

**PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN KULIT MANGGIS
(*Garcinia mangostana* L.) TERHADAP KELULUSHIDUPAN DAN
HISTOPATOLOGI INSANG IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) YANG
DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas fluorescens***

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

Oleh:

IMAMA MUJTAHIDAH

NIM. 0910850052



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2014

**PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN KULIT MANGGIS
(*Garcinia mangostana* L.) TERHADAP KELULUSHIDUPAN DAN
HISTOPATOLOGI INSANG IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) YANG
DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas fluorescens***

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

**sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana
Perikanan pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya Malang**

Oleh:

IMAMA MUJTAHIDAH

NIM. 0910850052



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2014

SKRIPSI
PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN KULIT MANGGIS
(*Garcinia mangostana* L.) TERHADAP KELULUSHIDUPAN DAN
HISTOPATOLOGI INSANG IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) YANG
DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas fluorescens*

Oleh :

IMAMA MUJTAHIDAH
NIM. 0910850052

Telah dipertahankan didepan penguji pada tanggal 2 juni 2014
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No. :
Tanggal :

Menyetujui

Penguji I

Dosen Pembimbing I

(Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS)
NIP. 19611106 198602 2 001
Tanggal :

(Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS)
NIP. 19550213 198403 1 001
Tanggal :

Penguji II

Dosen Pembimbing II

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

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

Ketua Jurusan

(Dr. Ir. Arning Wilujeng E., MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal :

ORISINALITAS USULAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam usulan 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, 24 Maret 2014
Mahasiswa

Imama Muiyahidah.



UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayahnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi ini dengan baik. Dalam pengerjaan laporan skripsi ini, penulis banyak sekali mendapatkan bantuan baik secara moril maupun materiil. Sehingga pada kesempatan kali ini, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada :

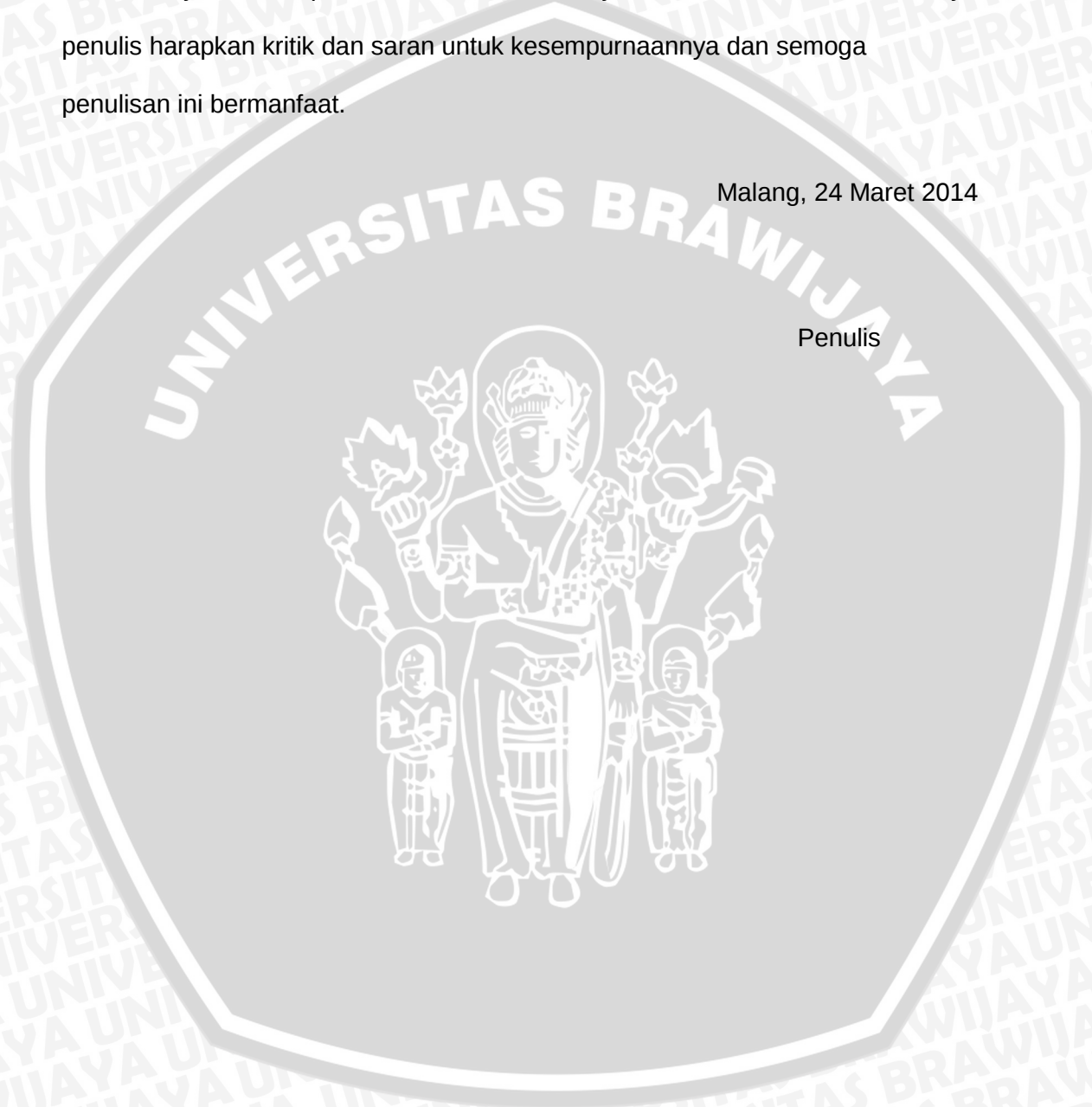
1. Prof.Dr.Ir. Arief Prajitno, MS selaku dosen pembimbing 1 dan Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen pembimbing 2 yang senantiasa sabar membimbing penulis dalam pengerjaan laporan.
2. Kedua Orang Tua tercinta yaitu Bapak Tulus Wahyudi dan Ibu Khoiru Ummatin yang senantiasa mendukung baik secara moril dan materi.
3. Ibu Titin selaku *laboran* Lab. Parasit dan Penyakit Ikan FPIK UB yang senantiasa membimbing dalam pelaksanaan penelitian.
4. Bapak Slamet selaku *laboran* Lab. Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UB yang senantiasa menyediakan media biakan bakteri, serta Bapak Yit selaku *rekamedik* RSSA yang telah membantu dalam pembuatan preparat histopatologi insang.
5. Para petugas Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) UB diantaranya Ibu Yunita dan Ibu Embun yang telah membantu dalam Identifikasi preparat
6. Teman-teman Budidaya Perairan (BP) terutama angkatan 2009 diantaranya Vina, abi, nova, mami lina, maya, indra, rista, bude resti, isma, dede, virgo, singgih, ithi, sonia, wahid, reni, dan masih banyak lagi yang senantiasa menyemangati dan membimbing dalam pelaksanaan penelitian.

7. Terima kasih pula pada mas-mas penjaga toko bahan kimia Makmur sejati yang selalu membantu menyediakan bahan kimia meskipun ku selalu dadakan meminta pengenceran larutan.

Tentunya dalam penulisan ini masih banyak kesalahan, oleh karenanya penulis harapan kritik dan saran untuk kesempurnaannya dan semoga penulisan ini bermanfaat.

Malang, 24 Maret 2014

Penulis



RINGKASAN

IMAMA MUJTAHIDAH. Pengaruh Pemberian Larutan Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana* Linn) Terhadap Kelulushidupan dan Histopatologi Insang Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas fluorescens* (di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS** dan **Ir. HENY SUPRASTYANI, MS**)

Pada budidaya ikan, air dapat menjadi perantara bagi penularan bibit penyakit. Apabila air yang digunakan dalam budidaya telah tercemar atau mempunyai kualitas yang tidak memenuhi persyaratan untuk budidaya lele dumbo, maka ikan budidaya tersebut akan terserang bibit penyakit atau parasit yang hidup pada air tersebut (Anonim, 2003 dalam Alamanda *et.al.*, 2006). Kegiatan budidaya secara intensif pada ikan lele dumbo dengan padat tebar yang tinggi akan menimbulkan penyakit akibat amoniak yang tinggi pula dari sisa pakan serta kotoran ikan. Salah satunya yaitu penyakit bakterial yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas fluorescens* dimana merupakan salah satu jenis bakteri gram negatif yang menyerang komoditas air tawar. Ikan yang terserang bakteri ini menunjukkan gejala klinis berupa munculnya bisul pada bagian sirip, rongga perut dan kulit. Aktivitas dari bakteri ini dapat menyebabkan pendarahan pada bagian yang luka (*haemorrhagic septicemia*) dan juga kematian massal (Kordi, 2004).

Upaya penanggulangan penyakit ikan selama ini bertumpu pada penggunaan antibiotik dan disinfektan dengan alasan antibiotik mudah didapat, praktis dan apabila tepat penggunaannya cukup efektif. Namun penggunaan antibiotik menimbulkan masalah salah satunya pathogen yang resisten dan residu antibiotic di dalam tubuh ikan. Saat ini, telah banyak pemanfaatan tanaman obat tradisional dalam menanggulangi penyakit, salah satunya dengan pemanfaatan buah manggis (*Garcinia mangostana* L), kulit buah manggis mengandung senyawa xanthone yang bersifat antibakteri.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dosis larutan kulit manggis (*G. Mangostana* L.) yang berbeda terhadap kelulushidupan dan histopatologi insang ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) setelah diinfeksi dengan bakteri *P. fluorescens*.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang digunakan yaitu memberikan larutan kulit manggis dengan dosis yang berbeda-beda yaitu perlakuan A (1ppt), B (3ppt), C(5ppt), D(7ppt), dan kontrol positif dan diujikan pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan dilihat histopatologi insang serta kelulushidupan ikan lele dumbo.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian larutan kulit manggis (*G. mangostana* L.) berpengaruh terhadap kelulushidupan ikan lele dumbo (*C. griepinus*) dimana nilai SR tertinggi terdapat pada perlakuan B (3 ppt) sebesar 93,33% diikuti oleh perlakuan C (5 ppt) sebesar 50%, perlakuan A (1 ppt) sebesar 46,67% dan perlakuan D (7 ppt) sebesar 33,33%

Untuk hasil histopatologi menunjukkan pemberian larutan kulit manggis (*G. mangostana* L.) sebagai obat dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh terhadap insang ikan lele dumbo. Hasil uji histopatologi insang menunjukkan mulai pulihnya insang yang mula-mula mengalami pembengkakan. Dari penampang gambar insang terdapat kerusakan lamella sekunder terbanyak yaitu pada dosis 7 ppt. Dimana terjadi nekrosis sehingga terbentuk edema pada

insang. Hal tersebut disebabkan terlalu tinggi dosis yang diberikan sehingga mengakibatkan sel-sel rusak. Karena obat yang diberikan akan dapat menjadi racun terhadap ikan apabila dosis yang diberikan terlalu tinggi. Menurut pendapat Pelczar dan Chan (1988), semakin tinggi dosis antibakteri yang digunakan akan semakin cepat bakteri terbunuh. Namun penggunaan dosis yang terlalu tinggi tidak akan efektif, karena dapat membunuh ikan dan kurang ekonomis dalam pemakaiannya. Selain itu, obat yang diberikan dengan dosis berlebih akan menjadi racun bagi inangnya (ikan).

Dosis maksimal pemberian larutan kulit manggis yaitu 3.56 ppt dengan kelulushidupan ikan lele dumbo sebesar 76,4%. Sedangkan dosis optimum yaitu 1.5 ppt dengan tingkat kelulushidupan sebesar 57 %. Pemberian larutan kulit manggis dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh terhadap penyembuhan insang ikan lele dumbo (*C. gariepinus*).

Hasil penelitian ini dapat disarankan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai histopatologi organ dalam seperti hati dan ginjal agar dapat diketahui pengaruh pemberian larutan kulit buah manggis (*G. mangostana*) terhadap organ dalam dari ikan lele dumbo.



KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul Pengaruh Pemberian Larutan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Terhadap Histopatologi Insang dan Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Di dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan meliputi penentuan dosis terbaik terhadap histopatologi dan kelulushidupan ikan lele dumbo.

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

Malang, 24 Maret 2014

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	iii
ORISINALITAS SKRIPSI	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	v
RINGKASAN	vii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Kegunaan Penelitian	4
1.5 Hipotesis	4
1.6 Waktu dan Tempat	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Lele Dumbo	5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	6
2.1.3 Penyakit	7
2.1.4 KelulusHidupan Ikan Lele Dumbo	8
2.2 Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i>	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>P. fluorescens</i>	9
2.2.2 Habitat dan Pertumbuhan <i>P. fluorescens</i>	10
2.2.3 Media Biakan Bakteri	10
2.2.4 Uji Aktifitas Antimikroba (<i>In-vitro</i>)	11
a. Uji MIC (<i>Minimum Inhiting Concentration</i>)	11

2.3 Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.).....	12
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Manggis	12
2.3.2 Habitat dan Penyebaran	13
2.3.3 Manfaat Buah dan Kulit Manggis	14
2.4 Pengamatan Histopatologi	15
2.5 Kualitas Air	17
2.4.1 Suhu	17
2.4.2 pH.....	18
2.4.3 Oksigen Terlarut	18

3. METODE PENELITIAN19

3.1 Materi Penelitian	19
3.1.1 Alat-alat Penelitian	19
3.1.2 Bahan-Bahan Penelitian	20
3.2 Metode Penelitian.....	21
3.3 Uji Pendahuluan	22
3.4 Rancangan Penelitian	24
3.5 Prosedur Penelitian	26
3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	26
3.5.2 Sterilisasi Tempat Penelitian	27
3.5.3 Pembuatan Larutan Kulit Manggis (<i>G. Mangostana</i> L.).....	27
3.5.4 Peremajaan Bakteri <i>P. fluorescens</i>	29
3.5.5 Persiapan Alat	31
3.5.6 Persiapan Hewan Uji	31
3.5.7 Pelaksanaan Penelitian	32
a. Penginfeksian Bakteri <i>P. fluorescens</i>	32
b. Perlakuan Pemberian Larutan Kulit Manggis	33
c. Pemeliharaan Setelah Pengobatan	35
d. Pembuatan Histopatologi Insang Ikan Lele Dumbo.....	36
3.6 Parameter Uji	37
3.6.1 Parameter Utama	37
a. Kelulushidupan (SR)	37
b. Uji Histopatologi Insang Ikan Lele Dumbo	37
3.6.2 Parameter Penunjang.....	37
a. Kualitas Air (Suhu, Ph, DO)	37

3.7 Analisa Data.....	37
3.8 Rancangan Kegiatan Penelitian	37
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1 Parameter Utama.....	39
4.1.1 Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo.....	39
4.1.2 Uji Histopatologi Insang	42
a. Pembiakan Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i>	42
b. Ekstraksi Kulit Manggis.....	40
c. Uji histopatologi Insang	42
4.2 Parameter Penunjang	47
4.2.1 Kualitas Air (Suhu, pH, DO)	47
5. Kesimpulan dan Saran	50
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN.....	55



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Lele Dumbo (<i>Clarias gariepinus</i>)	6
2. Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i>	9
3. Buah Manggis (<i>G. Mangostana</i> L.)	13
4. TSB Inkubasi	24
5. Denah Penelitian	25
6. Buah Manggis.....	27
7. Kulit Manggis Setelah di Oven.....	28
8. Koloni Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i>	30
9. Ikan Lele Dumbo (<i>C. gariepinus</i>)	32
10. Penginfeksian Ikan Lele Dumbo (<i>C. gariepinus</i>)	33
11. Akuarium Pengobatan.....	35
12. Akuarium Pemeliharaan	36
13. Lamella Sekunder Pada Insang.....	36
14. Grafik Hubungan Dosis Larutan Manggis dengan Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (<i>C. gariepinus</i>)	40
15. Ikan Lele Dumbo (<i>C. gariepinus</i>) yang Mati.....	41
16. Struktur jaringan histopatologi insang pada ikan lele dumbo (ikan sehat)	43
17. Struktur jaringan histopatologi insang pada ikan lele dumbo yang terinfeksi <i>P. fluorescens</i>	44
18. Struktur jaringan histopatologi insang pada ikan lele dumbo yang telah diberi larutan kulit <i>G. mangostana</i> L.	45

