

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TERIPANG PASIR (*Holothuria scabra*)
TERHADAP PREVALENSI DAN KELULUSHIDUPAN IKAN PATIN
(*Pangasius sp.*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

Oleh :
PANJANG USIANTO
NIM. 105080501111035



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

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TERIPANG PASIR (*Holothuria scabra*)
TERHADAP PREVALENSI DAN KELULUSHIDUPAN IKAN PATIN
(*Pangasius sp.*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

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

**Oleh :
PANJANG USIANTO
NIM. 105080501111035**



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

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TERIPANG PASIR (*Holothuria scabra*)
TERHADAP PREVALENSI DAN KELULUSHIDUPAN IKAN PATIN
(*Pangasius* sp.) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

Oleh :
PANJANG USIANTO
NIM. 105080501111035

Dosen Penguji

Qurrota A'yunin, S.Pi, MP, M.Sc
NIK. 860628 08120917
Tanggal:

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing I**

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

Dosen Pembimbing II

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

**Mengetahui,
Ketua Jurusan**

Dr. Ir. Arning Wiludjeng E., MS
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal :

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, 14 November 2014

Mahasiswa

Panjang Usianto



UCAPAN TERIMAKASIH

Suatu kebanggan bagi penulis, karena dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini yang tentunya tidak lepas dari dukungan semangat dan segenab bantuan dari berbagai pihak, karenanya dalam kesempatan ini penulis menyampaikan banyak terimakasih dan penghargaan kepada:

1. Bapak Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D dan Bapak Dr. Ir. Maftuch, M.Si selaku Dosen Pembimbing karena atas bimbingan, bantuan serta kesabaran beliau skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Ibu Qurrota A'yunin, S.Pi, MP, M.Sc selaku Dosen Penguji atas arahan dan masukan serta waktu yang telah diberikan selama ini sehingga laporan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
3. Ibu dan Ayah serta seluruh keluarga tercinta yang dengan sepenuh hati selalu memberikan dukungan serta ketulusan Do'a kepada penulis hingga skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Istriku tercinta "Erna Dwi Susanti" serta Anakku tersayang "Kirana Aerylin Bellsafira", ucapan terima kasih sebesar-besarnya, karena kalian semangat terbesar dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Team Holothurin (Akbar, Winda, Erika, Sony, Cahya, Sofyan dan Tegar), terima kasih atas segala bantuan kalian berupa waktu dan tenaga, tanpa kalian skripsi ini akan sulit bagi penulis.

Akhirnya hanya kepada Allah SWT penulis mohon petunjuk dan pertolongan semoga karya ini bermanfaat bagi penulis dan bagi para pembaca.

Malang, 14 November 2014

Penulis

RINGKASAN

Panjang Usianto. Pengaruh Pemberian Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Prevalensi dan Kelulushidupan Ikan Patin (*Pangasius sp.*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. **Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D dan Dr. Ir. Maftuch, M.Si.**

Ikan Patin (*Pangasius sp.*) merupakan salah satu primadona bahan makanan yang banyak digemari oleh semua kalangan. Selain rasanya yang enak juga memiliki kandungan gizi yang baik. Dari segi harga memiliki harga penjualan yang relatif tinggi. Akan tetapi potensi-potensi yang menguntungkan tersebut tidak lepas dari adanya kendala yang muncul selama proses pemeliharaan ikan patin tersebut, salah satunya adalah serangan penyakit khususnya bakteri *A. hydrophila* yang kebanyakan dapat menyebabkan kematian. Oleh karena itu perlu adanya suatu alternatif pencegahan. Salah satunya dengan memanfaatkan bahan bioaktif yang terdapat pada teripang pasir (*Holothuria scabra*) untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh ikan patin sehingga dapat meminimalisir serangan dari bakteri *A. hydrophila*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *H. scabra* terhadap respon imun non-spesifik ditinjau dari prevalensi dan kelulushidupan ikan patin (*Pangasius sp.*). Dilaksanakan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, pada tanggal 1 Januari – 10 April 2014.

Metode yang digunakan adalah menggunakan metode eksperimen dan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah pemanfaatan ekstrak teripang pasir *H. scabra* dengan dosis 0 ppm sebagai kontrol (-), 50 ppm (A), 100 ppm (B), 150 ppm (C) dan perlakuan kontrol (+) tanpa diberi perlakuan apapun. Parameter utama yang diamati adalah prevalensi dan kelulushidupan ikan patin (*Pangasius sp.*) dan parameter penunjang yang diamati adalah suhu, DO dan pH.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak teripang pasir yang berbeda memiliki pengaruh yang nyata terhadap prevalensi ikan patin. Perlakuan B (100 ppm) dengan rata-rata 36,67% memberikan prevalensi terendah diikuti oleh perlakuan A (50 ppm) dengan rata-rata 70%, perlakuan kontrol (-) (0 ppm) dengan rata-rata 80% dan perlakuan C (150 ppm) dengan rata-rata 93%. Dari data tersebut didapatkan dosis yang terbaik (optimal) adalah 85,5 ppm dengan rata-rata prevalensi sebesar 47,88%.

Perbedaan perlakuan juga memberikan pengaruh yang nyata terhadap kelulushidupan ikan. Perlakuan B (100 ppm) dengan rata-rata 76,67% memberikan kelulushidupan tertinggi diikuti oleh perlakuan A (50 ppm) dengan rata-rata 50%, perlakuan C (150 ppm) dengan rata-rata 36,67% dan perlakuan kontrol (-) (0 ppm) dengan rata-rata 16,67%. Dari data tersebut didapatkan dosis terbaik (optimal) adalah 43,66 ppm dengan rata-rata kelulushidupani sebesar 54,66%.

Ditunjang dengan nilai kualitas air sebagai media pemeliharaan selama penelitian yang masih berada pada kisaran toleransi ikan patin *Pangasius sp.*, yaitu: suhu 27–30 °C, pH 7,21–8,4 dan DO 5–8 ppm.

Dari hasil penelitian yang dilakukan sebaiknya ekstrak teripang pasir yang digunakan pada dosis 42,75 ppm untuk mendapatkan prevalensi terbaik, sedangkan untuk mendapatkan kelulushidupan terbaik sebaiknya digunakan dosis 43,66 ppm.

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyajikan laporan skripsi yang berjudul Pengaruh Pemberian Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Terhadap Prevalensi Dan Kelulushidupan Ikan Patin (*Pangasius* sp.) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D selaku dosen pembimbing pertama atas petunjuk, bantuan, arahan dan bimbingan yang tak ternilai harganya sehingga laporan ini dapat terselesaikan.
2. Dr. Ir. Maftuch, M.Si selaku dosen pembimbing kedua atas petunjuk, bantuan, arahan, motivasi dan bimbingan yang tak ternilai harganya sehingga laporan ini dapat terselesaikan.

