelitian In vivo	25
9. Kerangka operasional kegiatan persiapan	26
10. Pengaruh pemberian ekstrak <i>H.scabra</i> terhadap eritrosit ikan patin (<i>Pangasius sp.</i>) sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri	37
11. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar <i>H.scabra</i> terhadap Eritrosit Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	39
12. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar <i>H.scabra</i> terhadap Eritrosit Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	41
13. Pengaruh pemberian ekstrak <i>H.scabra</i> terhadap monosit ikan patin (<i>Pangasius sp.</i>) sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>	43
14. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar <i>H.scabra</i> terhadap Monosit Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	45
15. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar <i>H.scabra</i> terhadap Monosit Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	47
16. Pengaruh pemberian ekstrak <i>H.scabra</i> terhadap limfosit ikan patin (<i>Pangasius sp.</i>) sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>	49
17. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar <i>H.scabra</i> terhadap Limfosit Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	51

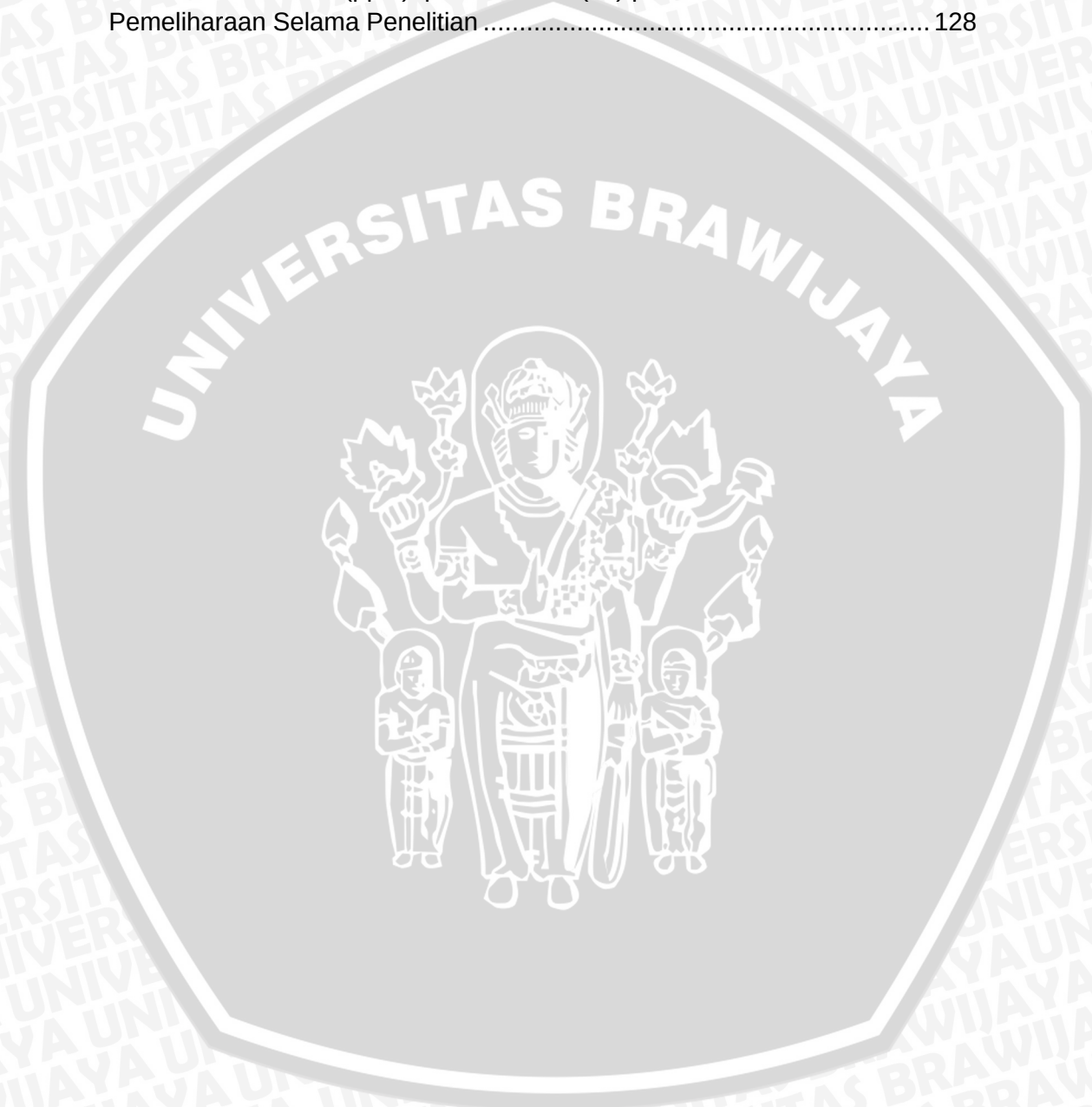
18. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar <i>H.scabra</i> terhadap Limfosit Patin Setelah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	53
19. Pengaruh pemberian ekstrak <i>H.scabra</i> terhadap Neutrofil ikan patin (<i>Pangasius</i> sp.) sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>	55
20. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar <i>H.scabra</i> terhadap Neutrofil Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	57
21. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar <i>H.scabra</i> terhadap Neutrofil Patin Setelah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	59
22. Pengaruh pemberian ekstrak <i>H.scabra</i> terhadap Hematokrit ikan patin (<i>Pangasius</i> sp.) sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri	61
23. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar <i>H.scabra</i> terhadap kadar Hematokrit ikan Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	63
24. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar <i>H.scabra</i> terhadap kadar Hematokrit ikan Patin Setelah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	65



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat-alat dan Bahan-bahan Penelitian	76
2. Bagan Pembuatan Ekstrak Kasar <i>H. scabra</i>	79
3. Pembuatan Media TSA, NB dan Pembiakan Murni Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	80
4. Bagan Penentuan Dosis Perendaman Ikan Patin Menggunakan Fraksi N – Butanol <i>H. scabra</i> untuk Penelitian In Vivo	82
5. Uji LC ₅₀ Bakteri <i>A. hydrophila</i> Pada Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.)	84
6. Perhitungan konsentrasi bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	85
7. Hasil Uji Fitokimia Teripang Pasir (<i>H. scabra</i>)	87
8. Data hasil perhitungan jumlah eritrosit Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) sebelum diinfeksi bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	88
9. Data hasil perhitungan jumlah eritrosit Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) sesudah diinfeksi bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	92
10. Data hasil perhitungan jumlah Monosit Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) sebelum diinfeksi bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	96
11. Data hasil perhitungan jumlah Monosit Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) sesudah diinfeksi bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	100
12. Data hasil perhitungan jumlah Limfosit Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) sebelum diinfeksi bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	104
13. Data hasil perhitungan jumlah Limfosit Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) sesudah diinfeksi bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	108
14. Data hasil perhitungan Neutrofil Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) sebelum diinfeksi bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	112
15. Data hasil perhitungan Neutrofil Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) sesudah diinfeksi bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	116

16. Data hasil perhitungan Hematokrit Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) sebelum diinfeksi bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	120
17. Data hasil perhitungan Hematokrit Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) sesudah diinfeksi bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	124
18. Data Kualitas Air DO (ppm), pH dan Suhu (°C) pada Media Pemeliharaan Selama Penelitian	128



PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Potensi ikan patin (*Pangasius* sp.) sebagai ikan air tawar yang dibudidayakan sangat besar. Akhir-akhir ini, masyarakat banyak yang memelihara ikan tersebut tidak hanya untuk memenuhi keperluan gizi keluarga, akan tetapi dijadikan sebagai lahan wirausaha untuk mendapatkan penghasilan. Ikan patin memiliki daging yang tergolong enak, lezat, dan gurih. Selain itu, ikan ini mengandung protein yang tinggi dan kolesterol yang rendah. Ikan patin mengandung protein 68,69%, lemak 5,8%, abu 3,5%. dan air 59,3%. Ikan ini dapat mencapai ukuran besar dan dagingnya berwarna putih sehingga menjadi menarik bagi konsumen (Kordi, 2010).

Ikan patin tergolong ikan yang cepat pertumbuhannya. Ikan ini merespon dengan baik terhadap pakan buatan yang diberikan serta dapat dibudidayakan di berbagai tipe perairan dan wadah budidaya. Hal ini dikarenakan ikan patin merupakan kelompok ikan *cattfish* yang dapat hidup pada perairan yang kandungan oksigennya rendah (Susanto dan Amri, 2008). Faktor-faktor inilah yang menyebabkan ikan patin begitu diminati dan dapat mendatangkan keuntungan tersendiri bagi sebagian masyarakat yang membudidayakannya.

Penyakit merupakan salah satu masalah yang sering dijumpai dalam usaha budidaya ikan patin. Salah satu yang menjadi ancaman adalah penyakit infeksi oleh bakteri. Bakteri yang sering menyerang ikan patin adalah penyakit bakteri yang juga biasa menyerang ikan-ikan air tawar jenis lainnya, yaitu *Aeromonas hydrophila* (Supriyadi *et al.*, 1998 dalam Wahjuningrum, 2008).

Bakteri patogen *Aeromonas hydrophila* memungkinkan untuk menyebabkan lebih banyak kematian pada ikan patin siam dalam fase larva dibandingkan fase yang lain. Kegiatan budidaya ikan patin tidak luput dari

gangguan penyakit (Kurniawan,2011). Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan patin dan ikan air tawar lainnya adalah penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*). Penyakit ini juga dikenal sebagai penyakit bercak merah yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* dan mudah menular (Angka et al., 1982 dalam Yuhana et al., 2008)

Bakteri *A. hydrophila* secara normal hidup di air tawar. Infeksi bakteri ini dapat terjadi akibat perubahan kondisi lingkungan, stress, perubahan temperatur, air yang terkontaminasi dan ketika *host* tersebut telah terinfeksi oleh virus, bakteri atau parasit lainnya (infeksi sekunder). Oleh karena itu bakteri ini disebut sebagai bakteri yang bersifat patogen *oportunistik*. Infeksi bakteri ini dapat menimbulkan penyakit dengan gejala-gejala di antaranya, kulit mudah terkelupas, bercak merah pada seluruh tubuh, insang berwarna suram atau kebiruan, *exophthalmia* (bola mata menonjol keluar), pendarahan sirip punggung, sirip dada, sirip perut, dan sirip ekor, juga terjadinya pendarahan pada anus, dan hilang nafsu makan (Mulia dan Arif , 2003).

Penelitian penggunaan obat-obatan dan antibiotik sudah banyak diterapkan untuk penanggulangan penyakit ikan, seperti penggunaan tetracycline (Jun et al., 2010) tetapi hasilnya masih kurang memuaskan. Penggunaan bahan - bahan kimia tersebut juga menimbulkan masalah baru yaitu dapat meningkatkan pencemaran lingkungan (Rairakhwada et al.,2007), adanya akumulasi residu antibiotik dalam jaringan ikan akan mempengaruhi pertumbuhannya dan resistensi terhadap obat-obatan serta adanya *imunosupresi* (Maqsood et al.,2009). Upaya menghindari dampak negatif penggunaan antibiotik dan obat - obatan tersebut diatas, diperlukan berbagai metode untuk dapat meningkatkan kekebalan ikan terhadap penyakit dalam suatu kegiatan usaha budidaya ikan air tawar (Selvaraj et al.,2006).

Salah satu alternatif penanggulangan penyakit, serta peningkatan kekebalan ikan adalah menggunakan imunostimulan. Imunostimulan merupakan zat kimia, obat-obatan, stresor, atau aksi untuk meningkatkan respon imun ikan yang berinteraksi secara langsung dengan sel sistem imun (Sakai, 1999). Menurut Galindo dan Hosokawa (2004), ada 10 kelompok imunostimulan yaitu produk bakteri, jamur, khamir, ikatan partikel terlarut dengan β -glukan, glikan-polisakarida, kitin dan kitosan, peptida, ekstrak tumbuhan dan hewan, bahan sintetis dan sitokinin.

Bahan alami yang dapat digunakan untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh ikan adalah teripang pasir (*Holothuria scabra*). Senyawa yang terkandung dalam teripang adalah lektin, sterol, saponin/triperten glikosida (Tian *et al.*, 2007). Senyawa bioaktif terbesar pada tubuh teripang adalah saponin (Dyick *et al.*, 2010). Glikosida triterpen memiliki peran yang kuat sebagai imunostimulator yaitu dengan menstimulasi aktivitas lisosom makrofag mencit (Aminin *et al.*, 2001). Dari hasil penelitian Suhermanto *et al.*, (2008) Pemberian ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) dapat meningkatkan parameter hematologi non spesifik antara lain jumlah leukosit dan diferensial leukosit ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

Parameter yang dapat memperlihatkan perubahan patologi pada ikan adalah melalui pengamatan hematologi yang meliputi jumlah eritrosit (sel darah merah), hematokrit dan diferensial leukosit (monosit, limfosit dan neutrofil) (Bijanti, 2005).

1.2 Perumusan Masalah

Infeksi *Aeromonas* pada ikan secara umum dikenal sebagai MAS (*Motile Aeromonas septicaemia*) dengan luka yang meluas pada kulit, nekrosis fokal

(kerusakan sel) pada liver, spleen, ginjal dan jaringan lain. Apabila tidak ditangani secara tepat maka dapat menyebabkan kematian masal (Grandiosa, 2010).

Usaha pengendalian penyakit bakterial pada budidaya ikan patin pada saat ini masih tertumpu pada penggunaan antibiotik. Penggunaan antibiotik memiliki kekurangan yaitu dapat menyebabkan residu di dalam tubuh ikan dan bakteri patogen menjadi resisten. Salah satu alternatif untuk mengatasi masalah ini adalah dengan memanfaatkan senyawa bioaktif dari teripang pasir (*H. scabra*) berupa ekstrak kasar glikosida. Berdasarkan uraian dapat dirumuskan sebagai berikut :

- Apakah pemberian ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) dengan cara perendaman berpengaruh terhadap hematologi (total eritrosit, hematokrit dan diferensial leukosit) ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* ?
- Berapakah dosis ekstrak teripang pasir (*H. scabra*) optimal sehingga berpengaruh terhadap hematologi (total eritrosit, hematokrit dan diferensial leukosit) ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk :

- Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) terhadap hematologi (Total eritrosit, Hematokrit dan diferensial leukosit) ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.
- Mengetahui dosis ekstrak teripang pasir (*H. scabra*) optimal sehingga berpengaruh terhadap hematologi (Total eritrosit, hematokrit dan diferensial leukosit) ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.4 Hipotesis

H_0 : - Pemberian Ekstrak Kasar *H. scabra* diduga tidak mempengaruhi total eritrosit, hematokrit dan diferensial leukosit ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

- Pemberian Ekstrak Kasar *H.scabra* dengan dosis berbeda diduga tidak mempengaruhi total eritrosit, hematokrit dan diferensial leukosit ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

H₁ : - Pemberian Ekstrak Kasar *H.scabra* dengan dosis yang berbeda diduga dapat mempengaruhi total eritrosit, hematokrit dan diferensial leukosit ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian Ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Laboratorium Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Sentra Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya, Laboratorium Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malik Ibrahim Malang Malang pada tanggal 3 Februari sampai 29 April 2014.



2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Patin (*Pangasius* sp.)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

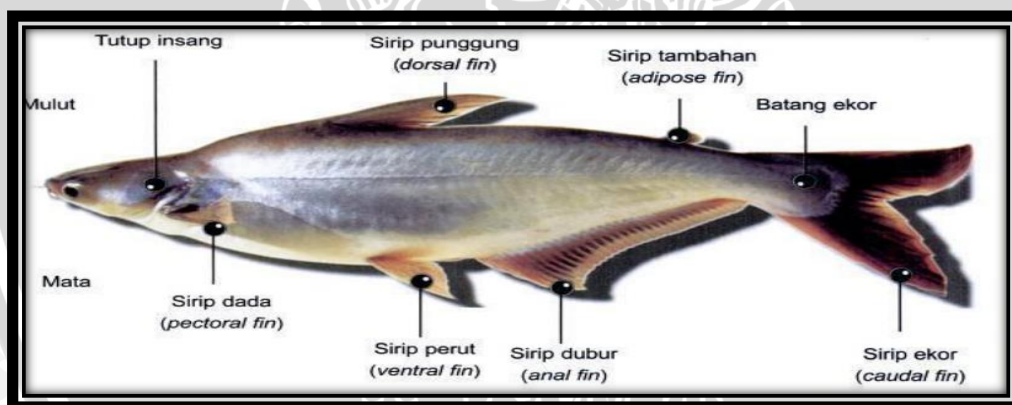
Ikan patin dulunya adalah nama lokal untuk ikan asli Indonesia yang memiliki nama ilmiah *Pangasius pangasius*. Namun, saat ini nama patin secara umum dipakai untuk memberi nama sebagian besar ikan keluarga Pangasidae. Untuk *Pangasius sutchi* diberi nama patin siam dan untuk *Pangasius djambal* di beri nama patin djambal. Bleeker (1846) dalam Yuliarti (2011) mengklasifikasikan ikan patin djambal sebagai berikut :

Domain	: Eukaryota
Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Bilateria
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Infraphylum	: Gnathostomata
Superclass	: Osteichthyes
Class	: Osteichthyes
Subclass	: Actinopterygii
Order	: Siluriformes
Family	: Pangasiidae
Genus	: <i>Pangasius</i>
Scientific name	: <i>Pangasius djambal</i>

Ikan patin memiliki badan memanjang berwarna putih seperti perak dengan punggung berwarna kebiru-biruan. Panjang tubuhnya bisa mencapai 120 cm, suatu ukuran yang cukup besar untuk ukuran ikan air tawar domestik. Kepala patin relatif kecil dengan mulut terletak diujung kepala agak disebelah bawah. Hal

ini merupakan ciri khas golongan *catfish*. Pada sudut mulutnya terdapat dua pasang kumis pendek yang berfungsi sebagai peraba (Amri, 2007).

Ikan patin memiliki sirip, yaitu sepasang sirip dada (*pectoral fin*), sepasang sirip perut (*ventral fin*), sebuah sirip punggung (*dorsal fin*), sebuah sirip dubur (*anal fin*) dan sebuah ekor (*caudal fin*). Selain lima sirip tersebut, patin juga memiliki sirip yang tidak dimiliki ikan ikan yang lain, yaitu sirip tambahan (*adipose fin*) yang terletak di antara sirip punggung dan sirip ekor. Pada sirip punggung terdapat 1 jari – jari keras (patil) dan 6 sampai 7 buah jari – jari lunak. Sirip dubur patin cukup panjang, yakni mulai dari belakang dubur hingga pangkal sirip ekor serta mempunyai 30 sampai 33 jari – jari lunak. Pada sirip perut terdapat 6 jari – jari lunak. Sedangkan pada sirip dada terdapat 1 jari – jari keras (patil) dan 12 sampai 13 jari – jari lunak (Mahyudin,2010). Berikut merupakan gambar morfologi ikan patin yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan Patin (*Pangasius* sp.)(Mahyudin,2010)

2.1.2 Habitat dan Daerah Penyebaran

Ikan patin banyak dijumpai pada habitat atau lingkungan hidup berupa perairan air tawar, yakni di waduk, sungai – sungai besar, dan muara – muara sungai. Patin lebih banyak menetap di dasar perairan dari pada di permukaan. Di Indonesia, patin tersebar di perairan pulau Sumatra, Kalimantan, dan Jawa. Sementara itu di luar Indonesia, patin dan kerabatnya banyak tersebar di

perairan Thailand, Vietnam, Cina, Kamboja, Myanmar, Laos, Burma, India, Taiwan, Malaysia, dan Semenanjung Indocina (Mahyudin,2010).

Sebagaimana ikan *cattfish* lainnya, ikan patin di alam bebas biasanya selalu bersembunyi di dalam liang – liang di tepi sungai atau kali. Ikan ini baru keluar dari liang persembunyian pada malam hari. Hal ini sesuai dengan sifatnya nocturnal (aktif pada malam hari). Di habitat aslinya, sungai – sungai besar tersebar di beberapa pulau besar di Indonesia, ikan lebih banyak menetap di dasar perairan ketimbang di permukaan, sehingga di golongan ikan dasar (damersal). Hal ini dapat dibuktikan dengan bentuk mulut yang melebar (Amri,2007).

2.1.3 Makanan dan Kebiasaan Makan

Ikan patin mempunyai sifat yang termasuk omnivora atau golongan ikan pemakan segala. Malam hari ia akan keluar dari lubangnya dan mencari makanan renik yang terdiri atas cacing, serangga, udang sungai, jenis-jenis siput dan biji-bijian. Dari sifat makannya ikan ini juga tergolong ikan yang sangat rakus karena jumlah makannya yang besar. Sedangkan untuk larva ikan patin yang dipelihara pada kolam – kolam maupun akuarium dapat diberikan makanan alami seperti artemia untuk memenuhi kebutuhan hidupnya (Maswira, 2009 dalam Yuliarti, 2011).

Menurut Amri (2007), seperti ikan patin lainnya pada umumnya, patin jambal juga termasuk pemakan segala (omnivora). Khusus dalam kolam pemeliharaan, larva dapat diberi pakan berupa pakan alami (zooplankton), seperti *Artemia sp*, *Moina sp*, dan *Daphnia sp*. Bahkan bisa saja langsung diberikan pakan buatan.

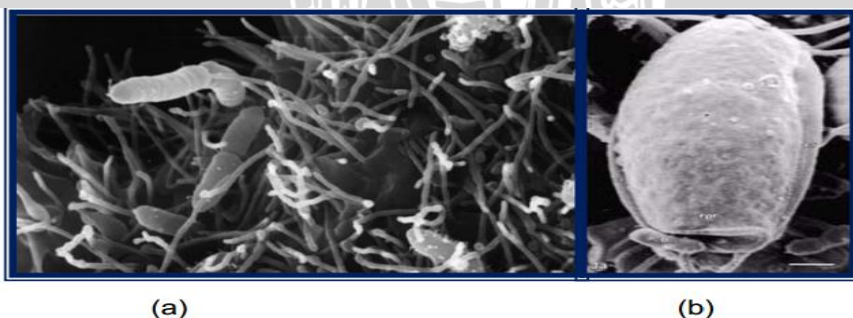
2.2 Bakteri *A. hydrophila*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* menurut Buchanan dan Gibsons (1974), diklasifikasikan sebagai berikut :

Filum	: Protophyta
Klas	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonodale
Sub Ordo	: Pseudomoneae
Family	: Vibrionaceae
Genus	: Aeromonas
Spesies	: <i>A. hydrophila</i>

Secara morfologis bakteri ini berbentuk batang pendek dengan ukuran 1,0-1,5 μm dan lebar 0,5-0,8 μm , termasuk bakteri gram negatif, bersifat motil, bergerak dengan satu polar flagella, oksidatif fermentatif, termasuk bakteri fakultatif anaerobik dan merupakan bakteri penyebab penyakit Haemorrhagic septicaemia yaitu bakteri yang merusak jaringan dan organ pembuat sel darah. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah 37° C (Kabata, 1985). Bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 2. Berikut.



Gambar 2. (a) Koloni Bakteri *A. hydrophila*, (b) Individu *A. hydrophila* (Lallier and Daegneult, 1984).

Lebih lanjut dijelaskan, bakteri ini ditemukan di dalam insang, kulit, ginjal, hati dan jantung serta ada di dalam air sebagai media hidup ikan. Penyakit yang disebabkan olehnya dikenal dengan nama infectious dropsy, red disease, red pest,

dan lain-lain. Gejala awal pada ikan terinfeksi adalah produksi lendir berkurang sehingga kulit menjadi kasar, kering, kulit lepuh dan berwarna pucat. Penyakit yang disebabkan oleh *A. hydrophila* bersifat oportunistis yaitu mampu berkembangbiak menjadi ganas pada keadaan optimum. Kemampuan bakteri *A. hydrophila* menyebabkan penyakit pada ikan disamping karena dapat membiak dengan cepat dalam tubuh ikan juga bergerak aktif dengan flagellanya melalui aliran darah ke seluruh tubuh sehingga dapat merusak organ dalam ikan seperti ginjal, hati dan limpa. Bakteri ini memiliki pili dan merupakan salah satu indikator virulensi *A. hydrophila* karena dibutuhkan oleh bakteri patogen untuk menempel pada inang sebelum infeksi (Lallier dan Daignealt, 1984).

Gejala ikan apabila terserang bakteri *A. hydrophila* menurut Afrianto dan Liviawaty (1992) akan memperlihatkan tanda-tanda yaitu warna tubuhnya berubah menjadi agak gelap, kulit menjadi kasar dan timbul pendarahan, selanjutnya akan menjadi borok (haemorrhagic), kemampuan berenang akan menurun dan sering mengambang dipermukaan air karena insangnya rusak dan sulit bernafas, sering terjadi pendarahan pada organ dalam seperti hati, ginjal, maupun limpa. Kadang juga terlihat perutnya agak kembung (dropsy), seluruh siripnya rusak dan insangnya menjadi berwarna keputih-putihan, mata rusak dan agak menonjol.

1.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* bersifat fakultatif anaerob yaitu bakteri yang dapat hidup dengan atau tanpa adanya oksigen (Kabata, 1985) dan akan tumbuh tersebar di seluruh medium jika diinokulasikan pada medium cair. Bakteri ini dapat tumbuh pada kisaran suhu 15-30°C, pH 5,5–9. Pembiakannya secara aseksual dengan memanjangkan sel diikuti pembelahan satu sel menjadi dua sel selama lebih kurang 10 menit (Volk dan Wheeler, 1993).

Bakteri *A. hydrophila* tidak dapat hidup lama tanpa inangnya, suhu optimal bagi pertumbuhannya 22 – 28°C, pada suhu 35°C pertumbuhannya terhambat. Genus *Aeromonas* mempunyai habitat di lingkungan perairan tawar, keberadaan *A. hydrophila* erat hubungannya dengan jumlah kandungan bahan organik di perairan atau sedimen dasar. Bakteri ini diakui sebagai patogen bagi hewan berdarah dingin (Holmes *et al.*, 1996).

A. hydrophila sering muncul pada musim kemarau, karena pada musim ini kandungan bahan organik perairan tinggi. Kandungan O₂ yang rendah, suhu tinggi, dan akumulasi bahan organik atau sisa metabolisme ikan serta pola padat penebaran dengan kepadatan tinggi akan berkorelasi positif terhadap perkembangbiakannya (Christian *et al.*, 2001).

2.2.3 Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Menurut Angka (2001) penelitian tentang bakteri *A. hydrophila* telah banyak dilakukan dan diketahui bahwa bakteri ini mampu menghasilkan produk eksotoksin. Eksotoksin adalah protein yang dapat berdifusi dan diekskresikan dari sel bakteri ke dalam sistem peredaran darah dan jaringan inang. Selanjutnya menurut Angka (2001) *A. hydrophila* menghasilkan berbagai toksin ekstraseluler atau enzim ekstraseluler yang merupakan faktor virulen. Produk ekstraseluler dari *A. hydrophila* terdiri atas hemolisin α dan β , protease, elastase, lipase, cytotoxin, enterotoksin, gelatinase, caseinase, lecithinase dan leucocidin.

Infeksi bakteri dapat terjadi melalui permukaan tubuh yang luka, saluran pencernaan makanan atau masuk melalui insang, kemudian masuk ke pembuluh darah dan akan menyebar pada organ dalam lainnya. Infeksi bakteri gram negatif ini bersifat laten (berkepanjangan), jadi tidak memperlihatkan gejala penyakit meskipun telah dijumpai pada tubuh ikan. Organ yang dapat diserang antara lain insang, ginjal, pankreas, spleen bahkan otot tulang. Sifat penyakit ini bervariasi

mengingat kondisi ini dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain virulensi dari bakteri, resistensi ikan terhadap infeksi, hadir atau tidaknya septicemia dan bacteremia serta faktor yang diasosiasikan dengan stres pada ikan (Kabata, 1985).

2.3 Biologi Teripang Pasir (*Holothuria scabra*)

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Teripang Pasir (*H.scabra*)

Menurut Grzimek (1974) dalam Cholik *et al.*, (2005) secara garis besar jenis teripang pasir dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Filum	: Echinodermata
Sub Filum	: Echinozoa
Kelas	: Holothuroidea
Sub Kelas	: Aspidochirotacea
Ordo	: Aspidochirotida
Famili	: Holothuriidae
Genus	: <i>Holothuria</i>
Spesies	: <i>H.scabra</i>

Morfologi teripang pasir (*H.scabra*) adalah bulat panjang (elongated cylindrical) sepanjang oral-aboral. Warna teripang pasir berbeda-beda antara lain putih, hitam, abu-abu jingga, coklat kehijauan, kuning, ungu dan berpola garis. Teripang pasir mempunyai dorsal berwarna abu-abu kehitaman dengan bintik putih atau kuning. Permukaan tubuh teripang tidak bersilia dan diselimuti lapisan kapur yang ketebalannya dipengaruhi oleh umur. Dibawah lapisan kulit terdapat satu lapis.

Teripang biasanya terletak secara horizontal diatas substrat dengan sisi ventral yang disebut trivium karena mempunyai tiga ambulakrum. Permukaan dorsal dinamakan bivium, memiliki dua ambulakrum. Teripang tidak mempunyai

lengan, sedang mulut dan anus terletak pada ujung poros berlawanan. Mulut dikelilingi oleh tentakel berjumlah 10-30 buah, merupakan modifikasi dari kaki podia (kaki tabung). Tentakel ini bagian dari sistem peredaran air, yang seluruhnya dapat disembunyikan ke dalam dinding tubuhnya karena kontraksi otot retraktor tentakel dan retraktor mulut (Sendih dan Gunawan, 2006). Teripang pasir dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Teripang Pasir (*H.scabra*) (Aras,2013)

Secara morfologi, teripang tidak dapat dibedakan jenis kelaminnya. Dengan adanya proses regenerasi organ dalam (usus dan gonad akan terbentuk kembali setelah dikeluarkan), maka cara yang digunakan untuk menentukan jenis kelamin hewan ini dengan melakukan stripping (pengurutan) atau pembedahan (Martoyo *et al.*, 2006).

2.3.2 Habitat dan Penyebaran Teripang Pasir (*H.scabra*)

Pada umumnya teripang hidup sebagai bentik di tempat berpasir atau tempat yang agak lunak (pasir berlumpur). Teripang dapat ditemukan hampir di seluruh perairan pantai, mulai daerah pasang surut yang dangkal sampai perairan yang lebih dalam. Untuk hidupnya, teripang lebih menyukai perairan yang jernih dan airnya relatif tenang (Aras, 2013). Hewan ini bergerak lamban di dasar perairan yang gelap, di bawah batu, di sela-sela lamun dan karang atau menguburkan diri di dalam pasir (Martoyo *et al.*, 2007).

Teripang umumnya menempati ekosistem terumbu karang dengan perairan yang jernih, bebas dari polusi, air relatif tenang dengan mutu air yang cukup baik. Habitat yang ideal bagi teripang adalah air laut dengan salinitas 29-33 ‰ yang memiliki kisaran pH 6,5-8,5, kecerahan air laut 50-150 cm, kandungan oksigen terlarut 4-8 ppm, dan suhu air laut berkisar antara 20-25°C (Wibowo dan Yunisial, 1997).

2.3.3 Manfaat dan Kegunaan

Menurut Matraga (2005) teripang sudah ratusan tahun digunakan sebagai obat-obatan di Cina. Menurut Wibowo dan Yunisial (1997), teripang mengandung bahan bioaktif (antioksidan) yang berfungsi mengurangi kerusakan sel jaringan tubuh. Hasil penelitian Kaswandi *et al.*, (2000) menunjukkan bahwa ekstraksi komponen antibakteri dari teripang (*H.acabunda*) cukup efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Vibrio amselae*. Ekstrak teripang juga menunjukkan aktifitas antiprotozoa dan menghambat sel tumor. Serta juga sebagai penyembuh luka dan antithrombotic yaitu untuk mengurangi pembekuan darah didalam saluran darah sehingga dapat mengurangi resiko penyakit stroke dan jantung (Farouk *et al.*, 2007).

Dari hasil penelitian Hua *et al.* (2009) menyatakan bahwa triterpen glikosida diisolasi dari *H.scabra* mampu melawan pertumbuhan beberapa jenis fungi, yaitu *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida pseudotropicalis*, *Trichophyton rubrum*, *Fonsecaea compacta*, *Aspergillus fumigates*, *Microsporum gypseum*. Triterpen glikosida juga diketahui dapat berfungsi sebagai anti tumor dan anti kanker. Glikosida triterpen memiliki peran yang kuat sebagai imunostimulator yaitu dengan menstimulasi aktivitas lisosom makrofag kecil (Aminin *et al.*, 2001).

2.3.4 Kandungan Bioaktif

Teripang diketahui bermanfaat sebagai bahan baku obat karena banyak mengandung senyawa bioaktif. Beberapa senyawa yang telah berhasil diekstrak adalah saponin, triterpen glikosida, *chondroitin sulphate*, neuritogenic gangliosides, 12 – methyltetradecanoic acid (12- MTA), dan lektin (Mayer dan Gustafson, 2008 dalam Suhermanto 2011. Menurut Zhang *et al.*, (2006), senyawa triterpen glikosida memiliki pengaruh biologi seperti anti jamur, sitotoksik melawan sel tumor, hemolitik, dan aktivitas sistem kekebalan tubuh. Studi di Cina mengungkapkan bahwa senyawa saponin pada tripang mempunyai suatu struktrur yang serupa dengan komponen gingseng yang aktif dan menunjukan adanya aktivitas anti kanker.

Teripang jenis *Holothuria* sp. dapat digunakan sebagai imunostimulan karena mengandung komponen senyawa yang berperan dalam penanggulangan penyakit ikan. Senyawa di dalam teripang antara lain lektin, sterol, saponin/triperten glikosid , mineral, polifenol, flavonoid (Mamelona *et al.*, 2007 dalam Suhermanto *et al.*,2011).

Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba. Dikenal juga jenis saponin yaitu glikosida triterpenoid dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai spirotekal. Kedua saponin ini larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Aglikonya disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis dalam suasana asam atau hidrolisis memakai enzim. Saponin merupakan glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid dan triterpen. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C 27) dengan molekul karbohidrat. Steroid saponin dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal sebagai saraponin. (Robinson,1995).

Saponin tritetpenoid atau glikosida triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat. Dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang

disebut sapogenin ini merupakan suatu senyawa yang mudah dikristalkan lewat asetilasi sehingga dapat dimurnikan. Tipe saponin ini adalah turunan - amyryne (Amirtpal,2002).

2.3.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan cara untuk memisahkan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut yang sesuai. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larut yang berbeda dari komponen-komponen dalam campuran. Ragam ekstraksi tergantung pada tekstur dan kandungan air bahan dan pada jenis senyawa yang diisolasi. Proses ekstraksi senyawa antibakteri dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu *aqueous phase* dan *organic phase* (Harborne (1987) dalam Suhermanto 2011).

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Sudjadi, 1986).

2.4 Immunostimulan

Kekebalan adalah hasil dari pengenalan terhadap agen asing (*non-self*) dengan respon lanjutan dan memori pada hewan vertebrata. Respon tersebut termasuk ekspansi sel untuk respon imun, ekspresi sel dan molekul, dan akhirnya, koordinasi respon oleh substansi regulasi (Galindo dan Hosokawa, 2004). Berbagai komponen pendukung sistim imun dibentuk oleh jaringan limfoid. Pada ikan, jaringan ini menyatu dengan jaringan myeloid, sehingga dikenal sebagai jaringan limfomielioid. Organ limfomielioid pada ikan teleostei adalah ginjal depan, timus dan limpa (Fange,1982 dalam Suhermanto, 2011), produknya berupa sel darah dan respon pertahanan seluler dan humoral.

Immunostimulan merupakan senyawa yang dapat merangsang aktivitas pertahanan tubuh. Keistimewaan immunostimulan dibandingkan vaksinasi adalah sifatnya non spesifik, artinya bahan tersebut mampu merangsang peningkatan ketahanan ikan dan udang terhadap berbagai penyakit (Raa,2000). Immunostimulan meningkatkan respon imun non spesifik, tidak ada komponen sel memori. Jawetz *et al.*,(1982) menjelaskan immunostimulan merupakan senyawa biologis, sintesis atau bahan lainnya yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh non spesifik.

2.5 Efisiensi dan Strategi dalam Pemberian Immunostimulan

Raa (2000), menyatakan immunostimulan merupakan suatu bahan yang dapat meningkatkan sistem kekebalan non spesifik ikan, dan merupakan alternatif bagi penggunaan bahan kimia atau obat-obatan. Seperti halnya dengan vaksin, immunostimulan dapat diberikan melalui injeksi, bersama pakan (oral) dan perendaman. Pemilihan cara aplikasi immunostimulan ini didasarkan pada kepraktisan dan efisiensi dalam kegiatan budidaya. Pemanfaatan dalam kegiatan budidaya ini dapat mengoptimalkan produksi budidaya melalui peningkatan daya tahan tubuh ikan terhadap penyakit infeksi (Anderson, 1992). Berikut ini akan dijelaskan pemberian dosis dengan metode perendaman, penyuntikan dan oral dapat dilihat pada Tabel 1 sebagai berikut :

Tabel 1. Metode Pemberian Immunostimulan pada Ikan

Rute	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

Sumber : Galindo dan Hosokawa, 2004.

Metode penyuntikan dan perendaman optimum pada pemeliharaan dengan sistem intensif akan tetapi metode tersebut membutuhkan penanganan yang ekstra terhadap obyek yang dikenakan perlakuan. Selain itu, metode

tersebut juga membutuhkan tenaga yang lebih besar, memakan waktu yang lebih banyak dan menjadi tidak praktis ketika berat ikan kurang dari 15 g. Pemberian immunostimulan melalui oral adalah metode yang cocok untuk diterapkan pada budidaya yang dalam pelaksanaannya tidak menimbulkan stres pada ikan dan memungkinkan pelaksanaan secara masal. Perbedaan ketiga metode ini dapat dilihat pada Tabel 2 sebagai berikut :

Tabel 2. Ringkasan Kelebihan dan Kekurangan Metode Pemberian Immunostimulan pada Ikan.

Metode	Kelebihan	Kekurangan
Penyuntikan	Cara immunostimulan paling manjur dan hemat untuk ikan besar	Sangat berguna untuk pemeliharaan intensif, butuh kerja lebih, potensi ikan untuk stres tinggi (ketika dibius atau penanganan). Berat ikan harus >10-15 g.
Perendaman	Memungkinkan untuk immunostimulan ikan kecil (>5 g), metode paling ekonomis dan pelaksanaan perendaman non stressing.	Cocok untuk intensif akuakultur, keampuhan dibawah metode injeksi dan pengangkatan dari bak perendaman berpotensi menimbulkan stres.
Oral	Satu-satunya cara yang tidak berpotensi menimbulkan stres, memungkinkan untuk digunakan pada immunostimulasi massal untuk ukuran berapapun, dan tidak membutuhkan banyak tenaga serta biaya.	Keampuhan rendah, membutuhkan banyak bahan immunostimulan untuk mencapai tingkat proteksi.

Sumber : Galindo dan Hosokawa, 2004.

2.6 Hematologi

Hematologi merupakan cabang ilmu kedokteran yang mempelajari komponen sel darah baik struktur, sifat dan aliran darah. Hematologi sangat erat kaitannya dengan patologi, terutama untuk memperoleh gambaran ikan tersebut dalam kondisi sehat atau sakit. Beberapa parameter yang dapat memperlihatkan perubahan patologi pada darah meliputi jumlah leukosit (sel darah putih), eritrosit (sel darah merah), hematokrit (persentase volume seluruh sel darah merah dalam darah yang diambil dalam volume tertentu), hemoglobin (konsentrasi

senyawa pengikat oksigen dalam darah) dan trombosit (keping darah/faktor koagulan) (Bijanti, 2005).

Darah terdiri dua kelompok besar yaitu sel dan plasma. Darah dianggap sebagai jaringan khusus sirkulasi, terdiri atas berbagai macam sel dalam cairan yang disebut plasma. Darah tersusun atas cairan darah (plasma darah) dan elemen-elemen seluler (sel-sel darah). Plasma darah terdiri dari air, protein (albumin, globulin, dan faktor-faktor koagulasi), lipid dan ion. Sel darah terdiri dari sel darah merah (eritrosit) dan sel darah putih (leukosit). Sel dan cairan darah (plasma darah) mempunyai peran fisiologi sangat penting (Fujaya, 2004).

2.6.1 Nilai Hematokrit

Hematokrit adalah persentase bagian volume sel darah merah (eritrosit) yang mengendap dengan volume darah seluruhnya. Nilai hematokrit pada setiap ikan bervariasi, tergantung dari kondisi fisiologi dan kesehatan serta aktivitas dari ikan yang diambil sampel darahnya. Pada ikan dengan aktivitas tinggi seperti ikan predator *blue marine* (*Makaira nigricans*) nilai hematokrit 43%, pada ikan *Pagothenia bermacchi* hanya 21% dan pada ikan Salmon salar 47% (Bijanti, 2005).

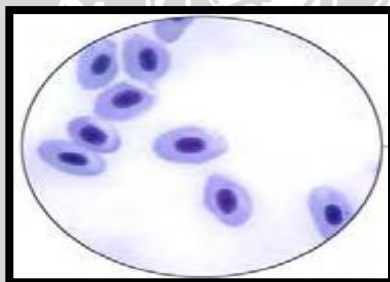
Nilai hematokrit pada ikan berkisar antara 35-50 %, bila nilai hematokrit rendah menunjukkan kondisi anemia. Nilai hematokrit dapat digunakan untuk mengetahui dampak pemakaian immunostimulan, karena itu dapat digunakan sebagai petunjuk kondisi kesehatan ikan setelah pemaparan dengan immunostimulan (Anderson dan Siwicki, 1995).

2.6.2 Sel Darah Merah (Eritrosit)

Ikan sebagaimana vertebrata lain, memiliki sel darah merah (eritrosit) berinti dengan bentuk dan ukuran bervariasi antara satu spesies dengan lainnya. Ada yang berbentuk lonjong, memiliki inti dengan ratio volume sel dan inti adalah

3,5 - 4,5. Jumlah sel darah merah pada masing-masing spesies juga berbeda, tergantung aktivitas ikan tersebut (Fujaya, 2004). Rendahnya jumlah sel darah merah menunjukkan ikan menderita kekurangan darah (anemia) dan kerusakan ginjal. Sedangkan tingginya jumlah sel darah merah menunjukkan ikan dalam keadaan stres (Nabib dan Pasaribu, 1989).

Proses pembentukan eritrosit pada ikan berasal dari sel prekursor hemositoblast yang dapat berasal limpa yakni pada bagian pulpa merah. Stem sel merupakan tahap awal terbentuknya sel darah merah, kemudian stem sel berkembang menjadi myeloid dan akhirnya menjadi sel darah merah. Pada umumnya jumlah sel darah merah pada ikan teleostei berkisar antara $1,0-3,0 \times 10^6$ sel/ml (Moyle dan Cech 1988). Gambar sel darah merah ikan dapat dilihat pada Gambar 4.

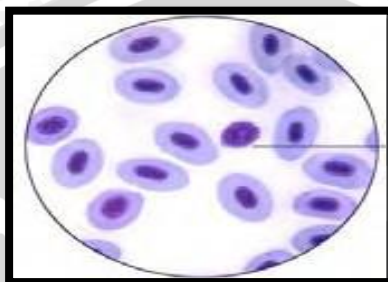


Gambar 4. Sel Darah Merah (Eritrosit) (Mones, 2008)

2.6.3 Limfosit

Seperti pada mamalia, ikan memiliki sel T dan sel B, dimana secara morfologi tidak dapat dibedakan jika menggunakan mikroskop cahaya. Kedua bentuk sel ini sama-sama memiliki ukuran inti besar, yang mengisi hampir seluruh sel. Jumlah limfosit yang bersirkulasi pada ikan adalah 12×10^3 limfosit/mm³ (Affandi & Tang 2002). Ikan tidak memiliki sumsum tulang dan limfonodus, sehingga pada bagian depan ginjal berfungsi sebagai organ limfoid utama, dengan timus dan limpa berfungsi sebagai organ limfoid sekunder. Limfosit di dalam timus pada ikan, setelah dewasa bermigrasi menuju limpa (Ardelli & Woo 2006).

Pembentukan limfosit pada ikan dimulai dengan stem sel yang berkembang menjadi lympholoid. Lympholoid kemudian berkembang menjadi lymphoblast dan berkembang lagi menjadi sel B dan sel T. Persentase limfosit ikan berkisar antara 71,12 – 82,88% dari total leukosit yang bersirkulasi (Affandi dan Tang 2002). Berikut Gambar limfosit dapat dilihat pada Gambar 5.

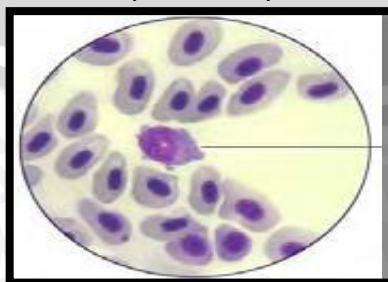


Gambar 5. Limfosit (Mones, 2008)

2.6.4 Monosit

Monosit lebih kuat dibandingkan dengan neutrofil dalam memfagositosis bakteri, bahkan dapat memfagositasi partikel yang lebih besar karena itu, monosit matang disebut makrofag dan mampu memfagosit 100 bakteri di dalam jaringan yang terinfeksi. Peningkatan jumlah monosit dapat dijadikan indikator peningkatan respon imun ikan. (Fujaya, 2004).

Organ penghasil monosit adalah kelenjar timus dan ginjal. Proses pembentukan monosit dimulai dari stem sel kemudian berkembang menjadi myeloid. Myeloid berkembang myeloblast dan myeloblast berkembang menjadi granulocyte. Selanjutnya granulosit berkembang menjadi monosit (Chinabut *et al.*, 1991). Gambar monosit dapat dilihat pada Gambar 6.

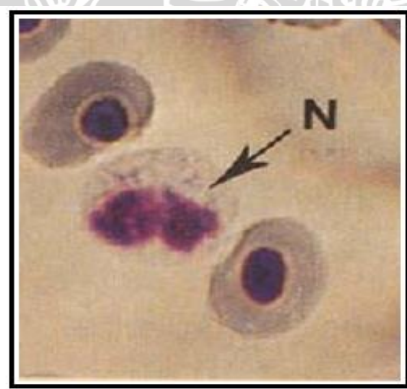


Gambar 6. Monosit (Mones, 2008)

2.6.5 Neutrofil

Neutrofil berbentuk bundar dan berukuran besar (diameter 9-13 μm), dengan sitoplasma yang besar dan mengandung granula. Sitoplasma neutrofil berwarna biru cerah atau ungu pucat, sedangkan inti berwarna biru gelap dan memperlihatkan gumpalan kromatin (Chinabut *et al.*, 1991). Neutrofil ikan teleostei dibentuk di dalam organ ginjal dan limpa (Moyle dan Cech 1988).

Proses pembentukan neutrofil pada ikan dimulai dari stem sel kemudian berkembang menjadi myeloid. Myeloid berkembang menjadi myeloblast dan selanjutnya myeloblast berkembang menjadi granulocyte. Granulocyte kemudian berkembang menjadi neutrofil. Proporsi neutrofil dalam populasi leukosit darah sangat rendah, yaitu sekitar 6 – 8 %. Neutrofil memiliki kemampuan fagositosis meski tidak sekuat monosit (Roberts 2001 *dalam* Hasan 2013). Gambar neutrofil dapat diamati pada Gambar 7.



Gambar 7. Neutrofil (Chinabut *et al.*, 1991)

2.7 Kualitas Air

Beberapa parameter kualitar air yang perlu diperhatikan dalam kegiatan budidaya ikan patin meliputi suhu, pH, oksigen terlarut (DO), kecerahan, dan amonium nitrat. Optimalisasi media pemeliharaan merupakan harmonisasi sebagai parameter kualitas air utama meliputi : suhu, oksigen terlarut, pH dan amonia.

Suhu mempengaruhi aktifitas metabolisme organisme, karena itu penyebaran organisme di perairan tawar dibatasi oleh suhu perairan tersebut. Sedangkan oksigen merupakan salah satu faktor pembatas, sehingga jika ketersediaannya di dalam air tidak mencukupi, maka segala aktifitas ikan akan terhambat. Dalam suatu unit budidaya air tawar, suhu ideal antara 26°C - 34°C . Penurunan suhu dapat mempengaruhi pertumbuhan, semakin cepat laju metabolisme dalam tubuh ikan, semakin cepat pula laju pertumbuhannya. Kisaran oksigen terlarut antara 5 mg/L – 7 mg/L (Boyd, 1982).

Menurut Ghufuran (2005) kualitas air yang digunakan untuk pemeliharaan ikan patin harus memenuhi kebutuhan optimal ikan. Dengan kata lain, air yang digunakan kualitasnya harus baik, yaitu suhu air berkisar antara $25 - 33^{\circ}\text{C}$, pH air 6,5 – 9,0 optimal 7 – 8,5, oksigen terlarut (DO) antara 3 - 7 ppm dengan nilai optimal 5 – 6 ppm, kadar amonia (NH_3) dan asam belerang (H_2S) tidak lebih dari 0,1 ppm dan Karbondioksida (CO_2) tidak lebih dari 10 ppm.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu akuarium yang berukuran 30 x 30 x 30 cm sebanyak 12 buah, timbangan digital dengan ketelitian 1×10^2 gram, aerator, selang aerasi, batu aerasi, selang air, nampan, serok, ember plastik, toples, filter, heater akuarium, thermometer, DO meter, pH meter, pipet tetes, pipet thoma eritrosit, *handtally counter*, *haemocytometer*, objek glass, cover glass, haemofuge darah, tabel mikrohematokrit, Kamar Hitung Improved Neubauer, corong pisah, evaporotary, tabung reaksi dan mikroskop cahaya pada Lampiran 1.

3.1.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, ikan uji yang digunakan adalah ikan patin yang diperoleh dari Balai Benih Ikan (BBI) Tulungagung, Jawa Timur dengan ukuran 10-12 cm sebanyak 200 ekor. Teripang Pasir (*H.scabra*) di peroleh dari desa Socah Madura, Jawa Timur. Bakteri yang digunakan adalah *A. hydrophila* kepadatan 10^8 sel/ml, diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dengan kepadatan awal 10^{10} sel /ml. Bahan yang digunakan adalah kapas, tissue, etanol 96%, kertas saring, kertas label, aquadest, giemsa, larutan hayem, larutan turk, tabung hematokrit dan anti koagulan (Na-sitrat 3,8%), spuit 1 ml dan sampel darah pada Lampiran 1.

3.2 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:

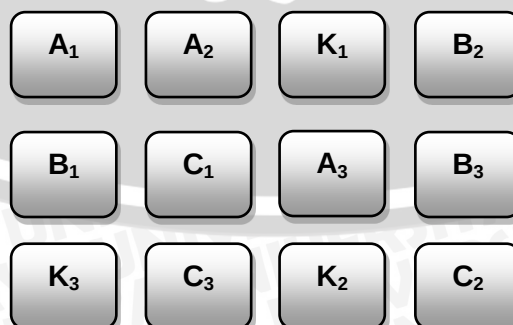
Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = nilai rata-rata

τ_i = pengaruh perlakuan ke-i

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

Pada penelitian ini sebagai perlakuan menggunakan ikan patin (*Pangasius* sp..) dengan ukuran 10 - 11 cm yang berasal dari Balai Benih Ikan (BBI) Tulungagung sedangkan untuk bahan ekstrak yang digunakan yaitu Teripang Pasir (*H.scabra*) berasal dari Madura desa Socah. Pemberian ekstrak kasar teripang pasir dengan dosis 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm media sebagai immunostimulan yang diulang sebanyak 3 kali ulangan dan control negative tanpa pemberian ekstrak teripang pasir dan diinfeksi dengan *A. hydrophila*. Perlakuan pemberian bioaktif teripang sebagai beriku disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Denah Penelitian In vivo

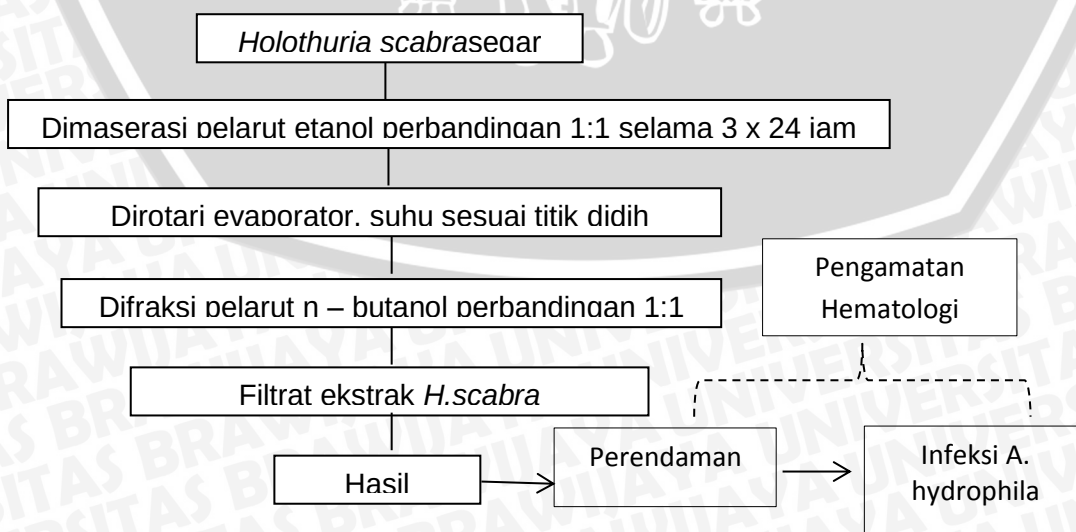
Keterangan:

- K :Akuarium dengan perlakuan Kontrol infeksi/kontrol negatif tanpa pemberian ekstrak Teripang Pasir (*H. scraba*) 0 ppm ulangan ke-n
- A :Akuarium dengan perlakuan ikan yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian ekstrak kasar Teripang Pasir (*H. scraba*) 50 ppm ulangan ke-n.
- B :Akuarium dengan perlakuan ikan yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian ekstrak kasar Teripang Pasir (*H. scraba*) 100 ppm ulangan ke-n.
- C :Akuarium dengan perlakuan ikan yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian ekstrak kasar Teripang Pasir (*H. scraba*) 150 ppm dengan ke-n.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian yang dilakukan meliputi ekstraksi senyawa kasar *H. scabra*, pengukuran kadar ekstrak kasar *H. scabra*, pembiakan bakteri *A. hydrophila*, persiapan alat dan persiapan hewan uji. Kerangka operasional kegiatan persiapan penelitian secara sistematis disajikan pada Gambar 9 berikut.



Gambar 9. Kerangka operasional kegiatan persiapan

A. Pendahuluan Fitokimia Bioaktif Teripang

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa dalam teripang berdasarkan Andayani *et al.*, (2007) dalam Suhermanto (2011), teripang segar diblender hingga halus kemudian dilakukan penyaringan untuk mendapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh diukur massa dan volumenya kemudian diambil sebanyak 2 ml, dan dimasukkan dalam 4 tabung reaksi. Metode skrining fitokimia mengacu pada Kusmita *et al.* (2011). Pemeriksaan secara kualitatif senyawa flavonoid, saponin, steroid, alkaloid dan triterpenoid adalah sebagai berikut :

➤ Prosedur Pemeriksaan Senyawa Flavonoid

Sebagian lapisan air dari ekstrak yang sudah diencerkan diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1-2 butir logam Mg dan 3 tetes HCl pekat. Tambahkan amyl alkohol dan kocok dengan kuat, biarkan hingga memisah. Warna kuning kemerahan hingga merah menunjukkan bahwa sampel positif mengandung senyawa flavonoid.

➤ Prosedur Pemeriksaan Senyawa Saponin

Ambil sedikit sampel ekstrak lalu masukkan kedalam tabung reaksi. Masukkan akuades yang sudah dihangatkan kemudian dikocok kuat-kuat dan diamkan selama 10 menit. Sampel positif mengandung senyawa saponin apabila terbentuk busa dan tidak hilang selama waktu 15 menit setelah ditetesi HCl.

➤ Prosedur Pemeriksaan Senyawa Alkaloid

Pemeriksaan senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan 2 pereaksi, yaitu pereaksi dragendorf dan pereaksi mayer yang sudah dibuat sebelumnya. Ekstrak yang telah diencerkan ditambahkan 2 ml CHCl_3 dan ditambahkan dengan pereaksi Dragendorf. Terbentuknya warna merah/jingga menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Sebagian larutan ekstraksi

ditambahkan HCl dengan perbandingan 1:10 sebagai larutan B lalu ditambahkan 5 ml pereaksi Mayer. Endapan putih dengan pereaksi Mayer menunjukkan adanya alkaloid.

➤ **Uji Steroid**

Tambahkan asam asetat anhidrat 2 ml pada 0,5 ekstrak etanol. Kemudian tambahkan 2 ml asamsulfat pekat. Adanya steroid ditandai dengan perubahan warna dari violet menjadi biru atau hijau

➤ **Uji Terpenoid**

Campur 5 ml ekstrak dengan 2 ml kloroform. Kemudian tambahkan dengan hati-hati 3 ml asamsulfat pekat. Terbentuknya warna coklat kemerahan pada permukaan dalam larutan, menunjukkan adanya terpenoid.

B. Ekstraksi

Adapun proses ekstraksi teripang pasir (*H. scabra*) dilakukan menggunakan metode maserasi. Febriansyah (2009) menyatakan bahwa metode maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Ekstraksi teripang (*H.scabra*) berdasarkan Thanh *et al.*, (2006) teripang yang sudah di ambil organnya dalam keadaan basah diambil sebanyak 200 gr dibersihkan bagian organ dalamnya serta kotoran yang menempel, kemudian dipotong kecil-kecil. Sampel teripang dimaserasi menggunakan pelarut etanol perbandingan 1:1 selama 2 x 24 jam dan disimpan di ruang penyimpanan pada suhu kamar. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring sehingga didapat larutan. Larutan kemudian dievaporasi menggunakan rotary evaporator pada suhu 40⁰ C sampai tidak terjadi lagi pengembunan pelarut pada kondensor.

Metode ekstraksi berdasarkan Dong *et al.* (2008) bahwa teripang (*sea cucumber*) sebanyak 100 gram dilakukan 3 kali penyaringan, suhu 70⁰C dengan

1 liter etanol 60%. Kemudian ekstrak etanol diuapkan dan residu yang didapatkan dipartisi (*fraksionasi*) dengan n – butanol dan air. Ekstrak n – butanol yang didapatkan di uapkan kembali, dan diperoleh ekstrak kasar glikosida sebanyak 12,83 gram. Fraksionasi, ekstrak etanol kental seberat 60 g dipartisi antara air dan n-butanol (1:1), kemudian masing-masing fraksi dipisahkan dan dipekatkan, sehingga diperoleh fraksi air dan n-butanol. Masing-masing fraksi kental diperoleh n-butanol seberat 40,2 g dan air seberat 15,8 g. Fraksi n-butanol kental lebih banyak mengandung Glikosida (Lampiran 2).

C. Persiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan yaitu ikan patin (*Pangasius sp.*) sebanyak 10 ekor untuk masing-masing akuarium. Berikut langkah-langkah dalam persiapan hewan uji :

- Masing-masing akuarium diisi air dengan sebanyak 20 liter
- Sebelum ikan patin dimasukkan dalam akuarium terlebih dahulu dipasang aerasi untuk meningkatkan kandungan oksigen terlarut
- Masing-masing akuarium diberi 10 ekor ikan patin

D. Mempersiapkan bakteri *Aeromonas hydrophila*

- Pembuatan media
 - Pembuatan *Tryptone Soy Agar* (TSA) (Lampiran 3)
 - Pembuatan Media Cair *Nutrien Broth* (Lampiran 3)
- Pembiakan murni bakteri *Aeromonas hydrophila* (Lampiran 3)

3.3.2 Penelitian Pendahuluan

A. Uji Pendahuluan Ekstrak Kasar Teripang Pasir (*H.scabra*)

Uji pendahuluan pada kegiatan awal penelitian dengan melakukan Perendaman pada ikan patin menggunakan ekstrak kasar teripang pasir

(*H.scabra*) sebagai imunostimulan. Dalam uji pendahuluan ini ikan patin yang digunakan berukuran 8 gr, sedangkan konsentrasi ekstrak teripang pasir mg/L (ppm). Adapun dosis perendaman pada uji pendahuluan adalah 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm dan lama perendaman adalah 1 jam, 10 jam dan 24 jam. Menurut wahjuningrum *et al.*,(2008), penentuan dosis ekstrak yang diberikan ditentukan berdasarkan hasil uji sebelumnya dan dihitung dengan teknik pengenceran berseri. Pengamatan dilakukan selama 3 haari parameter yang diamati meliputi gambaran darah. Uji pendahuluan yang dilihat adalah parameter darah berupa total leukosit, dengan lama perendaman berbeda – beda. Hasil dari uji pendahuluan didapatkan bahwa parameter hematologi yaitu leukosit mengalami peningkatan optimal pada dosis 100 ppm dengan perendaman 1 jam (Lampiran 4).

B. Uji Pendahuluan LC₅₀ Bakteri *A. hydrophila*

Uji pendahuluan konsentrasi bakteri dengan tujuan mengetahui konsentrasi dan lama waktu perendaman dilakukan dengan kepadatan bakteri 10⁹ dan 10⁸sel/ml. Uji pendahuluan dilakukan dalam akuarium dengan volume air 5000 ml, densitas ikan sebanyak 10 ekor/akuarium. Dari hasil uji awal ini diketahui bahwa LC₅₀ bakteri dengan kepadatan 10⁹ sel/ml waktu yang diperlukan selama 20 jam 15 menit. Sedangkan pada perlakuan dengan kepadatan bakteri 10⁸ sel/ml LC₅₀ berada dalam waktu 24 jam 30 menit dan pada. Sehingga kepadatan bakteri yang digunakan adalah 10⁸ sel/ml (Lampiran 5).

3.3.3 Pelaksanaan Penelitian

A. Pemberian dosis ekstrak kasar *H. Scrava* sebagai imunostimulan

Ikan patin (*Pangasius Pangasius*) diaklimatisasi terlebih dahulu $\pm$ 7 hari. Media (air) sebelum digunakan ditreatment menggunakan 5 ml chlorin dalam bak volume 50 liter selama 3 hari, kemudian dinetralisir menggunakan Na-

thiosulfat sebanyak 5 ml untuk menghilangkan toksik dari efek pemberian chlorin. Ikan patin pada hari ke 0 diberikan ekstrak bioaktif teripang melalui perendaman dengan dosis 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm ikan dengan perlakuan dua kali booster, interval waktu selama 7-14 hari (Selvaraj *et al.*, 2006).

Hasil uji pendahuluan didapatkan peningkatan optimal leukosit sampai dengan hari ke 4 dari penyuntikan pertama. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-6 (setelah booster kedua). Ardo *et al.*, (2010); Harikrishnan *et al.*, (2009) menyatakan pengambilan darah dilakukan setelah 7 hari, atau pada 0, 1, 2, 3, 5, 7 hari (Wu *et al.*, 2010) untuk mengetahui efektifitas penggunaan ekstrak dan waktu pemberian booster kedua.

B. Penginfeksi dengan bakteri *A. hydrophila*

Mempersiapkan 12 akuarium dan diisi 5 liter. Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dengan kepadatan 10^{10} sel/ml sebanyak 1000 ml untuk mendapatkan kepadatan bakteri 10^8 sel/ml dilakukan pengenceran, perhitungan konsentrasi bakteri yang dinakan dapat dilihat Lampiran 6. Rumus perhitungan jumlah eritrosit menurut Cappucino (1998):

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

Keterangan :

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

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

V_1 : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V_2 : Volume yang diinginkan

Ditunggu selama 24 jam. Dilakukan infeksi dengan bakteri *A. hydrophila* selama 24 jam kemudian dihitung total eritrosit, total leukosit dan diferensial leukosit ikan patin sesudah diinfeksi. Diamati gejala klinis ikan patin sesudah infeksi dengan bakteri *A. hydrophila*

C. Pengambilan Darah

Pengambilan darah diawali dengan membius ikan menggunakan minyak cengkeh dengan dosis 1,25% v/v (Bijanti, 2005). Untuk menghindari penggumpalan darah saat pengambilan maupun penyimpanan maka spuit suntik dan tube darah diberi anti koagulan Nacitrat 3,8% sebanyak 0,1 ml. Setelah ikan pingsan, pengambilan darah dilakukan pada pangkal ekor (antara sirip ekor dengan gurat sisi) menggunakan spuit suntik ukuran 1 ml dengan ujung jarum mengarah pada bagian bawah tulang punggung dengan kemiringan dibawah 45°. Darah yang telah diambil dimasukkan pada tube darah dan langsung disimpan pada refrigerator (Harikrisnan *et al.*,2010).

3.4 Parameter Uji

3.4.1 Parameter Utama

A. Penghitungan Jumlah Eritrosit

Darah ikan yang telah dicampur antikoagulan diambil menggunakan pipet eritrosit sebanyak 0,5 µL, kemudian diencerkan dengan larutan hayem dalam pipet eritrosit hingga menunjukkan angka 101 µL. Darah yang telah tercampur selanjutnya dikocok hingga homogen dalam pipet kemudian campuran tersebut diambil sedikit (20µL) dan dimasukkan dalam kamar hitung Improved Neubauer, ditutup dengan cover glass, sebelum memasukkan ke dalam Improved Neubauer terlebih dahulu dibuang sebanyak 2 tetes, dimaksudkan agar larutan yang diambil benar-benar homogen. Jumlah eritrosit diamati dan dihitung menggunakan mikroskop cahaya pada semua kotak eritrosit (Bijanti, 2005).

Selanjutnya jumlah eritrosit dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Jumlah eritrosit (sel/mm}^3\text{)} = N \times \frac{1}{\text{sarea} \times \frac{1}{250 (\text{volum})}} \times 200 \text{ pengenceran}$$

Keterangan : N = Jumlah Eritrosit yang Diamati

B. Penghitungan Jumlah Differensial Leukosit

Satu tetes darah yang telah diberi anti koagulan diambil dan diletakkan pada slide kering dan bersih. Selanjutnya dibuat apusan darah tipis, dikeringkan, kemudian difiksasi menggunakan metanol absolut selama 1-2 menit. Lakukan pengecatan pada hapusan darah dengan pengecatan giemsa, ditunggu selama $\pm$ 48 15 - 30 menit setelah itu slide dibilas menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Periksa apusan darah di bawah mikroskop (Bijanti, 2005). Setelah preparat hematologi dibuat, pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop pembesaran 1000x untuk menentukan presentase jenis leukosit yaitu neutrofil, monosit dan limfosit. Perhitungan diferensial leukosit optimalnya adalah 100 sel (Stoskopf, 1993).

C. Penghitungan Jumlah Hematokrit

Untuk mendapatkan nilai hematokrit menurut Bijanti (2005) dilakukan prosedur sebagai berikut: darah ikan diambil menggunakan tabung mikrohematokrit yang telah dilapisi heparin. Tabung mikrohematokrit diisi darah sampai 3/4 tabung. Bagian ujung bawah tabung mikrohematokrit ditutup dengan parafin. Tabung mikrohematokrit yang telah berisi darah dimasukkan kedalam sentrifuge khusus dengan kecepatan tinggi, yaitu lebih dari 16.000 rpm (sentrifuge hematokrit). Tabung hematokrit diletakkan pada parit yang tersedia pada sentrifuge dengan ujung tertutup kearah luar dan ujung yang terbuka kearah pusat sentrifuge, kemudian diputar selama 5 menit, hasilnya dibaca menggunakan mikrohematokrit reader/lalat pembaca khusus.