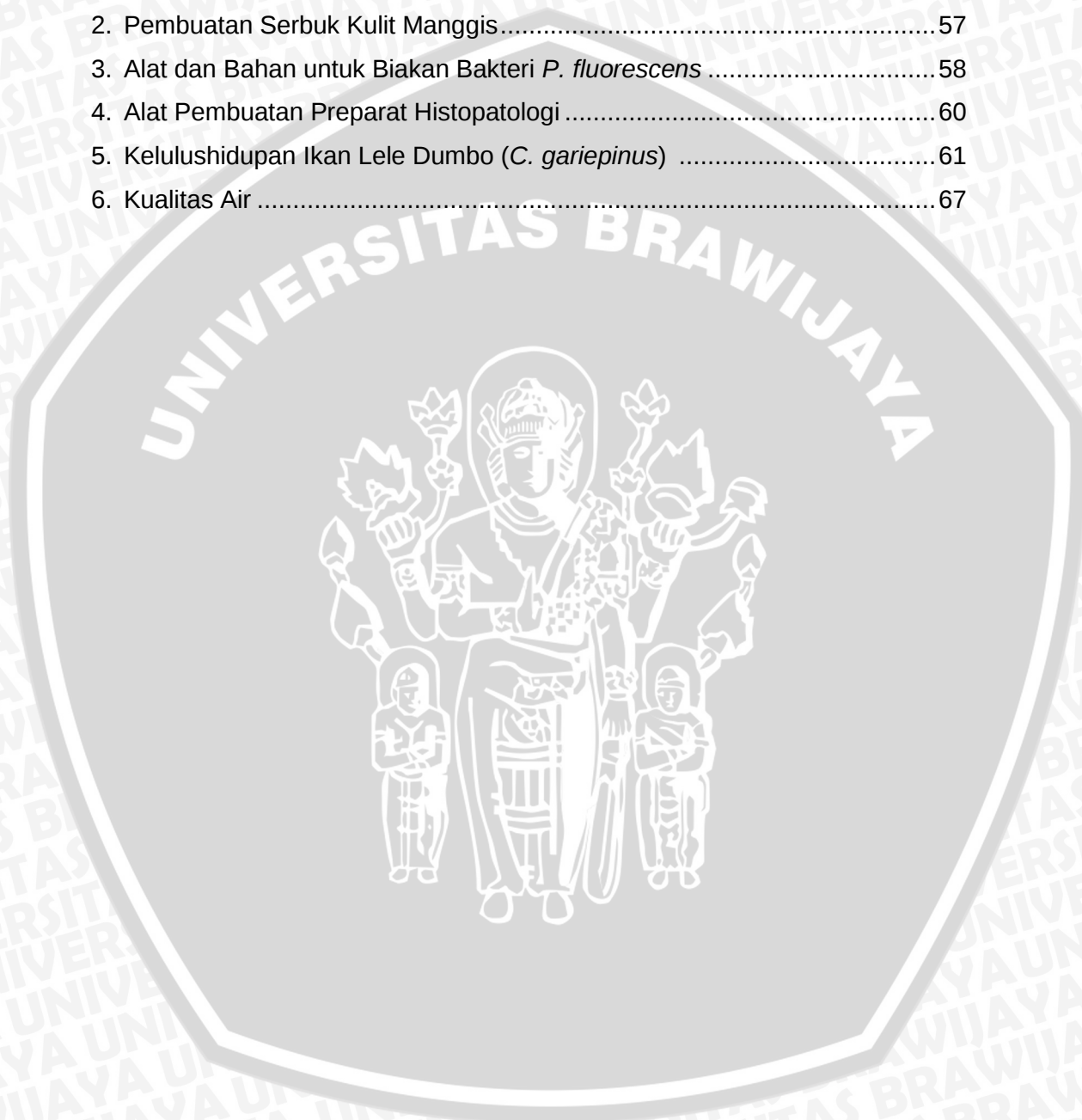
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pengamatan Uji MIC	12
2. Kandungan Gizi Buah Manggis (<i>G. mangostana</i> L.)	14
3. Alat Penelitian.....	19
4. Bahan Penelitian	20
5. Standar Mc. Farland	24
6. Rancangan Perlakuan	25
7. Data Kelulushidupan (SR) Ikan Lele Dumbo (<i>C. gariepinus</i>).....	39
8. Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo(<i>C. gariepinus</i>)	39
9. Uji BNT Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo(<i>C. gariepinus</i>)	40
10. Parameter Kualitas Air pada Media Pemeliharaan Selama Penelitian.....	48



DAFTAR LAMPIRAN

Tabel	Halaman
1. Data Hasil Identifikasi Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i>	55
2. Pembuatan Serbuk Kulit Manggis.....	57
3. Alat dan Bahan untuk Biakan Bakteri <i>P. fluorescens</i>	58
4. Alat Pembuatan Preparat Histopatologi	60
5. Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (<i>C. gariepinus</i>)	61
6. Kualitas Air	67



1.PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebutuhan ikan dari tahun ke tahun mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan jumlah penduduk. Peningkatan tersebut perlu ditopang dengan ketersediaan ikan untuk memenuhi kebutuhan tersebut. Salah satunya adalah lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang perkembangan produksinya secara nasional sangat baik. Hal tersebut dapat dilihat dari ketersediaan ikan lele dumbo yang selama lima tahun terakhir produksinya terus meningkat (Maishela, Suparmono, Rara dan Muhaemin, 2013). Pada tahun 2005 produksi nasional lele dumbo sebesar 69.386 ton, tahun 2006 sebesar 77.332 ton, tahun 2007 sebesar 91.735 ton lalu tahun 2008 meningkat menjadi 114,371 ton dan pada tahun 2009 terus meningkat menjadi 144.755 ton. Tahun 2010, angka sementara yang dipublikasikan produksi lele dumbo dari hasil budidaya sebesar 273.554 ton (Rakhmawati, Rietje dan Nursandi, 2011).

Ikan lele merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang sudah dibudidayakan secara komersial oleh masyarakat Indonesia terutama di Pulau Jawa. Pengembangan usaha budidaya ikan semakin meningkat setelah masuknya jenis ikan lele dumbo ke Indonesia pada tahun 1985. Peningkatan tersebut dapat terjadi karena ikan lele dumbo dapat dibudidayakan pada lahan dan sumber air yang terbatas dengan padat tebar yang tinggi, modal usahanya relatif rendah karena dapat menggunakan sumber daya yang relatif mudah didapatkan, teknologi budidayanya relatif mudah dikuasai masyarakat dan pemasaran benih dan ukuran konsumsinya relatif mudah (Sunarma, 2004).

Pada budidaya ikan, air dapat menjadi perantara bagi penularan bibit penyakit. Apabila air yang digunakan dalam budidaya telah tercemar atau

mempunyai kualitas yang tidak memenuhi persyaratan untuk budidaya lele dumbo, maka ikan budidaya tersebut akan terserang bibit penyakit atau parasit yang hidup pada air tersebut (Anonim, 2003 dalam Alamanda, Handajani dan Budiharjo, 2006). Kegiatan budidaya secara intensif pada ikan lele dumbo dengan padat tebar yang tinggi akan menimbulkan penyakit akibat amoniak yang tinggi dari sisa pakan serta kotoran ikan. Salah satunya penyakit ditimbulkan oleh bakteri *P. fluorescens*, merupakan salah satu jenis bakteri gram negatif yang menyerang komoditas air tawar. Ikan yang terserang bakteri ini menunjukkan gejala klinis berupa munculnya bisul pada bagian sirip, rongga perut dan kulit (Kordi, 2004).

Penanggulangan hama dan penyakit ikan selama ini tertumpu pada penggunaan obat-obatan termasuk antibiotik dan disinfektan. Hal ini dapat dimengerti karena obat-obatan mudah didapat, praktis dan apabila tepat penggunaannya cukup efektif. Sehingga pada saat yang mendesak misalnya ada wabah (*epizootic*), pengobatan sering tidak dapat dihindarkan. Tetapi penggunaan obat-obatan secara terus menerus akan menimbulkan patogen yang resisten (Triyanto dan Asnansetyo, 1996).

Salah satu bahan yang diketahui mempunyai kandungan antibiotik adalah buah manggis dimana menurut pendapat (Poeloengan dan Pratiwi, 2010), manggis (*Garcinia mangostana* Linn) merupakan salah satu buah yang enak, daging buah manggis dapat mengobati penyakit diare, radang amandel, keputihan, disentri dan penyakit akibat virus dan bakteri lainnya. Selain buah manggis, masyarakat juga telah memanfaatkan kulit buah manggis sebagai obat antibakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat Tabunan (1998), kulit buah manggis mempunyai sifat sebagai Anti-aging, menurunkan tekanan darah tinggi, menurunkan berat badan, sebagai antivirus dan antibakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Puspowardoyo dan Djariyah (2002) dalam Alamanda *et al.* (2006), menyatakan ikan lele dumbo dapat dibudidayakan pada kolam air tenang tanpa pergantian air sebagai media pemeliharaan serta minim oksigen karena ikan lele memiliki alat pernafasan tambahan berupa labirin. Namun kolam yang tidak dilakukan pergantian air akan mengakibatkan pencemaran oleh limbah organik dan mineral organik yang berasal dari proses dekomposisi (perombakan) sisa pakan dan kotoran ikan. Secara langsung maupun tidak, pencemaran akan berpengaruh negatif terhadap pertumbuhan ikan lele dumbo, dimana air dapat menjadi perantara bibit penyakit yaitu ikan lele dumbo akan terserang penyakit atau parasit yang hidup pada air kotor tersebut.

Kulit buah manggis setelah diteliti ternyata mengandung beberapa senyawa seperti xanthone, vitamin C, vitamin E, antosianin, klorofil dan senyawa flavonoid dengan aktivitas farmakologi misalnya antiinflamasi, antihistamin (Nugroho, 2009). Menurut Hasyim (2008), pada sebuah penelitian menunjukkan bahwa alpa mangostin dan gamma-mangostin pada kulit manggis merupakan agen *antiinflammatory*. Kedua jenis xantone tersebut dapat membantu menghentikan inflamasi (radang). Berkaitan dengan hal tersebut, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

- Apakah pemberian larutan kulit manggis (*G. Mangostana* L.) dapat berpengaruh terhadap kelulushidupan dan histopatologi insang ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang diinfeksi bakteri *P. fluorescens*.
- Berapa dosis larutan kulit manggis (*G. Mangostana* L.) yang optimal untuk kelulushidupan dan histopatologi insang ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang diinfeksi bakteri *P. fluorescens*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dosis larutan kulit manggis (*G. Mangostana* L.) yang berbeda terhadap kelulushidupan dan histopatologi insang ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) setelah diinfeksi dengan bakteri *P. fluorescens*.

1.4 .Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah untuk memberikan informasi tentang kemampuan larutan kulit manggis (*G. Mangostana* L.) sebagai antibakteri terhadap ikan lele dumbo yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens*.

1.5 .Hipotesis

H_0 : Diduga penggunaan larutan kulit manggis (*G. mangostana* L.) dengan dosis yang berbeda tidak berpengaruh terhadap kelulushidupan dan histopatologi insang ikan lele dumbo (*C. gariepinus*).

H_1 : Diduga penggunaan larutan kulit manggis (*G. mangostana* L.) dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap kelulushidupan dan histopatologi insang ikan lele dumbo (*C. gariepinus*).

1.6 Tempat dan Waktu

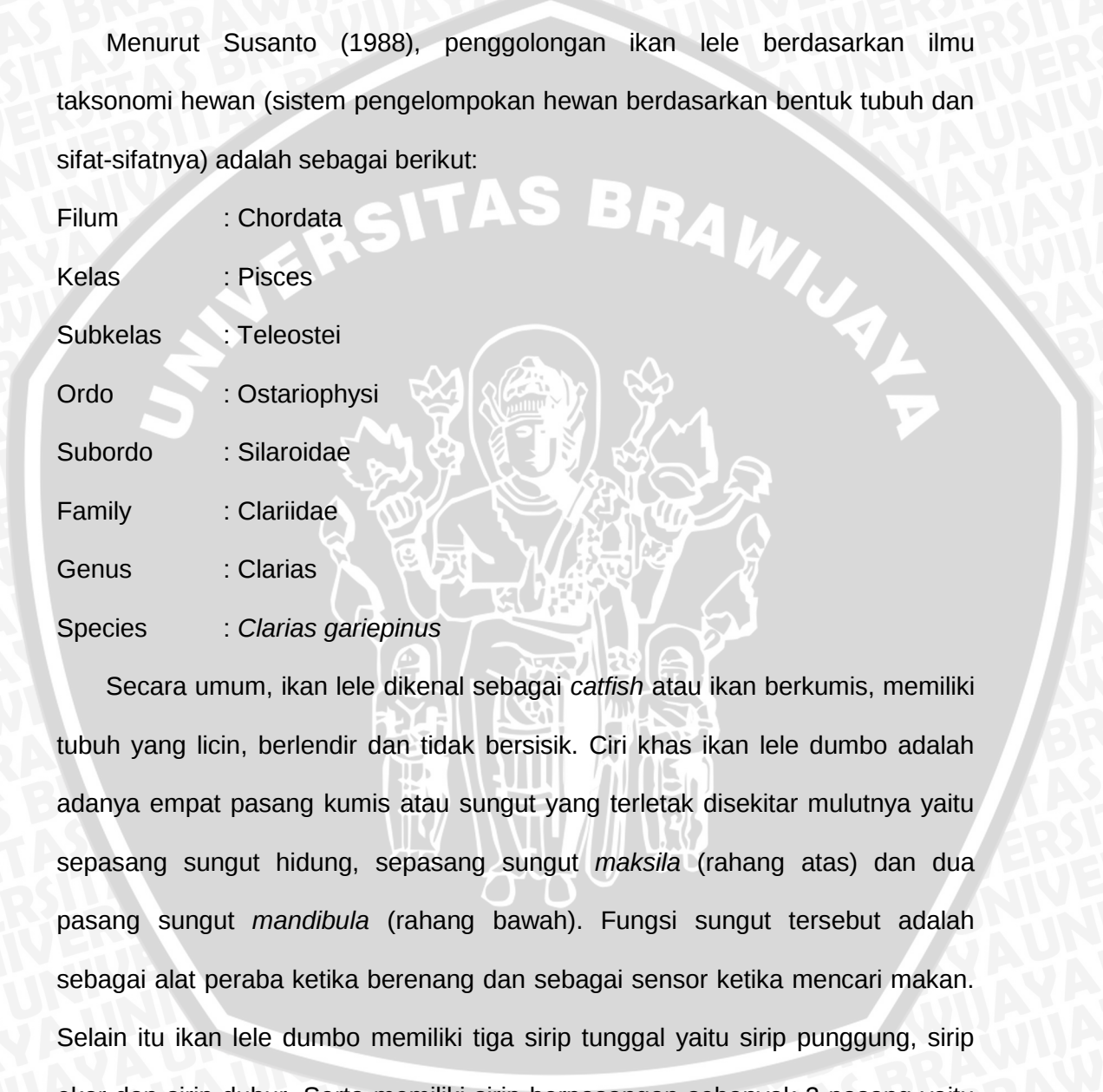
Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Januari sampai Februari Tahun 2014 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK) Universitas Brawijaya dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran (FK) Universitas Brawijaya, Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya Malang serta Rumah Sakit Saiful Anwar (RSSA) Malang.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Lele Dumbo

Menurut Susanto (1988), penggolongan ikan lele berdasarkan ilmu taksonomi hewan (sistem pengelompokan hewan berdasarkan bentuk tubuh dan sifat-sifatnya) adalah sebagai berikut:



Filum	: Chordata
Kelas	: Pisces
Subkelas	: Teleostei
Ordo	: Ostariophysi
Subordo	: Silaroidae
Family	: Clariidae
Genus	: Clarias
Species	: <i>Clarias gariepinus</i>

Secara umum, ikan lele dikenal sebagai *cattfish* atau ikan berkumis, memiliki tubuh yang licin, berlendir dan tidak bersisik. Ciri khas ikan lele dumbo adalah adanya empat pasang kumis atau sungut yang terletak disekitar mulutnya yaitu sepasang sungut hidung, sepasang sungut *maksila* (rahang atas) dan dua pasang sungut *mandibula* (rahang bawah). Fungsi sungut tersebut adalah sebagai alat peraba ketika berenang dan sebagai sensor ketika mencari makan. Selain itu ikan lele dumbo memiliki tiga sirip tunggal yaitu sirip punggung, sirip ekor dan sirip dubur. Serta memiliki sirip berpasangan sebanyak 2 pasang yaitu sirip dada dan sirip perut. Pada sirip dada dilengkapi dengan patil (sirip yang keras) yang berfungsi sebagai alat pertahanan diri (Bachtiar, Surya, Rizal dan Pujiyanto, 2002).

Ikan lele mempunyai badan yang agak berbeda dengan ikan kebanyakan. Jika ikan mas, tawes, dan gurame mempunyai bentuk badan pipih ke samping (compressed) dan ikan belut boleh dikatakan mempunyai potongan melintang bulat. Tengah badannya mempunyai potongan membulat, dengan kepala pipih ke bawah (depressed), bagian belakang tubuhnya berbentuk pipih ke samping (compressed). Jadi pada seekor lele ditemukan lengkap 3 bentuk potongan melintang, yaitu pipih ke bawah, bulat dan pipih ke samping (Susanto, 1988). Berikut merupakan morfologi ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) (Anonimaus, 2013a).

Menurut Najiyati (1992), ikan lele mempunyai alat pernafasan tambahan (*aborescen*) yang terletak dibagian kepala di dalam rongga diatas insang. Alat pernafasan ini berwarna kemerahan dan berbentuk seperti tajuk pohon rimbun yang penuh kapiler-kapiler darah. Badannya berwarna kehitaman dengan bercak putih tidak beraturan, bercak putih tersebut akan semakin jelas terlihat ketika ikan sedang stres.

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Kualitas air yang baik untuk pertumbuhan ikan lele adalah kandungan O_2 sebesar 6 ppm, CO_2 kurang dari 12 ppm, suhu $24-26^{\circ}C$, pH 6-7, NH_3 kurang dari 1 ppm, dan daya tembus matahari ke dalam air maksimum 30 cm (Bachtiar *et al.*,

2002). Habitat atau lingkungan hidup ikan lele ialah semua perairan air tawar, kolam juga merupakan lingkungan hidup ikan lele. Ikan lele mempunyai labirin yang memungkinkan ikan ini mengambil oksigen dari lumpur dengan kandungan oksigen rendah. Bila tempat hidupnya terlalu dingin, misalnya dibawah 20°C maka pertumbuhannya agak lambat. Didaerah pegunungan dengan ketinggian diatas 700 meter, pertumbuhan ikan lele kurang begitu baik (Wartono, 2011).

Ikan lele dapat ditemukan pada hampir semua perairan tawar, misalnya danau, waduk, sungai, genangan air dan rawa. Di sungai ikan ini lebih banyak dijumpai pada tempat-tempat yang alirannya tidak terlalu deras. Ikan ini tersebar secara merata pada perairan di benua Afrika dan Asia. Di Indonesia sendiri ikan lele dapat ditemukan di Kepulauan Sunda, baik Sunda besar maupun Sunda kecil (Bachtiar *et al.*, 2002).