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

Malang, 14 November 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
RINGKASAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis Penelitian.....	4
1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan.....	4
 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Holothuria scabra</i>	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran.....	6
2.1.3 Manfaat dan Kegunaan.....	6
2.1.4 Bahan Aktif Teripang Pasir <i>H. scabra</i>	7
2.2 Ekstraksi Teripang Pasir <i>H. scabra</i>	7
2.2.1 Ekstraksi.....	7
2.2.2 Fraksinasi Ekstrak Teripang Pasir <i>H. scabra</i>	9
2.3 Biologi Ikan Patin (<i>Pangasius sp.</i>).....	9
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	9
2.3.2 Habitat dan Daerah Penyebaran.....	11
2.3.3 Makanan dan Kebiasaan Makan.....	11

2.3.4 Perkembangbiakan	12
2.4 Penyakit	12
2.5 Kelulushidupan.....	13
2.6 Prevalensi	14
2.7 Sistem Imun Ikan.....	14
2.7.1 Respon Imun Non-Spesifik.....	14
2.7.2 Efisiensi dan Cara Pemberian Immunostimulan	15
2.7.3 Mekanisme Kerja Immunostimulan.....	16
2.8 Kualitas Air	17
2.8.1 Suhu	17
2.8.2 pH	17
2.8.3 Oksigen Terlarut.....	17

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian.....	18
3.1.1 Alat-alat Penelitian	18
3.1.2 Bahan-bahan Penelitian	19
3.2 Metodologi Penelitian	20
3.2.1 Metode Penelitian.....	20
3.2.2 Rancangan Penelitian.....	20
3.3 Tahapan Penelitian	22
3.3.1 Persiapan Penelitian.....	22
a. Sterilisasi Tempat Perlakuan	22
b. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	23
c. Pembiakan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	24
d. Ekstraksi	24
e. Uji Bioaktif Teripang Pasir	25
f. Pengukuran Total Senyawa Bioaktif	26
3.3.2 Penelitian Pendahuluan.....	27
a. Uji Pendahuluan Ekstrak Teripang Pasir.....	27
b. Uji Pendahuluan LC ₅₀ Bakteri <i>A. hydrophila</i>	27
c. Uji Daya Hambat Bakteri <i>A. hydrophila</i>	28
3.3.3 Pelaksanaan Penelitian	28
a. Pemberian Dosis Ekstrak Teripang Pasir Sebagai Immunostimulan.....	28
b. Penginfeksian Dengan Bakteri <i>A. hydrophila</i>	29

3.4 Parameter Uji	29
3.4.1 Parameter Utama	29
a. Prevalensi Ikan Patin	29
b. Kelulushidupan Ikan Patin	30
3.4.2 Parameter Penunjang	30
3.5 Analisis Data	30
 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Tingkat Prevalensi Ikan Patin Yang Diinfeksi bakteri <i>A. hydrophila</i>	31
4.2 Tingkat Kelulushidupan Ikan Patin yang Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	34
4.3 Gejala Patologi Klinis Pada Ikan Patin Yang Diinfeksi <i>A. hydrophila</i>	37
4.4 Kualitas Air	39
 5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	47



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Teripang Pasir <i>H. scabra</i>	5
2. Ikan Patin <i>Pangasius</i> sp.	10
3. Siklus Hidup Ikan Patin <i>Pangasius</i> sp.....	12
4. Denah Penelitian	22
5. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Teripang Pasir (<i>H. scabra</i>) Terhadap Rata–Rata Prevalensi Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) Setelah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	34
6. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Teripang Pasir (<i>H. scabra</i>) Terhadap Rata–Rata Kelulushidupan Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) Setelah Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	37

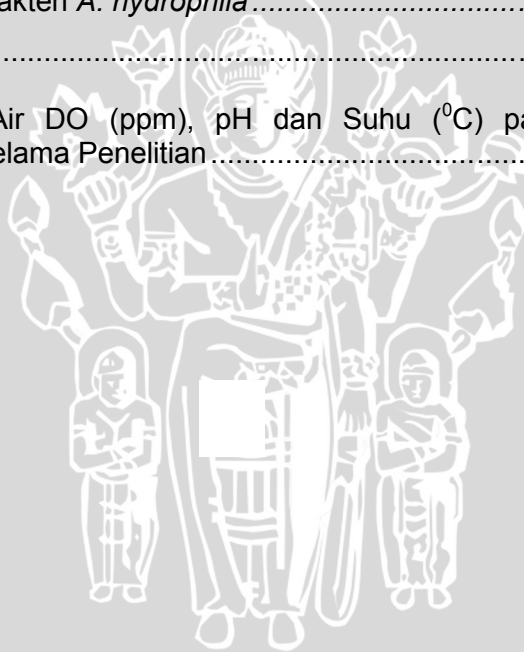


DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Metode Pemberian Imunostimulan Pada Ikan.....	15
2. Ringkasan Kelebihan dan Kekurangan Metode Pemberian Imunostimulan Pada Ikan	16
3. Alat Penelitian.....	19
4. Bahan Penelitian	20
5. Rancangan Perlakuan	21
6. Data Hasil Perhitungan Rata-Rata Prevalensi Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> Dalam Persentase (%).....	33
7. Analisis Sidik Ragam Prevalensi Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	33
8. Uji BNT Rata-Rata Prevalensi Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp) Setelah Diinfeksi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	34
9. Data Hasil Perhitungan Rata-Rata Kelulushidupan Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> Dalam Persentase (%).....	36
10. Analisis Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	36
11. Uji BNT Rata-Rata Kelulushidupan Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp) Setelah Diinfeksi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	37
12. Pengamatan Gejala Klinis Ikan Uji Setelah Penginfeksian Bakteri <i>A. hydrophila</i>	39
13. Parameter Kualitas Air Media Pemeliharaan Selama Penelitian	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Penentuan Dosis Perendaman Ikan Patin Menggunakan Fraksi N – Butanol <i>H. scabra</i> untuk Penelitian In Vivo	47
2. Bagan Penentuan Lama Waktu Perendaman Ikan Patin Terbaik Menggunakan Fraksi N – Butanol <i>H. scabra</i> (In Vivo).....	48
3. Bagan Pembuatan Ekstrak Teripang Pasir	49
4. Uji Kualitatif	50
5. Perhitungan Konsentrasi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	51
6. Data Hasil Perhitungan Rata – Rata Prevalensi Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	52
7. Data Hasil Perhitungan Rata – Rata Kelulushidupan Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	54
8. Foto Ikan Patin	56
9. Data Kualitas Air DO (ppm), pH dan Suhu (°C) pada Media Pemeliharaan Selama Penelitian	58



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Saat ini, tingkat konsumsi ikan Indonesia 31 kilogram/kapita/tahun yang sebelumnya selama tiga tahun terakhir adalah 29,08 kilogram/kapita/tahun (2009) 30,47 kilogram/kapita/tahun (2010) dan pada 2011 sebanyak 31,64 kilogram/kapita/tahun (Sutardjo, 2012). Melihat keadaan demikian tentu saja para pembudidaya harus meningkatkan produksinya. Menurut KKP (2012) produksi perikanan budidaya pada tahun 2010 meningkat dari 4,78 juta ton ke 6,97 juta ton pada tahun 2011.