3.4.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang dilakukan adalah pengamatan patologi klinis ikan setelah diberi perlakuan yaitu berupa perubahan eksternal dan pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, pH, dan DO (oksigen terlarut).

3.5 Analisis Data

Analisis data level total eritrosit, diferensial leukosit dan hematocrit dilakukan secara statistik mempergunakan program SPSS 15 *for windows*. Data yang didapatkan terlebih dahulu di uji kenormalannya menggunakan uji normalitas (*kolmogorov-smirnov*). Apabila $\text{sig} > 0,01$ maka dilanjutkan analisis keragaman menggunakan ANOVA sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Analisis Ragam dilakukan untuk menguji pengaruh dosis ekstrak kasar teripang pasir terhadap parameter uji. Sedangkan uji setelah analisis ragam yang digunakan untuk mengetahui apakah ada perbedaan *mean* (rata-rata) parameter uji antara perlakuan dosis ekstrak, yaitu dengan Uji Tukey atau BNT (Beda Nyata Terkecil). Analisis Regresi dilakukan untuk mencari bentuk hubungan antara dosis ekstrak kasar (X) dengan parameter uji (Hematologi) (Y). Perlakuan dosis ekstrak bersifat kuantitatif dengan 4 macam dosis, jadi perlu dilakukan Analisis Regresi dengan derajat polinom maksimum $4 - 1 = 3$, dengan praduga Persamaan Garis Regresi kurva linier $Y = c + b_1x$, kurva kuadrat $Y = c + b_1x + b_2x^2$ dan kurva kubik $Y = c + b_1x + b_2x^2 + b_3x^3$.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia digunakan untuk mengetahui golongan senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak *H. scabra* secara kualitatif. Golongan senyawa yang diuji antara lain uji flavanoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenol, dan alkaloid. Hasil uji fitokimia disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kasar *H.scabra*

Uji		Keterangan
Flavonoid	-	Tidak ada perubahan warna merah ataupun orange
Saponin	√	Terbentuk busa
Steroid	-	Berwarna biru/ungu
Triterpenoid	√	Berwarna merah
Fenol	-	Tidak ada perubahan warna hijau ataupun biru
Alkaloid	-	Terbentuk endapan coklat

Keterangan :

- : Tidak ada dalam ekstrak

√ : Ada dalam ekstrak

Berdasarkan uji fitokimia positif mengandung saponin dan triterpenoid (Lampiran 7). Hal ini sesuai dengan Zhang *et al.* (2006) senyawa metabolit yang dominan dihasilkan teripang berupa saponin. Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yang kerangka dasarnya berhubungan dengan struktur gugus glukosa dan triterpenoid. Apabila senyawa tersebut dihidrolisis akan menghasilkan suatu senyawa triterpenoid dan glikosida (gula). Pada senyawa ini memiliki fungsi sebagai imunostimulan. Glikosida triterpen/ saponin memiliki peran yang kuat sebagai imunostimulator yaitu dengan menstimulasi aktivitas lisosom makrofag mencit (Aminin *et al.*, 2001). Dari hasil penelitian Suhermanto *et al.*, (2008) Pemberian ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) dapat meningkatkan parameter hematologi non spesifik antara lain jumlah leukosit dan diferensial leukosit ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Hal

ini dapat menyimpulkan bahwa teripang pasir (*H.scabra*) mengandung tinggi saponin dan triterpenoid.

4.2 Hasil Pengukuran Parameter Hematologi

4.2.1 Jumlah Total Eritrosit Ikan Patin (*Pangasius* sp.) Sebelum dan Sesudah Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Fungsi utama sel darah merah adalah untuk mengangkut hemoglobin yang berperan membawa oksigen dari insang atau paru-paru ke jaringan (Fujaya, 2007). Nilai total eritrosit sebelum dan sesudah infeksi dalam penelitian dapat dilihat dalam Tabel 4.

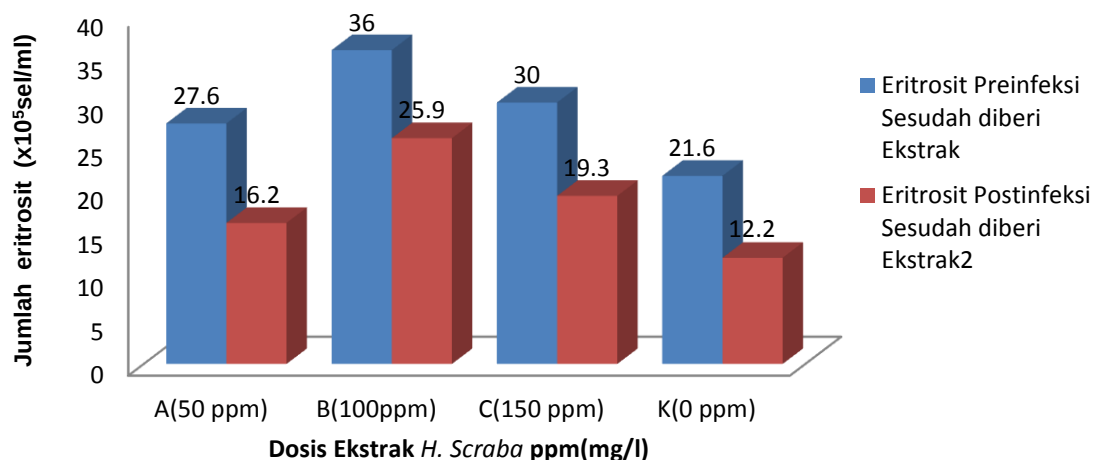
Tabel 4. Jumlah eritrosit ikan patin pada setiap perlakuan ($\times 10^5$ sel/ml)

Perlakuan	Sebelum Infeksi	Sesudah Infeksi
A	27.6 $\pm$ 2.7	16.2 $\pm$ 0.9
B	36.0 $\pm$ 3.2	25.9 $\pm$ 1.6
C	30.0 $\pm$ 2.7	19.3 $\pm$ 1.1
K	21.6 $\pm$ 3.6	12.2 $\pm$ 1.3

Tabel 3 diatas menunjukkan jumlah rata-rata eritrosit ikan patin sebelum di infeksi dan telah diberi ekstrak *H.scabra* berkisar antara 21,6 – 36,0 $\times 10^5$ sel/ml, sedangkan setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* nilai eritrositnya berubah menjadi antara 12,2 – 25,9 $\times 10^5$ sel/ml. nilai tersebut lebih rendah jika dibandingkan dengan ikan sebelum perlakuan. Meskipun nilainya lebih rendah, tapi nilai setelah perlakuan masih dalam kisaran normal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Irianto (2005), bahwa Jumlah eritrosit umumnya berkisar 10,5 - 30 $\times 10^5$ sel/ml. Hasil pengamatan tentang total eritrosit ikan uji secara lengkap disajikan pada Lampiran 8.

Sedangkan Untuk nilai eritrosit sebelum infeksi dan sudah diberi ekstrak *H.scabra*. Rata – rata meningkat dari ikan normal. Hal ini disebabkan karena pengaruh ekstrak kasar *H.scabra* yang dapat meningkatkan total eritrosit. Grafik

hasil pengamatan total eritrosit sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri *A.hydrophila* dapat dilihat dalam Gambar 10.



Gambar 10. Pengaruh pemberian ekstrak *H.scabra* terhadap eritrosit ikan patin (*Pangasius* sp.) sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri *A.hydrophila*

Hasil analisis data sidik ragam jumlah rata-rata eritrosit ikan patin Grafik diatas menunjukkan perbedaan jumlah eritrosit sebelum diinfeksi dan sesudah diinfeksi. Pada perlakuan K (dosis 0 ppm) sesudah diinfeksi nilainya rendah ($12,2 \times 10^5$ sel/ml) jika dibandingkan dengan ikan normal ($16,73 \times 10^5$ sel/ml). Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa pada perlakuan A ikan dalam keadaan sakit, karena ikan uji hanya diinfeksi tanpa diberi *H.scabra*, sehingga nilai eritrositnya masih rendah. Menurunnya nilai eritrosit pada perlakuan A hal ini diduga ikan mengalami stress karena infeksi dari bakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Iranto (2005), bahwa eritrosit jumlahnya bervariasi tergantung spesies, kondisi stres dan suhu lingkungan. Pada perlakuan A dan C nilai eritrositnya masih rendah namun masih mendekati kisaran normal. Nilai perlakuan B ($25,9 \times 10^5$ sel/ml) adalah perlakuan dengan jumlah eritrosit paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Nilai eritrosit pada perlakuan C sudah menandakan bahwa ikan uji sudah dalam keadaan normal/sehat, hal ini sesuai dengan pernyataan (Moyle dan Cech 1988), Pada umumnya jumlah sel darah merah pada ikan teleostei berkisar antara $1,0-3,0 \times 10^6$ sel/ml.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar *H.scabra* terhadap jumlah nilai rata-rata eritrosit ikan uji, maka dilakukan uji sidik ragam yang disajikan dalam Tabel 5. .

Tabel 5. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Eritrosit Ikan patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	321.3	3	107.1	11.3	.003
Acak	76.1	8	9.5		
Total	397.4	11			

Keterangan: Sig.<0,05 berbeda nyata, sig.<0,01 berbeda sangat nyata

Hasil analisis data sidik ragam jumlah rata-rata eritrosit ikan patin sebelum diinfeksi menggunakan analisis keragaman satu arah didapat sangat berbeda sangat nyata antar perlakuan dalam taraf 5% F_{hit} : 11.3 dan nilai Sig.0,003<0,01. Hasil analisa sidik ragam tersebut perlu dilakukan uji LSD atau BNT pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%) untuk mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan. Data uji BNT jumlah rata-rata eritrosit ikan patin sebelum diinfeksi dapat dilihat pada Tabel 6.

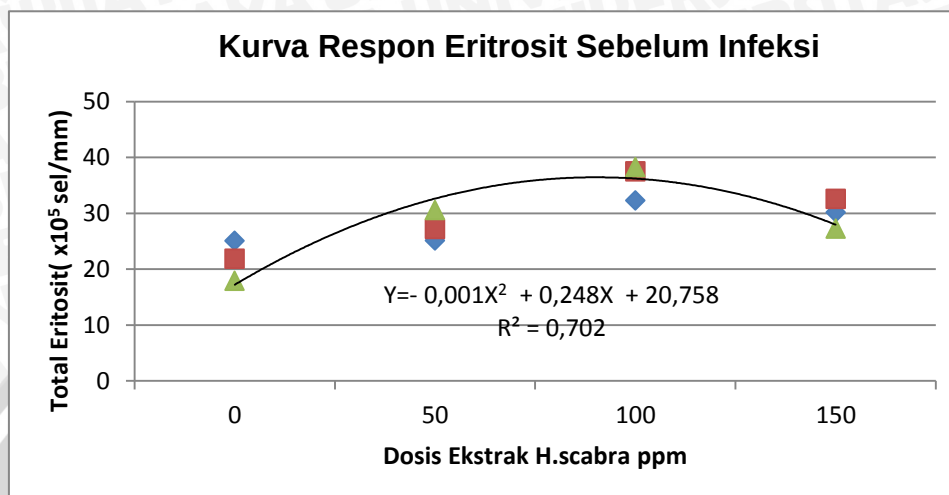
Tabel 6. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Eritrosit Ikan Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Rata - Rata Perlakuan	K=21.6	A=27.6	C=30.0	B=36.0	notasi
K=21.6	-	-	-	-	a
A=27.6	6.02*	-	-	-	ab
C=30.0	8.39**	2.37 ^{ns}	-	-	b
B=36.0	14.43**	8.41**	6.04*	-	c

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata,
 * = Berbeda nyata,
 ns = Tidak Berbeda Nyata

Berdasarkan tabel BNT (Tabel 6), dapat diketahui bahwa tiap-tiap perlakuan mempunyai notasi yang berbeda. Selanjutnya, dilakukan uji polynomial orthogonal , yang hasilnya regresi linier, kuadratik dan kubik sama-sama berbeda sangat nyata, maka perlu dihitung R^2 masing- masing regresi tersebut. Dari hasil perhitungan, ternyata R^2 kuadratik lebih tinggi dibandingkan R^2 kubik maupun

linier (hasil perhitungan selengkapnya disajikan dalam Lampiran 8). Sehingga, regresi kuadratik lebih sesuai digunakan untuk kurva respons eritrosit sebelum diinfeksi (Gambar 11). Berikut ini adalah gambar kurva respons eritrosit.



Gambar 11. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar *H.scabra* terhadap Eritrosit Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Hasil regresi polynomial orthogonal didapatkan hubungan dosis pemberian imunostimulan dengan total eritrosit ikan patin sebelum infeksi (Lampiran 8) yaitu $Y = 20,758 + 0,248X - 0,001X^2$ dengan koefisien determinasi sebesar (R^2) = 0,702, dari persamaan diperoleh X maksimum adalah 116 ppm dan Y maksimum adalah $36,134 \times 10^5$ sel/ml. Untuk dosis terbaik adalah 100 ppm. Dari analisa regresi pemberian ekstrak kasar *H.scabra* pada setiap perlakuan memberikan pengaruh meningkatnya jumlah rata-rata eritrosit ikan patin sebelum diinfeksi dengan tingginya dosis yang diberikan dibandingkan dengan ikan patin kontrol. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak kasar *H.scabra* dapat menjadi racun apabila dosis yang diberikan terlalu tinggi.

Hasil analisis data sidik ragam jumlah rata-rata eritrosit ikan patin sesudah diinfeksi menggunakan analisis keragaman satu arah didapat sangat berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% F_{hit} : 62.5 dan nilai Sig.0,000<0,01 (Lampiran 9). Data sidik ragam jumlah rata-rata eritrosit ikan patin sesudah diinfeksi dapat diamati pada Tabel 7.

Tabel 7. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Eritrosit Ikan patin Sesudah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	302.3	3	100.8	62.5	.000
Acak	12.9	8	1.6		
Total	315.2	11			

Keterangan: Sig.<0,05 berbeda nyata, sig.<0,01 berbeda sangat nyata

Hasil analisa sidik ragam tersebut perlu dilakukan uji LSD atau BNT pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%) untuk mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan. Data uji BNT jumlah rata-rata eritrosit ikan patin sesudah diinfeksi dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Eritrosit Ikan Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

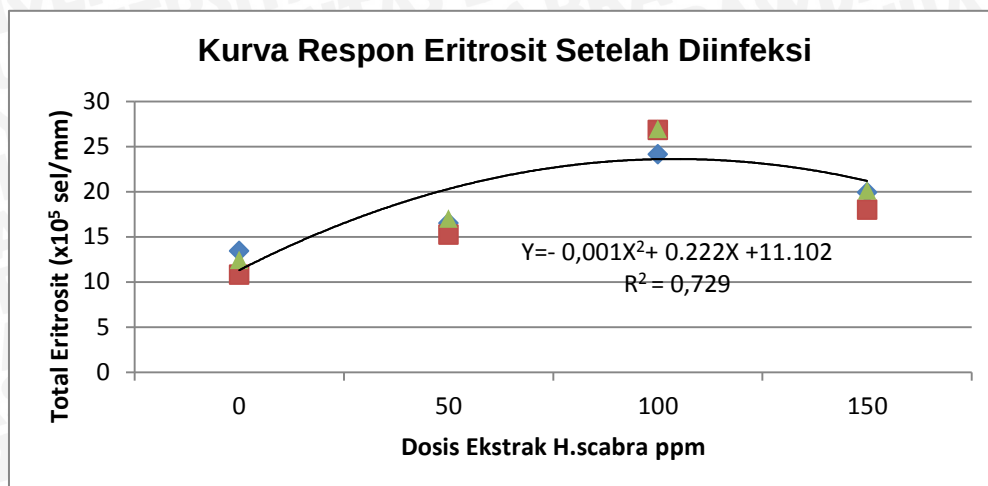
Rata - Rata Perlakuan	K= 12.2	A =16.2	C = 19.3	B = 25.9	Notasi
K = 12.2	-	-	-	-	a
A = 16.2	4.0**	-	-	-	b
C = 19.3	7.1**	3.1*	-	-	c
B = 25.9	13.7**	9.7**	6.6**	-	d

Keterangan :

** = Berbeda sangat nyata,

* = Berbeda nyata,

Tabel 8 menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan lain. Berdasarkan tabel BNT (Tabel 8), dapat diketahui bahwa tiap-tiap perlakuan mempunyai notasi yang berbeda. Selanjutnya, dilakukan uji polynomial orthogonal, yang hasilnya regresi linier, kuadratik dan kubik sama-sama berbeda sangat nyata, maka perlu dihitung R^2 masing-masing regresi tersebut. Dari hasil perhitungan, ternyata R^2 kuadratik lebih tinggi dibandingkan R^2 linier (hasil perhitungan selengkapnya disajikan dalam Lampiran 9). Sehingga, regresi kuadratik lebih sesuai digunakan untuk kurva respons eritrosit setelah Diinfeksi (Gambar 12)



Gambar 12. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar *H.scabra* terhadap Eritrosit Ikan Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Hasil regresi polynomial orthogonal didapatkan hubungan dosis pemberian imunostimulan dengan total eritrosit ikan patin sesudah infeksi (Lampiran 9) R^2 tertinggi adalah regresi kuadratik maka, hubungan variabel penelitian adalah kuadratik. Sehingga Persamaanya adalah $Y = 11,102 + 0,222X - 0,001X^2$, dengan koefisien determinasi sebesar (R^2) = 0,729. Untuk nilai X maksimum pada dosis 100 ppm sedangkan Y maksimum pada nilai eritrosit $23,30 \times 10^5$. Untuk dosis terbaik adalah 100 ppm

Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan jumlah total eritrosit pada setiap perlakuan setelah infeksi bakteri. Penurunan jumlah sel eritrosit disebabkan organ yang memproduksi sel darah merah yaitu ginjal dan limpa serta organ hemopolitik lainnya terganggu dalam memproduksi darah merah jika terinfeksi bakteri, sehingga jumlah eritrosit berkurang (Kabata dan Mayer, 1993). Menurut (Anderson, 1991) bahwa bakteri *A. hydrophila* mempunyai kemampuan untuk menghemolisis sel darah merah dalam sirkulasi. Meningkatnya kehilangan darah ikan kontrol positif mungkin akibat kehilangan langsung dari sirkulasi melalui pendarahan tukak yang banyak mengurangi volume sirkulasi serta penghancuran eritrosit (hemolisis) dalam sirkulasi.

Penurunan jumlah eritrosit kemungkinan disebabkan oleh pecahnya pembuluh darah yang mengakibatkan terjadinya luka dan organ hemopoetik tidak dapat mengimbangi hilangnya eritrosit karena pendarahan tersebut. Produksi darah merah juga dipengaruhi faktor kebutuhan oksigen yang bervariasi pada ikan dan bergantung pada kondisi lingkungannya. Perubahan suhu juga berdampak pada jumlah sel darah merah, terutama perubahan suhu yang ekstrim.

4.2.2 Diferensial Leukosit Ikan Patin (*Pangasius* sp.) Sebelum dan Sesudah Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

A. Monosit

Abbas *et al.*, (2010), menyatakan bahwa monosit memiliki inti besar dan menutupi hampir dua pertiga volume sel. Monosit terdiri dari sitoplasma berwarna biru keabu – abuan hingga biru, bentuk inti bervariasi mulai bulat hingga oval. Hasil Pengamatan sel monosit sebelum dan sesudah infeksi dapat dilihat pada Tabel 9

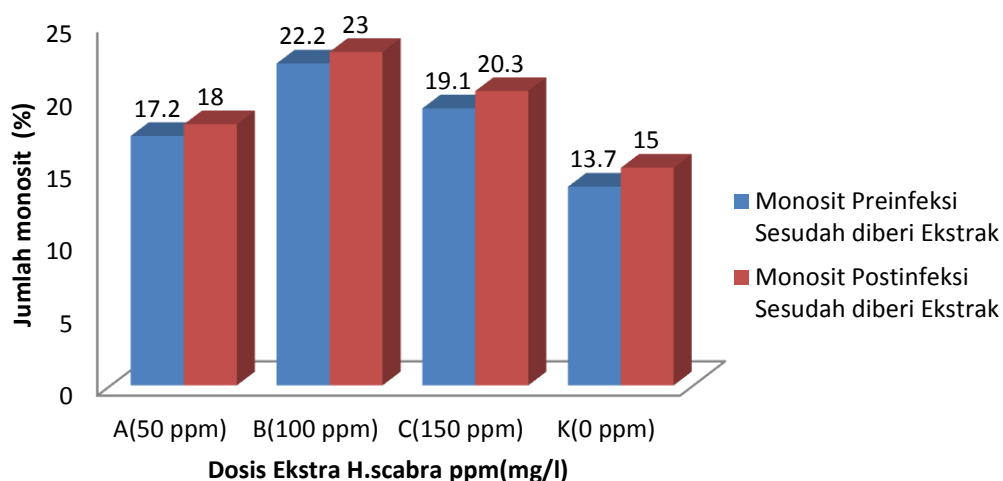
Tabel 9. Jumlah monosit ikan patin pada setiap perlakuan (%)

Perlakuan	Sebelum infeksi	Sesudah Infeksi
A	6.8±0.5	8.0±0.5
B	11.3±0.7	12.±1.0
C	9.6±0.8	10.7±0.8
K	4.6±0.7	5.8±0.6

Tabel 9 diatas menunjukkan jumlah rata-rata monosit ikan patin sebelum di infeksi dan telah diberi ekstrak *H.scabra* berkisar antara 4,6 – 11,3 %, sedangkan setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* nilai monosit berubah menjadi antara 5,8 – 12 %. Nilai tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan sebelum diinfeksi bakteri. Ini disebabkan karena fungsi dari monosit adalah sebagai fagosit, sehingga ketika benda asing maupun agen penyakit masuk jumlah monosit akan meningkat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Moyle dan Cech (1998), bahwa

monosit berfungsi sebagai fagosit terhadap benda – benda asing, termasuk agen penyakit. Hasil pengamatan tentang total monosit ikan uji secara lengkap disajikan pada Lampiran 10.

Sedangkan Untuk nilai monosit sebelum infeksi dan sudah diberi ekstrak *H.scabra*. Rata – rata meningkat dari ikan normal. Hal ini disebabkan karena pengaruh ekstrak kasar *H.scabra* yang dapat meningkatkan total monosit. Grafik hasil pengamatan total monosit sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat dalam Gambar 13.



Gambar 13. Pengaruh pemberian ekstrak *H.scabra* terhadap monosit ikan patin (*Pangasius sp.*) sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*

Hasil analisis data sidik ragam jumlah rata-rata monosit ikan patin grafik diatas menunjukkan perbedaan jumlah monosit sebelum diinfeksi dan sesudah diinfeksi. Pada perlakuan semua perlakuan rata – rata setelah diinfeksi mengalami peningkatan. Paling tinggi adalah pada perlakuan B (dosis 100 ppm) yaitu sebelum infeksi 22.2% dan sesudah infeksi adalah 23%. Peningkatan ini disebabkan karena monosit berperan dalam fagositosis. Hal ini sesuai dengan pernyataan Irianto (2002), monosit merupakan prekursor-prekursor makrofag. monosit mengalami sirkulasi dan makrofag terikat pada jaringan. Oleh karna itu jika ada benda asing yang masuk kedalam tubuh ikan, maka akan menyediakan jumlah sel leukosit banyak dan salah satunya akan berferensiasi menjadi sel

monosit. Menurut Affandi dan Tang (2002) sekali sel-sel monosit ini bermigrasi ke dalam berbagai jaringan, sel monosit ini tidak dapat dibedakan dari makrofag dan berperan dalam fagositosis dengan membunuh atau melisis sel bakteri

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar *H.scabra* terhadap jumlah nilai rata-rata monosit ikan uji sebelum infeksi, maka dilakukan uji sidik ragam yang disajikan dalam Tabel 10.

Tabel 10. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Monosit Ikan patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	81.3	3	27.1	60.4	.000
Acak	3.6	8	0.5		
Total	84.870	11			

Keterangan: Sig.<0,05 berbeda nyata, sig.<0,01 berbeda sangat nyata

Hasil analisis data sidik ragam jumlah rata-rata monosit ikan patin sebelum diinfeksi menggunakan analisis keragaman satu arah didapat sangat berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% F_{hit} : 60.4 dan nilai Sig.0,000<0,01 (Lampiran 10). Hasil analisa sidik ragam tersebut perlu dilakukan uji LSD atau BNT pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%) untuk mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan. Data uji BNT jumlah rata-rata monosit ikan patin sebelum diinfeksi dapat dilihat pada Tabel 11

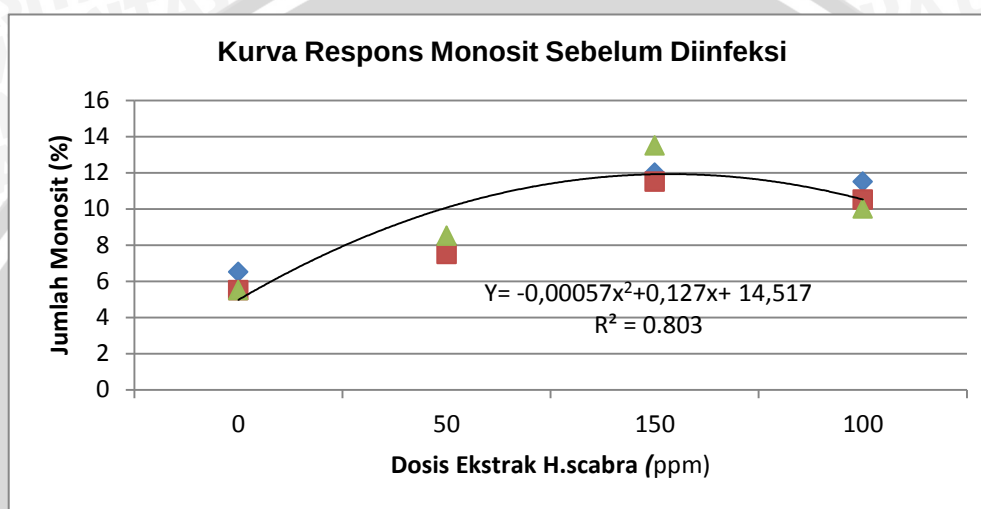
Tabel 11. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Monosit Ikan Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Rata - Rata Perlakuan	K = 4.6	A = 6.8	C = 9.6	B = 11.3	Notasi
K = 4.6	-	-	-	-	a
A = 6.8	2.2**	-	-	-	b
C = 9.6	5.0**	2.8**	-	-	c
B = 11.3	6.8**	4.6**	1.8*	-	d

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata, * = Berbeda nyata,

Tabel 11 menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan lain. Berdasarkan tabel BNT (Tabel 11), dapat diketahui bahwa tiap-tiap perlakuan mempunyai notasi yang berbeda.

Selanjutnya, dilakukan uji polynomial orthogonal , yang hasilnya regresi linier, kuadratik dan kubik sama-sama berbeda sangat nyata, maka perlu dihitung R^2 masing- masing regresi tersebut. Dari hasil perhitungan, ternyata R^2 kuadratik lebih tinggi dibandingkan R^2 linier . (hasil perhitungan selengkapnya disajikan dalam Lampiran 10). Sehingga, regresi kuadratik lebih sesuai digunakan untuk kurva respons Monosit sebelum Diinfeksi (Gambar 14).



Gambar 14. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar *H.scabra* terhadap Monosit Ikan Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Hasil regresi polynomial orthogonal didapatkan hubungan dosis pemberian imunostimulan dengan total monosit ikan patin sebelum infeksi (Lampiran 10) adapun Persamaanya adalah $Y = 14,517 + 0,127x - 0,00057x^2$. Dari hasil persamaan di dapatkan X maksimum adalah 111.4 ppm dan Y maksimum adalah 21.6% dengan koefisien determinasi sebesar (R^2) = 0.803. Dosis yang baik digunakan adalah 100 ppm.

Hasil analisa regresi pemberian ekstrak kasar *H.scabra* pada setiap perlakuan memberikan pengaruh meningkatnya presentase monosit patin sebelum diinfeksi dibandingkan patin kontrol. Peningkatan persentase monosit disebabkan karena senyawa bioaktif yang terkandung didalam ekstrak kasar *H.scabra* yaitu berupa glikosida triterpenoid direspon oleh monosit yang sudah

matang (makrofag) sebagai benda asing yang harus dieleminasi dari tubuh. Hal tersebut menyebabkan leukosit didalam tubuh akan berdiferensiasi untuk menghasilkan monosit lebih banyak. Menurut Ashry (2007), bahwa monosit berfungsi sebagai fagosit terhadap benda – benda asing.

Analisis data sidik ragam jumlah rata-rata monosit ikan patin sesudah diinfeksi menggunakan analisis keragaman satu arah didapat sangat berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% F_{hit} : 36 dan nilai Sig. $0,000 < 0,01$ (Lampiran 11). Data sidik ragam jumlah rata-rata monosit ikan patin sesudah diinfeksi dapat diamati pada Tabel 12.

Tabel 12. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Monosit Ikan patin Sesudah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	60.750	3	20,250	36,000	0,000*
Acak	4.500	8	0,563		
Total	65.250	11			

Keterangan: Sig.<0,05 berbeda nyata, sig.<0,01 berbeda sangat nyata

Hasil analisa sidik ragam tersebut perlu dilakukan uji LSD atau BNT pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%) untuk mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan. Data uji BNT jumlah rata-rata monosit ikan patin sesudah diinfeksi dapat dilihat pada table 13.

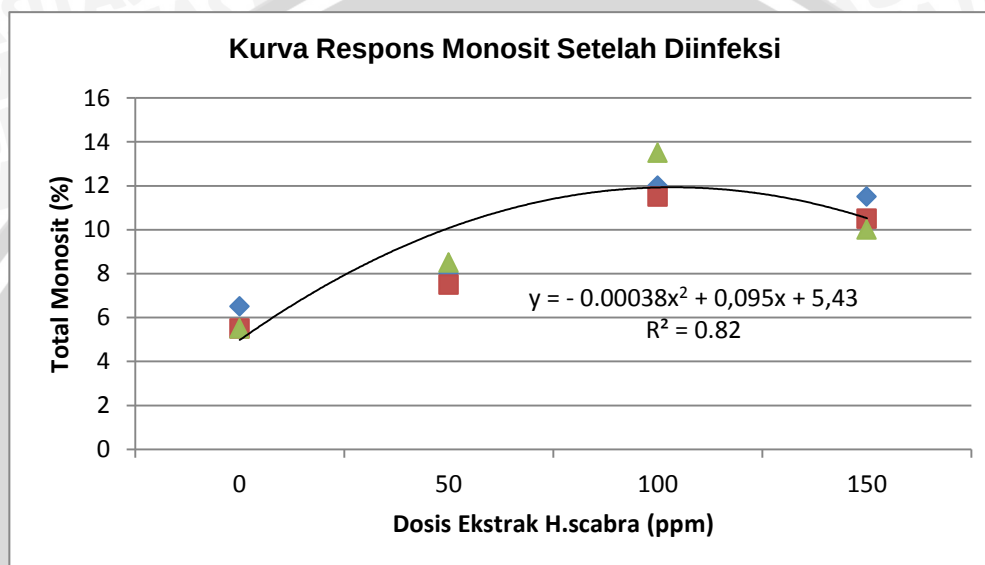
Tabel 13. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Monosit Ikan Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Rata - Rata Perlakuan	K=5.8	A=8.0	C=10.7	B=12.3	Notasi
K=5.8	-	-	-	-	a
A=8.0	2.2**	-	-	-	b
C=10.7	4.8**	2.7**	-	-	c
B=12.3	6.5**	4.3**	1.7*	-	d

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata,
* = Berbeda nyata,

Tabel 13 menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan lain. Berdasarkan tabel BNT (Tabel 13), dapat diketahui bahwa tiap-tiap perlakuan mempunyai notasi yang berbeda.

Selanjutnya, dilakukan uji polynomial orthogonal , yang hasilnya regresi linier, kuadratik dan kubik sama-sama berbeda sangat nyata, maka perlu dihitung R^2 masing- masing regresi tersebut. Dari hasil perhitungan, ternyata R^2 kuadratik lebih tinggi dibandingkan R^2 linier. (hasil perhitungan selengkapnya disajikan dalam Lampiran 11). Sehingga, regresi kuadratik lebih sesuai digunakan untuk kurva respons Monosit sesudah Diinfeksi (Gambar 15).



Gambar 15. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar *H.scabra* terhadap Monosit Ikan Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Hasil regresi polynomial orthogonal didapatkan hubungan dosis pemberian imunostimulan dengan total monosit ikan patin sesudah infeksi (Lampiran 11). Persamaanya adalah $Y = 5,43 + 0,095x - 0.00038x^2$. Dari hasil persamaan didapatkan nilai X maksimum adalah 125 dan Y maksimum adalah 11.4% dengan koefisien determinasi sebesar (R^2) = 0.82

Data di atas dapat dilihat bahwa total monosit pasca infeksi pada setiap perlakuan mengalami peningkatan. Menurut Andayani (2009) menyatakan bahwa persentase jumlah monosit mengalami peningkatan 2,4% sampai 8,45%. Pada proses inflamasi saat terjadi kerusakan jaringan oleh infeksi maupun reaksi antigen-antibodi, akan meningkatkan produksi monosit menjadi dua kali lebih banyak (Maftuch, 2007). Semakin banyak bakteri yang akan difagosit oleh

monosit, maka akan mendorong monosit untuk membelah diri dan memperbanyak diri (Endarti, 2009).