2.1.3 Penyakit

Penyakit pada ikan dalam kondisi alami dapat timbul akibat adanya interaksi anatar inang, jasad patogen dan kondisi lingkungan. Apabila interaksi antara ketiga komponen tersebut tidak seimbang, dapat mengakibatkan penyakit pada ikan. Ikan mudah terserang penyakit terutama disebabkan oleh kondisi ikan yang lemah (semakin turunnya daya tahan ikan) akibat dari beberapa faktor, seperti: kepadatan yang tinggi, makanan yang kurang baik, kualitas air yang kurang baik, fluktuasi suhu yang besra, penanganan yang buruk serta adanya perbandingan atau polusi yang dapat menyebabkan perubahan ekosistem perairan (Prajitno, 2007).

Penyakit yang sering menyerang ikan yang dibudidayakan baik dikolam, jala apung maupun karamba adalah penyakit parasitis, penyakit bakterial dan penyakit yang disebabkan oleh lingkungan serta kekurangan nutrisi. Penyakit ikan dapat timbul sewaktu-waktu dan dapat menyerang ikan dengan hebat

sehingga menimbulkan kerugian yang sangat besar (Cahyono, 2000). Penyakit yang sering menyerang dan terkadang tak terhitung jumlahnya diakibatkan oleh bakteri. Bakteri yang paling sering dijumpai menyerang ikan lele adalah *Aeromonas* dan *Pseudomonas*. Sifat serangan bakteri berupa septicemia atau terdapat di seluruh bagian tubuh seperti jantung, hati, ginjal, limpa atau bagian luar (eksternal) (Susanto, 1988).

2.1.4 Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo

Stadium larva merupakan masa yang sangat penting dan kritis karena pada stadium ini larva sangat sensitif terhadap ketersediaan makanan dan faktor lingkungan. Hal ini disebabkan larva ikan belum dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan serta pencernaanya belum sempurna. Pemberian pakan alami yang pengandung protein tinggi seperti *Artemia* menunjukkan pertumbuhan serta kelulushidupan ikan lele dumbo sangat baik (Muchlisin, Damhoeri, Fauzia dan Musman, 2003).

Protein yang terkandung dalam pakan sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan serta kelulushidupan ikan lele dumbo. Dimana pakan merupakan sumber protein yang digunakan untuk pertumbuhan ikan. Penambahan enzim protease pada pakan akan menghidrolisis protein menjadi unsur yang lebih sederhana yaitu peptida hingga asam amino. Penyerapan asam amino kedalam tubuh ikan akan meningkatkan kelulushidupan yang mencapai 83,3% sampai 91,67 % (Amalia, Subandiyono dan Arini, 2013).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Triyanto *et al.* (1996), kelulushidupan pada benih dari induk ikan lele dumbo yang diberikan vaksin mencapai 61,18% -80,32%, kelulushidupan dari induk ikan lele dumbo yang tidak divaksinasi berkisar 59,56%- 71,95%. Dari penelitian tersebut menunjukkan pemberian vaksin hanya meningkatkan kelulushidupan sebesar 3,69% .

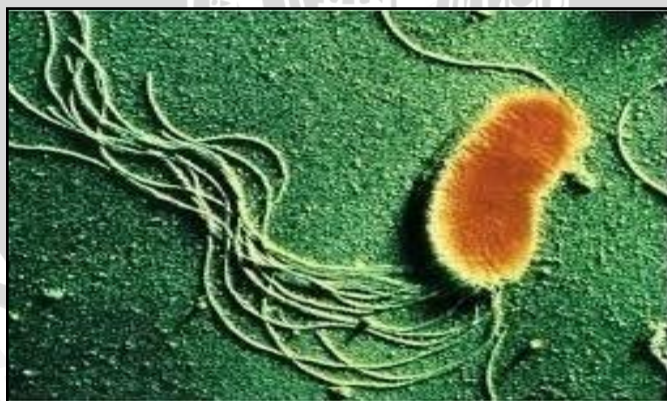
2.2 Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi *P. fluorescens*

Menurut Kartika (2009), adapun taksonomi dari *Pseudomonas fluorescens* sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Psedomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas flourescens</i>

P. fluorescens merupakan salah satu genus dari Famili *Psedomonadaceae*. Bakteri ini berbentuk batang lurus atau lengkung, ukuran tiap sel bakteri 0.5-0.1 μm x 1.5- 4.0 μm , tidak membentuk spora dan bereaksi negatif terhadap pewarnaan Gram, aerob, menggunakan H₂ atau karbon sebagai energinya, kebanyakan tidak dapat tumbuh dalam kondisi asam (pH 4,5). Morfologi dari *P. fluorescens* disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. *Pseudomonas fluorescens* (Anonimous, 2013b).

P. fluorescens merupakan agens antagonis yang potensial dengan menghasilkan antibiotik dan siderofor. Siderofor berfungsi mengikat ion Fe³⁺ dari

lingkungan sehingga patogen tidak dapat memanfaatkan senyawa tersebut dan mengakibatkan pertumbuhan cendawan terhambat. Antibiotik tersebut berperan dalam menekan perkembangan pathogen yang ada di lingkungan pertanian sehingga *P. fluorescens* dapat berkembang secara optimal. Selain itu, antibiotik yang dihasilkan oleh *P. fluorescens* dapat mempengaruhi populasi dari bakteri kelompok *Pseudomonas* lainnya (Ratdiana, 2007).

2.2.2 Habitat dan Pertumbuhan *Pseudomonas fluorescens*

Menurut Arwiyanto, Maryudani, dan Azizah (2007), semua isolat *P. fluorescens* yang diuji bersifat Gram negatif, membentuk enzim katalase, oksidase positif, memerlukan oksigen untuk tumbuh (aerob), mampu menghidrolisa pati dan arginin, membentuk enzim gelatinase, melakukan denitrifikasi, tidak mengakumulasi polyhydroxy butirate. Semua isolat tumbuh baik pada kisaran suhu 20⁰-41⁰C dengan pertumbuhan terbaik pada suhu 30⁰C, serta pH terbaik untuk pertumbuhan adalah pada kisaran 6-7. Pada medium yang mengandung NaCl semua bakteri tumbuh sampai pada konsentrasi NaCl 2%.

Untuk itu, kita perlu mengetahui bahan-bahan/zat-zat yang diperlukan dan kondisi fisik yang diinginkan oleh setiap mikroorganisme. Khusus untuk bakteri entomopatogen, media biakan bakteri tidak boleh menurunkan virulensinya untuk menyerang pathogen. Setiap mikroorganisme mempunyai kebutuhan nutrisi yang berbeda-beda, meskipun demikian kebanyakan bakteri tumbuh baik pada media dasar, yaitu media yang terdiri dari: ekstrak daging (beef extract), NaCl, dan aquadest (Kartika, 2009).

2.2.3 Media Biakan Bakteri

Syarat mutlak yang harus dilakukan dan diperlukan untuk mempelajari mikroorganisme adalah menumbuhkan mikroorganisme tersebut pada media

buatan di laboratorium. Untuk itu perlu mengetahui bahan-bahan/zat-zat yang diperlukan dan kondisi fisik yang diinginkan oleh setiap mikroorganisme. Setiap mikroorganisme mempunyai kebutuhan nutrisi yang berbeda-beda, meskipun demikian kebanyakan bakteri tumbuh baik pada media dasar, yaitu media yang terdiri dari: ekstrak daging (beef extract), NaCl, dan aquadest (Kartika, 2009).

Penyediaan media biakan meliputi tahap pencampuran media, serta pengaturan pH media sampai batas optimum. Umumnya bakteri mempunyai pH optimum 7,5, untuk media cair larutan dapat langsung disaring sedangkan untuk media padat atau setengah padat harus ditambah agar sesuai takaran yang diperlukan. Masukkan media ke dalam tempat yang sesuai dengan keperluan misalnya tabung reaksi atau erlenmeyer yang kemudian ditutup dengan kapas penyumbat. Setelah itu disterilisasi untuk membebaskan alat-alat atau media dari mikroorganisme.

2.2.4 Uji Aktivitas Antimikroba (In-vitro)

a. Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*)

Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*) ini pada dasarnya adalah untuk menentukan secara kualitatif konsentrasi terkecil suatu obat yang dapat menghambat pertumbuhan kuman. Media cair yang dipakai harus merupakan media yang dapat membunuh kuman secara optimum dan tidak menetralkan obat yang digunakan (Lay, 1994). Konsentrasi yang paling kecil (pengenceran tertinggi) dari antibiotik yang menghambat timbulnya kekeruhan dianggap sebagai nilai *minimal inhibitory concentration* (MIC). Meskipun metode tabung pengenceran ini sangat tepat, namun pengujian ini harus dilakukan di laboratorium. Hasil uji MIC dari penelitian sebelumnya mengenai pengaruh larutan kulit manggis terhadap bakteri *P. fluorescens* terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan Uji MIC

Kosentrasi (ppt)	Pengukuran Spektofoto-meter	Indikator Warna
0,5	2,563	Keruh
0,6	2,541	Keruh
0,7	2,532	Keruh
0,8	2,528	Keruh
0,9	2,521	Keruh
1	2,517	Jernih
1,1	2,511	Jernih
1,2	2,509	Jernih
1,3	2,447	Jernih
1,4	2,421	Jernih
Kontrol +	0,381	
Kontrol -	2,587	

Keterangan : Kontrol + : larutan kulit manggis saja

Kontrol - : Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

Pengamatan Uji MIC menggunakan spektrofotometer dilakukan di laboratorium Hidrologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Pengamatan uji MIC didapatkan hasil dimana Kontrol (-) ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan pada Kontrol (+) ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri. Pada dosis 1 ppt menunjukkan indikator warna jernih dan menghambat pertumbuhan bakteri.

2.3 Manggis (*Garcinia mangostana* L)

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Manggis

Menurut Verheij (1997), secara taksonomi buah manggis diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonaceae
Ordo	: Guttiferales
Famili	: Guttiferae
Genus	: <i>Garcinia</i>
Spesies	: <i>Garcinia mangostana</i> L.



Gambar 3. *Garcinia mangostana* L. (Anoninous, 2013c).

Manggis (Gambar 3) merupakan salah satu tanaman buah tropika yang pertumbuhannya lambat, tetapi umurnya juga panjang. Tanaman yang berasal dari biji umumnya membutuhkan 10 - 15 tahun untuk mulai berbuah. Tingginya mencapai 10 - 25 meter dengan ukuran kanopi sedang serta tajuk yang rindang berbentuk piramida dengan diameter batang 25–35 cm (Cahyono *et al.*, 2000).

2.3.2 Habitat dan Penyebaran

Menurut Ropiah (2009), tanaman manggis dapat tumbuh baik pada daratan rendah sampai ketinggian 1000 m di atas permukaan laut. Di daerah tropis ketinggian optimum agar manggis dapat tumbuh dengan baik adalah 460-610 m di atas permukaan laut. Iklim yang paling cocok untuk tanaman manggis adalah daerah iklim kering yang pendek dengan udara lembab, curah hujan merata sepanjang tahun berkisar antara 1500 sampai 2500 mm/tahun. Suhu udara yang baik untuk pertumbuhan manggis antara 25°C sampai 35°C.

Verheij (1997), menyatakan bahwa manggis dapat tumbuh dan berproduksi maksimal pada tinggi tempat mulai dari dataran rendah sampai dengan ketinggian 800 m dpl. Curah hujan 1.500 – 2.500 mm/tahun, dengan periode basah 10 bulan/tahun dan kelembaban udara sekitar 80%. Tanaman manggis sangat baik pertumbuhannya pada tanah yang kaya bahan organik, serta tanah yang aerasinya cukup baik.

Manggis merupakan salah satu buah yang digemari oleh masyarakat Indonesia. Tanaman manggis berasal dari hutan tropis yang teduh di kawasan Asia Tenggara, yaitu hutan belantara Indonesia atau Malaysia. Dari Asia Tenggara, tanaman ini menyebar ke daerah Amerika Tengah dan daerah tropis lainnya seperti Filipina, Papua New Guinea, Kamboja, Thailand, Srilanka, Madagaskar, Honduras, Brazil dan Australia Utara (Nugroho, 2009).

2.3.3 Manfaat Buah dan Kulit Manggis

Secara umum, kandungan kimia yang terdapat dalam kulit manggis adalah *xanthone*, *mangostin*, *garsinon*, *flavonoid*, dan *tannin* (Miryanti, Superi, Budiono dan Indra, 2011). Kulit buah Manggis diketahui mengandung senyawa antioksidan, antiproliferatif dan antimikrobia. Senyawa xanthone meliputi mangostin, mangostenol A, mangostinon A, mangostinon B, alfa mangostin, mangostanol (Qosim, 2007). Selain itu menurut Hasyim (2008), alpa mangostin dan gamma-mangostin pada kulit manggis merupakan agen *antiinflammatory*. Kedua jenis xantone tersebut dapat membantu menghentikan inflamasi (radang), kandungan gizi buah manggis disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Gizi Buah Manggis (Paramawati, 2010).

Komponen Zat Gizi	Jumlah
Energi	34 kalori
Protein	0,6 gram
Lemak	1 gram
Karbohidrat	5,6 gram
Kalsium	7 mg
Fosfor	4 mg
Zat Besi	1 mg
Natrium	7 mg
Kalium	19 mg
Vitamin B1	0,03 mg
Vitamin B2	0,03 mg
Niasin	0,3 mg
Vitamin C	4,2 mg
Kadar Abu	0,1 gram
Kadar Air	87,6 gram

Kulit buah manggis mengandung saponin, tanin, polifenol, flavonoid dan alkaloid. Saponin merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis sel. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein, sehingga mengganggu proses metabolisme. Tanin dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu bertindak sebagai antibakteri dengan cara mengkoagulasi atau menggumpalkan protoplasma bakteri sehingga terbentuk ikatan yang stabil dengan protein bakteri (Poeloengan *et al.*, 2010)

2.4 Pengamatan Histopatologi

Menurut Setyowati, Dewi, Awik dan Nurlita (2012), analisa histopatologi dapat digunakan sebagai biomarker untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ-organ yang menjadi sasaran utama dari bahan pencemar seperti insang, hati, ginjal dan sebagainya. Selain itu, penggunaan biomarker histopatologi dapat digunakan dalam memonitoring lingkungan dengan mengamati organ-organ tersebut yang memiliki fungsi penting dalam metabolisme tubuh sehingga dapat digunakan sebagai diagnosis awal terjadinya gangguan kesehatan pada suatu organisme.

Menurut Ersu (2008), spesimen organ (insang, usus dan otot) yang telah ada, dipotong dengan ukuran 1x1cm dengan ketebalan 2-3 mm dan diletakkan dalam *tissue cassette*, kemudian dilakukan beberapa proses seperti:

- Organ yang telah dipotong direndam ke dalam larutan fiksasi Buffer Netral Formalin (BNF) 10%, minimal selama 24 jam.
- Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi, yaitu proses untuk menarik air dari jaringan dengan merendam organ hasil fiksasi ke dalam larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat, yaitu alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%,

alkohol 95% dan alkohol absolut 100%. Perendaman organ hasil fiksasi pada masing-masing konsentrasi alkohol dilakukan selama 2 jam.

- Tahap selanjutnya adalah clearing, yaitu proses yang dilakukan dengan cara merendam organ hasil dehidrasi pada larutan xylol.
- Setelah dilakukan proses clearing, maka dilakukan infiltrasi, yaitu proses pengisian parafin ke dalam pori-pori jaringan organ. Parafin yang digunakan adalah berplastik yang memiliki titik lebur 58°C . Proses infiltrasi dilakukan dengan dua tahap, yaitu tahap parafin 1 dan parafin 2, masing-masing tahapan dilakukan selama dua jam agar pori-pori jaringan organ terisi parafin dengan sempurna.
- Embedding (*blocking*) merupakan proses penanaman spesimen organ ke dalam parafin yang dicetak menjadi blok-blok parafin dalam wadah khusus berupa *tissue cassette/block* besi. Parafin yang digunakan sama dengan parafin yang digunakan dalam proses infiltrasi.
- Setelah parafin menjadi blok-blok, maka selanjutnya dilakukan pemotongan spesimen berparafin menggunakan *Rotary Mikrotom Spencer, USA*. Spesimen dipotong dengan ketebalan $4\text{--}5\text{ }\mu\text{m}$ yang nantinya akan berupa “pita-pita” jaringan yang saling bersambungan.
- Potongan-potongan tersebut diletakkan di atas pemanas air dengan suhu 37°C . Sediaan potongan-potongan jaringan, dipilih yang terbaik dan diletakkan pada gelas objek yang telah ditetesi perekat putih telur. Kemudian disimpan di dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 56°C untuk mencairkan parafin yang melekat pada jaringan dan melekatkan jaringan pada gelas objek secara sempurna.
- Preparat yang telah difiksasi pada gelas objek diwarnai dengan Haematoxylin dan Eosin. Awalnya preparat dimasukkan kedalam xylol 1 dan

xylol 2 selama dua menit untuk melarutkan parafin yang masih melekat pada gelas objek. Untuk hidrasi diperlukan larutan alkohol absolut 100% selama dua menit, alkohol 95%, dan alkohol 80% masing-masing selama satu menit.

- Kemudian cuci dalam air kran selama satu menit, dimasukkan ke dalam pewarna Mayer's Haematoxylin selama 10 menit, cuci lagi dalam air kran selama 30 detik, dimasukkan ke dalam Lithium carbonat selama 15-30 detik, dan cuci dalam air kran selama dua menit. Setelah itu preparat dimasukkan ke dalam larutan pewarna Eosin selama 2-3 menit, kemudian cuci dalam air kran selama 30-60 detik untuk menghilangkan Eosin yang masih tertinggal. Setelah pewarnaan, preparat dimasukkan ke dalam larutan alkohol 95% dan alkohol absolut 1 sebanyak 10 celupan serta alkohol absolut 2 selama dua menit.
- Setelah tahap pewarnaan selesai, maka dilakukan perekatan (*mounting*) menggunakan zat perekat permount dengan entelan, kemudian ditutup dengan gelas penutup (*cover glass*). Selanjutnya sediaan preparat siap diamati.