Jenis komoditas ikan air tawar yang banyak diminati dan memiliki nilai ekonomis tinggi adalah ikan patin (*Pangasius sp.*). Menurut Listyanto dan Septyan (2010) ikan patin banyak terdapat di perairan umum dan memiliki prospek yang baik serta nilai ekonomis yang tinggi sebagai ikan konsumsi. Selain itu Ikan patin juga merupakan salah satu ikan asli perairan Indonesia yang telah berhasil didomestikasi, sebagai ikan unggul dan ekonomis, serta pengembangan budidaya yang cukup prospektif (Andri dan Jenny, 2006).

Dalam usahanya untuk memenuhi kebutuhan konsumen yang semakin meningkat, kegiatan budidaya ikan patin (*Pangasius sp.*) secara intensif dan padat tebar yang tinggi memiliki dampak negatif apabila tidak ditangani secara tepat. Salah satu dampak yang muncul adalah menurunnya kualitas air yang diakibatkan oleh banyaknya zat organik yang terakumulasi di perairan, baik yang berasal dari sisa pakan dan feses yang dapat membuat ikan stres dan mudah terserang penyakit. Menurut Afrianto dan Liviawaty (1992) kualitas air yang buruk, misalnya kadar amoniak yang tinggi, oksigen terlarut yang rendah, kandungan bahan organik yang tinggi dan keberadaan bakteri akan menciptakan lingkungan hidup yang kurang baik bagi ikan dan menimbulkan stres.

Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan patin adalah bakteri *Aeromonas sp.*. Bakteri ini akan menyerang di saat kualitas air menurun dan kondisi ikan tidak sehat. Ciri-ciri serangan dari bakteri *Aeromonas sp.* antara lain warna tubuh menjadi agak gelap terjadi luka dan pendarahan, perut membusung, dalam waktu yang tidak lama ikan akan lemas dan sering mengambil O₂ di permukaan air dan akhirnya ikan tersebut akan mati (Afrianto dan Liviawaty, 1992 dalam Laili, 2007). Oleh karena itu perlu adanya suatu teknologi yang tepat untuk mengurangi serangan dari penyakit *Aeromonas sp.* tersebut.

Salah satu usaha yang dapat ditempuh untuk mengurangi serangan dari bakteri *Aeromonas sp.* adalah melalui kegiatan pencegahan dengan cara meningkatkan sistem kekebalan tubuh ikan patin (*Pangasius sp.*) melalui pemberian immunostimulan. Mudjiutami *et al.*, (2005) menerangkan bahwa immunostimulan sendiri adalah suatu zat yang termasuk dalam pencegahan, mempunyai kemampuan untuk meningkatkan ketahanan tubuh terhadap infeksi. Penggunaan immunostimulan pada budidaya ikan merupakan sesuatu yang baru bagi kesehatan ikan dan pencegahan terhadap penyakit.

Salah satu sumber zat immunostimulan adalah teripang jenis *Holothuria sp.* yang mengandung senyawa yang berperan dalam penanggulangan penyakit ikan. Senyawa yang terdapat pada teripang antara lain lektin, sterol, saponin/triterpen (Suhermanto *et al.*, 2011).

1.2 Rumusan Masalah

Sistem budidaya perikanan air tawar yang hingga kini telah mencapai tahap intensifikasi tidak terlepas dari resiko biologis, yaitu munculnya penyakit (Khairuman *et al*, 2008). Penyakit masih menjadi hal yang menakutkan bagi para pembudidaya ikan, karena ikan yang terserang penyakit

dapat mati, sehingga produksi para pembudidaya menurun. Salah satu penyakit yang umum menyerang ikan air tawar adalah bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Saponin memproduksi cytokines seperti interleukin dan interferons yang berperan dalam efek imunostimulan Interleukin dan interferons akan bereaksi dengan antigen (benda-benda asing) yang masuk ke dalam tubuh. Saponin dalam jumlah normal berperan sebagai immunostimulator, sedangkan dalam jumlah yang melebihi batas normal saponin akan berperan sebagai immunosupresor (zat yang menekan/menurunkan sistem imun) (Kurnianingtyas *et al.*, 2013).

Berdasarkan uraian diatas, senyawa pada ekstrak *Holothuria scabra* diduga dapat digunakan untuk meningkatkan respon imun pada ikan patin (*Pangasius sp.*), maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

- Apakah pemberian ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang berbeda mempengaruhi prevalensi ikan patin (*Pangasius sp.*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*?
- Apakah pemberian ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang berbeda mempengaruhi kelulushidupan ikan patin (*Pangasius sp.*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

- Untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang berbeda mempengaruhi prevalensi ikan patin (*Pangasius sp.*) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*.
- Untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang berbeda mempengaruhi kelulushidupan ikan patin (*Pangasius sp.*) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*.

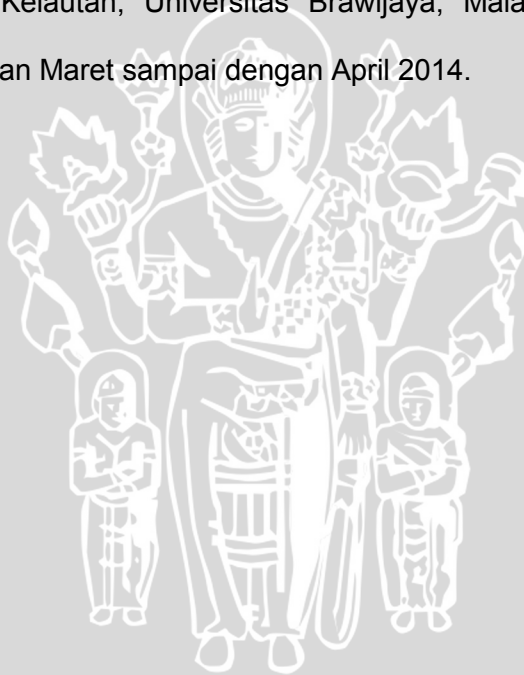
1.4 Hipotesis Penelitian

H₀ Diduga bahwa penggunaan ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) tidak berpengaruh terhadap prevalensi dan kelulushidupan ikan patin (*Pangasius* sp).

H₁ Diduga bahwa penggunaan ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) berpengaruh terhadap prevalensi dan kelulushidupan ikan patin (*Pangasius* sp).

1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan April 2014.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Holothuria scabra*

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Wibowo (1997) mengatakan bahwa klasifikasi teripang pasir *Holothuria scabra* sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Echinodermata
Class	: Holothuridea
Order	: Aspidochirotida
Family	: Holothuriidae
Genus	: <i>Holothuria</i>
Species	: <i>Holothuria scabra</i>

Teripang umumnya berbentuk bulat panjang atau selindris sekitar 10-30 cm. Mulutnya dikelilingi oleh tentakel-tentakel atau lengan peraba yang kadang-kadang bercabang-cabang, mulut terdapat pada salah satu ujungnya dan dubur pada ujung lainnya. Tubuhnya berotot dan tipis dan tebal, lembek atau licin serta kulitnya dapat kasar atau berbintil bintil (Nontji, 1987).