B. Limfosit

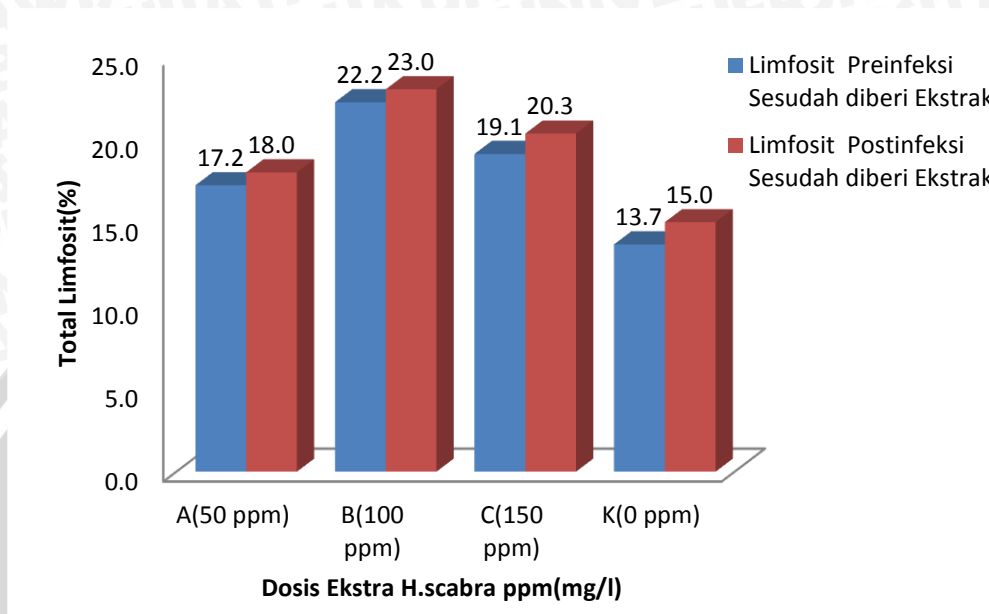
Limfosit memiliki diameter berkisar antara 8 - 12 μm , limfosit merupakan sel, secara spesifik mengenal dan merespon antigen dari luar dan selanjutnya sebagai mediator imum seluler dan humoral. Sel limfosit B merupakan sel yang mempunyai kemampuan memproduksi antibodi, mengenal antigen ekstraseluler, dan dapat membedakan antibodi dalam plasma sel (Abbas *et al.*, (2010)), Hasil Pengamatan sel limfosit sebelum dan sesudah infeksi dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14.Jumlah Limfosit Ikan Patin Pada Setiap Perlakuan (%).

Perlakuan	Sebelum Infeksi	Sesudah Infeksi
A	17.2 $\pm$ 1.1	18 $\pm$ 1
B	22.2 $\pm$ 0.5	23 $\pm$ 1.3
C	19.1 $\pm$ 1.3	20.3 $\pm$ 0.8
K	13.7 $\pm$ 0.8	15 $\pm$ 0.9

Tabel 14 diatas menunjukkan jumlah rata-rata limfosit ikan patin sebelum di infeksi dan telah diberi ekstrak *H.scabra* berkisar antara 13,7 – 22,2 %, sedangkan setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* nilai limfosit berubah menjadi antara 15 - 23 %. Nilai tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan sebelum diinfeksi bakteri. Pada saat sebelum di infeksi nilai limfosit mengalami penurunan hal ini di karenkan pengaruh dari ekstrak kasar *H.scabra*. Menurut Bijanti (2005) menjelaskan penurunan sel limfosit dapat dipengaruhi oleh adanya antigen asing sehingga zat kebal terganggu oleh masuknya infeksi . Sedangkan setelah infeksi jumlah sel limfosit mengalami peningkatan hal ini terjadi karena fungsi dari limfosit adalah sebagai penghasil antibodi untuk kekebalan tubuh dari gangguan penyakit. Hasil pengamatan tentang total limfosit ikan uji sebelum infeksi secara lengkap disajikan pada Lampiran 12

Rata-rata jumlah total limfosit ikan patin (*Pangasius sp.*) sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* pada beberapa perlakuan disajikan pada Gambar 16.



Gambar 16. Pengaruh pemberian ekstrak *H.scabra* terhadap limfosit ikan patin (*Pangasius sp.*) sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*

Hasil analisis data sidik ragam jumlah rata-rata limfosit ikan patin Grafik diatas menunjukkan perbedaan jumlah limfosit sebelum diinfeksi dan sesudah diinfeksi. Pada perlakuan semua perlakuan rata – rata setelah diinfeksi mengalami peningkatan. Paling tinggi adalah pada perlakuan B (dosis 100 ppm) yaitu sebelum infeksi 22.2% dan sesudah infeksi adalah 23%. Sedangkan peningkatan limfosit ikan uji setelah infeksi diduga karena meningkatnya aktifitas pembelahan (proliferasi) sel-sel limfosit. Proliferasi sel ini kemungkinan dirangsang oleh suatu senyawa aktif dalam ekstrak *H.scabra* yang bersifat mitogenik. Senyawa ini bekerja dengan cara mengaktivasi sel pertahanan untuk berdiferensiasi, menyebabkan terjadinya sintesa DNA pada sel limfosit (Rorstad et al., 1993 dalam Alifuddin, 1999). Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar *H.scabra* terhadap jumlah nilai rata-rata limfosit ikan uji sebelum infeksi, maka dilakukan uji sidik ragam yang disajikan dalam Tabel 15

Tabel 15. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Limfosit Ikan patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	JK	Df	KT	F	Sig.
Perlakuan	115.296	3	38.432	38.4	0.000*
Acak	8.000	8	1.000		
Total	123.296	11			

Keterangan: Sig.<0,05 berbeda nyata, sig.<0,01 berbeda sangat nyata

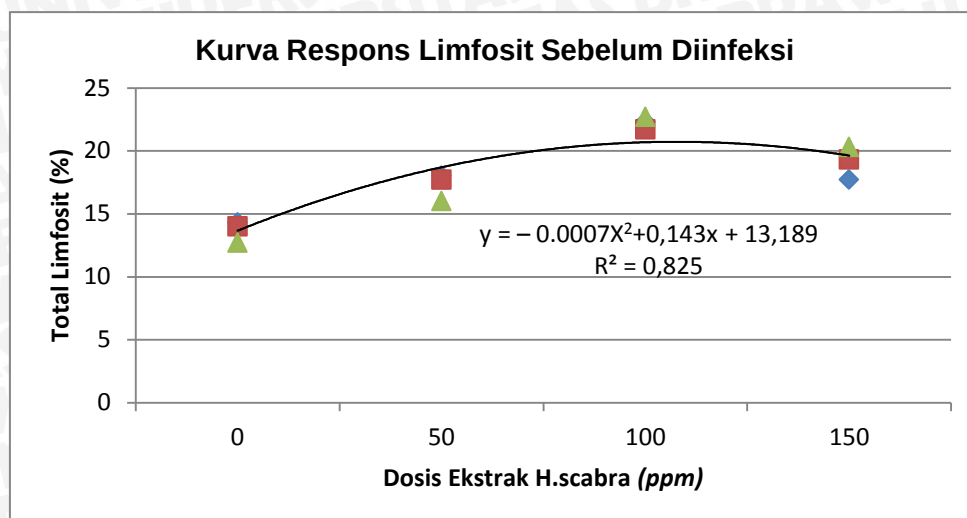
Hasil analisis data sidik ragam jumlah rata-rata limfosit ikan patin sebelum diinfeksi menggunakan analisis keragaman satu arah didapat sangat berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% F_{hit} : 38.4 dan nilai Sig.0,00<0,01 (Lampiran 12). Hasil analisa sidik ragam tersebut perlu dilakukan uji LSD atau BNT pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%) untuk mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan. Data uji BNT jumlah rata-rata limfosit ikan patin sebelum diinfeksi dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 16. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Limfosit Ikan Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Rata - Rata Perlakuan	K=13.7	A=17.2	C=19.1	B=22.2	Notasi
K=13.7	-	-	-	-	a
A=17.2	3.6**	-	-	-	b
C=19.1	5.4**	1.9*	-	-	b
B=22.2	8.6**	5**	3.1**	-	c

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata,
* = Berbeda nyata,

Tabel 16 menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan lain. Berdasarkan tabel BNT (Tabel 16), dapat diketahui bahwa tiap-tiap perlakuan mempunyai notasi yang berbeda. Selanjutnya, dilakukan uji polynomial orthogonal, yang hasilnya regresi linier, kuadratik dan kubik sama-sama berbeda sangat nyata, maka perlu dihitung R^2 masing-masing regresi tersebut. Dari hasil perhitungan, ternyata R^2 kuadratik lebih tinggi dibandingkan R^2 linier. (hasil perhitungan selengkapnya disajikan dalam Lampiran 12). Sehingga, regresi kuadratik lebih sesuai digunakan untuk kurva respons limfosit sebelum Diinfeksi (Gambar 17).



Gambar 17. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar *H.scabra* terhadap Limfosit Ikan Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Hasil regresi polynomial orthogonal didapatkan hubungan dosis pemberian imunostimulan dengan total limfosit ikan patin sebelum diinfeksi (Lampiran 12) Sehingga Persamaanya adalah $Y = 13,189 + 0,143x - 0.001X^2$. Dari hasil persamaan di dapatkan X maksimum adalah 106,6 ppm dan Y maksimum adalah 20,81% dengan koefisien determinasi sebesar (R^2) = 0,825. Dosis yang baik digunakan adalah 100 ppm.

Hasil analisa regresi diatas menunjukkan bahwa ekstrak kasar *H.scabra* pada setiap perlakuan memberikan pengaruh peningkatan persentase limfosit ikan patin sebelum diinfeksi dibandingkan ikan patin kontrol. Peningkatan persentase limfosit terjadi karena senyawa bioaktif yang terkandung dalam *H.scabra* berupa glikosida triterpenoid menyebabkan meningkatnya aktifitas pembelahan dari sel limfosit sehingga dapat meningkatkan sistem kekebalan secara seluler maupun humoral. Menurut Angka *et al.*, (1990) Sebagian besar limfosit yang berada dalam peredaran darah adalah limfosit kecil dan tidak aktif. Setelah ada antigen spesifik, limfosit menjadi aktif bereaksi dengan antigen dan dinamakan limfosit dewasa .

Hasil analisis data sidik ragam jumlah rata-rata limfosit ikan patin sesudah diinfeksi menggunakan analisis keragaman satu arah didapat sangat berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% F_{hit} : 34,04 nilai Sig.0,00<0,01 (Lampiran 13). Data sidik ragam jumlah rata-rata limfosit ikan patin sesudah diinfeksi dapat diamati pada Tabel 17

Tabel 17. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Limfosit Ikan patin Sesudah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	104.250	3	34.750	34.04	.000
Acak	8.167	8	1.021		
Total	112.417	11			

Keterangan: Sig.<0,05 berbeda nyata, sig.<0,01 berbeda sangat nyata

Hasil analisa sidik ragam tersebut perlu dilakukan uji LSD atau BNT pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%) untuk mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan. Data uji BNT jumlah rata-rata limfosit ikan patin sesudah diinfeksi dapat dilihat pada table 18

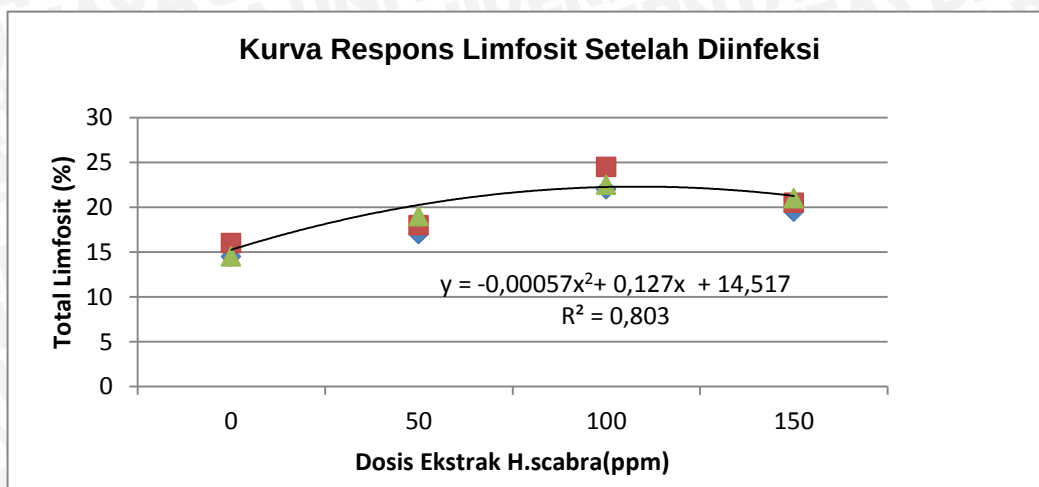
Tabel 18. Uji BNT Jumlah Rata-Rata limfosit Ikan Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Rata - Rata Perlakuan	K=15.0	A=18.0	C=20.3	B=23.0	Notasi
K=15.0	-	-	-	-	a
A=18.0	3**	-	-	-	b
C=20.3	5,3**	2,3*	-	-	c
B=23.0	8**	5**	2, 7*	-	d

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata,
* = Berbeda nyata,

Tabel 18 menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan lain. Berdasarkan tabel BNT (Tabel 17), dapat diketahui bahwa tiap-tiap perlakuan mempunyai notasi yang berbeda. Selanjutnya, dilakukan uji polynomial orthogonal , yang hasilnya regresi linier, kuadratik dan kubik sama-sama berbeda sangat nyata, maka perlu dihitung R^2 masing- masing regresi tersebut. Dari hasil perhitungan, ternyata R^2 kuadratik lebih tinggi dibandingkan R^2 linier . (hasil perhitungan selengkapnya disajikan

dalam Lampiran 13). Sehingga, regresi kuadratik lebih sesuai digunakan untuk kurva respons limfosit sesudah Diinfeksi (Gambar 18).



Gambar 18. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar *H.scabra* terhadap Limfosit Ikan Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Hasil regresi polynomial orthogonal didapatkan hubungan dosis pemberian imunostimulan Persamaanya adalah $Y = 14,517 + 0,127x - 0,00057x^2$. Dari hasil persamaan di dapatkan X maksimum adalah 111.4 ppm dan Y maksimum adalah 21.6%. Dengan koefisien determinasi sebesar (R^2) 0,803. Dosis yang baik adalah 100 ppm. Hasil pengamatan sel limfosit pasca infeksi di dapatkan jumlah sel lebih banyak dari sebelum infeksi. Hal ini dikarenakan terjadi peningkatan pembelahan sel limfosit. Menurut Alifuddin (1999) Peningkatan limfosit terjadi karena meningkatnya aktifitas pembelahan (proliferasi) sel limfosit. Proliferasi sel ini mungkin dirangsang oleh suatu senyawa dalam *H.scabra* yaitu glikosida triterpenoid yang bersifat mitogenik. Senyawa ini bekerja dengan mengaktivasi sel pertahanan untuk berdiferensiasi, menyebabkan terjadinya sintesis DNA pada sel limfosit

Menurut Fujaya (2002), mekanisme respon seluler melalui produksi limfosit dalam jumlah besar yang secara khusus peka terhadap antigen asing sedangkan respon humoral melalui pembentukan antibodi untuk menyerang bakteri patogen dan produk toksin yang dihasilkannya. Kemampuan

mengadakan reaksi terhadap rangsangan imunologik pada dasarnya terletak pada sistem sel-sel limfoid. Reaksi terhadap kehadiran antigen merangsang sel induk limfoid berdiferensiasi membentuk dua populasi yaitu limfosit T yang berasal dari kelenjar timus dan berperan mengatur kekebalan yang mampu mengeliminasi antigen melalui cell mediated immune response sedangkan limfosit B diduga berasal dari ginjal dan berperan dalam pembentukan antibodi dalam sirkulasi darah.

C. Neutrofil

Neutrofil yakni sel darah putih yang dapat meninggalkan pembuluh darah, mengandung vakuola yang berisi lisozim untuk menghancurkan organisme yang dimakannya (Chinabut *et al.*, 1991). Jumlah neutrofil pada ikan normal adalah sekitar 6 – 8 % dari total leukosit dalam darah ikan, dimana neutrofil ini berfungsi untuk melawan penyakit bersama-sama dengan eosinofil yang disebabkan oleh organisme mikroseluler seperti bakteri dan virus. Sifat melawan penyakit ini disebut sifat fagositik yaitu memakan dan menghancurkan sel penyebab penyakit (Lagler *et al.*, 1977). Hasil pengamatan jumlah neutrofil di setiap perlakuan. Dapat dilihat pada Tabel 19 di bawah ini.

Tabel 19. Jumlah Neutrofil ikan patin pada setiap perlakuan (%)

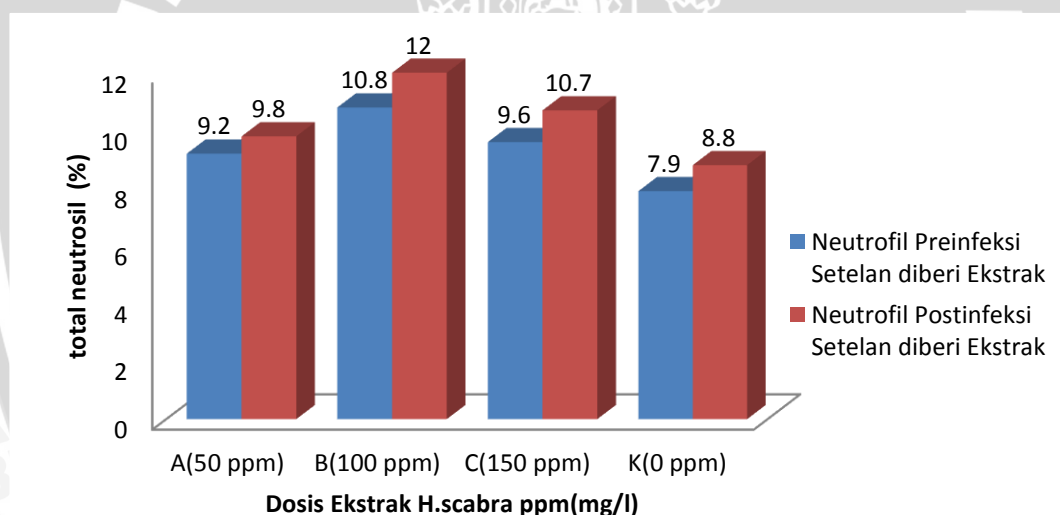
Perlakuan	Sebelum infeksi	Sesudah infeksi
A	9.2±0.5	9.8±0.3
B	10.8±0.2	12.0±0.5
C	9.6±0.8	10.7±0.3
K	7.9±0.2	8.8±0.6

Tabel 19 diatas menunjukkan jumlah rata-rata neutrofil ikan patin sebelum di infeksi dan telah diberi ekstrak *H.scabra* berkisar antara 7,9 – 10,8 %, sedangkan setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* nilai neutrofil berubah menjadi antara 8,8 - 12 %. Nilai tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan sebelum diinfeksi bakteri. Pada saat penginfeksian bakteri nilai neutrofil mengalami peningkatan

peningkatan ini dikarenakan masuknya benda asing dalam tubuh ikan. Peningkatan ini juga diduga pemberian imunostimulan ekstrak kasar *H.scabra* dapat merangsang organ yang memproduksi darah untuk meningkatkan produksinya.

Menurut Dellman dan Brown (1989), pada saat terjadi infeksi bakteri, biasanya jumlah neutrofil dalam darah meningkat, hal ini disebabkan limfoid perlu melepas leukosit untuk melawan infeksi. Hasil pengamatan tentang total neutrofil ikan uji secara lengkap disajikan pada Lampiran 14.

Rata-rata jumlah total neutrofil ikan patin (*Pangasius* sp.) sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri *A.hydrophila* pada beberapa perlakuan disajikan pada Gambar 19



Gambar 19. Pengaruh pemberian ekstrak *H.scabra* terhadap Neutrofil ikan patin (*Pangasius* sp.) sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri *A.hydrophila*

Hasil analisis data sidik ragam jumlah rata-rata neutrofil ikan patin grafik diatas menunjukkan perbedaan jumlah neutrofil sebelum diinfeksi dan sesudah diinfeksi. Pada perlakuan semua perlakuan rata – rata setelah diinfeksi mengalami peningkatan. Paling tinggi adalah pada perlakuan B (dosis 100 ppm) yaitu sebelum infeksi 10,8.2% dan sesudah infeksi adalah 12%. Tingginya nilai neutrofil dibanding ikan kontrol diduga masuknya bakteri di dalam tubuh ikan uji sehingga oragan pengasil sel neutrofil memproduksi banyak sel untuk melisis

bakteri tersebut. Menurut Abdullah (2008), peningkatan neutrofil dalam darah diduga karena meningkatnya produksi pada pusat organ limfoid yaitu ginjal, timus dan limpa untuk menghasilkan sel-sel fagosit dan aktivasi fagosit dari neutrofil granulosit untuk melisis antigen dalam pembuluh darah sebelum menuju ke situs infeksi. Neutrofil yakni sel darah putih yang dapat meninggalkan pembuluh darah, mengandung vakuola yang berisi lisozim untuk menghancurkan organisme yang dimakannya (Chinabut *et al.*, 1991). Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar *H.scabra* terhadap jumlah nilai rata-rata neutrofil ikan uji, maka dilakukan uji sidik ragam yang disajikan dalam Tabel 20.

Tabel 20. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Neutrofil Ikan patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	12.963	3	4.321	14.14	.001
Acak	2.444	8	.306		
Total	15.407	11			

Keterangan: Sig.<0,05 berbeda nyata, sig.<0,01 berbeda sangat nyata

Hasil analisis data sidik ragam jumlah rata-rata neutrofil ikan patin sebelum diinfeksi menggunakan analisis keragaman satu arah didapat sangat berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% F_{hit} : 14.14 dan nilai Sig.0,001<0,01 (Lampiran14). Hasil analisa sidik ragam tersebut perlu dilakukan uji LSD atau BNT pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%) untuk mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan. Data uji BNT jumlah rata-rata neutrofil ikan patin sebelum diinfeksi dapat dilihat pada Tabel 21.

Tabel 21. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Neutrofil Ikan Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

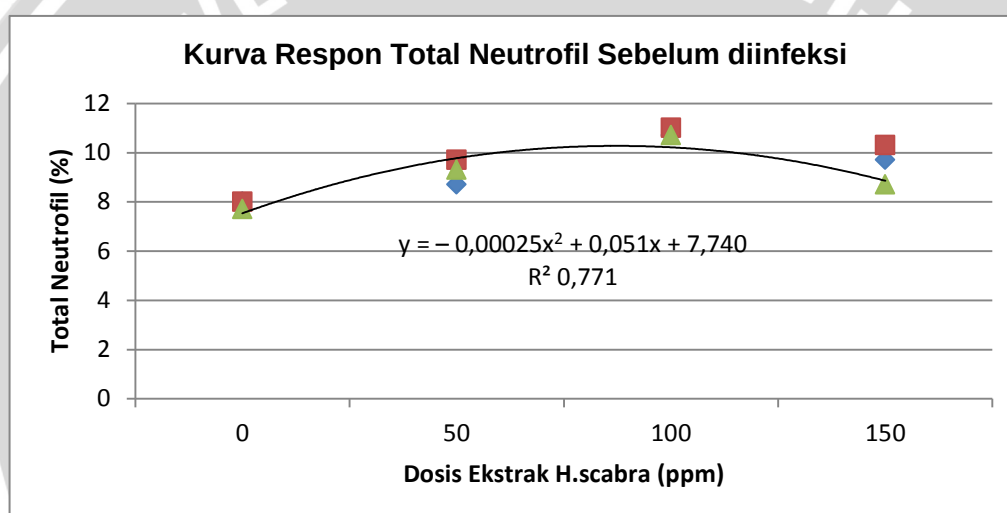
Rata - Rata Perlakuan	K=8.8	A=9.8	C=10.7	B=12.0	Notasi
K=8.8	-	-	-	-	a
A=9.8	1*	-	-	-	b
C=10.7	1.8**	0.8 ^{ns}	-	-	b
B=12.0	3.2**	2.2**	1.3*	-	c

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata,

* = Berbeda nyata,

ns = Tidak Berbeda Nyata

Tabel 21 menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan lain. Berdasarkan tabel BNT (Tabel 21), dapat diketahui bahwa tiap-tiap perlakuan mempunyai notasi yang berbeda. Selanjutnya, dilakukan uji polynomial orthogonal, yang hasilnya regresi linier, kuadratik dan kubik sama-sama berbeda sangat nyata, maka perlu dihitung R^2 masing-masing regresi tersebut. Dari hasil perhitungan, ternyata R^2 kuadratik lebih tinggi dibandingkan R^2 linier. (hasil perhitungan selengkapnya disajikan dalam Lampiran 14). Sehingga, regresi kuadratik lebih sesuai digunakan untuk kurva respons neutrofil sebelum diinfeksi (Gambar 20).



Gambar 20. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar *H.scabra* terhadap Neutrofil Ikan Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Hasil regresi polynomial orthogonal didapatkan hubungan dosis pemberian imunostimulan dengan total neutrofil ikan patin sebelum diinfeksi (Lampiran 14) Sehingga Persamaanya adalah $Y = 7,740 + 0,051x - 0,00025x^2$. Dari hasil persamaan di dapatkan X maksimum adalah 102 ppm dan Y maksimum adalah 10,3 % dengan koefisien determinasi sebesar (R^2) 0,771. Dosis yang baik adalah 100 ppm.

Hasil analisa regresi diatas menunjukkan pemberian ekstrak kasar *H.scabra* pada setiap perlakuan memberikan pengaruh meningkatnya persentase neutrofil ikan patin sebelum diinfeksi dibandingkan ikan patin kontrol.

Peningkatan persentase neutrofil terjadi karena ekstrak kasar *H.scabra* mengandung senyawa bioaktif dimana didalam tubuh ikan senyawa tersebut dianggap benda asing yang harus dihancurkan sehingga kelenjar timus dan ginjal akan memproduksi leukosit lebih banyak dan berdiferensiasi menjadi neutrofil.

Hasil analisis data sidik ragam jumlah rata-rata neutrofil ikan patin sesudah diinfeksi menggunakan analisis keragaman satu arah didapat sangat berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% F_{hit} : 28,74 dan nilai $Sig.0,000 < 0,01$ (Lampiran 15). Data sidik ragam jumlah rata-rata neutrofil ikan patin sesudah diinfeksi dapat diamati pada Tabel 22

Tabel 22. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Neutrofil Ikan patin Sesudah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	16.167	3	5.389	28.74	.000
Acak	1.500	8	.188		
Total	17.667	11			

Keterangan: Sig.<0,05 berbeda nyata, sig.<0,01 berbeda sangat nyata

Hasil analisa sidik ragam tersebut perlu dilakukan uji LSD atau BNT pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%) untuk mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan. Data uji BNT jumlah rata-rata neutrofil ikan patin sesudah diinfeksi dapat dilihat pada Tabel 23.

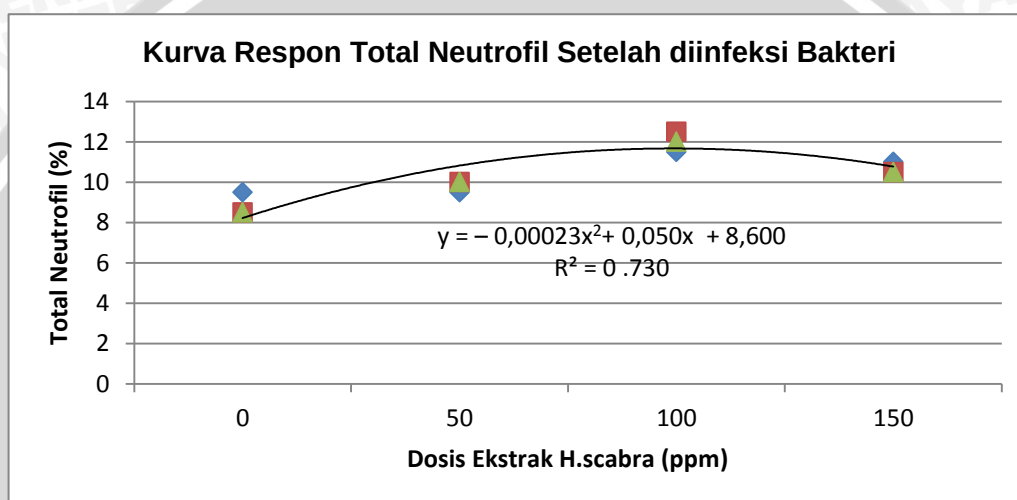
Tabel 23. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Neutrofil Ikan Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Rata - Rata Perlakuan	K=8.8	A=9.8	C=10.7	B=12.0	Notasi
K=8.8	-	-	-	-	a
A=9.8	1*	-	-	-	b
C=10.7	1.8*	1*	-	-	c
B=12.0	3.2**	1.8*	1.3*	-	d

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata,
* = Berbeda nyata,

Tabel 23 menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan lain. Berdasarkan tabel BNT (Tabel 23), dapat

diketahui bahwa tiap-tiap perlakuan mempunyai notasi yang berbeda. Selanjutnya, dilakukan uji polynomial orthogonal, yang hasilnya regresi linier, kuadratik dan kubik sama-sama berbeda sangat nyata, maka perlu dihitung R^2 masing-masing regresi tersebut. Dari hasil perhitungan, ternyata R^2 kuadratik lebih tinggi dibandingkan R^2 linier. (hasil perhitungan selengkapnya disajikan dalam Lampiran 15). Sehingga, regresi kuadratik lebih sesuai digunakan untuk kurva respons neutrofil sesudah Diinfeksi (Gambar 21).



Gambar 21. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar *H.scabra* terhadap Neutrofil Ikan Patin sesudah Diinfeksi Bakteri *A. Hydrphila*

Hasil regresi polynomial orthogonal didapatkan hubungan dosis pemberian imunostimulan dengan total neutrofil ikan patin sesudah diinfeksi (Lampiran 15) Persamaanya adalah $Y = 8,600 + 0,050x - 0,00023x^2$. Dari hasil persamaan di dapatkan X maksimum adalah 108.7 ppm dan Y maksimum adalah 11,3 % dengan koefisien determinasi sebesar (R^2) 0.730. Dosis yang baik adalah 100 ppm.

Data diatas dapat dilihat bahwa total neutrofil sesudah infeksi pada setiap perlakuan mengalami peningkatan. Peningkatan ini dikarenakan pada saat terjadi infeksi bakteri, biasanya jumlah neutrofil dalam darah meningkat, disebabkan limfoid perlu melepas leukosit untuk melawan infeksi dengan berdeferensial menjadi neutrofil. Menurut Andayani (2009), jumlah neutrofil mengalami

peningkatan dengan semakin terinfeksi bakteri. Neutrofil menunjukkan aktivitas fagositik yaitu mampu menyerang dan membunuh bakteri, virus-virus yang merugikan. Peran utamanya adalah pertahanan awal imunitas non-spesifik terhadap infeksi bakteri. Fungsi utama neutrofil adalah penghancuran bahan asing melalui proses fagositik yaitu kemotaksis dengan jalan sel bermigrasi menuju partikel atau perlekatan partikel pada sel, penelanan partikel oleh sel dan penghancuran partikel oleh enzim lisosom didalam fagolisosom (Suhermanto, 2011).

4.2.3 Jumlah Total Hematokrit Ikan Patin (*Pangasius sp.*) Sebelum dan Sesudah Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Hematokrit merupakan perbandingan antara sel darah merah dan plasma darah dan berpengaruh terhadap pengaturan sel darah merah. Peningkatan kadar hematokrit ini dipengaruhi oleh dua faktor yaitu perubahan parameter lingkungan terutama suhu perairan dan keadaan fisiologi ikan terkait dengan energi yang dibutuhkan (Jawad *et al.*, 2004 dalam Marthen, 2005). Menurut Angka *et al.*, (1990) hematokrit ikan bervariasi tergantung pada faktor nutrisi dan umur ikan. Anak ikan dengan nutrisi yang baik mempunyai kadar hematokrit lebih tinggi daripada ikan dewasa atau anak ikan dengan nutrisi rendah. Snieszko *et al.* (1960) dalam Marthen (2005) menyatakan bahwa nilai hematokrit darah ikan berkisar antara 5-60 %.

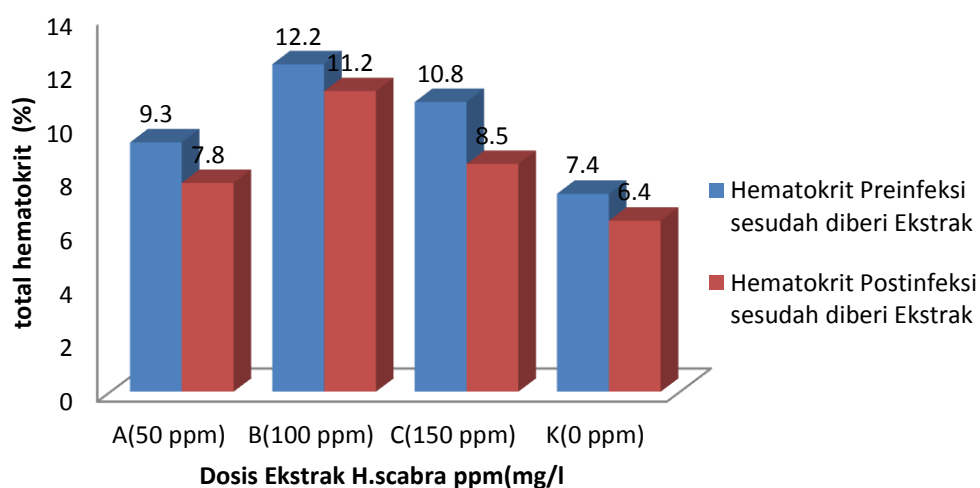
Hasil pengamatan Kadar Hematokrit di setiap perlakuan. Dapat dilihat pada Tabel 24 di bawah ini

Tabel 24. Jumlah hematokritl ikan patin setiap perlakuan (%).