2.5 Kualitas Air

2.5.1 Suhu

Air berperan sangat penting sebagai media hidup bagi ikan, maka dalam budidaya perairan, kualitas air atau media hidup bagi ikan mutlak diperhatikan demi menjaga kehidupan yang sesuai bagi ikan budidaya (Madinawati dan Yoel, 2011). Ikan memiliki hubungan yang sangat dekat dengan lingkungannya termasuk dengan suhu lingkungan. Suhu lingkungan yang paling ideal bagi lele dumbo adalah 29°C pada suhu ini kondisi fisik dan psikis dari lele dumbo dalam kondisi normal. Jika suhu diturunkan menjadi 23°C kadar hemoglobin dan plasma protein akan menurun sedangkan kadar glukosa akan meningkat.

Sedangkan pada suhu 35°C kadar hemoglobin dan glukosa akan meningkat dan kadar plasma protein akan menurun (Suhardedi, 2010).

2.5.2 pH

Kemampuan air untuk mengikat atau melepaskan sejumlah ion hidrogen akan menunjukkan apakah larutan tersebut bersifat asam atau basa. Nilai pH yang ideal bagi kehidupan organisme air pada umumnya terdapat antara 7 sampai 8,5 (Madinawati *et al.*, 2011). Kisaran pH yang terukur selama penelitian berkisar 7 – 8 merupakan pH yang optimal bagi ikan lele dumbo. Sebagaimana dinyatakan oleh Khairuman *et al.* (2008), umumnya ikan lele dumbo dapat hidup di perairan dengan pH berkisar antara 6,5 - 8.

2.5.3 DO

Oksigen merupakan satu parameter yang sangat penting bagi seluruh organisme dalam kehidupannya. Oksigen sangat diperlukan untuk pernapasan dan metabolisme ikan, kadar oksigen terlarut yang diperlukan untuk pertumbuhan ikan lele dumbo sebesar 4,4 ppm - 4,6 ppm. Kandungan oksigen yang tidak mencukupi kebutuhan ikan dapat menyebabkan penurunan daya hidup ikan yaitu aktifitas ikan seperti berenang, pertumbuhan dan reproduksi. Kandungan oksigen terlarut dalam air yang bagus untuk kehidupan dan pertumbuhan ikan lele dumbo adalah 5 ppm (Madinawati *et al.*, 2011).

Kandungan O₂ yang terlalu tinggi akan menyebabkan timbulnya gelembung-gelembung dalam jaringan tubuhnya. Sebaliknya penurunan kandungan O₂ secara tiba-tiba, dapat menyebabkan kematian, kandungan O₂ turun dapat diakibatkan banyaknya bahan organik yang terurai atau banyaknya binatang yang hidup di dalamnya. Penguraian bahan organik di dalam air memerlukan O₂ serta melepas CO₂ dan H₂S yang beracun dan larut dalam air (Najiyati, 1992).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat-alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk kegiatan penelitian tersaji pada Tabel 3 yaitu sebagai berikut:

Tabel 3. Alat Penelitian

No	Alat	Fungsi
1	Aerator dan Batu Aerasi	Sebagai alat bantu penghasil oksigen dalam akuarium
2	Selang Aerator	Sebagai alat bantu aerasi
3	Akuarium	Sebagai wadah air media hidup ikan
4	Scoop Net	Sebagai alat untuk memindahkan ikan uji
5	Cover Glass	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan
6	DO Meter	Sebagai alat untuk mengukur kandungan oksigen terlarut
7	Termometer	Sebagai alat untuk mengukur suhu
8	pH Meter	Sebagai alat untuk mengukur pH air media hidup ikan
9	Baskom	Sebagai tempat ikan sementara ketika akan di pindah ke Akuarium
10	Oven	Sebagai alat untuk memanaskan Kulit Manggis (<i>G. Manggostana L.</i>)
11	Blender	Sebagai alat untuk menghaluskan bahan
12	Botol Akuades	Sebagai tempat akuades
13	Bunsen	Sebagai alat sterilisasi
14	Petridisk (cawan petri)	Sebagai tempat agar dan bakteri
15	Gelas Ukur	Sebagai alat dalam mengukur bahan larutan
16	Gunting	Sebagai alat pemotong bahan
17	Hot Plate	Sebagai alat pemanas
18	Jarum Ose	Sebagai alat penggoresan bakteri
19	Lemari Pendingin	Sebagai alat penyimpanan bakteri/bahan
20	Labu Erlemeyer	Sebagai tempat pembiakan bakteri
21	Nampan	Sebagai tempat hewan uji
22	Mikropipet	Sebagai alat untuk mengambil larutan dalam jumlah sedikit
23	Mistar	Sebagai alat untuk mengukur zona hambat bakteri
24	Pipet Volume	Sebagai alat untuk mengambil larutan dalam jumlah banyak
25	Rak Tabung Reaksi	Sebagai tempat tabung reaksi
26	Spatula	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
27	Spektrofotometer	Sebagai alat untuk mengukur panjang gelombang bahan
28	Tabung Reaksi	Sebagai tempat kultur bakteri

Tabel 3. Lanjutan

29	Timbangan Analitik	Sebagai alat untuk menimbang bahan
30	Vortex	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
31	Sectio set	Sebagai alat bedah pada jaringan
32	Pinset	Sebagai alat untuk mengambil sampel jaringan
33	Pisau Mikrotom	Sebagai alat untuk pemotongan jaringan
34	Objek Glass	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan
35	<i>Embedding Machine</i> LEICA EG 1120	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan (<i>embedding</i>)
36	Fotomikroskop	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan
37	Mikrotom rotary	Sebagai alat untuk pemotongan jaringan
38	Mikroskop	Sebagai alat untuk mengamati jaringan Insang ikan
39	Autoclave	Sebagai alat sterilisasi
40	<i>Laminary flow</i>	Sebagai tempat pelaksanaan isolat bakteri

3.1.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan saat penelitian tersaji pada Tabel 4 sebagai berikut:

Tabel 4. Bahan Penelitian

No	Alat	Fungsi
1	Akuades	Sebagai pelarut dalam ekstraksi
2	Air Media	Sebagai media hidup hewan uji
3	Akuades	Sebagai bahan sterilisasi awal
4	Masker	Sebagai penutup mulut
5	Bakteri <i>P. fluorescens</i>	Sebagai bahan penginfeksi
6	Ikan lele dumbo (<i>C. gariepinus</i>)	Sebagai hewan uji
7	Pakan Ikan	Sebagai nutrisi ikan uji
8	Alkohol 96%	Sebagai bahan pengawet jaringan Insang (proses deparafinisasi)
9	Aceton	Sebagai bahan pengawet jaringan Insang (proses <i>dehidrasi</i>)
10	<i>Entellan</i> (Lem)/ <i>cannada balsem</i>	Sebagai bahan perekat sampel pada <i>cover glass</i>
11	Eosin	Sebagai bahan pewarna pada jaringan Insang
12	Formalin 10%/ Larutan Bouin	Sebagai bahan pengawet jaringan Insang
13	Hematoksilin	Sebagai bahan pewarna pada jaringan Insang
14	Litium Karbonat	Sebagai bahan untuk memekatkan warna pigmen
15	Parafin blok	Sebagai bahan pengawet jaringan Insang (proses <i>embedding</i>)

Tabel 4. Lanjutan

16	Parafin cair	Sebagai bahan pengawet jaringan Insang (proses <i>impregnasi</i>)
17	Alkohol	Sebagai bahan sterilisasi
18	Ekstrak Kulit Manggis (<i>G. mangostana</i> L.)	Sebagai bahan untuk mengobati ikan yang sakit
19	Alumunium Foil	Sebagai penutup tabung reaksi dan erlemeyer
20	Benang	Sebagai pengikat bahan sebelum disterilisasi
21	Kapas	Sebagai bahan untuk menutup labu erlemeyer
22	Kertas Label	Sebagai penanda
23	Plastik	Sebagai pembungkus dalam sterilisasi
24	Kertas Saring	Sebagai bahan untuk menyaring ekstrak
25	Spirtus	Sebagai bahan pembakaran pada bunsen
26	TSB (<i>Trypton Soya Bort</i>)	Sebagai media biakan bakteri dalam bentuk cair
27	PSA (<i>Pseudomonas Soya Agar</i>)	Sebagai bahan peremajaan bakteri
28	Cottonbut Steril	Untuk menanam bakteri dari media TSB ke PSA
29	Sarung Tangan	Sebagai penutup tangan
30	Tissue	Sebagai bahan pembersih
31	Gliserol	Sebagai campuran media PSA

3.2 Metode Penelitian

Menurut Hasan (2002), penelitian adalah penyaluran rasa ingin tahu manusia terhadap sesuatu atau masalah dengan perlakuan tertentu (seperti memeriksa, mengusut, menelaah, dan mempelajari secara cermat, dan sungguh-sungguh) sehingga diperoleh sesuatu (seperti mencapai kebenaran, memperoleh jawaban, pengembangan ilmu pengetahuan, dan sebagainya). Sedangkan menurut Faisal (1989), penelitian eksperimen adalah penelitian yang secara sengaja memanipulasi suatu variabel (memunculkan atau tidak memunculkan suatu variabel) kemudian memeriksa efek atau akibat yang ditimbulkannya.

Metode penelitian dalam menganalisa histopatologi Insang ikan lele dumbo menggunakan metode deskriptif yaitu menurut Hartoto (2009), penelitian deskriptif merupakan metode penelitian yang berusaha menggambarkan dan

menginterpretasi objek sesuai dengan apa adanya. Penggunaan metode deskriptif, menguji hipotesis, mengembangkan generalisasi, dan mengembangkan teori yang memiliki validitas universal. Selain itu, penelitian deskriptif merupakan pengumpulan data untuk melihat pertanyaan penelitian atau hipotesis yang berkaitan dengan keadaan dan kejadian sekarang.

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan cara observasi langsung, yaitu penyelidik mengadakan pengamatan terhadap gejala-gejala subyek yang diselidiki baik secara langsung dalam situasi yang sebenarnya maupun dalam situasi buatan atau dengan perantara sebuah alat, baik alat yang sudah ada maupun yang sengaja dibuat untuk keperluan khusus (Surachmad, 1998). Menurut Narbuko *et al.* (2007), tujuan dari metode eksperimen adalah untuk menyelidiki adanya kemungkinan hubungan sebab akibat dari satu atau lebih kelompok eksperimental. Pada penelitian ini yaitu untuk mengetahui sebab-akibat dari pengaruh ekstrak kulit buah manggis (*G. mangostana* L) sebagai antibakteri terhadap bakteri *P. fluorescens*.

3.3 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk memperoleh konsentrasi senyawa xanthone dari larutan Kulit *G. Mangostana* L. sebagai antibakteri yang digunakan untuk pengujian selanjutnya. Dosis yang digunakan yaitu 1 ppt, 3 ppt, 5 ppt, 7 ppt yang kemudian ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) diuji tantang dengan menggunakan bakteri *P. fluorescens* dengan konsentrasi 10^7 sel/ml. Biakan bakteri *P. fluorescens* yang telah diinkubasi selama 24 jam, misalkan dihasilkan kepadatan bakteri 10^8 sel/ml yang dicocokkan dengan larutan Mc Farland 10^8 sel/ml. Pengenceran biakan bakteri sebanyak 1 ml dengan kepadatan 10^8 sel/ml menjadi 10^7 sel/ml dengan rumus pengenceran sebagai berikut:

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

Keterangan:

V_1 = volume bakteri yang dibutuhkan

N_1 = kepadatan biakan bakteri awal

V_2 = volume air akuarium yang digunakan

N_2 = kepadatan bakteri yang diinginkan

Berdasarkan penelitian pendahuluan ikan lele dumbo yang diinfeksi bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/ml dengan cara perendaman pada akuarium yang memiliki panjang 65 cm dan lebar 35 cm serta ketinggian air yang akan diisikan setinggi 25 cm sehingga air yang dibutuhkan sebesar 56,87 liter. Jika volume air yang digunakan untuk menginfeksi ikan lele dumbo sebesar 56,87 liter dengan kepadatan bakteri 10^7 sel/ml, maka larutan TSB yang dibutuhkan dapat diketahui setelah dilakukan perhitungan dengan menggunakan rumus pengenceran yaitu:

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

Maka:

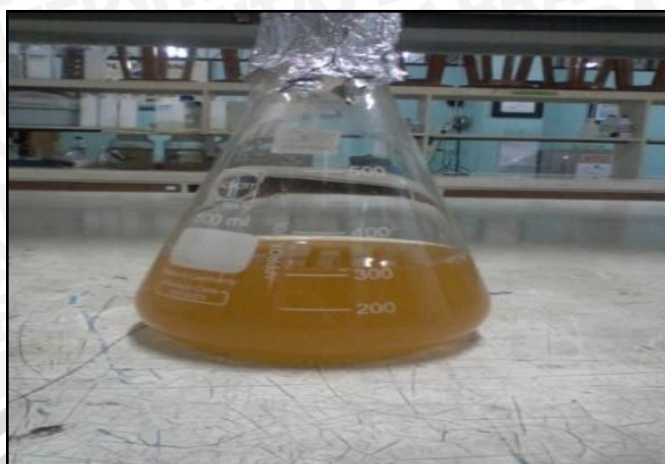
$$V_1 \times 10^9 = 56900 \text{ ml} \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{569 \times 10^9}{10^9}$$

$$10^9$$

$$= 569 \text{ ml}$$

Larutan TSB yang dibutuhkan untuk menginfeksi ikan lele dumbo sebesar 569 ml, perbandingan media TSB dengan aquadest adalah 30 gram TSB : 1000 ml aquadest. Setelah larutan TSB sudah siap, maka ditambahkan bakteri *P. fluorescens* ke dalam media tersebut dan diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 31°C agar pertumbuhannya optimum. Larutan TSB yang berisi bakteri *P. fluorescens* dan setelah diinkubasi selama 48 jam disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. TSB Inkubasi (Dokumentasi Penelitian, 2014).

Inkubasi dilakukan dengan suhu 31°C hal ini sesuai dengan pendapat Madi *et al.* (2010), *P. fluorescens* telah lama ditetapkan sebagai mikroorganisme psychrotropik yang mampu bertahan meski terdapat kompetitor di lingkungannya. Bakteri ini dapat tumbuh di lingkungan dengan suhu 4°C dan tidak dapat bertahan diatas suhu 32°C . Untuk mengetahui kepadatan bakteri dapat dilakukan dengan cara uji Mc Farland yaitu dengan Standar Mc Farland pada Tabel 5 sebagai berikut:

Tabel 5. Standar Mc Farland

Nomor Tabung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
BaCl ₂ (ml) 1%	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
H ₂ SO ₄ (ml) 1%	9,9	9,8	9,7	9,6	9,5	9,4	9,3	9,2	9,1	9
Kepadatan	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
E.Coli($\times 10^8$)										

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Alasan menggunakan rancangan ini karena ikan yang digunakan relative homogen sehingga yang mempengaruhi hasil penelitian hanya dari perlakuan. Sesuai dengan pernyataan menurut Nazir (2009), bahwa bila bahan atau

lingkungan percobaan dianggap homogen, maka digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Model umum Rancangan Acak Lengkap menurut Murdiyanto (2005), adalah sebagai berikut :

$$Y = \mu + \tau + \varepsilon$$

Keterangan :

μ = nilai rerata harapan (*mean*)

τ = pengaruh faktor perlakuan

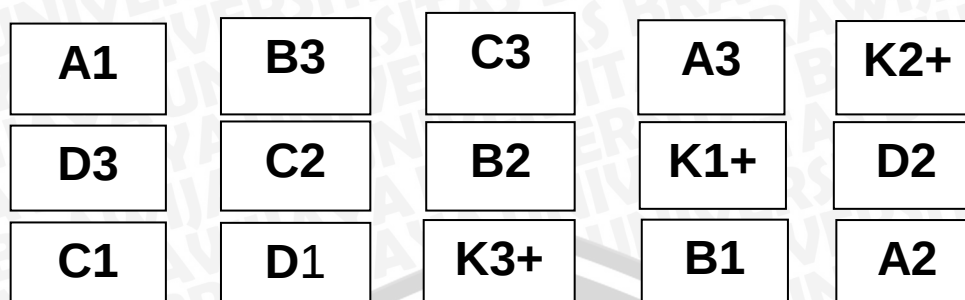
ε = pengaruh galat

Penelitian ini menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian larutan kulit *G. mangostana L.* dengan dosis 1 ppt, 3 ppt, 5 ppt, 7 ppt. Sedangkan untuk kontrol pembanding digunakan 1 kontrol yaitu kontrol positif sebagai perlakuan dimana sampel diinfeksi bakteri namun tanpa pemberian larutan kulit *G. mangostana L.* Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Dari perlakuan tersebut diperoleh total sampel sebanyak 15 sampel. Dalam penelitian ini akan digunakan ikan lele dumbo yang berukuran panjang 5-7 cm. Rancangan perlakuan yang digunakan disajikan pada Tabel 6 sebagai berikut :

Tabel 6. Rancangan Perlakuan

Perlakuan	Dosis	Ulangan		
		1	2	3
A	1 ppt	A ₁	A ₂	A ₃
B	3 ppt	B ₁	B ₂	B ₃
C	5 ppt	C ₁	C ₂	C ₃
D	7 ppt	D ₁	D ₂	D ₃
K+	0 ppt	K ₁ +	K ₂ +	K ₃ +

Untuk denah penelitian disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Denah Penelitian.