Gambar 1. Teripang Pasir *H. Scabra*

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Teripang umumnya hidup berasosiasi dengan ekosistem terumbu karang dan lamun pada zona intertidal sampai kedalaman 20 m dengan dasar berpasir halus dengan tanaman pelindung seperti lamun, terlindung dari hempasan ombak, dan perairan yang kaya akan detritus. Di Indonesia, hewan ini banyak tersebar di daerah Riau, Lampung, Sulawesi, Nusa Tenggara Barat dan Timur, Maluku, dan Papua (Aziz, 1997).

Pada umumnya teripang hidup sebagai bentik di tempat berpasir atau tempat yang agak lunak (pasir berlumpur). Teripang dapat ditemukan hampir di seluruh perairan pantai, mulai daerah pasang surut yang dangkal sampai perairan yang lebih dalam. Untuk hidupnya, teripang lebih menyukai perairan yang jernih dan airnya relatif tenang (Andari *et al.*, 1988 dalam Aras, 2013).

2.1.3 Manfaat dan Kegunaan

Teripang dimanfaatkan sebagai bahan pangan tradisional, yang dikonsumsi oleh masyarakat di negara tropis dan subtropis seperti Cina, Hong Kong, Korea Selatan, Singapura dan Jepang. Di beberapa negara tersebut, ekstrak dari teripang jenis tertentu digunakan sebagai bahan obat tradisional (Ozer *et al.*, 2004).

Salah satu biota laut yang berpotensi menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat-obatan adalah teripang. Teripang sudah ratusan tahun digunakan sebagai obat-obatan di Cina yang diyakini mampu menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Efek penyembuhan tersebut mungkin disebabkan senyawa bioaktif yang terdapat pada tubuh teripang seperti saponin (*triterpen glikosida*) (Albuntana *et al.*, 2011).

2.1.4 Bahan Aktif Teripang Pasir *H. scabra*

Teripang (filum Echinodermata) telah diketahui kaya akan berbagai macam senyawa bermanfaat. Senyawa yang terkandung di dalam biota ini pada umumnya sama, hanya persentasenya berbeda antara satu spesies dengan spesies lain (Suhermanto *et al.*, 2011). Kelompok teripang ini diketahui mempunyai kandungan senyawa toksik yang dikenal sebagai "holothurin" (Darsono, 1998).

Teripang menunjukkan bioaktivitas sebagai anti jamur, anti mikroba, sitotoksik dan imunomodulator. Imunomodulator adalah bahan-bahan yang dapat mengembalikan fungsi respons imun yang terganggu dari berbagai komponen sistem imun (*imunorestorasi*), memperbaiki dan memperkuat respons imun dengan menggunakan bahan yang merangsang sistem imun (*imunostimulant*) atau menekan respons imun yang fungsinya berlebihan (*imunosupresi*) (Suhermanto *et al.*, 2011).

Senyawa metabolit yang dominan dihasilkan teripang berupa saponin. Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yang kerangka dasarnya berhubungan dengan struktur gugus glukosa dan triterpenoid. Apabila senyawa tersebut dihidrolisis akan menghasilkan suatu senyawa triterpenoid dan glikosida (gula) (Zhang dan Yi, 2006).

2.2 Ekstraksi Bioaktif Teripang Pasir *H. scabra*

2.2.1 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan kandungan senyawa kimia alami nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dengan menggunakan alat yang sesuai (Febriansyah, 2009).

a) Ekstraksi secara dingin

- **Metode Maserasi:** Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapakali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.
- **Metode Perkolasi:** Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruang. Prosesnya terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

b) Ekstraksi secara panas

- **Metode refluks:** Reflusk adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3 – 5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.
- **Metode destilasi uap:** Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dari ketel secara kontinyu sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran

(senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian.

2.2.2 Fraksinasi Ekstrak Kasar Teripang Pasir *H. scabra*

Menurut Zhang *et al.* (2006) senyawa metabolit yang dominan dihasilkan teripang berupa saponin. Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yang kerangka dasarnya berhubungan dengan struktur gugus glukosa dan triterpenoid. Apabila senyawa tersebut dihidrolisis akan menghasilkan suatu senyawa triterpenoid dan glikosida (gula).

Saponin memproduksi cytokines seperti interleukin dan interferons yang berperan dalam efek imunostimulan. Interleukin dan interferons akan bereaksi dengan antigen (benda-benda asing) yang masuk ke dalam tubuh. Saponin dalam jumlah normal berperan sebagai immunostimulator, sedangkan dalam jumlah yang melebihi batas normal saponin akan berperan sebagai immunosupresor (zat yang menekan/menurunkan sistem imun) (Kurnianingtyas *et al.*, 2013).

2.3 Biologi Ikan Patin (*Pangasius sp.*)

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

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

Domain : Eukaryota

Kingdom : Animalia

Subkingdom : Bilateria

Phylum : Chordata

Subphylum : Vertebrata

Infraphylum : Gnathostomata

Superclass : Osteichthyes

Class : Osteichthyes

Subclass : Actinopterygii

Order : Siluriformes

Family : Pangasiidae

Genus : Pangasius

Specific name : djambal

Scientific name : *Pangasius djambal*



Gambar 2. Ikan Patin (*Pangasius* sp.)

Menurut Kordi (2010) menerangkan bahwa patin mempunyai bentuk tubuh memanjang, agak pipih, dan tidak bersisik. Panjang tubuhnya dapat mencapai 120 cm untuk patin djambal (*Pangasius djambal*) dan 150 cm untuk patin siam (*Pangasius hypophthalmus*). Ikan patin memiliki badan memanjang berwarna putih seperti perak dengan punggung berwarna kebiru-biruan. Panjang tubuhnya bisa mencapai 120 cm, suatu ukuran yang cukup besar untuk ukuran

ikan air tawar domestik. Kepala patin relatif kecil dengan mulut terletak diujung kepala agak disebelah bawah. Hal ini merupakan ciri khas golongan catfish. Pada sudut mulutnya terdapat dua pasang kumis pendek yang berfungsi sebagai peraba (Amri, 2007 *dalam* Yuliartati, 2011).

2.3.2 Habitat dan Daerah Penyebaran

Ikan patin di Sulawesi Selatan tergolong ikan air tawar yang kurang populer sebagai ikan konsumsi dan relatif masih baru dibudidayakan. Ikan patin banyak diperjual belikan sebagai komoditi ikan hias dan dapat ditemukan di hampir semua pasar hobi ikan hias di Sulawesi Selatan. Budidaya ikan ini belum berkembang dan umumnya ikan patin hias didatangkan dari luar Sulawesi terutama dari pulau Jawa (Anshary *et al.*, 2006).

Menurut Mahyuddin (2010) ikan patin banyak dijumpai pada habitat atau lingkungan hidup berupa perairan air tawar, yakni di waduk, sungai-sungai besar, dan muara-muara sungai. Patin lebih banyak menetap di dasar perairan daripada di permukaan. Di Indonesia, patin tersebar di perairan pulau Sumatera, Kalimantan, dan Jawa. Sementara di luar Indonesia, patin dan kerabatnya banyak tersebar di perairan Thailand, Vietnam, Cina, Kamboja, Myanmar, Laos, Burma, India, Taiwan, Malaysia, dan Semenanjung Indocina.