Perlakuan	Sebelum infeksi	Sesudah Infeksi
A	9.3±1.4	7.8 ± 0.5
B	12.2±0.8	11.2 ± 0.5
C	10.8±0.9	8.5 ± 0.7
K	7.4±0.3	6.4 ± 1.1

Tabel 24 diatas menunjukkan kadar hematokrit ikan patin sebelum diinfeksi dan telah diberi ekstrak *H.scabra* berkisar antara 7,4 – 12,2 %, sedangkan setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* kadar hematokrit berubah menjadi antara 6,4 – 11,2 %. Nilai tersebut lebih rendah jika dibandingkan dengan ikan sebelum diinfeksi bakteri. Nilai hematokrit dipengaruhi beberapa faktor antara lain : eritrosit (jumlah, ukuran, bentuk, perbandingan antikoagulan dengan darah, tempat penyimpanan dan homogenitas), lingkungan, jenis kelamin, spesies dan umur ikan ketika dilakukan pengambilan darah. Penurunan nilai hematokrit terjadi pada kondisi dehidrasi dan nilai ini dapat dijadikan indikator anemia serta adanya jumlah eritrosit berlebih (polisetemia) pada ikan (Bastami *et al.*,2009). Dari hasil pengamatan meskipun mengalami penurunan kadar hematokrit kondisi ikan normal. Hal ini di karenakan nilai hematokrit ikan berkisar antar 5 -60%.

Rata-rata jumlah total hematokrit ikan Patin (*Pangasius* sp..) sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada beberapa perlakuan



Gambar 22. Pengaruh pemberian ekstrak *H.scabra* terhadap Hematokrit ikan patin(*Pangasius* sp.) sebelum dan sesudah diinfeksi bakteri

Hasil analisis data sidik ragam jumlah rata-rata kadar hematokrit ikan patin grafik diatas menunjukkan perbedaan kadar hematokrit sebelum diinfeksi dan sesudah diinfeksi. Pada perlakuan semua perlakuan rata – rata setelah diinfeksi mengalami penurunan kadar hematokrit. Paling tinggi adalah pada perlakuan B

(dosis 100 ppm) yaitu sebelum infeksi 12,2% dan sesudah infeksi adalah 11,2%. Pada perlakuan post infeksi nilai hematokrit menurun disebabkan organ yang memproduksi darah terganggu akibat infeksi bakteri. Faktor lingkungan seperti adanya pencemaran dan treatment kimia seperti potassium permanganat, copper sulfat, bisa menyebabkan infeksi sehingga mengganggu fungsi kerja darah (Harikrishnan *et al.*, 2003).

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar *H.scabra* sebelum diinfeksi terhadap kadar hematokrit ikan uji, maka dilakukan uji sidik ragam yang disajikan dalam Tabel 25

Tabel 25. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Hematokrit Ikan patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	38.122	3	12.707	14.29	.001
Acak	7.112	8	.889		
Total	45.234	11			

Keterangan: Sig.<0,05 berbeda nyata, sig.<0,01 berbeda sangat nyata

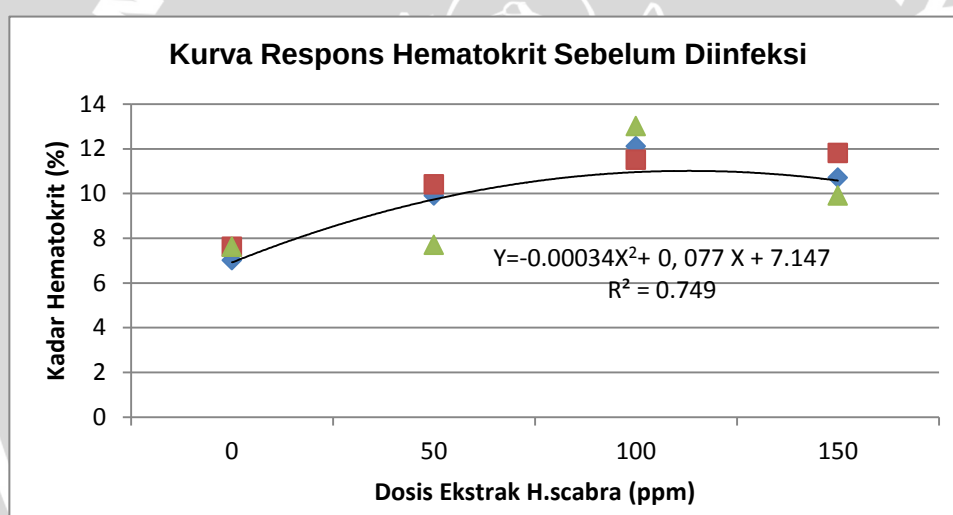
Hasil analisis data sidik ragam jumlah rata-rata hematokritl ikan patin sebelum diinfeksi menggunakan analisis keragaman satu arah didapat sangat berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% F_{hit} : 14. 29 dan nilai Sig.0,001<0,01 (Lampiran 16). Hasil analisa sidik ragam tersebut perlu dilakukan uji LSD atau BNT pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%) untuk mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan. Data uji BNT jumlah rata-rata hematokrit ikan patin sebelum diinfeksi dapat dilihat pada Table 26.

Tabel 26. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Hematokrit Ikan Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. Hydrophila*

Rata - Rata Perlakuan	K=7,4	A=9,3	C=10,8	B12,3	Notasi
K=7,4	-	-	-	-	a
A=9,3	1.9*	-	-	-	b
C=10,8	3.4**	1.4 ^{ns}	-	-	bc
B=12,3	4.8**	2.9**	1.4 ^{ns}	-	c

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata,
 * = Berbeda nyata,
 ns = Tidak Berbeda Nyata

Tabel 26 menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan lain. Berdasarkan tabel BNT (Tabel 26), dapat diketahui bahwa tiap-tiap perlakuan mempunyai notasi yang berbeda. Selanjutnya, dilakukan uji polynomial orthogonal, yang hasilnya regresi linier, kuadratik dan kubik sama-sama berbeda sangat nyata, maka perlu dihitung R^2 masing-masing regresi tersebut. Dari hasil perhitungan, ternyata R^2 kuadratik lebih tinggi dibandingkan R^2 linier. (hasil perhitungan selengkapnya disajikan dalam Lampiran 16). Sehingga, regresi kuadratik lebih sesuai digunakan untuk kurva respons Hematokrit (Gambar 23). Berikut ini adalah gambar kurva respons Hematokrit sebelum diinfeksi.



Gambar 23. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar *H.scabra* terhadap kadar Hematokrit ikan Patin Sebelum Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Hasil regresi polynomial orthogonal didapatkan hubungan dosis pemberian imunostimulan dengan tota hematokrit ikan patin sebelum diinfeksi (Lampiran 16) Sehingga Persamaanya adalah kuadrat. Sehingga Persamaanya adalah $Y = 7.147 + 0.077X - 0.00034X^2$. Dari hasil persamaan di dapatkan X maksimum adalah 113.23 ppm dan Y maksimum adalah 11.5% dengan koefisien determinasi sebesar (R^2) 0.749. Dosis terbaik yang digunakan adalah 100 ppm.

Hasil analisa regresi pemberian ekstrak kasar *H.scabra* pada setiap perlakuan memberikan pengaruh meningkatnya jumlah rata-rata Hematokrit ikan patin sebelum diinfeksi dengan tingginya dosis yang diberikan dibandingkan dengan ikan patin kontrol. Hal ini mungkin dikarenakan pemberian dari ekstrak *H.scabra* sebagai imnostimunan berpengaruh terhadap ikan patin, dikarenakan nilai hematokrit ikan patin setelah diberi imunostimulan mengalami peningkatan akan tetapi masih dalam jumlah yang normal. Alifuddin (1999) mengemukakan bahwa hasil pemeriksaan kadar hematokrit dapat digunakan sebagai patokan kondisi kesehatan ikan. Kadar hematokrit juga dapat digunakan untuk mengetahui pengaruh dari pemakaian imunostimulan sehingga dapat digunakan sebagai petunjuk untuk mengetahui kondisi ikan setelah pemberian imunostimulan.

Hasil analisis data sidik ragam jumlah rata-rata Hematokrit ikan patin sesudah diinfeksi menggunakan analisis keragaman satu arah didapat sangat berbeda nyata antar perlakuan dalam taraf 5% F_{hit} : 22.128 dan nilai Sig. $0,000 < 0,01$ (Lampiran 17). Data sidik ragam jumlah rata-rata Hematokrit ikan patin sesudah diinfeksi dapat diamati pada Tabel 27

Tabel 27. Sidik Ragam Jumlah Rata-Rata Hematokrit Ikan patin Sesudah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	35.758	3	35.758	22.128	.000
Acak	4.309	8	4.309		
Total	40.067	11			

Keterangan: Sig. $< 0,05$ berbeda nyata, sig. $< 0,01$ berbeda sangat nyata

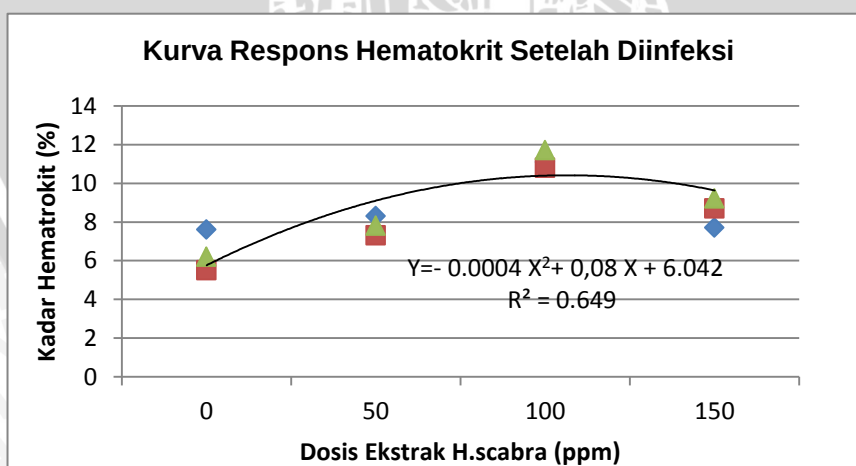
Hasil analisa sidik ragam tersebut perlu dilakukan LSD atau BNT pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%) untuk mengetahui perbedaan dari setiap perlakuan. Data uji BNT jumlah rata-rata Hematokrit ikan patin sesudah diinfeksi dapat dilihat pada table 28.

Tabel 28. Uji BNT Jumlah Rata-Rata Hematokrit Ikan Patin Sesudah Diinfeksi Bakteri *A. Hydrophila*

Rata - Rata Perlakuan	K=6.4	A=7.8	C=8.5	B=11.2	Notasi
K=6.4	-	-	-	-	a
A=7.8	1.4*	-	-	-	ab
C=8.5	2.1**	0.7 ^{ns}	-	-	b
B=11.2	4.7**	3.4**	2.6**	-	c

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata,
 * = Berbeda nyata,
 ns = Tidak Berbeda Nyata

Tabel 28 menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan lain. Berdasarkan tabel BNT (Tabel 28), dapat diketahui bahwa tiap-tiap perlakuan mempunyai notasi yang berbeda. Selanjutnya, dilakukan uji polynomial orthogonal, yang hasilnya regresi linier, kuadratik dan kubik sama-sama berbeda sangat nyata, maka perlu dihitung R^2 masing-masing regresi tersebut. Dari hasil perhitungan, ternyata R^2 kuadratik lebih tinggi dibandingkan R^2 linier. (hasil perhitungan selengkapnya disajikan dalam Lampiran 17). Sehingga, regresi kuadratik lebih sesuai digunakan untuk kurva respons Hematokrit (Gambar 24). Berikut ini adalah gambar kurva respons Hematokrit sesudah infeksi.

**Gambar 24.** Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar *H.scabra* terhadap kadar Hematokrit ikan Patin Setelah Diinfeksi Bakteri *A. Hydrophila*

Hasil regresi polynomial orthogonal didapatkan hubungan dosis pemberian imunostimulan dengan tota hematokrit ikan patin sesudah diinfeksi

(Lampiran 17) Sehingga Persamaanya adalah $Y=6.042 + 0,08 X - 0.0004 X^2$. Dari hasil persamaan di dapatkan X maksimum adalah 100 ppm dan Y maksimum adalah 10 %, dengan koefisien determinasi sebesar (R^2) 0.649.

Hasil pengamatan nilai hematokrit dan eritrosit setelah infeksi mengalami penurunan ikan uji hal ini diduga akibat tingkat virulensi bakteri *A. hydrophila*, menyebabkan hemolisis dalam darah dan terjadinya kerusakan jaringan limfomieloid, sehingga organ limpa, timus dan ginjal anterior tidak dapat memproduksi sel-sel darah lebih banyak untuk mengganti darah yang keluar lewat luka dan terhambatnya pembentukan respon imun. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Anderson, 1991) bahwa bakteri *A. hydrophila* mempunyai kemampuan untuk menghemolisis sel darah merah dalam sirkulasi.

Sedangkan menurut Gallagher *et al.*, (1995) menyatakan bahwa nilai hematokrit yang lebih kecil dari 22 % menunjukkan ikan mengalami anemia. Menurunnya kadar hematokrit dapat dijadikan petunjuk untuk mengetahui apakah ikan terkena infeksi sehingga nafsu makan menurun. Sedangkan meningkatnya kadar hematokrit dalam darah menunjukkan bahwa ikan dalam keadaan stress (Wedemeyer dan Yasutake, 1977).

4.3 Kualitas Air

Kualitas air selama masa pemeliharaan berlangsung merupakan salah satu faktor penting yang harus diperhatikan karena kualitas air dapat mempengaruhi kelangsungan hidup ikan. Selama penelitian berlangsung, dilakukan pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Pengukuran kualitas air ini dilakukan setiap hari selama pengamatan. Pengukuran dilakukan dua kali dalam satu hari. Fungsi pengukuran kualitas air ini adalah untuk menjaga agar kondisi perairan tetap dalam keadaan normal. Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 29 dan Lampiran 18.

Tabel 29. Parameter Kualitas Air pada Media Pemeliharaan Selama Penelitian

No.	Parameter Kualitas Air	Kisaran Parameter Kualitas Air pada Perlakuan	Mahyudin (2010)
1.	Suhu	25 – 28 ⁰ C	25 – 30 ⁰ C
2.	pH	6,88 – 8,16	6,5 – 8,5
3.	Oksigen Terlarut	4,49 – 7 ppm	3 – 7 ppm

Berdasarkan Tabel 29 diperoleh hasil bahwa air sebagai media pemeliharaan dan media hidup ikan uji selama perlakuan masih memenuhi syarat sehingga tidak berpengaruh terhadap penurunan kondisi fisiologis ikan uji. Menurut Partosuwiryo dan Warseno (2011), keberhasilan dalam budidaya ikan salah satunya yaitu dipengaruhi oleh kualitas air. Pada lokasi harus terdapat sumber air yang memenuhi syarat, baik kualitas maupun kuantitas (debit) air sepanjang tahun.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian pengaruh ekstrak kasar *Holothuria scabra* dengan dosis yang berbeda terhadap eritrosit, diferensial leukosit dan hematocrit ikan patin (*Pangasius sp.*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

- Pemberian immunostimulan ekstrak teripang pasir (*H. scabra*) dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh sangat nyata dengan nilai signifikan < 0.01 terhadap hematologi ikan patin (*Pangasius sp.*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*
- Konsentrasi ekstrak teripang pasir (*H. scabra*) yang dapat meningkatkan total eritrosit, deferensial leukosit dan kadar hematocrit pada ikan patin (*Pangasius sp.*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* adalah sebesar 100 ppm.

5.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Perlu mengetahui pemberian dosis immunostimulan ekstrak *H. scabra* yang baik untuk ikan patin (*Pangasius sp.*) pada skala lapang.
- Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai penerapan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk memperoleh ekstrak glikosida triterpen murni dari teripang pasir (*H. scabra*).

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., A.H. Licthman dan S. Pillai. 2010. Cellular and Molecular Immunology. six Edition. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 6,7, 11, 12, 28, 29, 30, 37, 38, p.
- Abdullah, Y. 2008. *Efektivitas Ekstrak Daun Paci-Paci Leucas Lavandulaefolia Untuk Pencegahan Dan Pengobatan Infeksi Penyakit mas Motile Aeromonad Septicaemia ditinjau Dari patologi Makro Dan Hematologi ikan Lele Dumbo Clarias sp.* Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Affandi R, Tang U.M.2002.Fisiologi Hewan Air.Riau.Uni Press
- Afrianto, E. dan Liviawaty, 1992. Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. Hal 20.
- Alifuddin M.1999. *Peran Imunostimulan (lipopolisakarida, Saccharomyces cerevisiae & levamisol) pada Gambaran Respon Imunitas Ikan Jambal Siam Pangasius hypophthalmus Fowler.* [Tesis]. Program Pasca Sarjana,Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Aminin, D., Agafonova, I., Berdyshev, E., Isachenko, E., Avilov, S., and Stonik, V., 2001. Immunomodulatory Properties of Cucumariosides from the Edible Far-Eastern Holothurian Cucumaria japonica. Journal of Medicinal Food, **4**(3):127-135.
- Amri, K. 2007. Budidaya Ikan Patin. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Amirth,Pal,Singh, 2002. A Trestie on Phytochemistry. Emedia Sience Ltd.
- Anderson PS. 1991. Patofisiologi, Konsep Klinik Proses-proses Penyakit. Ed ke-2. ECG, Jakarta. hlm 645.
- Anderson, D.P., A.K., Siwicki dan G.L., Rumsey, 1995. Injection or Immersion Delivery of Selected Immunostimulants to Trout Demonstrate Enhancement of Non Spesific Defense Mechanisms and Protective Immunity. In Desease in Asia Aquaculture II. Fish Health Section . Asian Fisheries Society.P. 413- 426.
- Andayani. S. 2009. Respon non-spesifik ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) terhadap imunostimulan senyawa aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) melalui pakan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang. Hayati Edisi Khusus: 3B (67–73).
- Angka SL, I Mokoginta , H Hamid. 1990. Anatomi dan Histologi beberapa IkanAir Tawar yang Dibudidayakan di Indonesia. Depdikbud, Dikti. IPB.Bogor. 212 hlm.

- Angka, S.L., 2001. Studi Karakteristik dan Patologi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). Makalah Falsafah Sains. <http://www.hayatiipb.com/users//rudyc/indiv2001/srilestari.htm>. Diakses tanggal 15 Januari 2014.
- Ardelli BF, dan Woo PTK. 2006. Immunocompetent cells and their Mediators in Fin Fish. Fish Disease and Disorder. Vol 3. Ed ke 2, UK: CABI Publishing.
- Ardo, L., Z. Jeney, A. Adams, dan G. Jeney, 2010. Immune response of resistant and sensitive common carp families following experimental challenge with *Aeromonas hydrophila*. Fish & Shellfish Immunology xxx. P: 1-6
- Aras, Tri. R. 2013. Uji Toksisitas Ekstrak Teripang *Holothuria Scabra* terhadap *Artemia Salina*. Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Makassar
- Ashry, N. 2007. Pemanfaatan Ekstrak Daun Ketapang *Terminalia Cattapa* Untuk Pencegahan dan Pengobatan Ikan Patin *pangasionodon Hypophthalmus* yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Bastami, K. Darvish, Moradlou, A.H., Zaragabadi, A.M, S.V. Salehi Mir, M.M. Shakiba, 2009. Measurement of Some Haematological Characteristics of the Wild Carp. Springer-Verlag London. Comp Clin Pathol 18:321–323.
- Bijanti, R., 2005. Hematologi Ikan Teknik Pengambilan Darah dan Pemeriksaan Hematologi Ikan. Bagian Ilmu Kedokteran Dasar Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Boyd, C.E., 1982. Water Quality Management for Pond Fish Culture in Aquaculture and Fish Science. Elsevier Scientific Publisher. USA. P. 318
- Buchanan, R.E. dan N.E. Gibbon (ed), 1974. Determinative Bacteriology. Eighty edition. Avery Press. Inc. USA. P. 126.
- Capuccino dan Sherman, 1988. Microbiology, A laboratory Manual. Benjamin/Cumming Science Publishing. Menlo Park. California : 477
- Chinabut S, Limsuwan C, dan Kiswatat P. 1991. Histology of The Walking Catfish, *Clarias bathracus*. Canada : IDRC.
- Cholik, F., Ateng, G., Jagatraya., RP., Poernomo dan Jauzi, A., 2005. Akuakultur, Tumpuan Harapan Masa Depan Bangsa. Masyarakat Perikanan Nusantara. Taman Mini Indonesia Indah. Jakarta. 415 Ha
- Christian, C., Volk, C., Creason, R., Jarosh, J., Robinson, J., dan Warnes, C., 2001. Detection of *Aeromonas hydrophila* in a drinking-water distribution system: a field and pilot study. Can. J. Microbiol. 47 (8): 782-786.
- Dellman HD, EM Brown. 1989. Buku Teks Histologi Veteriner I. Hartono (Penerjemah). UI Press, Jakarta

- Dong, P., Chang-Huxue, and Andqi-Zhendu. 2008. Separation of Two Main Triterpene Glycosides from Sea Cucumber *Pearsonothuria graeffeiby* High-Speed Countercurrent Chromatography. Hangzou : China. *Acta Chromatographica* **20** (2008)2, 269–276.
- Dyck, S ., V. Pascal. G, dan Patrick. F. 2010. Qualitative and quantitative saponin contents in five sea cucumber from Indian ocean. *Mar. Drugs*, **8**:173-189
- Endarti. 2009. *Pengaruh pemberian ekstrak jinten hitam (Nigella satifa) sebagai imunostimulan terhadap hematologi ikan lele dumbo (Clarias gariepinus) setelah uji tantang dengan bakteri Aeromonas hydrophila*. Skripsi fakultas perikanan dan ilmu kelautan. Universitas brawijaya. Malang 96 hal
- Farouk, A. El-Aziem, Faizal A. Hamid Grouse dan B.H. Ridzwan. 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumbers with Optimized Secreted Antibacterial Activity. *Am. J. Biochem. Biotech* **3** (2). 60-65.
- Febriansyah, Ahmed R. 2008. *Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Metanol Daun Dan Kulit Batang Rhodamnia cinerea Jack Melalui Pengukuran Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritoneum Mencit Yang Diinduksi Staphylococcus epidermidis Secara In Vitro*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah : Jakarta. Tidak dipublikasikan.
- Fujaya, Y., 2004. Fisiologi ikan. Dasar pengembangan Teknologi Perikanan. Rineka Cipta. Jakarta. Hal 36..
- Galindo-Villegas, J., dan H. Hosokawa, 2004. Immunostimulants : Toward Temporary Prevention of Diseases in Marine Fish. Kochi University, Faculty of Agriculture. Laboratory of Fish Nutrition B200 Monobe, Nankoku, Kochi 783-8502 JAPAN. 279 - 469 Page.
- Gallaugher PH, H Thorarensen and AP Ferrel. 1995. Hematokrit in Oxygen Transport and Swimming in Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*. *Respiration Physiology*. **102**: 279-292.
- Ghufran, M.H dan Kordi, K. 2005. Budidaya IkanPatin. Biologi. Pembenihan dan Pembesaran.Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta.
- Grandiosa, R. 2010. Efektivitas *Penggunaan Larutan Filtrate Jintan Hitam (Nigella sativa) Dengan Kosentrasi Berbeda Terhadap Pertumbuhan Bakteri Aeromonas hydrophila Secara In Vitro Dan Uji Toksisitasnya Terhadap Ikan Mas (Cyprinus carpio)*. Fakultas perikanan dan ilmu kelautan. Universitas padjajaran. Bandung.
- Harikrishnan, R., M. N. Rani, and C. Balasundaram, 2003. Haematological and biochemical parameters incommon carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture*, **221**: 41-50.
- Harikrishnan, R., C. Balasundaram, M. C. Kim, J. S. Kim, Y. J. Han, M.S. Heo, 2009. Innate Immune Response and Disease Resistance In *Carassius auratus*.By Triherbal Solvent Extract. *Fish & Shellfish Immunology* **27**. P.508-515

- Harikrishnan, R., C. Balasundaram, M.S. Heo, 2010. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology* **28**. P.354-361.
- Holmes, P., Niccolls, L. M. And Sartory, D.P., 1996. The ecology of mesophilic Aeromonas in the aquatic environment. In the Genus *Aeromonas*, edited by B. Austin, M. Altwegg, P. J. Gosling & S. Joseph. New York: Wiley. pp.127-150.
- Hasan, verly. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar *Gracilaria Verrucosa* Dengan Dosis Yang Berbeda Terhadap Hematologi Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Fakultas perikanan dan ilmu kelautan. UniversitasBrawijaya.Malang.
- Hua, H., Yi Y-hua, LI ling, LIU Bao-shu, LA Ming – ping, ZHANG Hong – wei.2009. Antifungal active triterpene glycoside from sea cucumber *holothuria scabra*. *Acta Pharmaceutica Sinica* : **44(6)**:620- 624.
- Irianto, A. 2005. Patologi Ikan Teleostei. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 256 hlm.
- Jun, WJ., Ji HK., Dennis KG., Casiano HC. Jr., Jee EH., Sang PS., and Se CP., 2010. Occurrence of tetracycline-resistant *Aeromonas hydrophila* infection in Korean Cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). Page 849 – 855.
- Jawetz, E., Melnick dan Adelberg., 1982. Review Of Medical Microbiology. Diterjemahkan: Gerard Bonang K. C. V. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 846 hal.
- Kabata, Z., 1985. Parasiter and Disease of Fish Cultured in the Tropic. Taylor. In Francis Inc. 242. Chery St. Phidelpia.318 p
- Kabat, E.A.; Mayer, M.M.. . 1993. Carbohydrate estimation. In Experimental Immunochemistry, 2nd ed.; Thomas, C.C. Publisher: Springfield, IL, USA, Stoskopf, M.K.. Fish Medicine. WB Saunders Company Harcourt Brace Jovanivich Inc. North Carolina. 882 p; p. 527
- Kaswandi MA, Lian HH, Nurzakiah S, Ridzwan BH, Ujang S, Samsudin S, Jasnizat S, Ali AM. 2000. Crystal Saponin from three sea cucumber genus and their potential as antibacterial agents. 9 thScientific Conference Electron Microscopic society. 12-14 November 2000. Kota Bharu, Kelantan. 273-276.
- Kusmita, L., Endang D.W., Erlita V. 2011. Isolasi dan Standarisasi Bahan Alam. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Semarang.
- Kurniawan, Ardiansyah. 2011. Eleksi Bakteri Antagonis Larva Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) Terhadap *Aeromonas hydrophila*. *Akuatik-Jurnal Sumberdaya Perairan* **Vol 5**. No 1.
- Kordi, M. G. H. 2010. Buku Pintar. Pemeliharaan 14 Ikan Air Tawar Ekonomis di Keramba Jaring Apung.Yogyakarta: Lily Publisher.

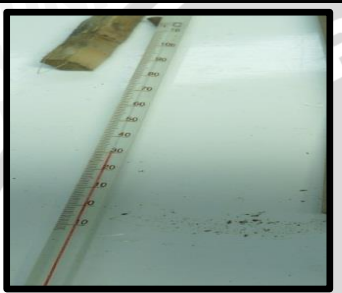
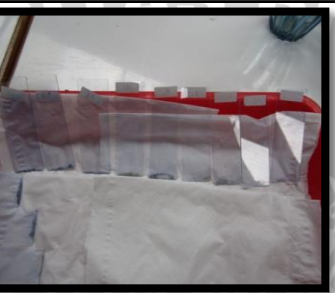
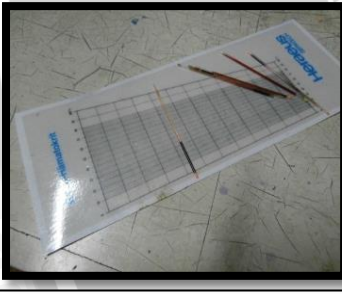
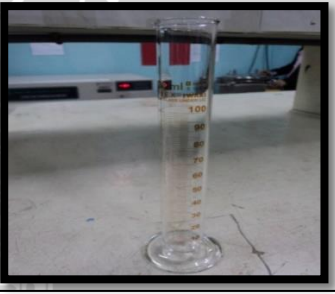
- Lagler KF, JE Bardach, RR Miller, DRM Passino. 1977. Ichthyology. John Wiley and Sons Inc, New York-London. 506 hal.
- Lallier, R dan P. Daegneult. 1984. Antigenic Diinference of Pili From Non Virulent and Fish Pathogenic Strains Of *Aeromonas hydrophila* . Journal Fish Of Diseases. p 509-512.
- Lesmanawati, W. 2006. Potensi Mahkota Dewa *Phaleria macrocarpa* sebagai Antibakteri dan Immunostimulan pada Ikan Patin *Pangasius hypophthalmus* yang Diinfeksi dengan *Aeromonas hydrophila*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Maftuch, 2007. Paparan *Vibrio Alginolyticus* Terhadap Histopatologi Usus Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) dan Peningkatan Jumlah Serta Aktivitas Sel Makrofag. Jurnal Penelitian Perikanan Vol. **10 no.1**. Faperik Unibraw. Hal. 66-70.
- Mahyuddin, K, S.Pi.,MM. 2010. Panduan Lengkap Agribisnis Patin.Penebar Swadaya. Jakarta.
- Maqsood, S., M.H. Samoon, P. Singh, 2009. Immunomodulatory and Growth Promoting Effect of Dietary Levamisole in *Cyprinus carpio* Fingerlings Against the Challenge of *Aeromonas hydrophila* . Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences **9**: 111-120.
- Marthen, DP. 2005. Gambaran Darah Ikan Nila *Oreochromis sp.* yang diberi Pakan Lemak Patin sebagai Sumber Lemak dalam Pakan. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Martoyo, J. N. Aji, dan T. Winanto. 2007. Budidaya Teripang. Penebar Swadaya. Jakarta. 76 hlm.
- Matranga, V.2005. Echinodermata:Progress in Moleculer and Subcellular Biology : Jerman: Springer.Moyle PB, Cech JJ. 1988. Fish an Introduction to Ichthyology Second Edition. Prentice Hall: New Jersey.
- Mones, R. A. 2008. Gambaran Darah pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn) Strain Majalaya yang Berasal dari Daerah Ciampea, Bogor. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Tidak dipublikasikan. 35 hlm.
- Moyle, P.B dan Cech JJ. 2004. Fishes. An Introduction to Ichthyology. 5th ed. USA: Prentice Hall, Inc.
- Mulia, D.S dan Arif H. 2003 Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Dalam Menanggulangi Ikan Patin Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* .Jurnal Universitas Muhammadiyah Purwokerto
- Nabib dan F.H. Pasaribu. 1989. Patologi dan Penyakit Ikan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.Direktorat Jendral Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. 158 hal.
- Partosuwiryo, Sdan Y. Warseno. 2011. Kiat Sukses Budidaya Ikan Mas. Citra Aji Parama. Yogyakarta. 60 hlm.