Keterangan:

- A : Perlakuan ikan sampel diinfeksi bakteri *P. fluorescens* dan direndam dengan dosis 1 ppt larutan kulit *G. mangostana* L. pada ulangan ke-n.
- B : Perlakuan ikan sampel diinfeksi bakteri *P. fluorescens* dan direndam dengan dosis 3 ppt larutan kulit *G. mangostana* L. pada ulangan ke-n.
- C : Perlakuan ikan sampel diinfeksi bakteri *P. fluorescens* dan direndam dengan dosis 5 ppt larutan kulit *G. mangostana* L. pada ulangan ke-n.
- D : Perlakuan ikan sampel diinfeksi bakteri *P. fluorescens* dan direndam dengan dosis 7 ppt larutan kulit *G. mangostana* L. pada ulangan ke-n.
- K+ : Perlakuan ikan sampel diinfeksi bakteri *P. fluorescens* serta tanpa perendaman larutan kulit *G. mangostana* L.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sebelum melakukan penelitian maka hal pertama yang dilakukan adalah sterilisasi alat dan bahan dengan tahap sebagai berikut:

- Alat dan bahan yang akan digunakan dicuci bersih dengan detergen, dikeringkan dan dibungkus koran serta diikat menggunakan benang.
- Menuangkan air secukupnya ke dalam *autoclave*, kemudian alat dan bahan yang telah dibungkus tadi dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup *autoclave* dengan posisi simetris.

- Pemanas dinyalakan sampai suhu 121°C dengan tekanan 1 atm, lalu ditunggu sampai 15-20 menit dengan cara membuka dan atau menutup kran uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*.
- Kompor dimatikan dan ditunggu sampai termometer serta manometer menunjukkan angka 0 (nol), setelah itu buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* dengan cara simetris pula.
- Dilakukan pengambilan alat dan bahan yang telah disterilisasi.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

3.5.2 Sterilisasi Tempat Penelitian

Sterilisasi tempat penelitian perlu dilakukan untuk menghindari terjadinya kontaminasi dari bakteri lain. Pengaseptisan tangan laboran, meja dan barang disekitar tempat perlakuan diperlukan pula untuk menghindari kontaminasi. Selain itu sebelum melakukan penelitian maka tangan laboran harus memakai sarung tangan dan diperlukan pula masker untuk menutup mulut laboran agar tidak terjadi kontaminasi bakteri lain. Sterilisasi tempat dapat dilakukan dengan cara kimia menggunakan alkohol.

3.5.3 Pembuatan Larutan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.).

Buah manggis (Gambar 6) yang digunakan sebagai bahan utama penelitian didapat dari pasar-pasar lokal wilayah Malang. Selanjutnya buah manggis dikupas dan diambil bagian kulitnya. Pemanfaatan kulit buah manggis ini dikarenakan dalam kulit manggis terdapat senyawa xanthone dimana menurut Mardiana (2011), xanthone pada kulit manggis sebagai antioksidan yang dapat membantu pemulihan kerusakan sel akibat oksidasi radikal bebas, selain itu juga berkhasiat sebagai antibakteri, antifungi, antitumor, antikanker, antialergi, antihistamin, dan antiinflamasi.



Gambar 6. Buah Manggis (Dokumentasi Penelitian, 2014).

Larutan kulit manggis (*G. mangostana* L.) dapat dibuat dalam bentuk yang sederhana yaitu jus dan serbuk. Metode yang digunakan untuk ekstraksi kulit manggis dalam bentuk serbuk mengacu pada penelitian (Potithirat *et al.*, 2008). Pembuatan serbuk kulit manggis (Lampiran 2) membutuhkan sedikit kesabaran karena terdapat beberapa tahap yaitu dimulai dari disiapkan kulit manggis segar sebanyak 2 kg, kemudian dikupas kulit bagian luar dan disisakan kulit bagian dalamnya. Selanjutnya kulit manggis tersebut dipotong kecil-kecil dan di angin-anginkan selama 2 hari, lalu kulit manggis yang cukup kering tersebut di oven selama 3 hari pada suhu 50 °C, hal ini bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada kulit manggis. Kulit manggis yang sudah di oven berbobot 800 g (Gambar 7). Hal tersebut dikarenakan kandungan air yang terdapat pada kulit manggis akan berkurang. Menurut Mardiana (2011), menyatakan bahwa untuk 1 kg ekstrak kulit manggis diperoleh dari 10 kg kulit manggis. Sementara itu, 1 kg kulit kering berasal dari 4 kg kulit segar. Hal tersebut dikarenakan kandungan air yang cukup tinggi pada kulit manggis hingga mengisi 50-60%. Setelah dioven selanjutnya kulit manggis dihaluskan dengan cara ditumbuk sampai hancur dan di blender kering berbentuk serbuk yang halus kemudian disaring menggunakan saringan agar dihasilkan kulit manggis yang halus dan

dapat dilarutkan kedalam aquadest. Aquadest yang digunakan sebagai pelarut serbuk kulit manggis hendaknya dipanaskan sampai suam-suam kuku agar serbuk kulit manggis cepat larut.



Gambar 7. Kulit Buah Manggis Setelah Dioven
(Dokumentasi Penelitian, 2014).

3.5.4 Peremajaan Bakteri *P. fluorescens*

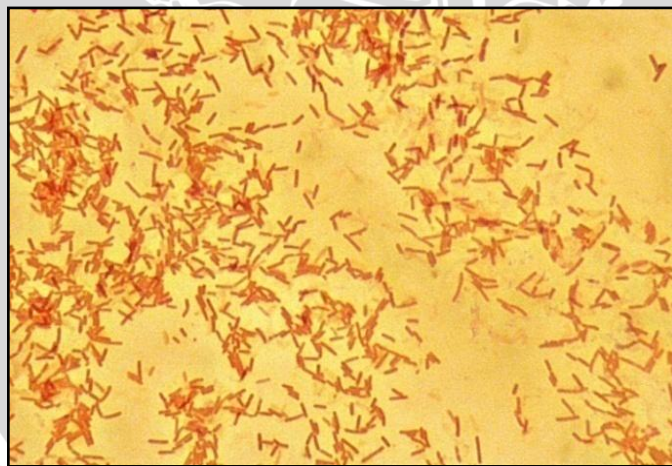
Isolat bakteri *P. fluorescens* diperoleh dari Balai Besar Air Payau (BBAP) Jepara pada tanggal 4 November 2013 yang selanjutnya dikultur pada media cair dan media padat. Media cair yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *P. fluorescens* yaitu TSB (*Tryptone Soya Broth*) dimana komposisi TSB yaitu Pancreatic digest of casein 17.0 g/l, Papaic digest of soybeanmeal 3.0 g/l, Dibasic potassium phosphate 2.5 g/l, Sodium chloride 5.0 g/l, Glucose 2.5 g/l. Sedangkan media padat yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *P. fluorescens* yaitu PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) dan ditambahkan gliserol. Komposisi media PSA yaitu Pepton from Casein 10 gram, Peptone from Meat 10 gram, $MgSO_4$ 1.5 gram, K_2HPO_4 1.5 gram, Glyserol, Agar, Aquadest (Kartika, 2009).

Penggunaan media PSA dan TSB karena bakteri *P. fluorescens* merupakan bakteri spesifik sehingga memerlukan media spesifik pula. Pengkulturan bakteri *P. fluorescens* pada media TSB dilakukan dengan cara:

- Ditimbang TSB dengan dosis tertentu dan disiapkan aquadest steril.
- Dihomogenkan dan selanjutnya diletakkan pada hotplate.
- Setelah mendidih, disterilkan dan diletakkan di autoklave.
- Kemudian diambil bakteri *P. fluorescens* 1 ose dan diletakkan pada media TSB.

Pengkulturan bakteri *P. fluorescens* menggunakan media PSA menurut Lay (1994) dilakukan dengan cara:

- Ditimbang PSA dan dilarutkan dalam aquadest steril dengan dosis yang tepat, selanjutnya diletakkan pada hotplate.
- Setelah mendidih diletakkan pada tabung reaksi dan distrerilisasi menggunakan autoklave.
- Setelah disterilisasi, didinginkan dengan cara dimiringkan.
- Media PSA ditunggu hingga dingin.
- Setelah dingin bakteri pada media TSB selanjutnya dikultur pada media PSA.



Gambar 8. Koloni Bakteri *Pseudomonas fluorescens* dengan perbesara 100x (Dokumentasi Penelitian, 2014).

Untuk melakukan penanaman bakteri pada media padat (PSA) dengan menggunakan metode gores dimana bakteri dari biakan murni diambil menggunakan *jarum* ose selanjutnya ditanam pada media cair yaitu TSB lalu

diinkubasi selama 18 sampai 24 jam. Kemudian bakteri pada media TSB ditanam pada media padat yaitu PSA dengan menggunakan *Cottonbut* steril. Penanaman media juga dilakukan pada *petridisk* agar koloni *P. fluorescens* pada Gambar 8. Sedangkan untuk hasil identifikasi bakteri *P. fluorecens* dapat dilihat pada Lampiran 1.

Dalam pembuatan media TSB diawali dengan penimbangan bahan dimana TSB yang digunakan saat penelitian memiliki perbandingan 30 perliter *aquadest* steril. Jika *aquadest* yang digunakan sebanyak 10 ml maka bahan TSB yang dibutuhkan yaitu sebanyak 0,3 gram. Bahan TSB yang sudah ditimbang dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* dengan volume 250 yang sudah berisi *aquadest* sebanyak 10 ml. Selanjutnya dilakukan penghomogenan dengan cara pengadukan menggunakan *spatula* dan dipanaskan pada *hotplate* sampai mendidih pertama kali. Pensterilan larutan TSB dilakukan dengan cara pemanasan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit, larutan TSB yang sudah steril ditunggu hingga dingin untuk selanjutnya dilakukan penanaman bakteri.

Untuk menyiapkan media PSA tahapan yang dilakukan hampir sama dengan pembuatan media TSB, namun untuk pembuatan media PSA memiliki perbandingan 40 gram PSA banding 1000 ml *aquadest*. Jadi *aquadest* yang digunakan sebanyak 15 ml, maka PSA yang dibutuhkan sebanyak 0,6 gram. Dan setelah PSA dilarutkan dengan *aquadest* dalam *erlenmeyer* selesai disterilisasi kemudian dituang pada *petridisk* steril dan ditunggu sampai beku untuk selanjutnya digunakan sebagai media biakan bakteri. Ketika akan menuang larutan PSA ke dalam *petridisk* hendaknya ditunggu agar suhu media PSA turun terlebih dahulu, hal ini bertujuan agar tidak terdapat banyak uap pada tutup *petridisk* nantinya.

3.5.5 Persiapan Alat

- Pencucian akuarium.
- Persiapan alat-alat pendukung (aerasi, termometer, timbangan, seser dll.).
- Pengisian air pada akuarium (ukuran akuarium 30x30x30 cm).
- Pengaturan sistem aerasi.

3.5.6 Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan yaitu ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) pada Gambar 9 sebanyak 150 ekor. Sebelum digunakan untuk penelitian, ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) diadaptasikan selama 7 hari agar ikan dalam kondisi sehat saat pemberian perlakuan. Berikut langkah-langkah dalam persiapan hewan uji :

- Disiapkan akuarium ukuran 65x35x35 cm.
- Masing-masing akuarium diisi air sebanyak 60 liter.
- Akuarium terlebih dahulu dipasang aerasi
- Ikan lele dumbo dimasukkan dalam akuarium.



Gambar 9. Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) (Dokumentasi Penelitian, 2014).

Ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang digunakan dalam penelitian didapat dari petani ikan Desa Slamet Wiroto Kecamatan Tumpang Kabupaten Malang. Untuk uji histopatologi melalui beberapa tahap seperti pembiakan bakteri

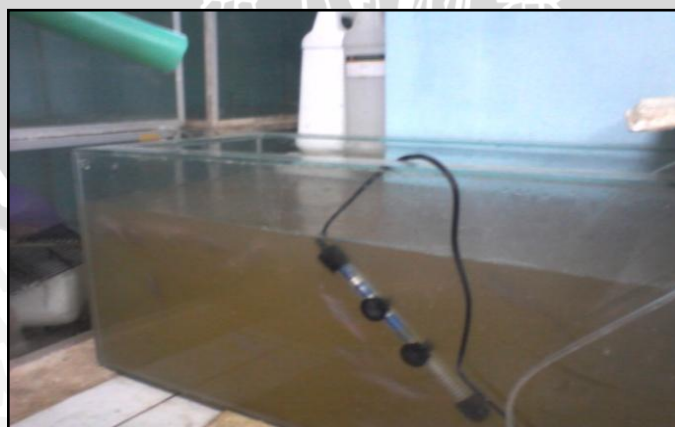
P. fluorescens sebagai bahan infeksi dan pengobatan ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) menggunakan larutan kulit manggis (*G. mangostana* L.) dengan dosis yang berbeda, serta uji histopatologi insang ikan lele dumbo (*C. gariepinus*).

3.5.7 Pelaksanaan Penelitian

a. Penginfeksian Bakteri *P. fluorescens*.

Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah dengan menggunakan metode perendaman. Metode ini cukup efektif untuk menginfeksi ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) karena bakteri dapat langsung menginfeksi insang ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) saat bernafas dan kepadatan bakteri yang digunakan sebesar 10^7 sel/ml karena setelah dilakukan uji LC_{50} kepadatan bakteri tersebut efektif untuk menginfeksi ikan lele dumbo (*C. gariepinus*).

Larutan TSB yang berisi bakteri *P. fluorescens* yang sudah diinkubasi selama 48 jam kemudian dimasukkan ke dalam akuarium ukuran 65x35x25 cm yang berisi air sebanyak 56,331 liter serta dimasukkan ikan uji sebanyak 150 ekor. Tidak lupa diberi aerasi dan diberi *Hiteraquarium* untuk menjaga kestabilan suhu. Ikan lele dumbo yang akan diinfeksi hendaknya dipuasakan terlebih dahulu selama 24 jam sebagai aklimatisasi agar ikan tidak stres ketika diberi perlakuan. Penginfeksian ikan uji disajikan pada Gambar 10 serta lama perendaman 24 jam.



Gambar 10. Penginfeksian Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*)
(Dokumentasi Penelitian, 2014).

b. Perlakuan Pemberian Larutan Kulit Manggis

Dua jam sebelum penginfeksian ikan uji selesai, disiapkan akuarium pengobatan. Untuk mengobati ikan uji, penelitian ini menggunakan metode perendaman pula karena dipilih metode perendaman sebab perendaman merupakan salah satu metode pengobatan yang paling banyak diterapkan karena efektif, cocok untuk benih ikan, dan tidak menimbulkan stres (Galindo *et al.*, 2004).

Ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) dengan ukuran panjang 5-7 cm/ekor yang sudah terinfeksi bakteri *P. fluorescens* kemudian diangkat dan dimasukkan kembali ke dalam akuarium yang sudah ditambahkan larutan *G. Mangostana* L. dengan dosis 30 menit (sesuai hasil penelitian pendahuluan). Pada perlakuan ini digunakan 1 kontrol yaitu kontrol positif dimana ikan lele dumbo diinfeksi bakteri serta tanpa pemberian larutan kulit *G. mangostana* L. Setelah 30 menit kemudian ikan lele dumbo diangkat dari akuarium perendaman dan dipindahkan ke dalam akuarium pemeliharaan yang berbeda-beda serta tidak lupa diberi aerasi. Lama pemeliharaan ikan lele dumbo yaitu selama 2 minggu, hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu dan juga dalam waktu tersebut sudah terdapat perubahan pada jaringan insang.

Akuarium yang digunakan untuk pengobatan memiliki ukuran 30x30x30 cm, namun ketinggian air yang digunakan yaitu 12 cm maka volume air yang diisi sebesar 10,8 liter. Dosis larutan kulit manggis yang digunakan yaitu 1 ppt, 3 ppt, 5 ppt dan 7 ppt serta kontrol positif dengan dosis 0 ppt, dosis yang digunakan sesuai dengan penelitian terdahulu. Banyaknya larutan kulit manggis yang digunakan dapat diketahui setelah dilakukan perhitungan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$a \text{ ppt} \longrightarrow \frac{a}{1000} = \frac{x}{y}$$

Dimana:

A = dosis larutan yang diinginkan

1000 = volume air

x = banyaknya serbuk kulit manggis yang diinginkan

y = volume air yang akan digunakan

Dari rumus tersebut maka dapat diketahui serbuk kulit manggis yang akan dijadikan larutan, dimana untuk akuarium A dengan dosis 1 ppt membutuhkan serbuk kulit manggis sebanyak 10,8 gram, akuarium B dengan dosis 3 ppt membutuhkan serbuk kulit manggis sebanyak 32,4 gram, akuarium C dengan dosis 5 ppt membutuhkan serbuk kulit manggis sebanyak 54 gram, dan akuarium D dengan dosis 7 ppt membutuhkan serbuk kulit manggis sebanyak 75,6 gram, serta akuarium K+ dengan dosis 0 ppt.

Langkah-langkah yang dilakukan untuk mengobati ikan uji yaitu menimbang serbuk kulit manggis menggunakan timbangan digital kemudian dilarutkan dengan aquadest hangat (suam-suam kuku), setelah serbuk larut maka larutan kulit manggis dimasukkan ke dalam akuarium yang sudah berisi air dan diberi aerasi. Ikan uji yang telah diinfeksi kemudian dipindah dari akuarium penginfeksian ke dalam akuarium pengobatan, masing-masing akuarium berisi 30 ekor ikan karena dalam akuarium pemeliharaan nantinya berisi 10 ekor ikan tiap dosisnya dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Lama perendaman dalam akuarium pengobatan adalah 30 menit hal ini diperoleh dari uji pendahuluan dimana ikan uji tidak dapat bertahan dalam larutan kulit manggis lebih dari 30 menit. Ikan uji yang diberi pengobatan disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Aquarium Pengobatan (Dokumentasi Penelitian, 2014).

c. Pemeliharaan Setelah Pengobatan

Ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang sudah diobati kemudian dipindahkan ke dalam aquarium pemeliharaan (Gambar 12) yang sudah disiapkan sebelumnya yaitu dengan ukuran 30x30x30 cm dengan volume air yang digunakan sebanyak 18 liter dan tidak lupa diberi aerasi yang berasal dari blower, masing-masing aquarium berisi 10 ekor ikan uji dan dipelihara selama 14 hari untuk selanjutnya dilakukan uji histopatologi. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Lampiran 3.