2.3.3 Makanan dan Kebiasaan Makan

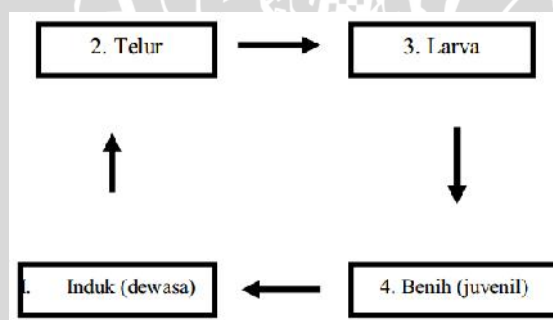
Patin mempunyai kebiasaan makan di dasar perairan atau kolam (*bottom feeder*). Berdasarkan jenis pakannya, patin digolongkan sebagai ikan yang bersifat karnivora. Pada saat larva, patin bersifat kanibalisme, yaitu memiliki sifat yang suka memangsa jenisnya sendiri. Jika kekurangan pakan, larva patin tidak segan-segan memangsa kawanya sendiri. Oleh karena itu, ketika masih dalam tahap larva, pemberia pakan tidak boleh terlambat (Mahyuddin, 2010).

Menurut Djariah (2001), Ikan patin memerlukan sumber energi yang berasal dari makanan untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup. Patin merupakan ikan pemakan segala (omnivora), tetapi cenderung ke arah karnivora.

2.3.4 Perkembangbiakan

Di alam, patin memijah di awal atau sepanjang musim hujan. Hujan ini berhubungan erat dengan bertambahnya volume air yang biasanya terjadi pada musim hujan, meningkatnya kualitas air, serta ketersediaan jasad renik (pakan alami). Pada musim hujan, terjadi peningkatan kedalaman air yang dikelola dengan baik dan diperhatikan kematangan gonad dari induk jantan dan induk betinanya (Mahyuddin, 2010).

Menurut Amri (2007) dalam Yuliartati (2011) bahwa ikan patin memiliki fase kehidupan yaitu telur, larva, benih (juvenil), dan induk (dewasa) (Gambar 3).



Gambar 3. Siklus Hidup Ikan Patin (*Pangasius* sp.)

2.4 Penyakit

Penyakit adalah terganggunya kesehatan ikan yang diakibatkan oleh berbagai sebab yang dapat mematikan ikan. Secara garis besar penyakit yang menyerang ikan dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu penyakit infeksi (penyakit menular) dan non infeksi (penyakit tidak menular). Penyakit menular

adalah penyakit yang timbul disebabkan oleh masuknya makhluk lain kedalam tubuh ikan, baik pada bagian tubuh dalam maupun bagian tubuh luar. Makhluk tersebut antara lain adalah virus, bakteri, jamur dan parasit. Penyakit tidak menular adalah penyakit yang disebabkan antar lain oleh keracunan makanan, kekurangan makanan atau kelebihan makanan dan mutu air yang buruk (Gusrina, 2008).

Bakteri Penyakit bakteri yang dapat menyerang ikan patin adalah *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. Penyakit ini menyerang bagian perut, dada, dan pangkal sirip disertai dengan perdarahan (Khairuman dan Dodi, 2009).

2.5 Kelulushidupan

Menurut Setiawan *et al.* (2013) kelulushidupan merupakan persentase organisme yang hidup pada akhir pemeliharaan dari jumlah organisme yang ditebar pada saat pemeliharaan dalam suatu wadah.

Menurut Effendi (1979) dalam Gusnanto *et al.* (2013) cara menghitung *survival rate* / rasio kelulushidupan adalah sebagai berikut :

$$SR (\%) = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = survival rate / rasio kelulushidupan larva (%)

Nt = total ikan hidup pada akhir penelitian

No = total ikan hidup pada awal penelitian

2.6 Prevalensi

Prevalensi adalah pengukuran jumlah individu yang mengalami kondisi pada "poin" waktu tertentu (missal, 1 juli), sementara periode prevalensi adalah pengukuran jumlah individu yang mengalami kondisi tertentu pada suatu periode/waktu tertentu (Luanaigh dan Cindy, 2005).

Menurut Timmreck (1998) menerangkan bahwa prevalensi adalah jumlah kasus penyakit, orang yang terinfeksi, atau kondisi, yang ada pada satu waktu tertentu, dihubungkan dengan besar populasi darimana kasus itu berasal. Adapun rumus prevelensi menurut Moller dan Andreas (1986) *dalam* Laili (2007), adalah:

$$\text{Prevalensi} = \frac{\sum \text{Ikan yang sakit}}{\sum \text{Populasi ikan}} \times 100\%$$

2.7 Sistem Imun Ikan

2.7.1 Respon Imun Non-Spesifik

Respon imun ikan terdiri dari respon seluler dan respon humoral. Respon seluler bersifat non-spesifik sedangkan respon humoral bersifat spesifik. Aktivitas respon imunitas tersebut dapat distimulasi oleh imunostimulator. Respon imunitas dibentuk oleh jaringan limfoid yang menyatu dengan myeloid yang dikenal dengan jaringan limfomyeloid pada ikan. Organ limfomyeloid pada ikan teleostei adalah limpa, hati dan ginjal depan. Produk jaringan limfomyeloid adalah sel-sel darah dan respon imunitas baik seluler maupun humoral. Interleukin, interferon, dan sitokin tersebut berperan sebagai komunikator dan amplikasi dalam mekanisme pertahanan humoral dan seluler ikan. Oleh sebab itu, mekanisme pertahanan tubuh yang sinergis antara pertahanan humoral dan seluler ditandai dengan adanya interleukin, interferon dan sitokin (Aliffudin, 1999).

Sistem imun non-spesifik merupakan sistem pertahanan tubuh paling depan dan sebagai pelindung alami tubuh dari serangan infeksi. Disebut sistem imun non-spesifik karena telah ada dan berfungsinya sejak lahir, serta merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme, serta dapat memberikan respon langsung terhadap antigen (Winarsih, 2010).

2.7.2 Efisiensi dan Cara Pemberian Immunostimulan

Raa (2000) dalam Lengka *et al.* (2013) menyatakan imunostimulan merupakan suatu bahan yang dapat meningkatkan sistem kekebalan non spesifik ikan, dan merupakan alternatif bagi penggunaan bahan kimia atau obat-obatan.

Berikut ini akan dijelaskan pemberian dosis dengan metode perendaman, penyuntikan dan oral dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Metode Pemberian Immunostimulan Pada Ikan

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

Sumber : Galindo dan Hosokawa, 2004.