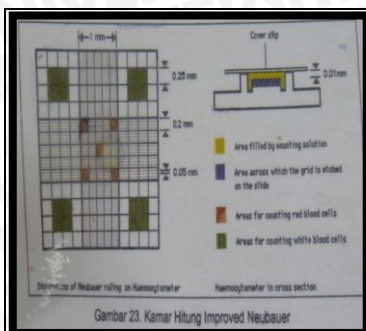
- Rairakhwada, D, A.K. Pal, Z.P. Bhathena, N.P. Sahu, A. Jha, S.C. Mukherjee, 2007. Dietary microbial levan enhances cellular non-specific immunity and survival of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. *Fish & Shellfish Immunology* **22** : 477-486.
- Raa, j., 2000. The Use of Immune-stimulants in Fish and Shellfish Feeds. *Memorias del V. Simposium Internacional de Nutricion Acuicola*. 19 – 22 Noviembre, 2000. Merida, Yucatan, Mexico.
- Roberts R,J.2008. *Fish Pathology*. Ballier Tindall, London.
- Robinson ,T., 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*, ITB : Bandung
- Sakai, M., 1999. Current Research Status of Fis Immunostimulants Aquaculture 172 ; 63-92.
- Sastrosupadi, A. 2000. *Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian Edisi Revisi*. Kasinus. Yogyakarta.
- Selvaraj, V., K. Sampath, V. Sekar, 2006. Adjuvant and immunostimulatory effects of b-glucan administration in combination with lipopolysaccharide enhances survival and some immune parameters in carp challenged with *Aeromonas hydrophila* . *Veterinary Immunology and Immunopathology* **114**. p : 15–24.
- Sendih, S. dan Gunawan, 2006. Keajaiban Teripang Penyembuh Mujarab dari Laut. *Agro Media*
- Shome, R., and B.R. Shome, 1999. A. Typical chronic from of *Aeromonas hydrophila* infection in indian major carp, *Calta calta*, from Andaman. *Curr. Sci.*, 76: 1188-1190
- Stoskopf, M.K. 1993. *Fish Medicine*. WB Saunders Company Harcourt Brace Jovanivich Inc. North Carolina. 882 p
- Suhermanto, A., S. andayani, Maftuch. 2011. Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) Untuk Meningkatkan Leukosit Dan Diferensial Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* . *Jurnal Kelautan*.Volume **4** : No 2.
- Suhermanto, A. 2011. *Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (Holothuria Scabra) Untuk Meningkatkan Respon Imun Non Spesifik Ikan Mas (Cyprinus Carpio) Yang Diinfeksi Bakteri Aeromonas hydrophila* . Thesis Universitas Brawijaya.Hal 18-19
- Sudjadi, 1986. *Metode Pemisahan*. UGM Press. Yogyakarta Pustaka
- Susanto, H. & K. Amri. 2008. *Budidaya Ikan Patin*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Thanh, V, Nguyen H, Dang, Phan V, Kiem, Nguyen Xuan C, Hoang T, dan Chau V.2006. A New Triterpene Glycoside From The Sea Cucumber *Holothuria Scabra*collected In Vietnam. *AJSTD*. Vol. **23** Issue 4 pp : 253-259

- Tian, F., Zhu C., Zhang X-w., Xie X., Xin X-l., 2007. Philippioside E, a New Sulphated Saponin from Sea Cucumber, Blocks the Interaction between Kinase Insert Domain-Containing Receptor (KDR) and $\alpha\beta$ Integrin Via Binding to the Extracellular Domain of KDR (Abstrac). *Molecular Pharmacology* 72:**545-552**.
- Volk, W. dan M. Wheeler, 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Penerbit Erlangga. Jakarta. 396 hal
- Wahjuningrum, D., N. Ashry, dan S. Nuryati. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Daun Ketapang *Terminalia Cattapa* Untuk Pencegahan Dan Pengobatan Ikan Patin *Pangasionodon Hypophthalmus* Yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Akuakultur*. 7: **79-94**.
- Wedemeyer GA and WT Yasutake. 1977. Clinical Methods for the Assessment of the Effect Environment Stress on the Fish Health. Technical Papers of the US Fish and Wildlife Service. US Depart of the Interior Fish and Wildlife Service. **89:1-17p**
- Wibowo, S. Yunizal. 1997. *Teknologi Penanganan dan Pengolahan Teripang (Holothuriadea)*. Jakarta: IPPL Slip.
- Wu, C.C., Liu C.H., Chang Y. P., Hsieh S.L., 2010. Effect of hot water extract of toona sinensis on immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Oreochromis mossambicus*. *Fish and Shellfish Immunology* 29, P: **258-263**
- Yuhana, M., I. Normalina Dan Sukenda .2008. Pemanfaatan Ekstrak Bawang Putih *Allium Sativum* Untuk Pencegahan Dan Pengobatan Pada Ikan Patin *Pangasionodon Hypophthalmus* Yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 7(1): **95-107**.
- Yuliarti, E. 2011. *Tingkat Serangan Ektoparasit Pada Ikan Patin (Pangasius djambal) Pada Beberapa Pembudidaya Ikan Di Kota Makassar*. Fakultas perikanan dan ilmu kelautan. Universitas hasnudin. Makasar.
- Zhang, Y., H.Y. Yi, and H.F. Tang. 2006. Cytotoxic Sulfated Triterpene Glycosides From The Sea Cucumber *Pseudocolochirus violaceus*. *Chemistry & Biodiversity*, hlm **807- 817**.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat-alat dan Bahan-bahan Penelitian

		
Timbangan digital	Akuarium 30x30x30	Seser
		
Thermometer	Objek Glass	Appendorf
		
Tabel Mikrohematokrit	DO Meter	Gelas Ukur
		
Beaker Glass	Rotary vacum evaporator	Toples



Kamar Hitung
Improved Neubeur



Tabung dan
rak tabung reaksi



Haemocytometer
dan pipet thoma



Mikroskop



Sput



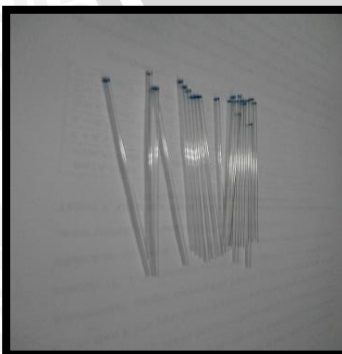
haemofuge darah



Hand tally counter



Aerator dan batu
aerasi



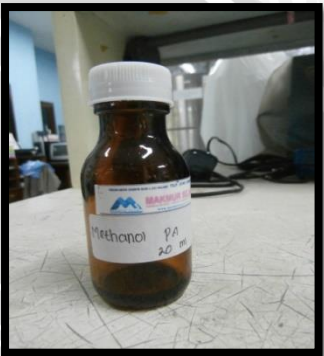
Tabung hematokrit



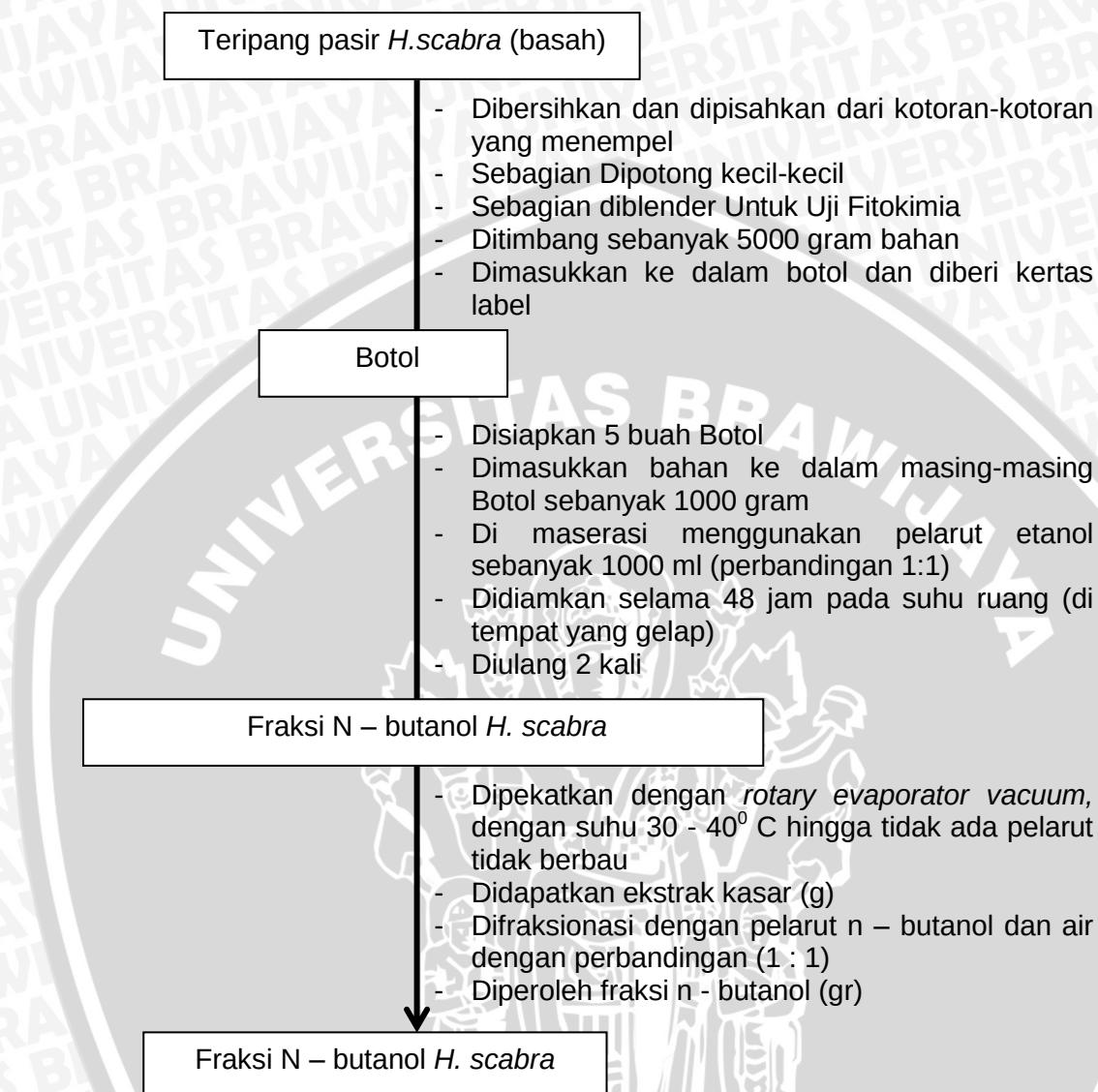
Ekstrak teripang



N – Butanol

		
Alkohol	Gymsa	Hayem
		
Na Citrat	Pakan Ikan	Metanol



Lampiran 2. Bagan Pembuatan Ekstrak Kasar *H. scabra*

Lampiran 3. Pembuatan Media TSA, NB dan Pembiakan Murni Bakteri
Aeromonas hydrophila

➤ **Pembuatan Tryptone Soy Agar (TSA)**

1. 40 gram TSA dilarutkan dengan 1 liter aquadest steril dalam Erlenmeyer.
2. Erlenmeyer ditutup kapas kemudian dididihkan hingga larut sempurna dan jernih. Larutkan TSA kemudian disterilisasi dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.
3. Media TSA yang sudah disterilisasi dituangkan ke dalam cawan petri steril dalam keadaan panas sebanyak 10-20 ml. penuangan dilakukan di dekat api bunsen, selanjutnya setelah penuangan selesai, cawan petri dipanaskan lagi. Media dibiarkan dingin dan memadat.
4. Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari pendingin sehingga dapat bertahan lama. Cawan petri diletakkan terbalik yaitu bagian tutup berada di bawah hal ini untuk menghindari tetesan air kondensasi dari tutup.
5. Media dari lemari pendingin, apabila akan digunakan dimasukkan kembali ke dalam inkubator, sehingga suhu media sama dengan suhu lingkungan dan untuk melihat ada tidaknya kontaminasi pada media.

➤ **Pembuatan Media Cair Nutrient Broth (NB)**

1. 13 gram *Nutrient Broth* dilarutkan dalam 1 liter aquadest steril dalam erlenmeyer. Erlenmeyer ditutup kapas kemudian dididihkan hingga larut sempurna dan jernih.
2. Media cair NB dalam Erlenmeyer disterilisasi dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit. Media cair NB yang akan dipakai, dibiarkan dingin terlebih dahulu agar bakteri yang akan diinokulasi tidak mati.
3. Media NB yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari pendingin sehingga dapat bertahan lama.

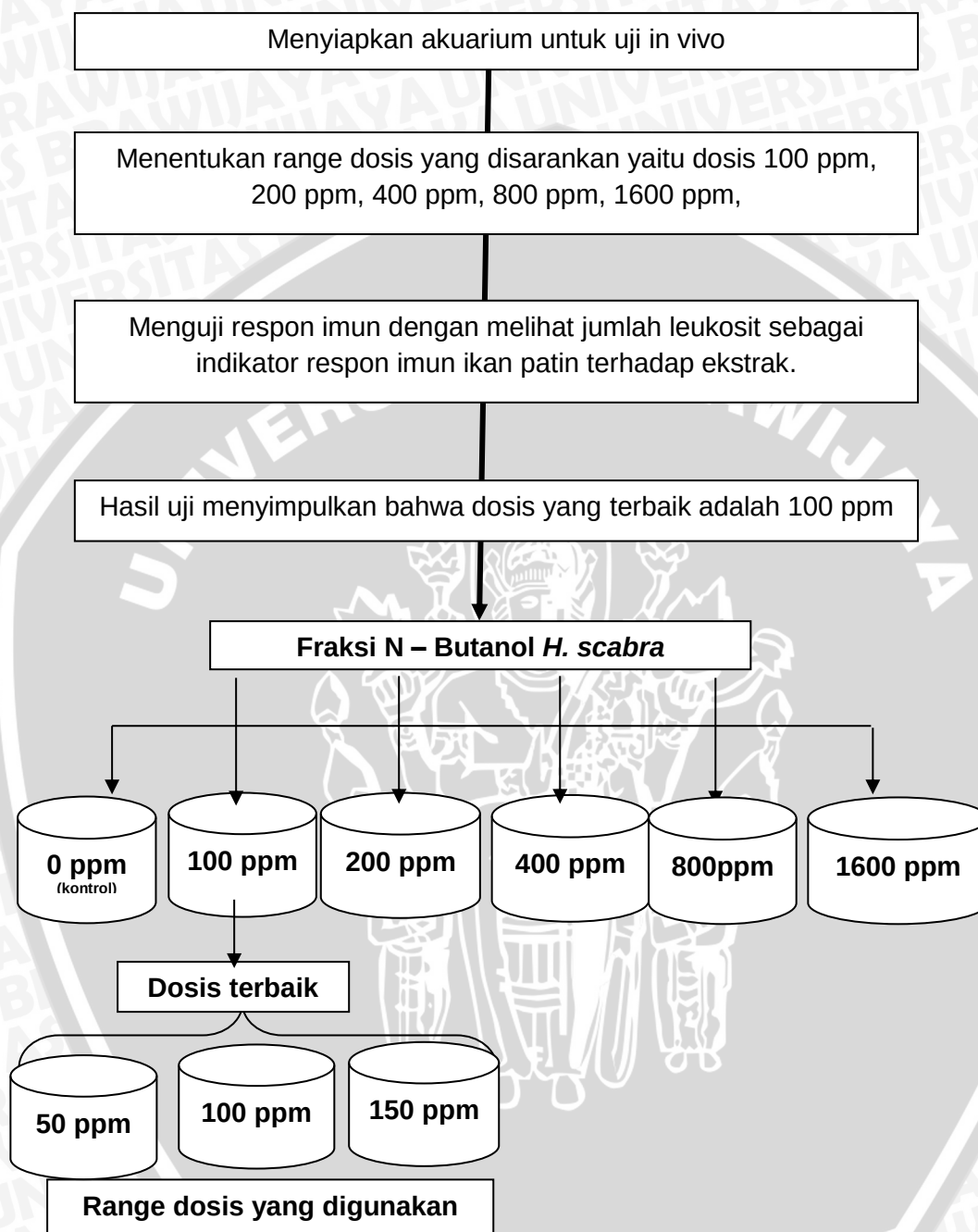
Lanjutan Lampiran 3.

➤ **Pembiakan Murni Bakteri *Aeromonas hydrophila*.**

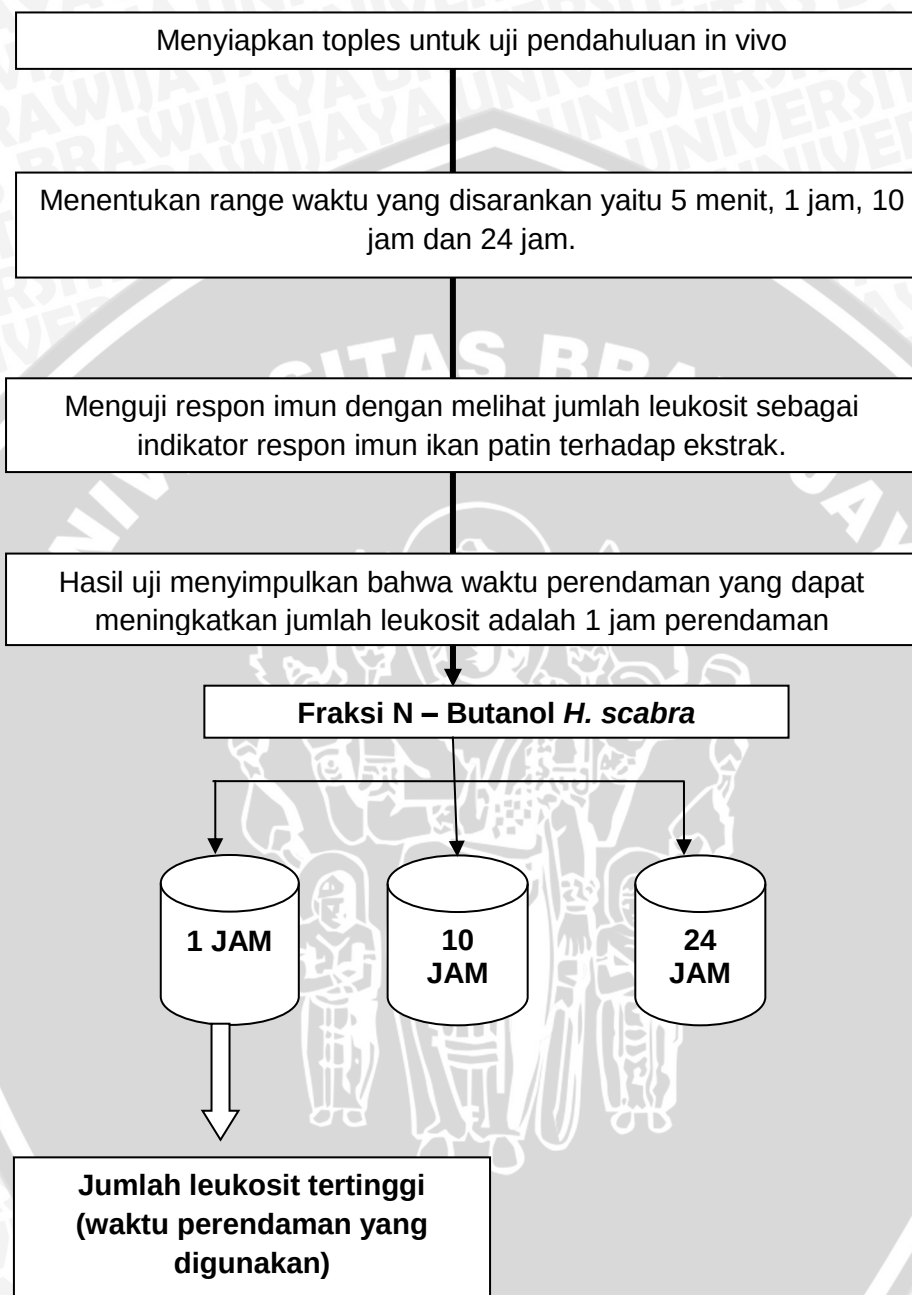
Biakan murni bakteri *Aeromonas hydrophila* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, sebelum digunakan bakteri dibiakkan terlebih dahulu dengan cara sebagai berikut :

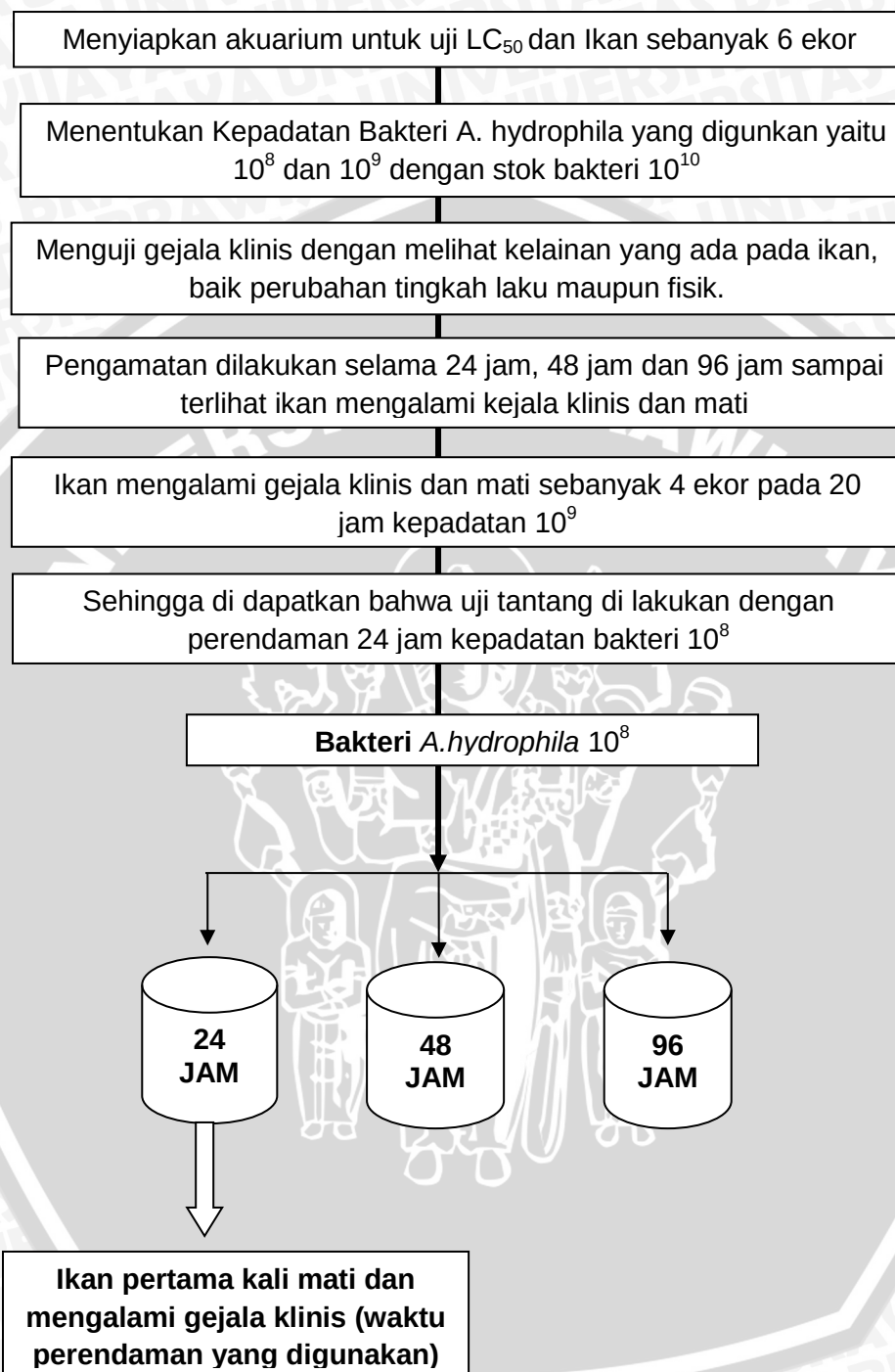
1. Larutan NB disiapkan dalam tabung reaksi sebanyak ± 5 ml.
2. Kemudian cawan petri yang berisi media TSA yang telah steril disiapkan.
3. Jarum ose dipanaskan di atas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum ose disentuhkan kebiakan murni bakteri murni *Aeromonas hydrophila* dan diambil sebanyak 1 ose, kemudian dicelupkan ke NB.
4. Larutan NB dibiarkan selama 24 jam dalam inkubator pada suhu 35°C .
5. Setelah NB menjadi keruh untuk mengetahui kepadatan bakteri maka dapat dilakukan dengan perbandingan Larutan Mac Farlan, jarum ose dicelupkan ke NB dan dioleskan ke permukaan media TSA.
6. Cawan petri ditutup dan sekelilingnya dipanaskan di atas Bunsen. Media yang telah terisi bakteri diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam.

Lampiran 4. Bagan Penentuan Dosis Perendaman Ikan Patin Menggunakan Fraksi N – Butanol *H. scabra* untuk Penelitian In Vivo



Lanjutan Lampiran 4. Bagan Penentuan Lama Waktu Perendaman Ikan Patin Terbaik Menggunakan Fraksi N – Butanol *H. scabra* (In Vivo)



Lampiran 5. Uji LC₅₀ Bakteri *A. hydrophila* Pada Ikan Patin (*Pangasius sp.*)

Lampiran 6. Perhitungan konsentrasi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Uji Pendahuluan :

1. Stok bakteri dengan kepadatan 10^{10} sel/ml. Konsentrasi yang dipakai pada perlakuan adalah 10^9 sel/ml

$$V1.N1 = V2.N2$$

$$V1.10^{10} = 5000 \text{ ml}.10^9$$

$$V1 = \frac{5.10^3 \times 10^9}{10^{10}}$$

$$V1 = \frac{5.10^{12}}{10^9}$$

$V1 = 500$ ml (diambil dari bakteri kepadatan 10^{10} sel/ml ditambahkan aquades 4500 ml sehingga volume menjadi 5000 ml dengan kepadatan 108 sel/ml). LD_{50} adalah 20 jam 15 menit.

2. Stok bakteri dengan kepadatan 10^9 sel/ml Konsentrasi yang dipakai pada perlakuan adalah 10^8 sel/ml

$$V1.N1 = V2.N2$$

$$V1.10^9 = 5000 \text{ ml}.10^8$$

$$V1 = \frac{5.10^3 \times 10^8}{10^9}$$

$$V1 = \frac{5.10^{12}}{10^9}$$

$V1 = 500$ ml (diambil dari bakteri kepadatan 10 sel/ml ditambahkan aquades 4500 ml sehingga volume menjadi 5000 ml dengan kepadatan 10^8 sel/ml). LD_{50} adalah 24 jam 30 menit.

Uji Inti :

Stok bakteri dengan kepadatan 10^9 sel/ml Konsentrasi yang dipakai pada perlakuan adalah 10^8 sel/ml

$$V1.N1 = V2.N2$$

$$V1.10^9 = 5000 \text{ ml}.10^8$$

Lanjutan Lampiran 6

$$V1 = \frac{5 \cdot 10^3 \times 10^8}{10^9}$$

$$V1 = \frac{5 \cdot 10^{12}}{10^9}$$

$$V1 = 5 \cdot 10^3$$

$$V1 = 5000 \text{ ml}$$

$V1 = 500 \text{ ml}$ (diambil dari bakteri kepadatan 10^9 sel/ml ditambahkan aquades

4500 ml sehingga volume menjadi 5 liter dengan kepadatan 10^8 sel/ml).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 7. Hasil Uji Fitokimia Teripang Pasir (*H.scabra*)



Indikator adanya saponin dikarenakan berbusa



Indikator adanya Triterpenoid dikarenakan berwarna coklat kemerahan



Ekstrak *H.scabra* Hasil Uji Fitokimia

Lampiran 8. Data hasil perhitungan jumlah eritrosit Ikan Patin (*Pangasius sp.*) sebelum diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Jumlah Eritrosit (x 10 ⁵)					
Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
A	25.13	27.20	30.57	82.9	27.6
B	32.33	37.53	38.27	108.1	36.0
C	30.17	32.57	27.27	90.0	30.0
K	25.07	21.87	17.90	64.8	21.6
TOTAL				345.9	115.3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Eritrosit sebelum infeksi
N		12
Normal Parameters(a,b)	Mean	28.819
	Std. Deviation	6.0106
Most Extreme Differences	Absolute	.102
	Positive	.102
	Negative	-.100
Kolmogorov-Smirnov Z		.352
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan probabilitas hitung = 1.000 > level of significance ($\alpha=5\%$). Hal ini berarti residual berdistribusi normal. Dengan demikian asumsi normalitas terpenuhi

Perlakuan

Eritrosit sebelum infeksi

Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.0	3	21.600	3.6074	2.0827	12.639	30.561
50.0	3	27.632	2.7440	1.5842	20.816	34.449
100.0	3	36.043	3.2340	1.8671	28.010	44.077
150.0	3	30.001	2.6522	1.5313	23.413	36.590
Total	12	28.819	6.0106	1.7351	25.000	32.638

ANOVA

Eritrositsebeluminfeksi

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	321.332	3	107.111	11.264	.003
Acak	76.072	8	9.509		
Total	397.404	11			

Nilai Sig < α = 0.05 berarti data beda nyata

Post Hoc Tests

Beberapa Perbandingan

Dependent Variable: Eritrositsebeluminfeksi
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata – Rata Perlakuan(I-J)	Std. Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.0	50.0	-6.0322(*)	2.5178	.043	-11.838	-.226
	100.0	-14.4433(*)	2.5178	.000	-20.249	-8.637
	150.0	-8.4011(*)	2.5178	.010	-14.207	-2.595
50.0	.0	6.0322(*)	2.5178	.043	.226	11.838
	100.0	-8.4111(*)	2.5178	.010	-14.217	-2.605
	150.0	-2.3689	2.5178	.374	-8.175	3.437
100.0	.0	14.4433(*)	2.5178	.000	8.637	20.249
	50.0	8.4111(*)	2.5178	.010	2.605	14.217
	150.0	6.0422(*)	2.5178	.043	.236	11.848
150.0	.0	8.4011(*)	2.5178	.010	2.595	14.207
	50.0	2.3689	2.5178	.374	-3.437	8.175
	100.0	-6.0422(*)	2.5178	.043	-11.848	-.236

Berdasarkan objek yang diamati:

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

* = tidak berbeda nyata

Keterangan:

Jika Sig > 0,05 : tidak berbeda nyata

Sig < 0,05 : berbeda nyata

Sig < 0,01 : sangat berbeda nyata

Eritrosit

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Rata - Rata Perlakuan	K=21.6	A=27.6	C=30.0	B=36.0	notasi
K=21.6	-	-	-	-	a
A=27.6	6.02*	-	-	-	ab
C=30.0	8.39**	2.37 ^{ns}	-	-	b
B=36.0	14.43**	8.41**	6.04*	-	c

ANOVA Polinomial Orthogonal

Eritrosit sebelum infeksi

Sumber keragaman			JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	(Combined)		321.332	3	107.111	11.264	.003
	Linear Term	Contrast	169.490	1	169.490	17.824	.003
		Deviation	151.843	2	75.921	7.984	.012
	Quadratic Term	Contrast	109.344	1	109.344	11.499	.009
		Deviation	42.499	1	42.499	4.469	.067
	Cubic Term	Contrast	42.499	1	42.499	4.469	.067
Acak			76.072	8	9.509		
Total			397.404	11			

Nilai sig pada Linear dan kuadrat sig < 0,05 maka, dicari nilai R² tertinggi

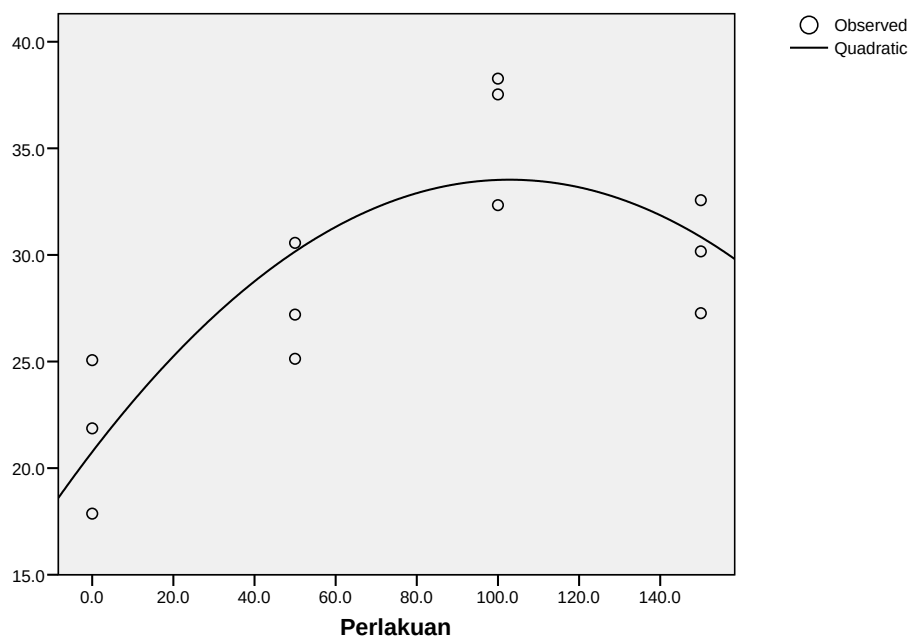
Ringkasan Model dan Estimasi Paerometer

Dependent Variable: Eritrosit sebelum infeksi

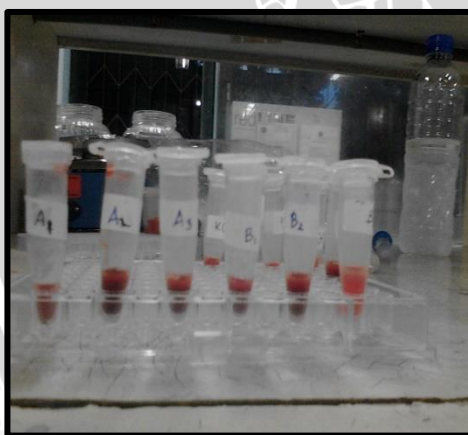
Persamaan	Ringkasan Model					Estimasi Paerometer		
	R ²	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2
Linear	.426	7.437	1	10	.021	23.777	.067	
Quadratic	.702	10.582	2	9	.004	20.758	.248	-.001

R² tertinggi adalah regresi kubik maka, hubungan variabel penelitian adalah kubik. Sehingga Persamaanya adalah $Y = 20,758 + 0,248X - 0,001X^2$. Dari hasil perhitungan didapat X maksimum adalah 116.94 ppm dan Y maksimum adalah 30.989×10^5 sel/ml

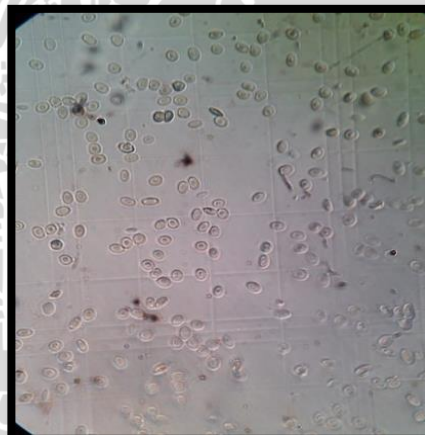
Eritrosit sebelum infeksi



Hasil Pengukuran Jumlah Sel Eritrosit



Sampel Darah Ikan Patin



Sel darah Merah (Eritrosit)

Lampiran 9. Data hasil perhitungan jumlah eritrosit Ikan Patin (*Pangasius sp.*) sesudah diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Jumlah Eritrosit (x 10 ⁵)					
Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
A	16.5	15.2	17.0	48.7	16.2
B	24.1	26.8	26.9	77.8	25.9
C	19.9	18	20.1	58.0	19.3
K	13.4	10.8	12.4	36.6	12.2
TOTAL				221.0	73.7

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Eritrositsesudah infeksi
N		12
Normal Parameters(a,b)	Mean	18.425
	Std. Deviation	5.3527
Most Extreme Differences	Absolute	.127
	Positive	.127
	Negative	-.108
Kolmogorov-Smirnov Z		.441
Asymp. Sig. (2-tailed)		.990