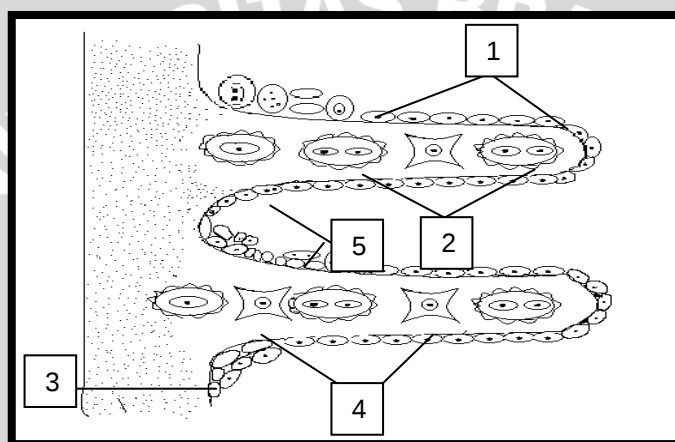


Gambar 12. Aquarium Pemeliharaan (Dokumentasi Penelitian, 2014).

d. Pembuatan Histopatologi Insang Ikan Lele Dumbo

Tahap berikutnya setelah pemeliharaan selesai yaitu pengamatan histopatologi insang ikan yang diawali dengan pembuatan preparat untuk

selanjutnya diamati jaringannya menggunakan *microskop trinokuler*. Dalam pembuatan preparat dimulai dari *fiksasi* Buffer Netral Formalin (BNF) 10%, *dehidrasi*, *clearing*, *infiltrasi*, *embedding*, *pemotongan spesimen berparafin*, *pewarnaan preparat*. Selanjutnya dilakukan pengamatan jaringan insang menggunakan *microskop* hendaknya mengetahui bagian-bagian dari insang. Berikut ini adalah penampang dari bagian insang yaitu Lamella Sekunder yang dapat dilihat pada Gambar 13 sebagai berikut:



Gambar 13. Lamella Sekunder Pada Insang (Dokumentasi Penelitian, 2014).

Keterangan: 1. Sel-sel Epitelium
2. Eritrosit dalam Kapiler Darah
3. Sel-sel Basal
4. Sel Pilaster
5. Sel-sel Asam

3.6 Parameter Uji

3.6.1 Parameter Utama

a. Kelulushidupan (SR)

Perhitungan tingkat kelangsungan hidup dilakukan dengan menggunakan persamaan seperti pada penelitian Suyantri *et al.* (2011), yaitu :

$$SR = \frac{Nt}{No} \times 100\%$$

Keterangan :

SR : Tingkat kelangsungan hidup (%)

Nt : Jumlah benih ikan mas yang hidup pada akhir penelitian (ekor)

No : Jumlah benih ikan mas yang hidup pada awal penelitian (ekor)

b. Uji Histopatologi Insang Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*)

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini adalah histopatologi insang ikan lele dumbo (*C. gariepinus*), karena pada umumnya *P.fluorescens* menyerang pada bagian insang, hati dan ginjal.

3.6.2 Parameter Penunjang

a. Kualiat Air

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah kualitas air serta kelulushidupan. Pada pengukuran kualitas air, parameter yang diukur meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut, dimana :

- Suhu yang diukur menggunakan *thermometer*
- pH air yang diukur menggunakan *pH meter*
- Oksigen terlarut yang diukur menggunakan *DO meter*

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan Analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perbedaan antar dua perlakuan. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan histopatolodi insang dan hati, digunakan uji polynomial orthogonal yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan terbaik.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Parameter Utama

4.1.1 Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo

Data hasil pengukuran parameter penunjang yaitu kelulushidupan ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) disajikan pada Tabel 7 dan Lampiran 5.

Tabel 7. Data Kelulushidupan (SR) Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) (%).

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata (%)
	1	2	3		
A (1 ppt)	70	50	20	140	46,67
B (3 ppt)	90	90	80	260	86,67
C (5 ppt)	50	60	60	170	56,67
D (7 ppt)	30	30	40	100	33,33
K (0 ppt)	0	0	0	0	0
Total				670	

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap kelulushidupan maka dilakukan perhitungan sidik keragaman. Perhitungan sidik ragam disajikan pada Tabel 8 dan Lampiran 5.

Tabel 8. Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*)

Sumber Keragaman	df	Jk	Kt	F hitung	Sig.
Perlakuan	3	4625.000	1541.667	8,409	0.007*
Acak	8	1466.667	183.333	-	-
Total	11	6091.667	-	-	-

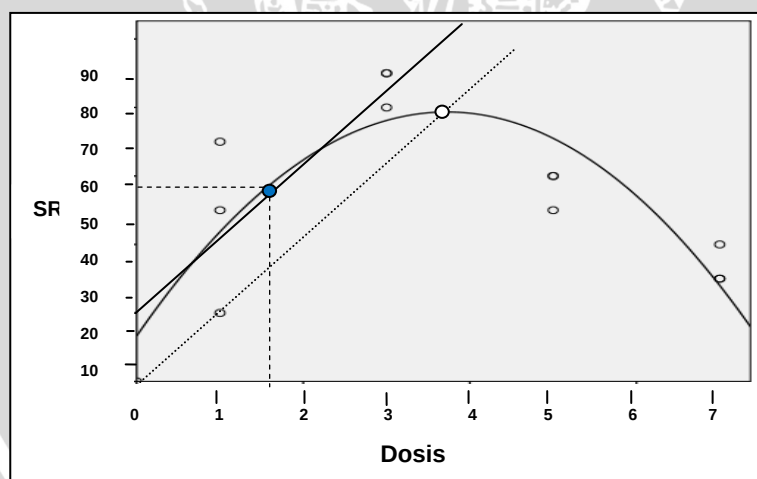
Keterangan * : berbeda nyata (Sig. < 0,05)

Pada tabel sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian larutan kulit manggis sebagai pengobatan memberikan pengaruh berbeda nyata (sig. < 0,05) terhadap kelulushidupan ikan lele dumbo. Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui urutan perlakuan terbaik. Tabel uji BNT kelulushidupan ikan lele dumbo disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Uji BNT Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*)

Perlakuan (ppt)	N	Subset		Notasi
		1	2	
D (7 ppt)	3	33.3333	-	a
A (1 ppt)	3	46.6667	-	a
C (5 ppt)	3	56.6667	56.6667	ab
B (3 ppt)	3	-	86.6667	b
Sig.		0.228	0.100	

Untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang di uji, maka dilakukan perhitungan polinomial orthogonal. Penentuan polinomial orthogonal menggunakan program SPSS versi 16 yang ditunjukkan pada tabel *Custom Hypothesis Test* pada Lampiran 5. Pada perhitungan spss kurva respon yang digunakan adalah kurva kuadratik dan ditunjukkan pada Gambar 14 dimana kurva tersebut memperlihatkan kelulushidupan ikan lele dumbo yang diberi larutan kulit manggis dengan dosis yang berbeda.



Gambar 14. Grafik Hubungan Dosis Larutan Manggis dengan Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*).

Hubungan antara pemberian larutan kulit manggis dengan dosis yang berbeda terhadap kelulushidupan ikan lele dumbo menunjukkan persamaan kuadratik yaitu $y = -3,958x^2 + 28,16x + 26,29$ dengan nilai R^2 sebesar 0.615. Dari hasil persamaan tersebut kemudian dilakukan perhitungan (Lampiran 5), maka

didapat dosis maksimum untuk pemberian larutan kulit manggis yaitu sebesar 3.56 ppt dengan tingkat kelulushidupan sebesar 76,4% dan dosis optimum pemberian larutan kulit manggis yaitu 1,5 ppt dengan persentase kelulushidupan sebesar 57%. Sedangkan dalam penelitian yang sudah dilakukan didapat nilai maksimum tingkat kelulushidupan yaitu 86,67 % dengan dosis 3 ppt.

Kematian ikan yang disebabkan oleh bakteri *P. fluorescens* banyak terjadi pada hari ke-3 selama masa pemeliharaan. Ini ditandai dengan munculnya gejala klinis yaitu mulut memerah, perut kembung dan terdapat cairan hijau kekuningan pada perut, serta sirip yang rusak (Gambar 15). Gejala ini sesuai dengan pendapat Sowunmi, *et al.* (2008), dimana bakteri *P. fluorescens* menyebabkan penyakit pada ikan yang secara eksternal tampak seperti *septicemia* akibat bakteri gram negatif lainnya. Penyakit ini menyebabkan pendarahan kecil di seluruh permukaan mulut, insang.



Gambar 15. Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) yang Mati (Dokumentasi Penelitian, 2014).

Kematian ikan paling banyak dijumpai pada akuarium D (7 ppt) yang terdapat banyak kematian pada ikan yaitu sebanyak 6-7 ekor. Akuarium B(3 ppt) dijumpai kematian ikan sebanyak 2-3 ekor. Perbedaan hasil tersebut karena adanya perbedaan dosis, dimana dosis paling tinggi yaitu 7 ppt yang memiliki tingkat kematian ikan paling tinggi. Hal ini dikarenakan kandungan saponin pada kulit

manggis menurut Poeloengan *et al.* (2010), merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis sel. Sehingga ketika larutan kulit manggis diberikan dalam dosis yang tinggi akan bersifat racun.

4.1.2 Uji Histopatologi Insang Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*)

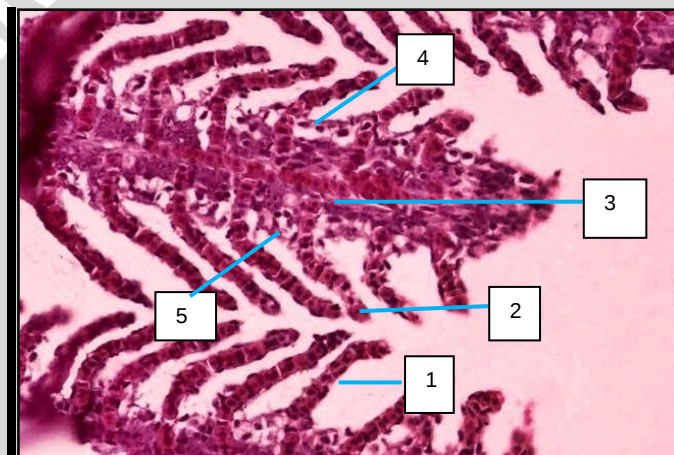
a. Gambaran Histopatologi Insang Ikan Normal dan Ikan Kontrol

Insang memiliki peran yang sangat penting bagi ikan yaitu sebagai alat pernafasan. Komponen pernapasan insang terdiri dari filamen atau lamela primer dan lamela sekunder. Di tengah lamela primer terdapat tulang atau plat-plat kartilago yang mendukung struktur lamela. Diantara struktur pendukung terdapat suatu lapisan jaringan ikat yang berisi sel-sel eosinofilik dan pembuluh darah. Lamela primer merupakan tempat suplai darah dari dan ke lengkungan insang yang mana terdapat limfosit dan granul eosinofilik (EGCs) (Ersa, 2008).

Insang dilengkapi dengan sejumlah glandula yang dikenal sebagai glandula brankhial, yaitu sel-sel epitel insang yang mengalami spesialisasi. Glandula tersebut adalah glandula mukosa dan glandula asidofilik (sel-sel khlorida). Glandula mukosa berupa sejumlah sel-sel tunggal berbentuk buah pear atau oval dan menghasilkan mukus dan terdapat baik pada lengkung insang, filamen insang maupun lamela sekunder. Mukus merupakan glikoprotein yang bersifat basa atau netral dengan fungsi sebagai perlindungan atau proteksi, menurunkan terjadinya friksi atau gesekan, antipatogen, membantu pertukaran ion, dan membantu pertukaran gas dan air (Irianto 2005).

Tujuan dari uji histopatologi insang ikan lele adalah untuk mengetahui bagaimana kerusakan insang yang terjadi akibat terinfeksi bakteri *Pseudomonas fluorescens* serta perubahan insang setelah diberi larutan kulit manggis dengan dosis yang berbeda-beda. Menurut pendapat Asniatih *et al.* (2013), pemeriksaan

histopatologi pada ikan dapat memberikan gambaran perubahan jaringan ikan yang terinfeksi penyakit. Langkah tersebut sebagai langkah awal dalam penentuan penyakit pada ikan, diagnosa penyakit yang perlu diterapkan. Pada proses diagnosa penyakit infeksi pada ikan, terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan yaitu, tanda-tanda klinis yang meliputi tingkah laku, ciri-ciri eksternal maupun internal serta perubahan patologi. Berikut ini adalah penampang jaringan insang ikan lele dumbo normal yaitu tanpa penginfeksi bakteri *P. fluorescens*. Penampang jaringan insang ikan lele dumbo normal (sehat) disajikan pada Gambar 16.

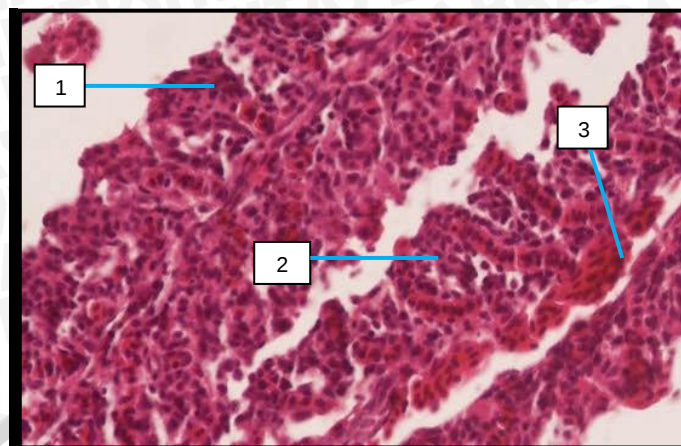


Gambar 16. Struktur Histopatologi Insang pada Ikan Lele Dumbo (Ikan Sehat). Insang Diatas Menunjukkan Kenormalan, Perbesaran Mikroskop 400x dan Pewarnaan Menggunakan HE (Dokumentasi Penelitian, 2014).

Keterangan Gambar:

- (1) *Lamella sekunder* nampak normal dan teratur.
- (2) *Sel epitelium* normal berada dalam *lamelle sekunder*.
- (3) *Eritrosit* berada di dalam pembuluh darah.
- (4) *Sel basal* dan *sel-sel asam* (5) masih dapat dibedakan dengan jelas.

Dalam penelitian ini dilakukan penginfeksi menggunakan bakteri *P. fluorescens* terhadap ikan lele dumbo. Selanjutnya dilakukan pengamatan jaringan insang ikan lele dumbo yang diinfeksi bakteri *P. fluorescens* namun tanpa pemberian larutan kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) (Gambar 17).



Gambar 17. Struktur Histopatologi Insang pada Ikan Lele Dumbo yang Terinfeksi *P. fluorescens*. Perbesaran Mikroskop 400x, Pewarnaan Menggunakan HE (Dokumentasi Penelitian, 2014).

Keterangan Gambar:

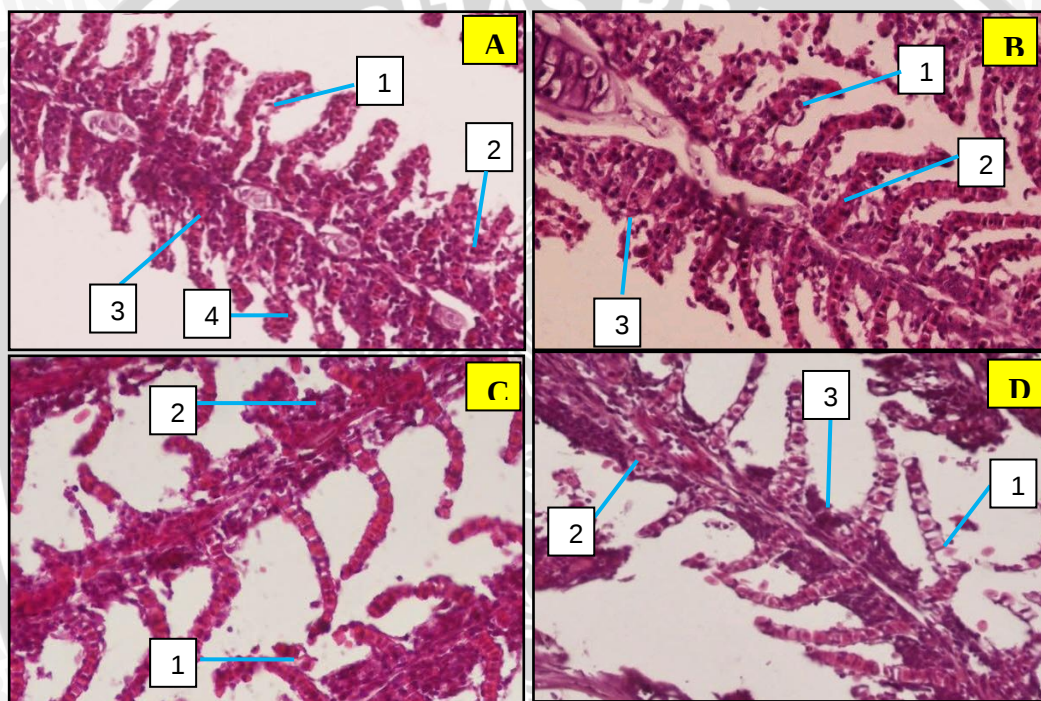
- (1) Produksi sel *epitelium* berlebih menyebabkan hiperlasia,
- (2) Sel-sel *epitelium* mengalami fusi
- (3) Pembuluh darah pecah sehingga eritrosit menyebar pada dinding *lamella*.