Metode penyuntikan dan perendaman optimum pada pemeliharaan dengan sistem intensif akan tetapi metode tersebut membutuhkan penanganan yang ekstra terhadap obyek yang dikenakan perlakuan. Selain itu, metode tersebut juga membutuhkan tenaga yang lebih besar, memakan waktu yang lebih banyak dan menjadi tidak praktis ketika berat ikan kurang dari 15 g. Pemberian immunostimulan melalui oral adalah metode yang cocok untuk diterapkan pada budidaya yang dalam pelaksanaannya tidak menimbulkan stres pada ikan dan memungkinkan pelaksanaan secara massal. Perbedaan ketiga metode ini dapat dilihat pada Tabel 2.

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

Metode	Kelebihan	Kekurangan
Penyuntikan	Cara immunostimulan paling manjur dan hemat untuk ikan besar	Sangat berguna untuk pemeliharaan intensif, butuh kerja lebih, potensi ikan untuk stres tinggi (ketika dibius atau penanganan). Berat ikan harus >10-15 g.
Perendaman	Memungkinkan untuk immunostimulan ikan kecil (>5	Cocok untuk intensif akuakultur, keampuhan

Oral	g), metode paling ekonomis dan pelaksanaan perendaman non stressing. Satu-satunya cara yang tidak berpotensi menimbulkan stres, memungkinkan untuk digunakan pada immunostimulasi massal untuk ukuran berapapun, dan tidak membutuhkan banyak tenaga serta biaya.	dibawah metode injeksi dan pengangkatan dari bak perendaman berpotensi menimbulkan stres. Keampuan rendah, membutuhkan banyak bahan immunostimulan untuk mencapai tingkat proteksi.
-------------	--	--

Sumber : Galindo dan Hosokawa, 2004.

2.7.3 Mekanisme Kerja Immunostimulan

Mori (1990) dalam Alifuddin (2002), mengemukakan, bahwa respon imunitas pada hewan merupakan upaya proteksi terhadap infeksi maupun preservasi fisiologik homeostasi. Respon imunitas hewan akuatik terdiri dari respon non spesifik dan spesifik baik pada ikan maupun pada udang. Karenanya, memori, spesifitas dan pengenalan zat asing merupakan dasar mekanisme respon imunitas baik pada ikan maupun udang.

Menurut Anderson (1992) cara penggunaan immunostimulan memiliki pola yang sama dengan penggunaan antibiotik atau bahan kimia, tetapi penggunaannya masih memerlukan penelitian lebih lanjut. Pada pemberian dosis tinggi immunostimulan akan menyebabkan penekanan mekanisme pertahanan. Pemberian dosis rendah, immunostimulan menjadi tidak efektif, hal ini nyata pada pemberian secara suntikan. Pada penyelidikan levamisol, penyuntikan dosis tinggi menyebabkan penekanan respon imun spesifik dan penurunan jumlah leukosit.

2.8 Kualitas Air

2.8.1 Suhu

Suhu adalah kapasitas panas. Pengukuran suhu sebaiknya secara siklus harian dengan termometer, sehingga suhu yang terukur benar-benar akurat tanpa banyak dipengaruhi oleh suhu sekitarnya (Sutisna *et al*, 1995).

Untuk ikan-ikan pada perairan tropis tumbuh dengan baik pada suhu antara 25-32°C (Boyd, 1982). Kisaran suhu yang optimal untuk pertumbuhan ikan patin adalah 25-30°C (Susanto, 2009).

2.8.2 pH

Derajat keasaman (pH) adalah singkatan dari puissance negatif de H, yaitu logaritma negatif dari kepekatan ion-ion H yang terlepas dalam suatu larutan atau cairan. Hal ini mempunyai pengaruh yang besar terhadap tumbuhan dan binatang air (Rifai dan Pertagunawan, 1985 *dalam* A'in, 2009).

Derajat keasamaan itu sendiri menunjukkan kondisi perairan apakah asam ataupun basa. Kisaran pH optimum yang cocok untuk ikan patin adalah 6,7-8,6 (Susanto, 2009).

2.8.3 Oksigen Terlarut

Oksigen terlarut dalam air sangat penting untuk menunjang pernafasan dan mempunyai pengaruh yang menentukan dalam siklus nitrogen yang membedakan proses nitrifikasi dan denitrifikasi (A'in, 2009).

Oksigen terlarut yang diserap akan digunakan untuk aktivitas tubuh seperti bergerak, bertumbuh dan berkembang biak sehingga tidak boleh kekurangan agar aktivitas terus berlangsung. Kandungan oksigen (O₂) optimum 5-6 ppm (Susanto, 2009).

III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat-alat Penelitian

Berikut alat beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian ini terdapat pada Tabel 3.

Tabel 3. Alat Penelitian

No	Alat	Fungsi
1	Baskom	Sebagai tempat bahan <i>H. Scabra</i>
2	Gunting atau pisau	Sebagai alat pemotong bahan
3	Timbangan Analitik	Untuk menimbang bahan
4	Timbangan Digital	Untuk menimbang bahan
5	Beaker Glass	Sebagai tempat bahan dalam proses maserasi
6	Gelas Ukur	Sebagai alat dalam mengukur bahan larutan
7	Labu Erlenmeyer	Sebagai tempat pembiakan bakteri
8	Botol Akuades	Sebagai tempat akuades
9	Cawan Petri	Sebagai tempat agar dan bakteri
10	Corong	Sebagai alat pembantu penuangan larutan
11	Autoklave	Sebagai alat sterilisasi
12	Loyang	Sebagai tempat bahan dalam proses waterbath
13	Bunsen	Sebagai alat sterilisasi
14	Magnetik Stirer	Untuk menghomogenkan larutan
15	Tabung Reaksi	Sebagai tempat kultur bakteri
16	Rak Tabung Reaksi	Sebagai tempat tabung reaksi
17	Jarum Ose	Sebagai alat penggoresan bakteri
18	Spektrofotometer	Untuk mengukur panjang gelombang bahan
19	Spatula	Untuk menghomogenkan larutan
20	Hot Plate	Sebagai alat pemanas
21	Lemari Pendingin	Untuk menyimpan bakteri pada suhu rendah
22	Vortex	Untuk menghomogenkan larutan
23	Pipet Volume	Untuk mengambil larutan dalam jumlah banyak
24	Mikropipet	Untuk mengambil larutan dalam jumlah sedikit
25	Bola Hisap	Sebagai alat bantu untuk mengambil larutan

26	Triangle	Sebagai penyangga pada bunsen
27	Akuarium (30x30x30) cm	Sebagai wadah air media
28	Aerator dan Batu Aerasi	Sebagai alat bantu penghasil oksigen
29	Selang Aerator	Sebagai alat bantu aerasi
30	Blower	Sebagai alat penghasil oksigen
31	<i>Scoop Net</i>	Untuk memindahkan ikan uji
32	Termometer	Untuk mengukur suhu
33	pH Meter	Untuk mengukur pH air media
34	DO Meter	Untuk mengukur kandungan oksigen terlarut
35	Selang Sifon	Untuk membersihkan air media di akuarium
36	Filter	Untuk menyaring air media
37	Oven	Sebagai alat pemanas
38	Kamera Digital	Sebagai alat dokumentasi pengambilan gambar
49	<i>Rotary evaporator vacuum</i>	Sebagai alat untuk mendapatkan ekstrak fenol

3.1.2 Bahan-bahan Penelitian

Berikut bahan beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian ini terdapat pada Tabel 4.