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan probabilitas hitung = 1.000 > level of significance ($\alpha=5\%$). Hal ini berarti residual berdistribusi normal. Dengan demikian asumsi normalitas terpenuhi

Perbandingan

Eritrositsesudahinfeksi						
Perlakuan	N	Rata - Rata	Std. Deviation	Std. Error	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Rendah
.00	3	12.200	1.3115	.7572	8.942	15.458
50.00	3	16.233	.9292	.5364	13.925	18.541
100.00	3	25.933	1.5885	.9171	21.987	29.879
150.00	3	19.333	1.1590	.6692	16.454	22.213
Total	12	18.425	5.3527	1.5452	15.024	21.826

ANOVA

Eritrositsesudahinfeksi

Sumber Keragaman	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	302.263	3	100.754	62.483	.000
Acak	12.900	8	1.612		
Total	315.163	11			

Nilai Sig < α = 0.05 berarti data beda nyata

Beberapa Perbandingan

Dependent Variable: Eritrositsesudahinfeksi
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata – Rata Perbandingan (I-J)	Std. Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	50.00	-4.0333(*)	1.0368	.005	-6.424	-1.642
	100.00	-13.7333(*)	1.0368	.000	-16.124	-11.342
	150.00	-7.1333(*)	1.0368	.000	-9.524	-4.742
50.00	.00	4.0333(*)	1.0368	.005	1.642	6.424
	100.00	-9.7000(*)	1.0368	.000	-12.091	-7.309
	150.00	-3.1000(*)	1.0368	.017	-5.491	-.709
100.00	.00	13.7333(*)	1.0368	.000	11.342	16.124
	50.00	9.7000(*)	1.0368	.000	7.309	12.091
	150.00	6.6000(*)	1.0368	.000	4.209	8.991
150.00	.00	7.1333(*)	1.0368	.000	4.742	9.524
	50.00	3.1000(*)	1.0368	.017	.709	5.491
	100.00	-6.6000(*)	1.0368	.000	-8.991	-4.209

Berdasarkan objek yang diamati:

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

* = tidak berbeda nyata

Keterangan:

Jika Sig > 0,05 : tidak berbeda nyata

Sig < 0,05 : berbeda nyata

Sig < 0,01 : sangat berbeda nyata

Infeksi Eritrosit

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Rata - Rata Perlakuan	K= 12.2	A =16.2	C = 19.3	B = 25.9	Notasi
K = 12.2	-	-	-	-	a
A = 16.2	4.0**	-	-	-	B
C = 19.3	7.1**	3.1*	-	-	C
B = 25.9	13.7**	9.7**	6.6**	-	d

ANOVA Polinomial

Eritrositsesudahinfeksi

Sumber Keragaman			JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	(Combined)		302.263	3	100.754	62.483	.000
	Linear Term	Contrast	145.081	1	145.081	89.973	.000
		Deviation	157.181	2	78.591	48.738	.000
	Quadratic Term	Contrast	84.801	1	84.801	52.590	.000
		Deviation	72.380	1	72.380	44.887	.000
	Cubic Term	Contrast	72.380	1	72.380	44.887	.000
Acak			12.900	8	1.612		
Total			315.163	11			

Nilai sig pada Linear, kuadratik dan kubik Sig < 0,05 maka, dicari nilai R² tertinggi

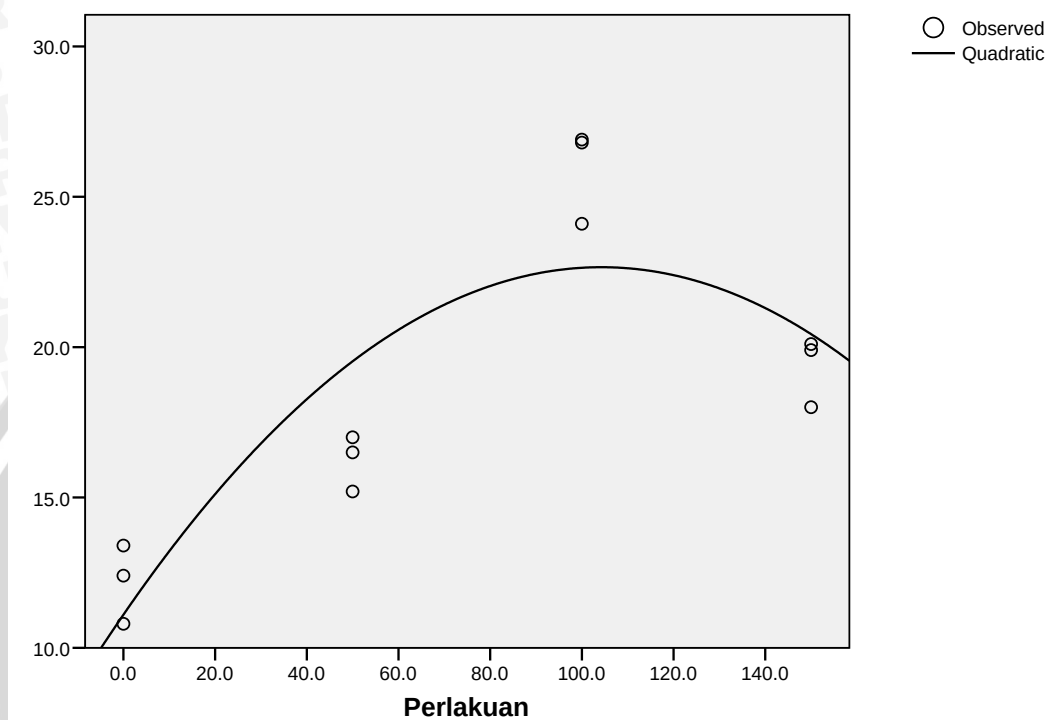
Ringkasan Model dan Estimasi Paerameter

Dependent Variable: InfeksiEritrosit

Persamaan	Ringkasan Model					Estimasi Paerameter		
	R ²	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2
Linear	.460	8.530	1	10	.015	13.760	.062	
Quadratic	.729	12.130	2	9	.003	11.102	.222	-.001

R² tertinggi adalah regresi kuadratik maka, hubungan variabel penelitian adalah Kuadratik. Sehingga Persamaanya adalah $Y=11.102 + 0.222X - 0,001X^2$. Untuk nilai X maksimum pada dosis 100 ppm sedangkan Y maksimum pada nilai eritrosit 23.30×10^5

Eritrositsesudahinfeksi



Lampiran 10. Data hasil perhitungan jumlah Monosit Ikan Patin (*Pangasius sp.*) sebelum diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Jumlah Monosit (%)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
A	6.3	6.7	7.3	20.3	6.8
B	11.3	10.7	12.0	34.0	11.3
C	10.3	9.7	8.7	28.7	9.6
K	5.3	4.0	4.3	13.7	4.6
TOTAL				96.7	32.2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Monositsebeluminfeksi
N		12
Normal Parameters(a,b)	Mean	8.050
	Std. Deviation	2.7777
Most Extreme Differences	Absolute	.140
	Positive	.106
	Negative	-.140
Kolmogorov-Smirnov Z		.486
Asymp. Sig. (2-tailed)		.972

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan probabilitas hitung = 0.972 > level of significance ($\alpha=5\%$). Hal ini berarti residual berdistribusi normal. Dengan demikian asumsi normalitas terpenuhi

Perbandingan

Monositsebeluminfeksi

Perlakuan	N	Rata - Rata	Std. Deviation	Std. Error	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	3	4.533	.6807	.3930	2.842	6.224
50.00	3	6.767	.5033	.2906	5.516	8.017
100.00	3	11.333	.6506	.3756	9.717	12.950
150.00	3	9.567	.8083	.4667	7.559	11.575
Total	12	8.050	2.7777	.8018	6.285	9.815

ANOVA

Monositsebeluminfeksi

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	81.283	3	27.094	60.434	.000
Acak	3.587	8	.448		
Total	84.870	11			

Nilai Sig < α = 0.05 berarti data beda nyata

Post Hoc Tests

Beberapa Perabndingan

Dependent Variable: Monosit
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata – Rata Perbandingan (I-J)	Std. Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	50.00	-2.2333(*)	.5467	.004	-3.494	-.973
	100.00	-6.8000(*)	.5467	.000	-8.061	-5.539
	150.00	-5.0333(*)	.5467	.000	-6.294	-3.773
50.00	.00	2.2333(*)	.5467	.004	.973	3.494
	100.00	-4.5667(*)	.5467	.000	-5.827	-3.306
	150.00	-2.8000(*)	.5467	.001	-4.061	-1.539
100.00	.00	6.8000(*)	.5467	.000	5.539	8.061
	50.00	4.5667(*)	.5467	.000	3.306	5.827
	150.00	1.7667(*)	.5467	.012	.506	3.027
150.00	.00	5.0333(*)	.5467	.000	3.773	6.294
	50.00	2.8000(*)	.5467	.001	1.539	4.061
	100.00	-1.7667(*)	.5467	.012	-3.027	-.506

Berdasarkan objek yang diamati:

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

* = tidak berbeda nyata

Keterangan:

Jika Sig > 0,05 : tidak berbeda nyata

Sig < 0,05 : berbeda nyata

Sig < 0,01 : sangat berbeda nyata

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Monosit					
Rata - Rata Perlakuan	K = 4.6	A = 6.8	C = 9.6	B = 11.3	Notasi
K = 4.6	-	-	-	-	a
A = 6.8	2.2**	-	-	-	b
C = 9.6	5.0**	2.8**	-	-	c
B = 11.3	6.8**	4.6**	1.8*	-	d

Ket: <0,05 Berbeda nyata

ANOVA

Monositsebeluminfeksi

Sumber Keragaman			Jk	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	(Combined)		81.283	3	27.094	60.434	.000
	Linear Term	Contrast	58.017	1	58.017	129.405	.000
		Deviation	23.267	2	11.633	25.948	.000
	Quadratic Term	Contrast	12.000	1	12.000	26.766	.001
		Deviation	11.267	1	11.267	25.130	.001
	Cubic Term	Contrast	11.267	1	11.267	25.130	.001
Acak			3.587	8	.448		
Total			84.870	11			

Nilai sig pada Linear, kuadratik dan kubik Sig < 0,05 maka, dicari nilai R² tertinggi.

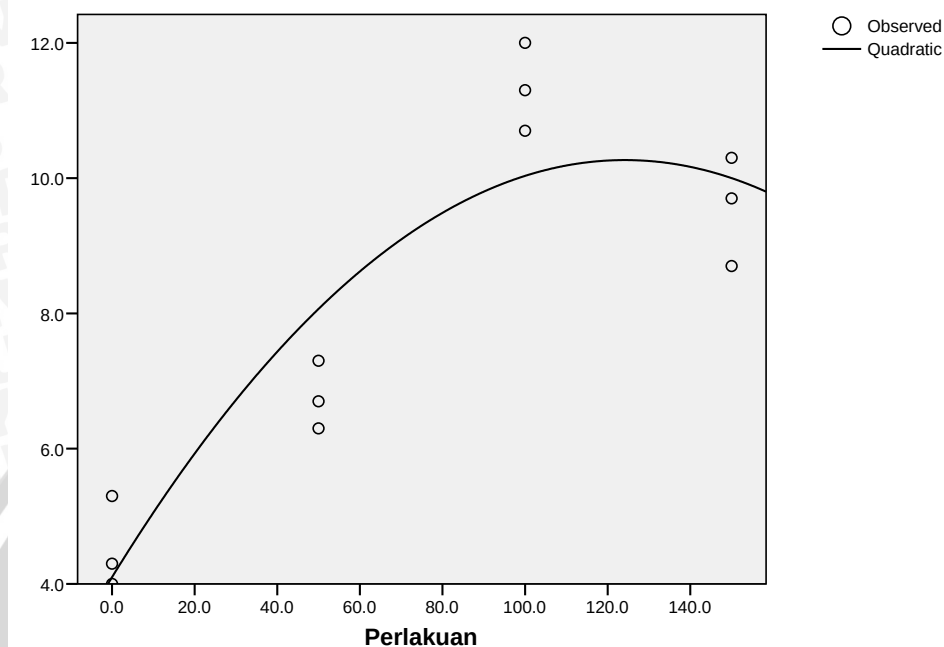
Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Monosit

Persamaan	Model Summary					Parameter Estimates		
	R ²	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2
Linear	.684	21.605	1	10	.001	5.100	.039	
Quadratic	.825	21.212	2	9	.000	4.100	.099	-0.00044

R² tertinggi adalah regresi kuadratik maka, hubungan variabel penelitian adalah kuadratik . Sehingga Persamaanya adalah $Y = 4,100 + 0,099x - .0004x^2$. Nilai X maksimal adalah 122,5 ppm dan Y maksimal adalah 10,2%

Monositsebeluminfeksi



Hasil Pengamatan Diferensial Leukosit Monosit



Sampel Darah Ikan Patin



Apusan Darah Ikan Patin



Hasil Pengamatan Deferensial Leukosit Monosit

Lampiran 11. Data hasil perhitungan jumlah Monosit Ikan Patin (*Pangasius sp.*) sesudah diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Jumlah Monosit (%)					
Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
A	8	7.5	8.5	24	8.0
B	12	11.5	13.5	37	12.3
C	11.5	10.5	10	32	10.7
K	6.5	5.5	5.5	17.5	5.8
TOTAL				110.5	36.8

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Monosit sesudah infeksi
N		12
Normal Parameters(a,b)	Mean	9.208
	Std. Deviation	2.6753
Most Extreme Differences	Absolute	.138
	Positive	.104
	Negative	-.138
Kolmogorov-Smirnov Z		.476
Asymp. Sig. (2-tailed)		.977

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan probabilitas hitung = 0.977 > level of significance ($\alpha=5\%$). Hal ini berarti residual berdistribusi normal. Dengan demikian asumsi normalitas terpenuhi

Perlakuan

Monosit sesudah infeksi

Perlakuan	N	Rata - Rata	Std. Deviation	Std. Error	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	3	5.833	.5774	.3333	4.399	5.5
50.00	3	8.000	.5000	.2887	6.758	7.5
100.00	3	12.333	1.0408	.6009	9.748	11.5
150.00	3	10.667	.7638	.4410	8.769	10.0
Total	12	9.208	2.6753	.7723	7.509	5.5

ANOVA

Monosit sudah infeksi

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	74.229	3	24.743	43.988	.000
Acak	4.500	8	.563		
Total	78.729	11			

Nilai Sig < α = 0.05 berarti data beda nyata.

Post Hoc Tests

Beberapa Perbandingan

Dependent Variable: Infeksi Monosit
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata – Rata Perbandingan (I-J)	Std. Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	50.00	-2.1667(*)	.6124	.008	-3.579	-.755
	100.00	-6.5000(*)	.6124	.000	-7.912	-5.088
	150.00	-4.8333(*)	.6124	.000	-6.245	-3.421
50.00	.00	2.1667(*)	.6124	.008	.755	3.579
	100.00	-4.3333(*)	.6124	.000	-5.745	-2.921
	150.00	-2.6667(*)	.6124	.002	-4.079	-1.255
100.00	.00	6.5000(*)	.6124	.000	5.088	7.912
	50.00	4.3333(*)	.6124	.000	2.921	5.745
	150.00	1.6667(*)	.6124	.026	.255	3.079
150.00	.00	4.8333(*)	.6124	.000	3.421	6.245
	50.00	2.6667(*)	.6124	.002	1.255	4.079
	100.00	-1.6667(*)	.6124	.026	-3.079	-.255

Berdasarkan objek yang diamati:

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

* = tidak berbeda nyata

Keterangan:

Jika Sig > 0,05 : tidak berbeda nyata

Sig < 0,05 : berbeda nyata

Sig < 0,01 : sangat berbeda nyata

Infeksi Monosit

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Rata - Rata Perlakuan	K=5.8	A=8.0	C=10.7	B=12.3	Notasi
K=5.8	-	-	-	-	a
A=8.0	2.2**	-	-	-	b
C=10.7	4.8**	2.7**	-	-	c
B=12.3	6.5**	4.3**	1.7*	-	d

ANOVA Polinomial

Monosit sesudah infeksi

Sumber Keragaman			JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	(Combined)		74.229	3	24.743	43.988	.000
	Linear	Contrast	53.204	1	53.204	94.585	.000
		Deviation	21.025	2	10.513	18.689	.001
	Quadratic	Contrast	11.021	1	11.021	19.593	.002
		Deviation	10.004	1	10.004	17.785	.003
	Cubic	Contrast	10.004	1	10.004	17.785	.003
		Term					
Acak			4.500	8	.563		
Total			78.729	11			

Nilai sig pada Linear, kuadrat dan kubik Sig < 0,05 maka, dicari nilai R² tertinggi.

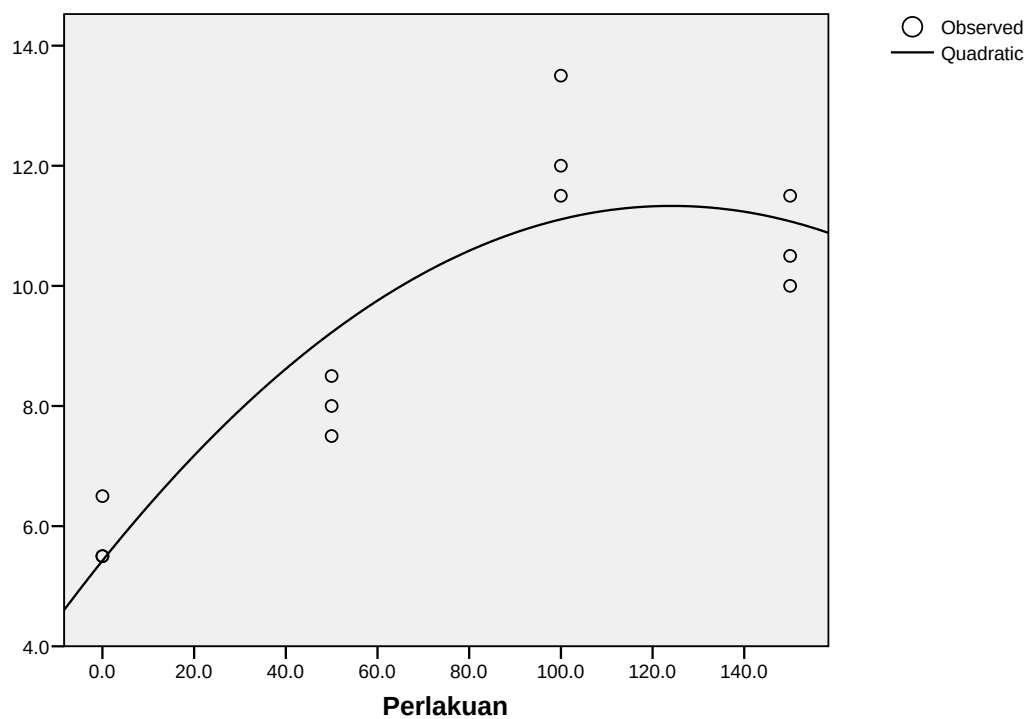
Ringkasan Model dan Estimasi Parameter

Dependent Variable: Infeksi Monosit

Persamaan	Model Summary					Parameter Estimates		
	R ²	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2
Linear	.676	20.844	1	10	.001	6.383	.038	
Quadratic	.816	19.926	2	9	.000	5.425	.095	.00038

R² tertinggi adalah regresi maka, hubungan variabel penelitian adalah kubik. Sehingga Persamaanya adalah $Y = 5,43 + 0,095x - 0,00038x^2$. Dari hasil persamaan didapatkan nilai X maksimum adalah 125 dan Y maksimum adalah 11.4%

Monosit sesudah infeksi



Lampiran 12. Data hasil perhitungan jumlah Limfosit Ikan Patin (*Pangasius sp.*) sebelum diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Jumlah Limfosit (%)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
A	18	17.7	16	51.7	17.2
B	22.3	21.7	22.7	66.7	22.2
C	17.7	19.3	20.3	57.3	19.1
K	14.3	14	12.7	41	13.7
TOTAL				216.7	72.2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Limfosit
N		12
Normal Parameters(a,b)	Mean	18.0556
	Std. Deviation	3.34795
Most Extreme Differences	Absolute	.120
	Positive	.117
	Negative	-.120
Kolmogorov-Smirnov Z		.417
Asymp. Sig. (2-tailed)		.995

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan probabilitas hitung = 0.995 > level of significance ($\alpha=5\%$). Hal ini berarti residual berdistribusi normal. Dengan demikian asumsi normalitas terpenuhi

Perlakuan

Perlakuan	N	Rata - Rata	Std. Deviation	Std. Error	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	3	13.6667	.88192	.50918	11.4759	15.8575
50.00	3	17.2222	1.07152	.61864	14.5604	19.8840
100.00	3	22.2222	.50918	.29397	20.9574	23.4871
150.00	3	19.1111	1.34715	.77778	15.7646	22.4576
Total	12	18.0556	3.34795	.96647	15.9284	20.1827

ANOVA

Limfosit

Sumber Keragaman	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	115.3	3	38.4	38.4	.000
Acak	8.0	8	1.0		
Total	123.3	11			

Nilai Sig < α = 0.05 berarti data beda nyata.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Limfosit

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata – Rata Perbandingan (I-J)	Std. Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	50.00	-3.5556(*)	.81650	.002	-5.4384	-1.6727
	100.00	-8.5556(*)	.81650	.000	-10.4384	-6.6727
	150.00	-5.4444(*)	.81650	.000	-7.3273	-3.5616
50.00	.00	3.5556(*)	.81650	.002	1.6727	5.4384
	100.00	-5.0000(*)	.81650	.000	-6.8828	-3.1172
	150.00	-1.8889(*)	.81650	.049	-3.7717	-.0060
100.00	.00	8.5556(*)	.81650	.000	6.6727	10.4384
	50.00	5.0000(*)	.81650	.000	3.1172	6.8828
	150.00	3.1111(*)	.81650	.005	1.2283	4.9940
150.00	.00	5.4444(*)	.81650	.000	3.5616	7.3273
	50.00	1.8889(*)	.81650	.049	.0060	3.7717
	100.00	-3.1111(*)	.81650	.005	-4.9940	-1.2283

Berdasarkan objek yang diamati:

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

* = tidak berbeda nyata

Keterangan:

Jika Sig > 0,05 : tidak berbeda nyata

Sig < 0,05 : berbeda nyata

Sig < 0,01 : sangat berbeda nyata

Limfosit

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Rata - Rata Perlakuan	K=13.7	A=17.2	C=19.1	B=22.2	Notasi
K=13.7	-	-	-	-	a
A=17.2	3.6**	-	-	-	b
C=19.1	5.4**	1.9*	-	-	b
B=22.2	8.6**	5**	3.1**	-	d

Ket: <0,05 Berbeda nyata

ANOVA Polinomial

Limfosit

	Sumber Keragaman	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	(Combined)	115.296	3	38.432	38.432	.000
	Linear Term	68.267	1	68.267	68.267	.000
	Deviation	47.030	2	23.515	23.515	.000
	Quadratic Term	33.333	1	33.333	33.333	.000
	Deviation	13.696	1	13.696	13.696	.006
	Cubic Term	13.696	1	13.696	13.696	.006
Acak		8.000	8	1.000		
Total		123.296	11			

Nilai sig pada Linear, kuadratik dan kubik Sig < 0,05 maka, dicari nilai R² tertinggi

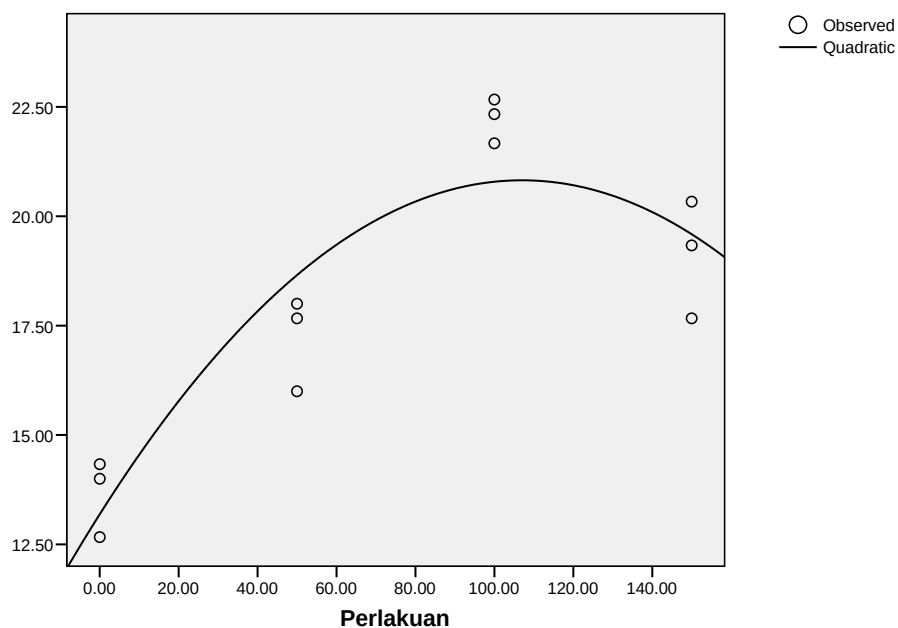
Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Limfosit

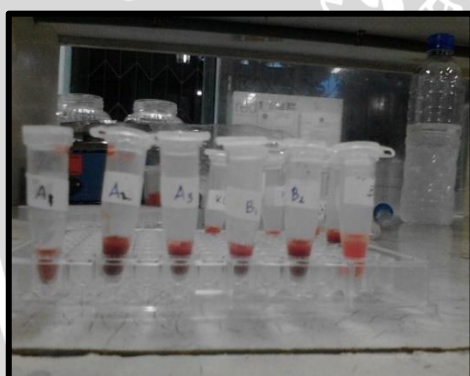
Persamaan	Model Summary					Parameter Estimates		
	R ²	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2
Linear	.554	12.405	1	10	.006	14.856	.043	
Quadratic	.824	21.073	2	9	.000	13.189	.143	-.00067

R² tertinggi adalah regresi kuadratik maka, hubungan variabel penelitian adalah kuadaratik. Sehingga Persamaanya adalah $Y=13,189+0,143x- 0.0007X^2$. Dari hasil persamaan di dapatkan X maksimum adalah 106,6 ppm dan Y maksimum adalah 20,81%

Limfosit



Hasil Pengamatan Deferensial Leukosit Limfosit



Sampel Darah Ikan Patin



Apusan Darah Ikan Patin



Hasil Pengamatan Deferensial Leukosit Limfosit

Lampiran 13. Data hasil perhitungan jumlah Limfosit Ikan Patin (*Pangasius sp.*) sesudah diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
A	17	18	19	54	18
B	22	24.5	22.5	69	23
C	19.5	20.5	21	61	20.3
K	14.5	16	14.5	45	15
TOTAL				229	76.3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Infeksi Limfosit
N		12
Normal Parameters(a,b)	Mean	19.0833
	Std. Deviation	3.19683
Most Extreme Differences	Absolute	.091
	Positive	.091
	Negative	-.088
Kolmogorov-Smirnov Z		.315
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan probabilitas hitung = 1.000 > level of significance ($\alpha=5\%$). Hal ini berarti residual berdistribusi normal. Dengan demikian asumsi normalitas terpenuhi

Perlakuan

Infeksi Limfosit

Perlakuan	N	Rata - Rata	Std. Deviation	Std. Error	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	3	15.0000	.86603	.50000	12.8487	17.1513
50.00	3	18.0000	1.00000	.57735	15.5159	20.4841
100.00	3	23.0000	1.32288	.76376	19.7138	26.2862
150.00	3	20.3333	.76376	.44096	18.4360	22.2306
Total	12	19.0833	3.19683	.92284	17.0522	21.1145

ANOVA

InfeksiLimfosit

Sumber Keragaman	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	104.3	3	34.8	34.0	.000
Acak	8.2	8	1.0		
Total	112.417	11			

Nilai Sig < α = 0.05 berarti data beda nyata.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: InfeksiMonosit
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata – Rata Perbandingan (I-J)	Std. Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	50.00	-3.0000(*)	.82496	.007	-4.9024	-1.0976
	100.00	-8.0000(*)	.82496	.000	-9.9024	-6.0976
	150.00	-5.3333(*)	.82496	.000	-7.2357	-3.4310
50.00	.00	3.0000(*)	.82496	.007	1.0976	4.9024
	100.00	-5.0000(*)	.82496	.000	-6.9024	-3.0976
	150.00	-2.3333(*)	.82496	.022	-4.2357	-.4310
100.00	.00	8.0000(*)	.82496	.000	6.0976	9.9024
	50.00	5.0000(*)	.82496	.000	3.0976	6.9024
	150.00	2.6667(*)	.82496	.012	.7643	4.5690
150.00	.00	5.3333(*)	.82496	.000	3.4310	7.2357
	50.00	2.3333(*)	.82496	.022	.4310	4.2357
	100.00	-2.6667(*)	.82496	.012	-4.5690	-.7643

Berdasarkan objek yang diamati:

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

* = tidak berbeda nyata

Keterangan:

Jika Sig > 0,05 : tidak berbeda nyata

Sig < 0,05 : berbeda nyata

Sig < 0,01 : sangat berbeda nyata

InfeksiLimfosit

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Rata - Rata Perlakuan	K=15.0	A=18.0	C=20.3	B=23.0	Notasi
K=15.0	-	-	-	-	a
A=18.0	3**	-	-	-	b
C=20.3	5,3**	2,3*	-	-	c
B=23.0	8**	5**	2, 7*	-	d

Ket: <0,05 Berbeda nyata

ANOVA

InfeksiLimfosit

	Sumber Keragaman		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	(Combined)		104.250	3	34.750	34.041	.000
	Linear Term	Contrast	66.150	1	66.150	64.800	.000
		Deviation	38.100	2	19.050	18.661	.001
	Quadratic Term	Contrast	24.083	1	24.083	23.592	.001
		Deviation	14.017	1	14.017	13.731	.006
	Cubic Term	Contrast	14.017	1	14.017	13.731	.006
Acak			8.167	8	1.021		
Total			112.417	11			

Nilai sig pada Linear, kuadratik dan kubik Sig < 0,05 maka, dicari nilai R² tertinggi.

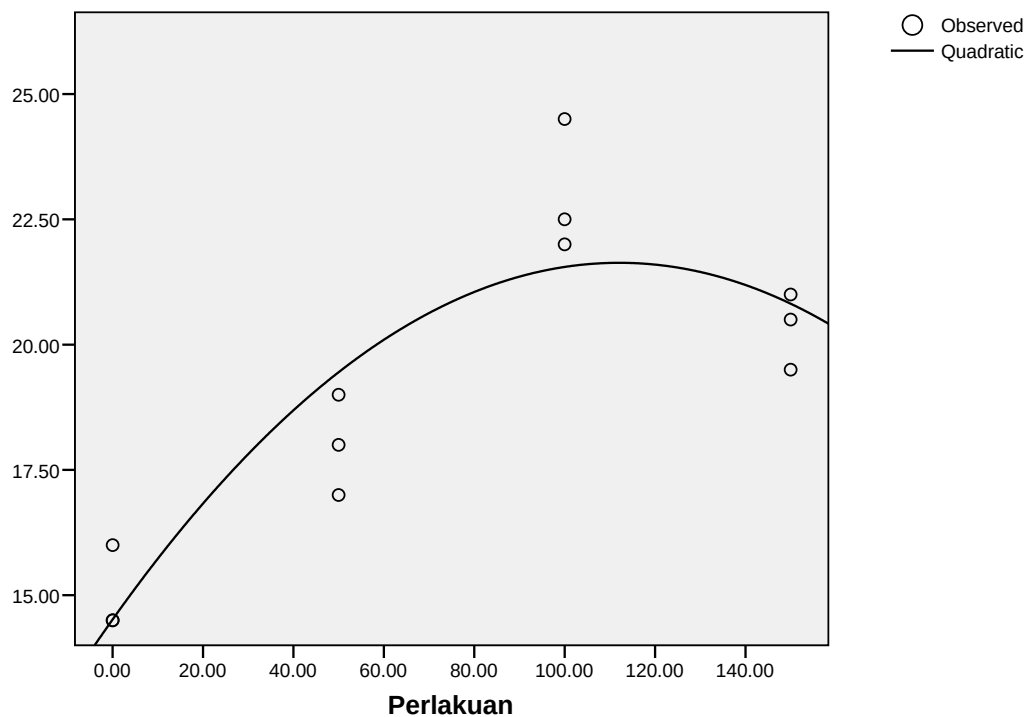
Ringkasan Model dan Estimasi Parameter

Dependent Variable: InfeksiLimfosit

Persamaan	Ringkasan Model					Estimasi Parameter		
	R ²	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2
Linear	.588	14.298	1	10	.004	15.933	.042	
Quadratic	.803	18.304	2	9	.001	14.517	.127	-.00057

R² tertinggi adalah regresi kuadratik maka, hubungan variabel penelitian adalah kuadratik. Sehingga Persamaanya adalah $Y=14,517 + 0,127x - 0,00057x^2$. Dari hasil persamaan di dapatkan X maksimum adalah 111.4 ppm dan Y maksimum adalah 21.6%

InfeksiLimfosit



Lampiran 14. Data hasil perhitungan Neutrofil Ikan Patin (*Pangasius* sp.) sebelum diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Data Pengamatan Neutrofil Ikan Patin (%)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
A	8.7	9.7	9.3	27.7	9.2
B	10.7	11.0	10.7	32.3	10.8
C	9.7	10.3	8.7	28.7	9.6
K	8.0	8.0	7.7	23.7	7.9
TOTAL				112.3	37.4

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Neutrofilsebelum mdiinfeksi
N		12
Normal Parameters(a,b)	Mean	9.367
	Std. Deviation	1.1578
Most Extreme Differences	Absolute	.134
	Positive	.134
	Negative	-.131
Kolmogorov-Smirnov Z		.465
Asymp. Sig. (2-tailed)		.982

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan probabilitas hitung = 0.982 > level of significance ($\alpha=5\%$). Hal ini berarti residual berdistribusi normal. Dengan demikian asumsi normalitas terpenuhi

Perlakuan

Neutrofilsebelummdiinfeksi

Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Rendah	Tinggi
.00	3	7.889	.1925	.1111	7.411	8.367
50.00	3	9.222	.5092	.2940	7.957	10.487
100.00	3	10.778	.1925	.1111	10.300	11.256
150.00	3	9.578	.8235	.4754	7.532	11.623
Total	12	9.367	1.1578	.3342	8.631	10.102

ANOVA

Neutrofilsebelumdiinfeksi

Sumber Keragaman	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	12.721	3	4.240	16.769	.001
Acak	2.023	8	.253		
Total	14.744	11			

Post Hoc Tests

Beberapa Perbandingan

Dependent Variable: Neutrofilsebelumdiinfeksi
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata – Rata Perbandingan (I-J)	Std. Error	Sig.	Nilai Perbandingan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	50.00	-1.3333(*)	.4106	.012	-2.280	-.387
	100.00	-2.8889(*)	.4106	.000	-3.836	-1.942
	150.00	-1.6889(*)	.4106	.003	-2.636	-.742
50.00	.00	1.3333(*)	.4106	.012	.387	2.280
	100.00	-1.5556(*)	.4106	.005	-2.502	-.609
	150.00	-.3556	.4106	.412	-1.302	.591
100.00	.00	2.8889(*)	.4106	.000	1.942	3.836
	50.00	1.5556(*)	.4106	.005	.609	2.502
	150.00	1.2000(*)	.4106	.019	.253	2.147
150.00	.00	1.6889(*)	.4106	.003	.742	2.636
	50.00	.3556	.4106	.412	-.591	1.302
	100.00	-1.2000(*)	.4106	.019	-2.147	-.253

Berdasarkan objek yang diamati:

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

* = tidak berbeda nyata

Keterangan:

Jika Sig > 0,05 : tidak berbeda nyata

Sig < 0,05 : berbeda nyata

Sig < 0,01 : sangat berbeda nyata

Neutrofil

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Rata - Rata Perlakuan	K=7.9	A=9.2	C=9.6	B=10.8	Notasi
K =7.9	-	-	-	-	a
A =9.2	1.3*	-	-	-	b
C =9.6	1.7**	0.3ns	-	-	b
B =10.8	2.9**	1.6**	1.2*	-	c

Ket: <0,05 Berbeda nyata

ANOVA Polinomial

Neutrofilsebelumdiinfeksi

Sumber Keragaman			JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	(Combined)		12.721	3	4.240	16.769	.001
	Linear Term	Contrast	6.578	1	6.578	26.014	.001
		Deviation	6.143	2	3.072	12.147	.004
	Quadratic Term	Contrast	4.813	1	4.813	19.035	.002
		Deviation	1.330	1	1.330	5.260	.051
	Cubic Term	Contrast	1.330	1	1.330	5.260	.051
Acak			2.023	8	.253		
Total			14.744	11			

Nilai sig pada Linear dan kuadratig Sig < 0,05 maka, dicari nilai R² tertinggi.