Pada penampang jaringan insang diatas (Gambar 16), kondisi insang ikan lele dumbo normal (ikan tanpa perlakuan) memperlihatkan kondisi jaringan yang normal dengan kondisi *lamella sekunder*, *sel epitelium*, *eritrosit*, *sel basal*, *sel-sel asam* yang masih utuh menunjukkan kenormalan pada ikan lele dumbo. Dari penampang di atas nampak *lamella sekunder* mengalami kerusakan seperti produksi mukus berlebihan menyebabkan hiperlasia (keterangan 1) sehingga sel-sel epitelium mengalami fusi (keterangan 2). Nampak pembuluh darah pecah sehingga eritrosit menyebar pada dinding *lamella*. Tujuannya penginfeksian adalah agar dapat membandingkan penampang histopatologi insang normal dengan insang yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens*.

Hiperplasia menurut Ersu (2008), merupakan respon jangka panjang dari sel malpighian, sehingga seluruh jarak pada *lamella* dipenuhi sel-sel baru. Kerusakan sel lainnya yaitu fusi yang diduga karena adanya hiperplasia sehingga *sel-sel epitelium* nampak berlekatan satu dengan yang lain.

b. Gambaran Histopatologi Insang Ikan Uji

Pengamatan histopatologi digunakan untuk melihat perubahan patologi pada ikan lele dumbo yang direndam dengan larutan kulit manggis (*G. mangostana* L.) dengan dosis yang berbeda serta diinfeksi bakteri *P. fluorescens*. Dimana dosis yang digunakan saat penelitian yaitu A (1ppt), B (3ppt), C (5ppt), dan D (7ppt). Berikut ini penampang dari insang ikan lele dumbo yang dipelihara selama 14 hari setelah pengobatan (Gambar 18).



Gambar 18. Struktur Histopatologi Insang pada Ikan Lele Dumbo yang Telah Diberi Larutan Kulit *G. mangostana* L. Perbesaran Mikroskop 400x, Pewarnaan Menggunakan HE (Dokumentasi Penelitian, 2014).

Keterangan Gambar:

- (A) Edema menyebabkan *sel epitelium* terlepas dari jaringan dibawahnya (1), hiperlasia sel-sel basal (2), eritrosit (3), produksi mukus berlebih (4).
- (B) Edema menyebabkan *sel epitelium* terlepas dari jaringan dibawahnya (1), jumlah *sel asam* dan *sel basal* sudah mulai normal (2), masih terdapat *sel epitelium* yang mengalami fusi (3).
- (C) Edema menyebabkan *sel epitelium* terlepas dari jaringan dibawahnya (1), terjadi hiperlasia sel-sel basal (2),
- (D) Edema menyebabkan *sel epitelium* terlepas dari jaringan dibawahnya (1), pecahnya pembuluh darah menyebabkan eritrosit berada di dinding *lamella* (2), *sel asam* dan *sel basal* tidak terlihat jelas akibat fusi (3).

Ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens* dan sudah diobati dengan larutan kulit manggis (*G. mangostana* L) dipelihara selama 14 hari dikarenakan dalam waktu tersebut perubahan insang sudah dapat terlihat. Berdasarkan Gambar 18 didapat hasil histopatologi menunjukkan pemberian larutan kulit manggis (*G. mangostana* L.) sebagai obat dengan dosis berbeda memberikan pengaruh yang berbeda pula terhadap insang ikan lele dumbo. Dari penampang Gambar 18d. yaitu dosis 7 ppt terlihat banyak kerusakan seperti nekrosis sehingga terbentuk rongga atau edema pada insang. Sehingga dapat disimpulkan semakin tinggi dosis yang diberikan akan berakibat rusaknya sel-sel pada insang, karena kandungan kulit manggis selain dapat digunakan sebagai obat dapat juga bersifat racun bagi inangnya (Ikan) ketika pemberiannya terlalu banyak. Hal ini sesuai dengan pendapat Pelczar dan Chan (1988), menambahkan bahwa semakin tinggi dosis antibakteri yang digunakan maka semakin cepat sel bakteri akan terbunuh. Namun penggunaan dosis yang terlalu tinggi tidaklah efektif. Di samping akan menimbulkan resistensi bakteri terhadap antibakteri tertentu, juga dapat membunuh ikan dan kurang ekonomis dalam pemakaiannya. Suatu bahan antibakteri pada hakekatnya adalah sebagai racun bagi penyakit dan apabila racun tersebut berlebihan justru akan menimbulkan kematian bagi organisme.

Berdasarkan penelitian mengenai histopatologi insang yang telah dilakukan, didapat hasil bahwa larutan kulit manggis berpengaruh terhadap perkembangbiakan bakteri *P. fluorescens* yang menginfeksi insang ikan lele dumbo serta mengurangi kerusakan sel pada insang. Karena pada larutan kulit manggis mengandung zat-zat antibakteri seperti pendapat Nugroho (2009), ekstrak kulit manggis menunjukkan bahwa kulit buah manggis mengandung saponin, tanin, polifenol, flavonoid dan alkaloid.

Mekanisme kandungan kulit manggis dalam membunuh bakteri menurut Poeloengan *et al.* (2010), kandungan kulit manggis seperti flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein, sehingga mengganggu proses metabolisme. Tanin dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu bertindak sebagai antibakteri dengan cara mengkoagulasi atau menggumpalkan protoplasma bakteri sehingga terbentuk ikatan yang stabil dengan protein bakteri. Sedangkan kandungan yang lain seperti xanthone menurut Miryanti *et. al* (2011), mampu mengikat oksigen bebas yang tidak stabil yaitu radikal bebas perusak sel di dalam tubuh sehingga *xanthone* dapat menghambat proses degenerasi (kerusakan) sel. Senyawa *xanthone* juga mengaktifkan sistem kekebalan tubuh dengan merangsang sel pembunuh alami (*natural killer cell* atau *NK cell*) dalam tubuh.

4.2 Parameter Penunjang

4.2.1 Kualitas Air (Suhu, pH dan Do)

Air merupakan media tempat hidup ikan selama pemeliharaan. Ikan sangat mudah terserang patogen pada lingkungan yang kurang baik. Dalam hal ini yang sangat mempengaruhi adalah kualitas air. Kualitas air merupakan faktor yang harus diperhatikan dalam pemeliharaan ikan. Ikan akan tumbuh optimal apabila parameter kualitas air di tempat hidupnya sesuai dengan kisaran toleransi yang dapat diterima oleh ikan tersebut.

Selama penelitian berlangsung, dilakukan pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Pengukuran kualitas air selama penelitian dilakukan sebanyak 3 kali yaitu pada hari pertama, hari ke 7 dan hari ke 14. Berikut ini hasil rata-rata pengukuran kualitas air selama penelitian disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Parameter Kualitas Air pada Media Pemeliharaan Selama Penelitian

Parameter Kualitas Air	Kisaran Parameter Kualitas Air Pada Perlakuan	Literatur
Oksigen terlarut (mg/l)	5,53 - 7,32 mg/l	> 3ppm (Bachtiar, 2006)
pH	7,54 - 8,77	6.5-9 (Alamanda <i>et al.</i> , 2007)
Suhu	25-26 ⁰ C	20-30 ⁰ C (Khairuman, 2008)

Parameter kualitas air merupakan faktor pendukung dalam budidaya. Kualitas air yang berada di luar kisaran optimum kebutuhan hidup ikan akan menyebabkan ikan mengalami stress, sehingga akibatnya ikan lebih mudah terserang penyakit. Oleh karena itu kondisi kualitas air selama perlakuan harus diperhatikan, agar tetap berada pada kisaran normal. Kualitas air selama perlakuan layak untuk kehidupan ikan lele (Lampiran 6).

Oksigen terlarut merupakan kebutuhan mutlak yang harus terpenuhi pada media pemeliharaan ikan. Berdasarkan Tabel 10, diketahui bahwa kisaran oksigen terlarut media pemeliharaan ikan lele dumbo selama percobaan berada pada kisaran 5,63-7,32 mg/l, sehingga kondisi media mampu menunjang pertumbuhan ikan secara normal. Menurut Boyd (1982), kandungan oksigen terlarut kurang dari 1 mg/l akan mematikan ikan, pada kandungan 1-5 mg/l cukup mendukung kehidupan ikan tetapi pertumbuhan ikan lambat, dan pada kandungan oksigen lebih dari 5 mg/l pertumbuhan ikan akan berjalan normal.

Menurut Kordi (2004), perairan asam akan kurang produktif dan dapat membunuh ikan. Pada pH yang rendah kandungan oksigen terlarut akan berkurang, sebagai akibatnya konsumsi oksigen menurun, aktivitas pernafasan naik, dan selera makan akan berkurang. Usaha budidaya ikan akan berhasil baik dalam air dengan pH 6,5-9,0 sedangkan selera makan tertinggi pada pH 7,5-8,5.

Suhu air selama perlakuan mengalami fluktuasi tetapi tetap berada dalam

kisaran suhu yang baik bagi ikan lele dumbo. Pada tabel diatas nilai suhu berkisar antara 25°C - 26°C , nilai suhu tersebut apabila dibandingkan dengan pustaka yang ada telah memenuhi syarat. Suhu dapat diartikan sebagai derajat panas suatu perairan. Suhu sangat berpengaruh terhadap organisme di perairan dengan perannya sebagai *controlling* faktor bagi perairan. Suhu sangat berperan dalam mengendalikan kondisi ekosistem perairan dan mempengaruhi kelarutan oksigen dalam perairan (Boyd, 1982). Sehingga dari penjelasan diatas, dapat disimpulkan bahwa nilai kualitas air selama pemeliharaan masih dalam taraf normal dan telah memenuhi syarat hidup pada ikan lele dumbo yang dipelihara.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pada penelitian tentang Pengaruh pemberian larutan kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap kelulushidupan dan histopatologi insang ikan lele dumbo (*C. gariepinus*) yang diinfeksi bakteri *P. fluorescens* didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

- Dosis maksimal pemberian larutan kulit manggis yaitu 3.56 ppt dengan kelulushidupan ikan lele dumbo sebesar 76,4%. Sedangkan dosis optimum yaitu 1.5 ppt dengan tingkat kelulushidupan sebesar 57 %.
- Pemberian larutan kulit manggis dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh terhadap penyembuhan insang ikan lele dumbo (*C. gariepinus*).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, disarankan untuk mengobati ikan lele (*C. gariepinus*) yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens* dengan menggunakan larutan kulit manggis (*G. Mangostana* L.) dengan dosis 1.5 ppt. Selain itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang histopatologi hati dan ginjal ikan lele dumbo untuk mengetahui tingkat kerusakan organ dalam ikan lele dumbo yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens* pasca pengobatan menggunakan larutan kulit manggis.

DAFTAR PUSTAKA

- Alamanda, I. E., N. S. Handajani, dan A. Budiharjo. 2006. Penggunaan Metode Hematologi dan Pengamatan Endoparasit Darah untuk Penetapan Kesehatan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) di Kolam Budidaya Desa Mangkubumen Boyolali. *Biodiversitas*. **5** : 34-38.
- Amalia, R., Subandiyono dan E. Arini. 2013. Pengaruh Penggunaan Papain Terhadap Tingkat Pemanfaatan Protein Pakan Dan Pertumbuhan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **8** : 136-143.
- Anonimous. 2013a. Morfologi Ikan Lele. <http://www.morfologi.ikan.lele.com>. Diakses pada tanggal 25 September 2013.
- _____. 2013b. Morfologi Buah Manggis (*Pseudomonas fluorescens*). <http://www.morfologi.Buah.manggis.com>. Diakses pada tanggal 25 September 2013.
- _____. 2013c. Morfologi *Pseudomonas*. <http://www.morfologi.Pseudomonas.com>. Diakses pada tanggal 25 September 2013.
- Arwiyanto, T., Y.M.S Maryudani dan N. Azizah. 2007. Sifat-Sifat Fenotipik *Pseudomonas fluoresen*, Agensia Pengendalian Hayati Penyakit Lincat pada Tembakau Temanggung. *Biodiversitas*. **5** : 147-151.
- Asniatih, M. I. dan K. Sabilu. 2013. Studi Histopatologi pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Mina Laut Indonesia*. **8** : 13-21.
- Bachtiar, Y., Surya, Rizal dan A. Pujiyanto. 2002. Ikan Berkumis Paling Populer. Agromedia Pustaka: Jakarta 42 hal.
- Boyd, C.E. 1982. Water Quality Management for Pond Fish Culture. Auburn University. 4th Printing. Internasional Centre for Aquaculture Experiment Station, Auburn. 359 pp.
- Cahyono, B. dan D. Juanda. 2001. Manggis Budidaya dan Analisis Usaha Tani. Kanisius. Yogyakarta. 79 hal.
- Ersa, E.M. 2008. Gambaran Histopatologi Insang, Usus dan Otot Pada Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) di Daerah Ciampea Bogor. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. 66 hal.
- Hartoto. 2009. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian Edisi Revisi. Kanisius. Yogyakarta. 276 hal.
- Hasan, I. 2002. Pokok-pokok Materi Metodologi Penelitian dan Aplikasinya. Gahlmia Indonesia. Jakarta. 58 hal.

- Hasyim, A. Dan K. Iswari. 2008. Manggis Kaya Antioksidan. *Pusat Penelitian dan Pengembangan Pangan Tanaman Pangan*. 5(2) : 245-255.
- Kartika, A. 2009. Teknik Eksplorasi dan Pengembangan Bakteri *Pseudomonas fluorescens*. 18 hal.
- Khairuman, D. Setiawan dan Bambang. 2008. Buku Pintar Budidaya 15 Ikan Konsumsi. Agromedia Pustaka. Jakarta. 100 hal.
- Kordi, K. M. 2004. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Rineka Cipta dan Bina Aksara. Jakarta. 190 hal.
- Lay, B.W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 168 hal.
- Madi, A., P. Svinareff, N. Orange, M. G. J. Feuilleley and N. Connil. 2010. *Pseudomonas fluorescens* Alters Epithelial Permeability and Translocated Across Caco-2/TC7 intestinal cells. *BMC Microbiology*. 20 : 1-8.
- Madinawati, N.S. dan Yoel. 2011. Pemberian Pakan yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Benih Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Media Litbang Sulteng*. 5 : 83 – 87.
- Maishela, B., Suparmono, R. Diantari dan M. Muhaemin. 2013. Pengaruh Fotoperiode Terhadap Pertumbuhan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). 8 : 22-30.
- Mardiana, L. 2011. Ramuan dan Khasiat Kulit Manggis. Penebar Swadaya. Jakarta. 76 hal.
- Miryanti, A., L. Sapei, K. Budiono dan S. Indra. 2011. Ekstraksi Antioksidan Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). 63 hal.
- Muchlisin, Z.A, A. Damhoeri, R. Fauzia dan M. Musman. 2003. Pengaruh Beberapa Jenis Pakan Alami Terhadap Pertumbuhan dan Kelulushidupan Larva Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Biologi*. 9 hal.
- Najiyati, S. 1992. Memelihara Lele Dumbo di Kolam Taman. Penebar Swadaya. Jakarta. 49 hal.
- Narbuko, C dan A. Achmadi. 1997. Metodologi penelitian. Bumi Aksara. Jakarta. 205 hal.
- Nazir, M. 2009. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta. 135 hal.
- Nugroho, E. A. 2009. Manggis (*Garcinia mangostan* Linn.) dari Kulit Buah yang Terbuang Hingga Menjadi Kandidat Suatu Obat. 9 hal.
- Paramawati, R. 2010. Dahsatnya Manggis Untuk Menumpas Penyakit. Agromedia Pustaka. Jakarta. 124 hal.

- Pelczar, M.J. and E. C. S. chan. 1986. Elements of Microbiology. McGraw-Hill Book Company. USA. 698 pp.
- Poelongan, M. dan Pratiwi. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn). *Media Litbang Kesehatan*. 8 hal.
- Pellitero, P. A. 2008. Fish Immunity and Parasite Infections: from Innate Immunity to Immunoprophylactic Prospects. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. **126** : 171-198.
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan-Udang Bakteri. *Um Press*. Malang. 115 hal.
- Pelczar, M. J dan E. C. S. Chan. 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi I. Universitas Indonesia. Jakarta. 443 pp.
- Priosoeryanto., I.M. Ersu., R. Tiuria dan S.U. Handayani. 2010. Gambaran Histopatologi Insang, Usus, dan Otot Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) yang Berasal dari Daerah Ciampea, Bogor. *Journal of Veterinary Science & Medicine*. **2(1)** :1-8.
- Qosim, W.A. 2007. Kulit Buah Manggis Sebagai Antioksidan. <http://www.pikiranrakyat.com>. Diakses tanggal 2 november 2013.
- Rakhmawati, J.M., B. Rietje dan J. Nursandi. 2011. Pengaruh Taurin dalam Pakan dengan Kadar Protein Rendah pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi IV*. Universitas Lampung. 9 hal.
- Ratdiana. 2007. Kajian Pemanfaatan Air Kelapa dan Limbah Cair Peternakan sebagai Media Alternatif Perbanyakan *P. fluorescens* serta Uji Potensi Antagonismenya Terhadap *Ralstoni solanacearum*. *Skripsi*. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. 76 hal.
- Ropiah. S., 2009. Perkembangan Morfologi dan Fisiologi Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) selama Pertumbuhan dan Pematangan. 24 hal.
- Setyowati, A., D. Hartini, Awik dan Nurlita. 2012. Studi Histopatologi Hati Ikan Belanak (*Mugil cephalus*) Di Muara Sungai Aloo Sidoarjo. *Skripsi*. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. 84 hal.
- Suhardedi, C. 2010. Strategi Pengembangan Usaha Pembenihan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) di Kabupaten Boyolali. *Skripsi*. Fakultas Pertanian, Universitas sebelas Maret. Boyolali. 83 hal.
- Sunarma, A. 2004. Peningkatan Produktifitas Lele Sangkuriang (*Clarias sp.*). Makalah UPT dan Temu Usaha Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. 13 hal.
- Surachmad, W. 1998. Pengantar Penelitian Ilmiah Dasar. Penebar Tarsito. Bandung. 118 hal.