Tabel 4. Bahan Penelitian

No	Bahan	Fungsi
1	Ekstrak kasar <i>Holoturia scabra</i>	Sebagai bahan immunostimulan
2	Biakan Murni Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	Sebagai bahan penginfeksi
3	Spirtus	Sebagai bahan pembakaran pada bunsen
4	Alkohol	Sebagai bahan sterilisasi
5	Etanol 80%	Sebagai pelarut dalam ekstraksi
6	Etanol 96%	Sebagai pelarut dalam ekstraksi
7	Aseton 98%	Sebagai pelarut dalam ekstraksi
8	Akuades	Sebagai pelarut dalam ekstraksi
9	Kertas Label	Sebagai penanda
10	Kertas Koran	Sebagai pembungkus dalam sterilisasi
11	Kertas Saring	Untuk menyaring bahan ekstrak
12	Tissue	Sebagai bahan pembersih
13	Kapas	Untuk menutup labu erlemeyer
14	<i>Aluminium Foil</i>	Sebagai penutup tabung reaksi dan erlemeyer

15	Benang	Sebagai pengikat
16	Masker	Sebagai penutup mulut
17	Sarung Tangan	Sebagai penutup tangan
18	NB (<i>Nutrient Broth</i>)	Sebagai media kultur bakteri (cair)
19	TSA (<i>Trypton Soya Agar</i>)	Sebagai bahan media tumbuh bakteri
20	Natrium Fisiologis	Sebagai larutan isotonis
21	NA (<i>Nutrient Agar</i>)	Sebagai bahan peremajaan bakteri
22	Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.)	Sebagai hewan uji
23	Air Media	Sebagai media hidup hewan uji
24	Pakan Ikan	Sebagai nutrisi ikan uji
25	Chlorin	Untuk bahan diinfeksi pada akuarium
26	Na-Thiosulfat	Untuk menghilangkan toksik pada akuarium

3.2. Metodologi Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental, dimana metode ini merupakan metode penelitian yang memungkinkan peneliti memanipulasi variabel dan meneliti akibatnya. Menurut Atmodjo (2011), penelitian eksperimen adalah suatu penelitian yang meneliti hubungan sebab akibat dengan memanipulasikan satu (lebih) variabel pada satu (lebih) kelompok eksperimen dan membandingkannya dengan kelompok lain yang tidak mengalami manipulasi.

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

3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL digunakan untuk percobaan yang

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

Model untuk RAL adalah sebagai berikut :

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

Keterangan:

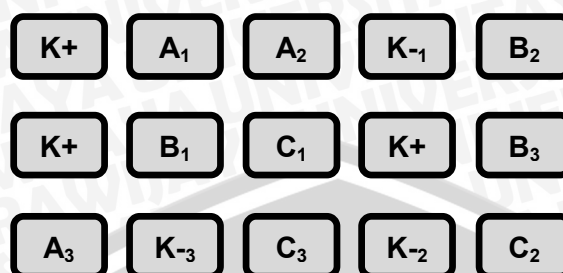
- Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
 μ = nilai rata-rata
 τ_i = pengaruh perlakuan ke-i
 ε_{ij} = pengaruh kesalahan (galat) percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Dalam penelitian ini, variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar *H. scabra* dengan dosis 0 ppm (perlakuan K-), 50 ppm (perlakuan A), 100 ppm (perlakuan B), 150 ppm (perlakuan C) dan kontrol + (tidak diberikan bakteri dan ekstrak teripang) pada media sebagai imunostimulan pada ikan patin (*Pangasius* sp.). Untuk mempermudah dalam menganalisis diperlukan kontrol sebagai pembanding yaitu kontrol (K-) tanpa pemberian ekstrak kasar *H. Scabra* (0 ppm). Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sehingga total sampel yang diamati sebanyak 15 termasuk kontrol. Sebagai perlakuan, menggunakan ikan patin yang berumur 2-3 bulan dengan berat 6-8 gram dan panjang 7-9 cm. Rancangan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rancangan Perlakuan

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A ₁	A ₂	A ₃
B	B ₁	B ₂	B ₃
C	C ₁	C ₂	C ₃
K+	K ₁	K ₂	K ₃
K-	K-1	K-2	K-3

Untuk denah penelitian dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Denah penelitian

Keterangan:

- K₋ : Akuarium dengan perlakuan ikan yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* tanpa pemberian ekstrak teripang.
- K₊ : Akuarium dengan perlakuan ikan yang tanpa diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan tanpa pemberian ekstrak teripang.
- A, B, C : Perlakuan
- 1,2,3 : Ulangan

3.3 Tahapan Penelitian

3.3.1 Persiapan Penelitian

a) Sterilisasi Tempat Perlakuan

Untuk sterilisasi alat dapat dilakukan dengan *autoclave* dengan cara sebagai berikut :

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan detergen, dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas koran dan diikat menggunakan benang
- Air secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, kemudian alat yang telah dibungkus kertas koran dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris.

- Kompor pemanas dinyalakan, setelah mencapai suhu 121°C dan tekanan menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15-20 menit dengan cara membuka dan atau menutup kran uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*.
- Kompor dimatikan. Tunggu beberapa saat sampai termometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* dengan cara simetris.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

b) Bakteri *Aeromonas hydrophila*

• Pembuatan Media Tryptone Soy Agar (TSA)

1. 40 gram TSA dilarutkan dengan 1 liter aquades steril dalam erlenmeyer, kemudian ditutup kapas dan didihkan diatas hot plate hingga larut sempurna dan jernih.
2. Larutan TSA kemudian disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
3. Media TSA yang sudah disterilkan dituangkan ke dalam cawan petri steril dalam keadaan panas sebanyak 10-12 ml. Penuangan dilakukan didekat api bunsen, cawan petri dipanaskan lagi setelah penuangan selesai, media dibiarkan dingin dan memadat. Media yang tidak langsung digunakan disimpan dalam lemari pendingin.

• Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Semua bahan Trisalt 100 ml NB 30 g dimasukkan kedalam erlenmeyer volume 250 ml kemudian dipanaskan menggunakan pemanas yang dilengkapi pengaduk, selanjutnya dilakukan sterilisasi dalam autoclave dengan suhu 121°C

selama 15 menit. Dalam kondisi hangat, larutan dituangkan ke petridish. Setelah dingin dikeringkan dengan cara meletakkannya dalam inkubator, posisi terbalik dengan suhu 45°C selama ± 10 menit. Selanjutnya dilakukan penyimpanan dalam lemari pendingin.

c) Pembiakan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan kepadatan 10^{10} sel/ml. Menurut wahjuningrum *et al* (2008) pemberian *A. hydrophila* dengan kepadatan 1×10^7 sel/ml mampu menurunkan mortalitas ikan patin, sehingga pada konsentrasi tersebut bakteri *A. Hydrophila* dapat digunakan untuk ujiantang. Untuk mendapatkan kepadatan bakteri tersebut harus dilakukan perhitungan pengenceran dengan menggunakan rumus berikut:

$$N1. V1 = N2. V2$$

Keterangan:

N1: Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)

N2: Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)

V1: Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V2: Volume yang diinginkan (cappuccino dan Sherman, 1988).

d) Ekstraksi

Ekstraksi teripang (*H. scabra*) berdasarkan Thant *et al.*, (2006) teripang dalam keadaan kadar tidak basah diambil sebanyak 200 gr dibersihkan bagian organ dalamnya serta kotoran yang menempel, kemudian dipotong kecil-kecil. Sampel teripang dimaserasi menggunakan pelarut metanol perbandingan 1:1 selama 2 x 24 jam dan disimpan di ruang penyimpanan pada suhu kamar. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring sehingga didapat larutan. Larutan kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai tidak terjadi lagi pengembunan pelarut pada kondensor.