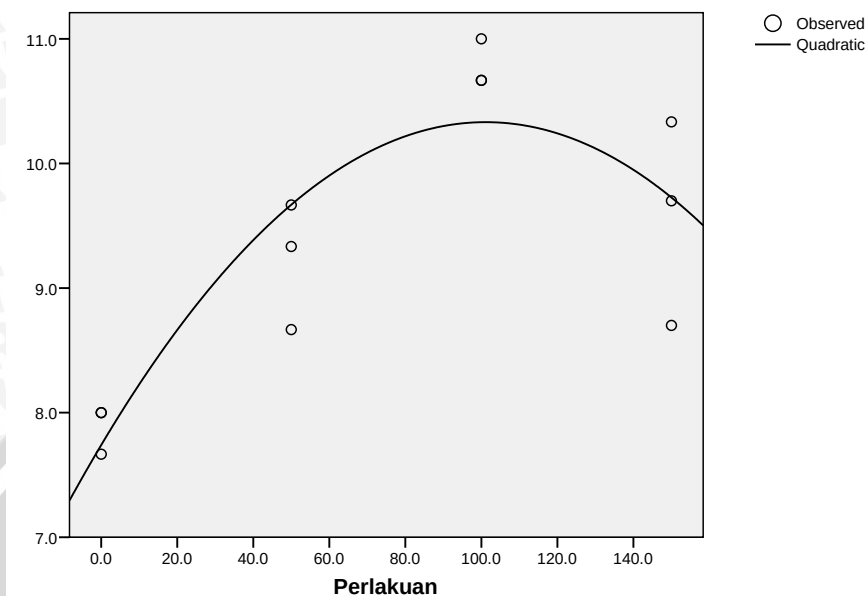
Ringkasan Model dan Estimasi Parameter

Dependent Variable: Neutrofilsebelumdiinfeksi

Persamaan	Ringkasan Model					Estimasi Parameter		
	R ²	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2
Linear	.446	8.055	1	10	.010	8.373	.013	
Quadratic	.773	15.288	2	9	.003	7.740	.051	-0.00025

R² tertinggi adalah regresi kuadratig maka, hubungan variabel penelitian adalah kuadratig. Sehingga Persamaanya adalah $Y = 7,740 + 0,051x - 0,00025x^2$. Dari hasil persamaan di dapatkan X maksimum adalah 102 ppm dan Y maksimum adalah 10,3 %

Neutrofilsebelumdiinfeksi



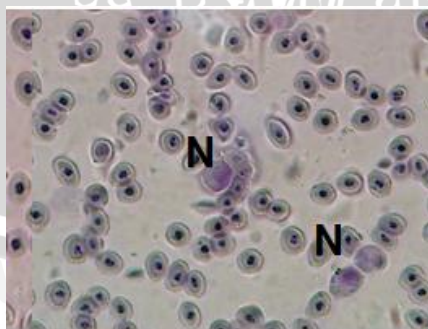
Hasil Pengamatan Diferensial Leukosit Neutrofil



Sampel Darah Ikan Patin



Apusan Darah Ikan Patin



Hasil Pengamatan Deferensial Leukosit Neutrofil

Lampiran 15. Data hasil perhitungan Neutrofil Ikan Patin (*Pangasius* sp.) sesudah diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Jumlah Neutrofil (%)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
A	9.5	10	10	29.5	9.8
B	11.5	12.5	12	36	12.0
C	11	10.5	10.5	32	10.7
K	9.5	8.5	8.5	26.5	8.8
TOTAL				124	41.3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Neutrofil sesudahdiinfeksi
N		12
Normal Parameters(a,b)	Mean	10.333
	Std. Deviation	1.2673
Most Extreme Differences	Absolute	.114
	Positive	.114
	Negative	-.089
Kolmogorov-Smirnov Z		.396
Asymp. Sig. (2-tailed)		.998

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan probabilitas hitung = 0.982 > level of significance ($\alpha=5\%$). Hal ini berarti residual berdistribusi normal. Dengan demikian asumsi normalitas terpenuhi

Perlakuan

Neutrofil sesudahdiinfeksi

Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Nilai Krpercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	3	8.833	.5774	.3333	7.399	10.268
50.00	3	9.833	.2887	.1667	9.116	10.550
100.00	3	12.000	.5000	.2887	10.758	13.242
150.00	3	10.667	.2887	.1667	9.950	11.384
Total	12	10.333	1.2673	.3658	9.528	11.139

ANOVA

Neutrofil sesudah infeksi

Sumber Kragaman	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	16.167	3	5.389	28.74	.000
Acak	1.500	8	.188		
Total	17.667	11			

Nilai Sig < α = 0.05 berarti data beda nyata.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Neutrofil sebelum infeksi
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata – Rata Perbandingan (I-J)	Std. Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	50.00	-1.0000(*)	.3536	.022	-1.815	-.185
	100.00	-3.1667(*)	.3536	.000	-3.982	-2.351
	150.00	-1.8333(*)	.3536	.001	-2.649	-1.018
50.00	.00	1.0000(*)	.3536	.022	.185	1.815
	100.00	-2.1667(*)	.3536	.000	-2.982	-1.351
	150.00	-.8333(*)	.3536	.046	-1.649	-.018
100.00	.00	3.1667(*)	.3536	.000	2.351	3.982
	50.00	2.1667(*)	.3536	.000	1.351	2.982
	150.00	1.3333(*)	.3536	.005	.518	2.149
150.00	.00	1.8333(*)	.3536	.001	1.018	2.649
	50.00	.8333(*)	.3536	.046	.018	1.649
	100.00	-1.3333(*)	.3536	.005	-2.149	-.518

Berdasarkan objek yang diamati:

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

* = tidak berbeda nyata

Keterangan:

Jika Sig > 0,05 : tidak berbeda nyata

Sig < 0,05 : berbeda nyata

Sig < 0,01 : sangat berbeda nyata

Infeksi Neutrofil

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Rata - Rata Perlakuan	K=8.8	A=9.8	C=10.7	B=12.0	Notasi
K=8.8	-	-	-	-	a
A=9.8	1*	-	-	-	b
C=10.7	1.8*	1*	-	-	c
B=12.0	3.2**	1.8*	1.3*	-	d

Ket: <0,05 Berbeda nyata

ANOVA Polinomial

Neutrofil sesudah infeksi

Sumber Keragaman			JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	(Combined)		16.167	3	5.389	28.741	.000
	Linear Term	Contrast	8.817	1	8.817	47.022	.000
		Deviation	7.350	2	3.675	19.600	.001
	Quadratic Term	Contrast	4.083	1	4.083	21.778	.002
		Deviation	3.267	1	3.267	17.422	.003
	Cubic Term	Contrast	3.267	1	3.267	17.422	.003
Acak			1.500	8	.188		
Total			17.667	11			

Nilai sig pada Linear, kuadratik dan kubik Sig < 0,05 maka, dicari nilai R² tertinggi

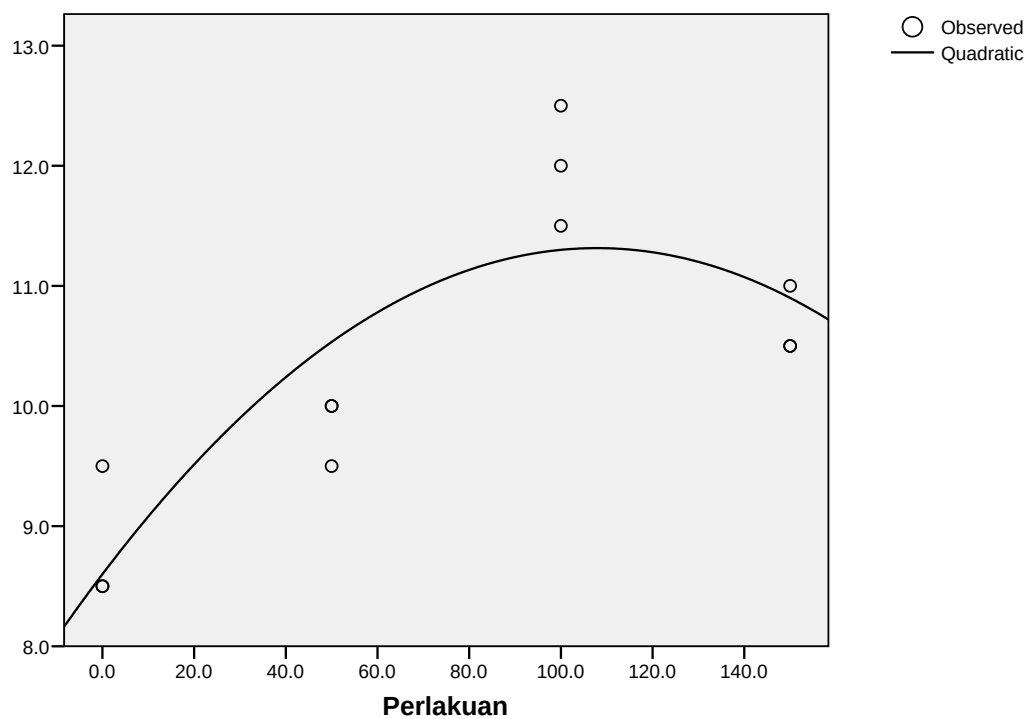
Ringkasan Model dan Estimasi Parameter

Dependent Variable: Neutrofil sesudah infeksi

Persamaan	Ringkasan Model					Estimasi Parameter		
	R ²	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2
Linear	.499	9.962	1	10	.010	9.183	.015	
Quadratic	.730	12.178	2	9	.003	8.600	.050	-0.00023

R² tertinggi adalah regresi kuadratik maka, hubungan variabel penelitian adalah kuadratik. Sehingga Persamaanya adalah $Y = 8,600 + 0,050x - 0,00023x^2$. Dari hasil persamaan di dapatkan X maksimum adalah 108.7ppm dan Y maksimum adalah 11,3 %

Neutrosilsesudahdiinfeksi



Lampiran 16. Data hasil perhitungan Hematokrit Ikan Patin (*Pangasius* sp.) sebelum diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Jumlah Hematokrit (%)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
A	9.9	10.4	7.7	28.0	9.3
B	12.1	11.5	13.0	36.7	12.2
C	10.7	11.8	9.9	32.3	10.8
K	7.0	7.6	7.6	22.2	7.4
TOTAL				119.3	39.8

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hematokrit
N		12
Normal Parameters(a,b)	Mean	9.9406
	Std. Deviation	2.02785
Most Extreme Differences	Absolute	.194
	Positive	.194
	Negative	-.155
Kolmogorov-Smirnov Z		.674
Asymp. Sig. (2-tailed)		.754

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan probabilitas hitung = 0.982 > level of significance ($\alpha=5\%$). Hal ini berarti residual berdistribusi normal. Dengan demikian asumsi normalitas terpenuhi

Perlakuan

Perlakuan	N	Rata - Rata	Std. Deviation	Std. Error	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	3	7.4119	.32736	.18900	6.5987	8.2251
50.00	3	9.3398	1.41020	.81418	5.8366	12.8429
100.00	3	12.2315	.75971	.43862	10.3443	14.1187
150.00	3	10.7794	.93974	.54256	8.4450	13.1138
Total	12	9.9406	2.02785	.58539	8.6522	11.2291

ANOVA

Hematokrit					
Sumber Keragaman	JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	38.122	3	12.707	14.293	.001
Acak	7.112	8	.889		
Total	45.234	11			

Nilai Sig < α = 0.05 berarti data beda nyata.

Post Hoc Tests

Beberapa Perbandingan

Dependent Variable: Hematokrit
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata – Rata Perbandingan (I-J)	Std. Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	50.00	-1.9279(*)	.76986	.037	-3.7032	-.1526
	100.00	-4.8196(*)	.76986	.000	-6.5949	-3.0443
	150.00	-3.3675(*)	.76986	.002	-5.1428	-1.5922
50.00	.00	1.9279(*)	.76986	.037	.1526	3.7032
	100.00	-2.8917(*)	.76986	.006	-4.6671	-1.1164
	150.00	-1.4396	.76986	.098	-3.2149	.3357
100.00	.00	4.8196(*)	.76986	.000	3.0443	6.5949
	50.00	2.8917(*)	.76986	.006	1.1164	4.6671
	150.00	1.4521	.76986	.096	-.3232	3.2274
150.00	.00	3.3675(*)	.76986	.002	1.5922	5.1428
	50.00	1.4396	.76986	.098	-.3357	3.2149
	100.00	-1.4521	.76986	.096	-3.2274	.3232

Berdasarkan objek yang diamati:

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

* = tidak berbeda nyata

Keterangan:

Jika Sig > 0,05 : tidak berbeda nyata

Sig < 0,05 : berbeda nyata

Sig < 0,01 : sangat berbeda nyata

Hematokrit

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Rata - Rata Perlakuan	K=7,4	A=9,3	C=10,8	B12,3	Notasi
K=7,4	-	-	-	-	a
A=9,3	1.9*	-	-	-	b
C=10,8	3.4**	1.4 ^{ns}	-	-	bc
B=12,3	4.8**	2.9**	1.4 ^{ns}	-	c

Ket: <0,05 Berbeda nyata

ANOVA Polinomial

Hematokrit

Sumber Keragaman			JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	(Combined)		38.122	3	12.707	14.293	.001
	Linear Term	Contrast	25.328	1	25.328	28.489	.001
		Deviation	12.794	2	6.397	7.196	.016
	Quadratic Term	Contrast	8.568	1	8.568	9.638	.015
		Deviation	4.226	1	4.226	4.753	.061
	Cubic Term	Contrast	4.226	1	4.226	4.753	.061
Acak			7.112	8	.889		
Total			45.234	11			

Nilai sig pada Linear dan kuadrat Sig < 0,05 maka, dicari nilai R² tertinggi

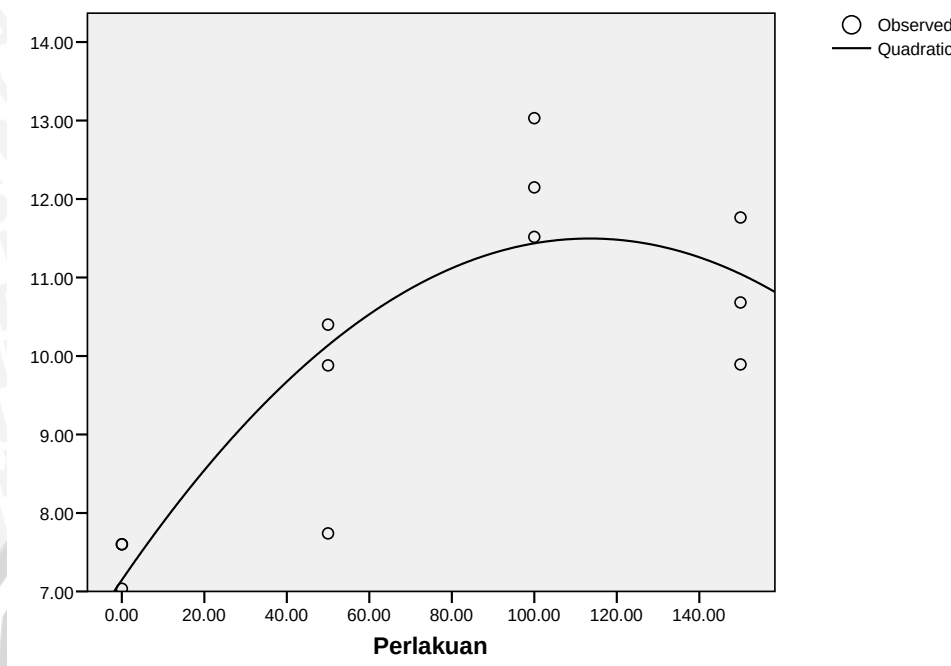
Ringkasan Model dan Estimasi Paeramer

Dependent Variable: Hematokrit

Persaman	Ringkasan Model					Parameter Estimates		
	R ²	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2
Linear	.560	12.723	1	10	.005	7.992	.026	
Quadratic	.749	13.453	2	9	.002	7.147	.077	-0.00034

R² tertinggi adalah regresi kuadrat maka, hubungan variabel penelitian adalah kubik. Sehingga Persamaanya adalah $Y = 7.147 + 0,077X - 0.00034X^2$. Dari hasil persamaan di dapatkan X maksimum adalah 113.23 ppm dan Y maksimum adalah 11.5%

Hematokrit



Lampiran 17. Data hasil perhitungan Hematokrit Ikan Patin (*Pangasius* sp.) sesudah diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*

Jumlah Hematokrit (%)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata - Rata
	1	2	3		
A	8.3	7.3	7.8	23.4	7.8
B	11.1	10.8	11.7	33.6	11.2
C	7.7	8.7	9.2	25.6	8.5
K	7.6	5.5	6.2	19.3	6.4
TOTAL				101.9	34.0

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Infeksi Hematokrit
N		12
Normal Parameters(a,b)	Mean	8.491
	Std. Deviation	1.9085
Most Extreme Differences	Absolute	.141
	Positive	.141
	Negative	-.137
Kolmogorov-Smirnov Z		.490
Asymp. Sig. (2-tailed)		.970

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan probabilitas hitung = 0.982 > level of significance ($\alpha=5\%$). Hal ini berarti residual berdistribusi normal. Dengan demikian asumsi normalitas terpenuhi

Perlakuan

Infeksi Hematokrit						
Perlakuan	N	Rata - Rata	Std. Deviation	Std. Error	95% Nilai Kepercayaan	
					Rendah	Tinggi
.00	3	6.445	1.0753	.6208	3.774	9.117
50.00	3	7.800	.5000	.2887	6.558	9.042
100.00	3	11.185	.4637	.2677	10.033	12.336
150.00	3	8.535	.7303	.4217	6.720	10.349
Total	12	8.491	1.9085	.5509	7.279	9.704

ANOVA

Infeksi Hematokrit

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	35.758	3	35.758	22.128	.000
Acak	4.309	8	4.309		
Total	40.067	11			

Nilai Sig < α = 0.05 berarti data beda nyata.

Post Hoc Tests

Beberapa Perbandingan

Dependent Variable: InfeksiHematokrit

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Rata – Rata Perbandingan (I-J)	Std. Error	Sig.	Nilai Kepercayaan 95%	
					Rendah	Tinggi
.00	50.00	-1.3546	.5993	.054	-2.736	.027
	100.00	-4.7392(*)	.5993	.000	-6.121	-3.357
	150.00	-2.0891(*)	.5993	.008	-3.471	-.707
50.00	.00	1.3546	.5993	.054	-.027	2.736
	100.00	-3.3846(*)	.5993	.000	-4.767	-2.003
	150.00	-.7345	.5993	.255	-2.116	.647
100.00	.00	4.7392(*)	.5993	.000	3.357	6.121
	50.00	3.3846(*)	.5993	.000	2.003	4.767
	150.00	2.6501(*)	.5993	.002	1.268	4.032
150.00	.00	2.0891(*)	.5993	.008	.707	3.471
	50.00	.7345	.5993	.255	-.647	2.116
	100.00	-2.6501(*)	.5993	.002	-4.032	-1.268

Berdasarkan objek yang diamati:

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

* = tidak berbeda nyata

Keterangan:

Jika Sig > 0,05 : tidak berbeda nyata

Sig < 0,05 : berbeda nyata

Sig < 0,01 : sangat berbeda nyata

Infeksi Hematokrit

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Rata - Rata Perlakuan	K=6.4	A=7.8	C=8.5	B=11.2	Notasi
K=6.4	-	-	-	-	a
A=7.8	1.4*	-	-	-	ab
C=8.5	2.1**	0.7 ^{ns}	-	-	b
B=11.2	4.7**	3.4**	2.6**	-	c

Ket: <0,05 Berbeda nyata

ANOVA Polinomial

InfeksiHematokrit

Sumber Keragaman			JK	db	KT	F	Sig.
Perlakuan	(Combined)		35.758	3	11.919	22.128	.000
	Linear Term	Contrast	13.974	1	13.974	25.942	.001
		Deviation	21.784	2	10.892	20.221	.001
	Quadratic Term	Contrast	12.028	1	12.028	22.330	.001
		Deviation	9.756	1	9.756	18.112	.003
	Cubic Term	Contrast	9.756	1	9.756	18.112	.003
Acak			4.309	8	.539		
Total			40.067	11			

Nilai sig pada Linear dan kubik Sig < 0,05 maka, dicari nilai R² tertinggi

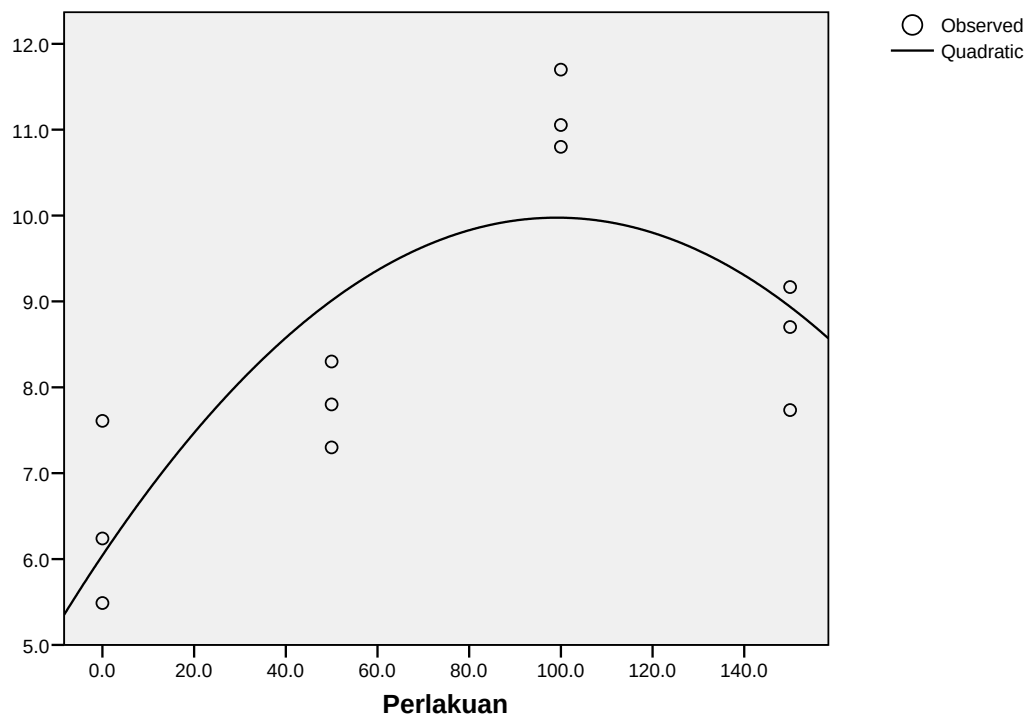
Ringasan Model dan Estimasi Parameter

InfeksiHematokrit

Persamaan	Ringasan Model					Estimasi Parameter		
	R ²	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2
Linear	.349	5.355	1	10	.043	7.043	.019	
Quadratic	.649	8.319	3	8	.009	6.042	.079	-0.0004

R² tertinggi adalah regresi Kubik maka, hubungan variabel penelitian adalah kubik. Sehingga Persamaanya adalah $Y = 6.042 + 0,08 X - 0.0004 X^2$. Dari hasil persamaan di dapatkan X maksimum adalah 100 ppm dan Y maksimum adalah 10 %

InfeksiHematokrit



Lampiran 18. Data Kualitas Air DO (ppm), pH dan Suhu ($^{\circ}\text{C}$) pada Media Pemeliharaan Selama Penelitian

DATA DO (ppm)														
Hari Ke-		A			B			C			K			Kisaran
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
1	Pagi													
	Sore	6.03	6.55	5.67	6.23	6.12	6.35	6.23	6.21	5.37	6.32	6.75	5.43	5.37 - 6.75
2	Pagi	5.32	5.02	5.43	5.6	5.37	5.75	5.43	5.23	5.46	5.34	5.54	5.21	5.02 - 5.75
	Sore	5.73	6.53	6.24	6.45	5.67	5.59	6.2	6.02	6.06	6.32	6.12	5.96	5.59 - 6.45
3	Pagi	5.02	5	5.12	6.4	5.3	5.7	5.42	5.01	5.38	5.21	5.1	5.2	5 - 6.4
	Sore	6.02	6.21	6.12	6.22	6.23	6.11	6.32	5.92	5.78	6.03	6.13	6.13	5.78 - 6.32
4	Pagi	5.04	5.35	5.76	5.34	5.27	5.84	5.63	5.75	5.38	5.57	5.53	5	5 - 5.84
	Sore	6.04	6.14	6.45	6.03	6.01	6.02	6.21	6.22	6.31	5.94	5.87	6.04	5.87 - 6.45
5	Pagi	5.03	5.14	5.53	5.22	5.34	5.15	5.25	5.67	5.64	5.67	5.73	5.47	5.03 - 5.73
	Sore	5.97	6.03	5.97	6.04	6.17	6.14	6.26	5.93	6.08	6.01	5.97	6.01	5.93 - 6.17
6	Pagi	5.52	5.46	5.67	5.37	5.67	5.76	5.68	5.37	5.73	5.16	5.37	5.28	5.16 - 5.76
	Sore	6.03	6.15	6.27	6.33	6.29	6.25	5.98	6.36	6.48	6.37	6.28	6.25	6.03 - 6.48
7	Pagi	5.58	5.37	5.28	5.58	5.37	5.37	5.39	5.42	5.48	5.38	5.39	5.32	5.28 - 5.58
	Sore	6.03	6	6.11	6.14	6.25	6.23	6.15	6.22	6.34	6.35	6.33	6.37	6 - 6.37
8	Pagi	5.45	5.48	5.29	5.39	5.67	5.45	5.48	5.36	5.28	5.48	5.68	5.34	5.28 - 5.68
	Sore	6.01	6.05	6.22	6.35	6.55	6.31	6.33	5.97	6.01	6.17	5.95	6.01	5.95 - 6.55

Lampiran 18. (Lanjutan)

DATA pH

Hari Ke-		A			B			C			K			Kisaran
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
1	Pagi													
	Sore	7.78	7.75	7.73	7.78	7.29	7.39	7.84	7.67	7.69	7.29	7.69	7.38	7.29 – 7.84
2	Pagi	7.28	7.75	7.78	8.21	8.24	7.38	7.84	7.63	7.74	7.46	7.55	7.65	7.28 – 8.24
	Sore	8.03	8.05	8.31	8.35	8.31	7.89	7.83	7.37	8.05	7.29	7.84	7.65	7.29 – 8.35
3	Pagi	7.57	7.65	7.34	7.46	7.28	7.59	7.27	7.37	7.38	7.48	7.53	7.41	7.27 – 7.65
	Sore	7.89	7.95	8.01	8.05	8.14	7.59	7.38	8.06	7.87	8.03	8.05	8.13	7.38 – 8.13
4	Pagi	7.23	7.28	7.35	7.29	7.37	7.52	7.56	7.72	7.17	7.62	7.61	7.58	7.17 – 7.62
	Sore	8.04	8.29	8.29	8.17	7.59	8.03	8.01	8.22	8.23	7.83	7.61	7.62	7.59 – 8.29
5	Pagi	7.12	7.18	6.58	7.52	7.53	7.42	7.43	7.44	7.24	7.52	7.35	7.33	6.58 – 7.53
	Sore	8.01	7.59	7.78	7.89	7.86	7.88	7.98	7.85	7.76	7.63	7.95	8.01	7.59 – 8.01
6	Pagi	7.56	7.55	7.47	7.48	7.56	7.58	7.47	7.55	7.58	7.45	7.57	7.58	7.58 – 7.45
	Sore	7.89	7.95	8.01	8.03	7.95	7.88	7.96	7.84	7.88	7.83	7.92	7.84	7.83 – 8.03
7	Pagi	7.59	7.55	7.84	7.74	7.56	7.58	7.67	7.45	7.67	7.56	7.37	7.36	7.36 – 7.84
	Sore	8.25	8.05	7.95	7.89	8.02	8.05	7.96	7.89	7.95	7.89	7.93	7.95	7.96 – 7.89
8	Pagi	7.79	7.89	7.58	7.35	7.56	7.55	7.56	7.68	7.48	7.49	7.37	7.45	7.35 – 7.89
	Sore	8.01	8.04	8.04	8.04	7.96	8.01	7.98	7.95	7.88	7.92	7.91	7.88	7.88 – 8.04

Lampiran 18. (Lanjutan)

DATA SUHU (°C)

Hari Ke-		A			B			C			K			Kisaran
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
1	Pagi													
	Sore	25.6	26.2	26.1	26	26.4	26.5	26.6	26.4	26.3	26.1	26.5	26.6	26 – 26.6
2	Pagi	26.6	26.1	26	26.1	26.3	26.5	26.6	26.4	26.2	26.3	26.2	25.9	25.9 – 26.6
	Sore	26.1	26.4	25.9	25.7	25.5	25.6	25.7	25.8	25.7	26	25.7	25.6	25.5 – 26.1
3	Pagi	26.4	26.5	26.6	26.5	26.4	26.5	26.3	26.4	26.3	26.4	26	26.1	26 – 26.6
	Sore	25.5	26.1	25.6	25.7	25.8	25.5	25.6	25.8	25.7	25.8	25.7	25.6	25.5 – 26.1
4	Pagi	26.1	26.4	26.1	26.3	26.4	26.2	26.1	26.5	26.4	26.3	25.9	26.1	25.9 – 26.5
	Sore	25.7	25.7	25.8	25.9	25.6	25.5	25.5	25.7	25.8	25.8	25.5	25.7	25.5 – 25.9
5	Pagi	26.6	26.3	25.7	26.2	26.4	26.5	25.9	26.1	26	25.9	25.8	25.7	25.7 – 26.6
	Sore	25.9	25.8	25.9	25.8	25.7	25.8	25.8	25.7	25.6	25.7	25.6	25.8	25.6 – 25.9
6	Pagi	26.4	26.1	26.2	26.3	26.1	25.9	26.1	26.2	26.5	26.4	26.6	26.2	25.9 – 26.6
	Sore	25.8	25.9	25.8	26.1	26.2	25.9	26.1	25.8	25.8	25.8	25.7	25.9	25.7 – 26.2
7	Pagi	25.9	26.3	26.5	26.4	26.5	26.3	26.5	26.3	26.4	26.1	26.3	26.3	25.9 – 26.5
	Sore	25.4	25.9	25.7	26.1	25.9	25.9	25.8	25.9	26.1	25.8	25.7	25.9	25.4 – 26.1
8	Pagi	25.6	25.8	26.1	26.5	26.4	26.3	26.3	26.2	26.5	26.4	26.1	26.2	25.8 – 26.5
	Sore	26.1	25.9	25.7	25.9	25.8	25.9	25.7	25.9	25.8	26.1	25.8	25.7	25.7 – 26.1