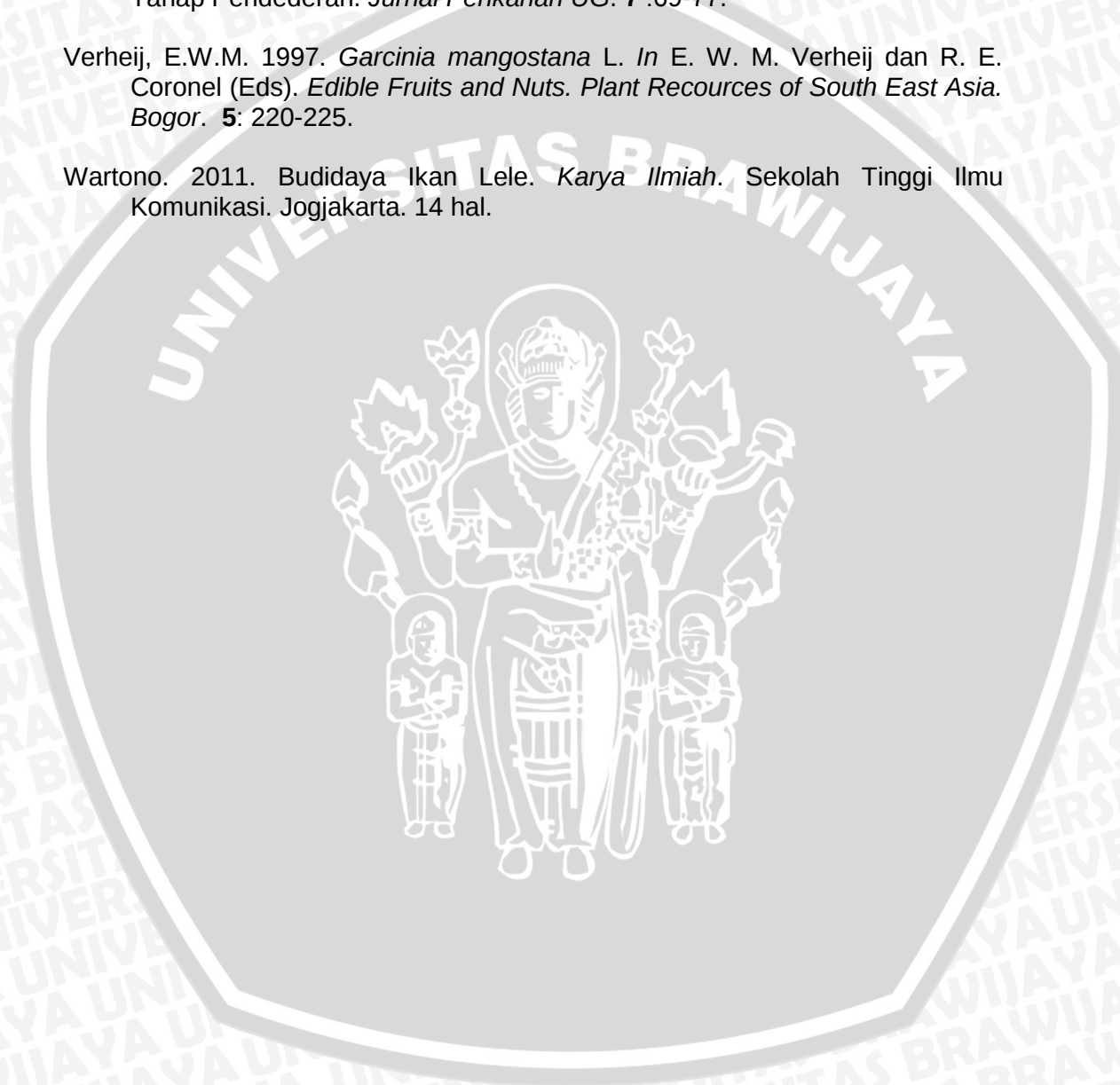
Susanto, H. 1988. Budidaya Ikan di Pekarangan. Penebar Swadaya. Jakarta. 152 hal.

Tambunan, R.M. 1998. Telaah Kandungan Kimia dan Aktivitas Antimikroba Kulit Buah Manggis. Tesis. Institut Teknologi Bandung, Bandung. 137 hal.

Triyanto, K.H.N. dan A. Asnansetyo. 1996. Vaksinasi Induk Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) untuk Meningkatkan KelulusHidupan dan Pertumbuhan pada Tahap Pendederan. *Jurnal Perikanan UG*. 7 :69-77.

Verheij, E.W.M. 1997. *Garcinia mangostana* L. In E. W. M. Verheij dan R. E. Coronel (Eds). *Edible Fruits and Nuts. Plant Recources of South East Asia*. Bogor. 5: 220-225.

Wartono. 2011. Budidaya Ikan Lele. *Karya Ilmiah*. Sekolah Tinggi Ilmu Komunikasi. Jogjakarta. 14 hal.



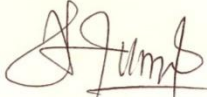
LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Identifikasi Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

	
KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN LABORATORIUM PENGUJI BALAI KARANTINA IKAN PENGENDALIAN MUTU DAN KEAMANAN HASIL PERIKANAN KELAS I SURABAYA I Jl. Raya Bandar Udara Ir. H. Juanda No. 23, Sidoarjo, 61254 Telp/fax : 031 – 8688099 – 8688118 – 8678471 E-mail : bkjuanda@yahoo.co.id	
LAPORAN HASIL UJI Report of Analysis No. 03536a /A.10/BKI-JS/VI/2013	
KODE SAMPEL	: 03536a/A.10
Sampel Code	
NAMA/JENIS SAMPEL	: Isolat Tube
Type of Sample	
NAMA PELANGGAN	: Indra Bijaksana K.
Customer	
ALAMAT	: Mahasiswa Universitas Brawijaya
Address	
TANGGAL PENERIMAAN	: 19 Juni 2013
Received Date	
TANGGAL ANALISA	: 19 – 21 Juni 2013
Date of Analysis	
PARAMETER ANALISA	: Identifikasi spesies Bakteri
Analysis of Parameters	
SPEKTRUM METODE	: Konvensional
Method Specification	
HASIL ANALISA	: Terlampir
Test Result	
CATATAN	: Analisa dengan Metode Konvensional
Note	: Conventional method analysis

Surabaya, 21 Juni 2013
Penanggung Jawab Lab. Bakteriologi




Laminem, S.Pi.MP
NIP. 19701206 199203 2 002

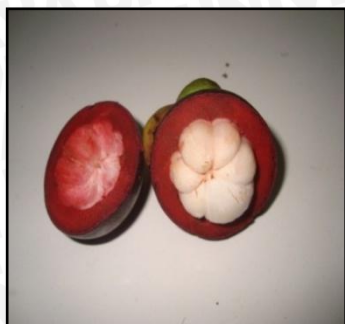
Lampiran 1. Lanjutan

PROTOKEL UJI BAKTERI
IDENTIFIKASI ISOLAT *Pseudomonas fluorescens*
Tanggal : 19 - 21 Juni 2013

Karakteristik	KODE ISOLAT	
	Isolat I	Isolat I(a)
Morfologi		
· Warna	Krem,	Krem,
· Bentuk	-	-
· Tepi	-	-
· Elevasi	-	-
· Struktur dalam	-	-
Uji gram, Morf. Sel	-, Batang	-, Batang
Oksidase	+	+
Katalase	+	+
Uji Biokimia	-	-
O/F	O	O
TSA 37°C	-	-
TSIA, Gas, H ₂ S(S/B)	As/As	As/As
L I A (S/B)	-	-
Motilitas	+	+
Gelatin	+	+
Indole	-	-
Ornithine	-	-
MR	-	-
Vp	-	-
Arginin	+	+
Simmons Citrate	+	+
Urease	-	-
TCBS	-	-
Mac Konkey	G	G
Muler Hilton / Novo 30 µg	R	R
ONPG	-	-
* Glukosa	+	+
* Laktosa	-	-
* Sukrosa	+	+
* Arabinosa	-	-
* Manitol	+	+
* Inositol	-	-
* Maltosa	+	+
* Trehalose	+	+
* Xylose	+	+
CBBA	-	-
RSA	-	-
Green Pigmen	+	+
HASIL IDENTIFIKASI	Positif <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Positif <i>Pseudomonas fluorescens</i>

21

Lampiran 2. Pembuatan Serbuk Kulit Manggis



Buah Manggis



Kulit manggis Oven

4. diangin-anginkan selama 2 hari.
5. dioven

1. Buah manggis dibuka dan dikupas kulit luarnya
2. Disisakan kulit bagian dalamnya
3. Dipotong kecil-kecil



Serbuk kulit manggis



Kulit manggis kering Oven



7. Serbuk kulit

6. Kulit manggis yang sudah dioven selama 3 hari dengan suhu 50°C , diblender sampai halus

Lampiran 3. Alat Dan Bahan Untuk Biakan Bakteri *P. fluorescens*

a. Alat



Incubator



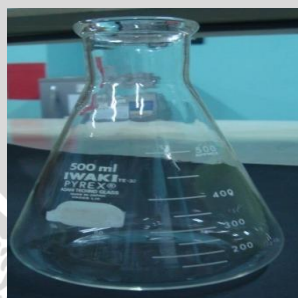
Vortex



Hot plate



Timbangan Digital



Erlenmeyer



Spektrofotometer



Tabung reaksi



Petridisk



Blower



Akuarium



Lemari Es

Lampiran 3. Lanjutan

b. Bahan



TSB (Tryptone Soya Broth)



PSA (*Pseudomonas* selective agar)



Gliserol



Alkohol



Isolat Bakteri



Tissue



Aquadest

Lampiran 4. Alat Pembuatan Preparat Histopatologi



Scoop Net



Nampan



Sectio set



Mikrotom



Wax dispenser



Tissue prossesor



Mikroskop



Ember kecil

Lampiran 5. Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*)

Tabel 4. Data Ikan Lele Dumbo

❖ **Rata-Rata Hasil Pengaruh Larutan Kulit Manggis Terhadap Tingkat Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) yang Diinfeksi Bakteri *P. fluorescens***

Perlakuan	Ulangan	Σ Ikan Awal	Σ Ikan Akhir	SR (%)	Rata-Rata ± Standar Deviasi
A	1	10	7	70	46,67 ± 25,17
	2	10	5	50	
	3	10	2	20	
B	1	10	10	100	93,33 ± 11,54
	2	10	10	100	
	3	10	8	80	
C	1	10	5	50	50 ± 10,0
	2	10	6	60	
	3	10	4	40	
D	1	10	3	30	33,33 ± 5,77
	2	10	3	30	
	3	10	4	40	
Total		120	72	720	
K+	1	10	0	0	0
	2	10	0	0	
	3	10	0	0	

❖ **Hasil Uji Normalitas Kolmogorof-Smirnov ($p>0,05$) Pengaruh Pemberian Larutan Kulit Manggis Terhadap Tingkat Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) yang Terinfeksi Bakteri *P. fluorescens*.**

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test	Kelulushidupan (SR)
N	12
Normal Parameters ^a	
Mean	55.8333
Std. Deviation	2.67848E1
Most Extreme Differences	
Absolute	0.170
Positive	0.170
Negative	-0.117
Kolmogorov-Smirnov Z	0.587
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.881

a. Test Distribution is Normal

Nilai Z = 1,01 $\alpha>0,05$. Sehingga data diatas normal

Lampiran 5. Lanjutan

- ❖ Sidik Ragam Pengaruh Pemberian Larutan Kulit Manggis Terhadap Tingkat Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) yang Diinfeksi Bakteri *P. fluorescens*

Sumber keragaman	df	Jk	Kt	F hitung	F5%	F1%	Sig.
Perlakuan	3	6091.667	2030.556	9,025**	4,07	7,59	0.01*
Acak	8	1800.000	225.000	-	-	-	
Total	11	7891,667	-	-	-	-	

Keterangan * : berbeda nyata (Sig. < 0,05)

Perlakuan

- ❖ Variabel terikat; Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) yang Diinfeksi Bakteri *P. fluorescens*

Perlakuan	Rata-rata	Standar Error	Nilai kepercayaan 95%	
			Terendah	Tertinggi
1	46.667	8.660	26.696	66.637
3	93.333	8.660	73.363	113.304
5	50.000	8.660	30.029	69.971
7	33.333	8.660	13.363	53.304

Lampiran 5. Lanjutan

Post Hoc Test

- ❖ Beberapa Perbandingan Dosis Larutan Kulit Manggis yang Berbeda terhadap Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) yang Diinfeksi Bakteri *P. fluorescens*.

Uji Tukey

Perlakuan (I)	Perlakuan (J)	Rata-rata Perbedaan (I-J)	Standar Error	Sig.	Nilai kepercayaan 95%	
					Terendah	Tertinggi
1	3	-46.6667*	12.24745	0.022	-85.8873	-7.4460
	5	-3.3333	12.24745	0.992	-42.5540	35.8873
	7	13.3333	12.24745	0.706	-25.8873	52.5540
3	1	46.6667*	12.24745	0.022	7.4460	85.8873
	5	43.3333*	12.24745	0.031	4.1127	82.5540
	7	60.0000*	12.24745	0.005	20.7794	99.2206
5	1	3.3333	12.24745	0.992	-35.8873	42.5540
	3	-43.3333*	12.24745	0.031	-82.5540	-4.1127
	7	16.6667	12.24745	0.554	-22.5540	55.8873
7	1	-13.3333	12.24745	0.706	-52.5540	25.8873
	3	-60.0000*	12.24745	0.005	-99.2206	-20.7794
	5	-16.6667	12.24745	0.554	-55.8873	22.5540

Berdasarkan objek yang diamati:

Istilah kesalahan Mean Square (Error) = 225,00

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

- ❖ Hasil Uji Tukey Pengaruh Pemberian Larutan Kulit Terhadap Tingkat Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) yang Diinfeksi Bakteri *P. fluorescens*

Perlakuan	N	Subset		Notasi
		1	2	
7	3	33.3333		a
1	3	46.6667		a
5	3	56.6667	56.6667	ab
3	3		86.6667	b
Sig.		0.554	1.000	

Kelompok yang homogen akan ditampilkan.

Berdasarkan objek yang diamati:

Istilah kesalahan Mean Square (Error) = 225, 00

Lampiran 5. Lanjutan

❖ Uji Polinomial Orthogonal Pengaruh Pemberian Larutan Kulit Manggis Terhadap Tingkat Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) yang Diinfeksi Bakteri *P. fluorescens*

Hasil Perbandingan (K Matrix)

Polynomial		Variable Terikat Kelulushidupan (SR)
Linear	Perkiraan perbandingan	-18.634
	Nilai Hipotesis	0
	Perbedaan (Perkiraan – Hipotesis)	-18.634
	Standar Error	8.660
	Signifikansi	0.064
	Nilai Kepercayaan 95% Terendah	-38.604
	Tertinggi	1.337
Kuadratik	Perkiraan perbandingan	-31.667
	Nilai Hipotesis	0
	Perbedaan (Perkiraan – Hipotesis)	-31.667
	Standar Error	8.660
	Signifikansi	0.006
	Nilai Kepercayaan 95% Terendah	-51.637
	Tertinggi	-11.696
Kubik	Perkiraan perbandingan	26.087
	Nilai Hipotesis	0
	Perbedaan (Perkiraan – Hipotesis)	26.087
	Standar Error	8.660
	Signifikansi	0.017
	Nilai Kepercayaan 95% Terendah	6.117
	Tertinggi	46.058

Lampiran 5. Lanjutan

- ❖ Ringkasan Model Grafik Pengaruh Pemberian Larutan Kulit Manggis Terhadap Tingkat Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) yang Diinfeksi Bakteri *P. fluorescens*

R	R2	Penyesuaian R2	Perkiraan Standar Error
0.89	0.77	0.69	15.0

Koefisiensi Pengaruh Pemberian Larutan Kulit Manggis Terhadap Tingkat Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) yang Diinfeksi Bakteri *P. fluorescens*

	Bukan Koefisien		Koefisien Standar		
	Standar B	Standar Error	Beta	t	Sig.
perlakuan	124.236	33.317	10.833	3.729	0.006
perlakuan ** 2	-33.125	9.743	-23.677	-3.400	0.009
perlakuan ** 3	2.431	0.807	12.760	3.012	0.017
(Constant)	-46.875	29.228		-1.604	0.147

Sehingga persamaan hubungan antara dua variabel tersebut berbentuk kubik dengan persamaan:

$$y = - 3,958 x^2 + 27,5 x + 28,95$$

$$R^2 = 0,664$$

Untuk:

$$x = 1 , y = 52.492$$

$$x = 3 , y = 75.828$$

$$x = 5 , y = 67.5$$

$$x = 7 , y = 27.508$$

Lampiran 5. Lanjutan

- ❖ Grafik Pengaruh Pemberian Larutan Kulit Manggis Terhadap Tingkat Kelulushidupan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) yang Diinfeksi Bakteri *P. fluorescens*