Hasil ekstrak metanol kemudian di larutkan dengan aquadest dan dipartisi menggunakan n-hexan, kloroform dan n-butanol dengan perbandingan 1:1 secara bertahap. Setelah itu masing-masing fraksi dilakukan uji hambat dengan uji cakram, bakteri yang digunakan adalah bakteri *A. hydrophyla* dengan kepadatan 10^8 sel/ml dan didapatkan hasil daya hambat paling besar adalah pada fraksi n-butanol. Selanjutnya dilakukan uji kuantitatif dan identifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan menggunakan larutan standar D-xylose pada panjang gelombang 540 nm.

e) Uji Bioaktif Teripang Pasir

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa dalam teripang yaitu dengan menggunakan uji fitokimia. Uji fitokimi dilakukan setelah proses penguapan pelarut dari hasil masrasi dengan metanol. Uji Fitokimia Metode skrining fitokimia mengacu pada Kusmita *et al.* (2011). Pemeriksaan secara kualitatif senyawa flavonoid, saponin, steroid, alkaloid dan triterpenoid adalah sebagai berikut :

• Prosedur Pemeriksaan Senyawa Flavonoid

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

• Prosedur Pemeriksaan Senyawa Saponin

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

- **Prosedur Pemeriksaan Senyawa Alkaloid**

Pemeriksaan senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan 2 pereaksi, yaitu pereaksi dragendorff dan pereaksi mayer yang sudah dibuat sebelumnya. Ekstrak yang telah diencerkan ditambahkan 2 ml CHCl_3 dan ditambahkan dengan pereaksi Dragendorff. Terbentuknya warna merah/jingga menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Sebagian larutan ekstraksi ditambahkan HCl dengan perbandingan 1:10 sebagai larutan B lalu ditambahkan 5 ml pereaksi Mayer. Endapan putih dengan pereaksi Mayer menunjukkan adanya alkaloid.

- **Prosedur Pemeriksaan Senyawa Steroid Dan Triterpenoid**

Ekstrak yang telah diencerkan ditambahkan satu tetes CH_3COOH anhidrat dan satu tetes H_2SO_4 pekat. Terbentuknya warna biru sampai ungu menunjukkan sampel positif mengandung senyawa steroid sedangkan warna merah menunjukkan sampel positif mengandung senyawa triterpenoid..

f) Pengukuran Total Senyawa Bioaktif

Metode ini diambil dari Kabat dan Mayer (1967). Yaitu ekstrak teripang pasir yang sudah larut ditambah dengan larutan 3,5-*dihydroxytolune* 1.6% dan larutan asam sulfat 60% dengan perbandingan 1:1:7.5 (v/v). Hasil larutan tersebut diinkubasi dalam *water bath* pada suhu 80° selama 15 menit. Kemudian didinginkan di dalam air untuk menghentikan reaksi. Setelah itu diukur nilai absorbansinya dengan 540 nm menggunakan spectrometer UV-VIS. Larutan standard yang digunakan adalah D-xylose sebanyak 10 mg/ml yang dilarutkan dengan aquadest untuk dibuat kurva standar.

3.3.2 Penelitian Pendahuluan

a) Uji Pendahuluan Ekstrak Teripang Pasir

Uji pendahuluan pada kegiatan awal penelitian dengan melakukan perendaman pada ikan patin menggunakan ekstrak kasar teripang (*Holothuria scabra*) sebagai imunostimulan. Dalam uji pendahuluan ini ikan patin yang digunakan berukuran 8 gr. Adapun konsentrasi perendaman pada uji pendahuluan adalah 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 800 ppm dan 1600 ppm dan lama perendaman adalah 1 jam, 10 jam dan 24 jam. Menurut Wahjuningrum *et al.* (2008) penentuan dosis ekstrak yang diberikan ditentukan berdasarkan hasil uji sebelumnya dan dihitung dengan teknik pengenceran berseri. Pengamatan dilakukan selama 3 hari parameter yang diamati meliputi gambaran darah. Uji pendahuluan yang dilihat adalah parameter darah berupa total leukosit, dengan lama perendaman berbeda-beda yaitu 1 jam, 10 jam dan 24 jam. Hasil dari uji pendahuluan didapatkan bahwa parameter hematologi yaitu leukosit mengalami peningkatan optimal pada dosis 100 ppm dengan perendaman 1 jam. Ikan selanjutnya diuji tantang menggunakan bakteri *Aeromonas hydrophila*

b) Uji Pendahuluan LC_{50} Bakteri *A. hydrophila*

Uji pendahuluan konsentrasi bakteri dengan tujuan mengetahui konsentrasi dan lama waktu perendaman dilakukan dengan kepadatan bakteri 10^9 , 10^8 dan 10^7 sel/ml. Uji pendahuluan dilakukan dalam akuarium dengan volume air 5000 ml, densitas ikan sebanyak 10 ekor/akuarium. Dari hasil uji awal ini diketahui bahwa LC_{50} bakteri dengan kepadatan 10^9 sel/ml waktu yang diperlukan selama 18 jam 15 menit. Sedangkan pada perlakuan dengan kepadatan bakteri 10^8 sel/ml LC_{50} berada dalam waktu 24 jam 30 menit dan pada LC_{50} bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/ml adalah 30 jam 15 menit. Sehingga kepadatan bakteri yang digunakan adalah 10^8 sel/ml bakteri.

c) Uji Daya Hambat Bakteri *A. hydrophila*

Hasil ekstrak metanol kemudian dilarutkan dengan aquadest dan dipartisi menggunakan n-hexan, kloroform dan n-butanol dengan perbandingan 1:1 secara bertahap. Setelah itu masing-masing fraksi dilakukan uji hambat dengan uji cakram. Uji daya hambat ini dilakukan untuk menentukan hambatan terbesar dan bersifat sebagai *antibacterial*.

Semua bahan Trisalt 100 ml NB 30 g dimasukkan kedalam erlenmeyer volume 250 ml kemudian dipanaskan menggunakan pemanas yang dilengkapi pengaduk, selanjutnya dilakukan sterilisasi dalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit. Dalam kondisi hangat, larutan dituangkan ke petridish. Setelah dingin diberi bakteri yang digunakan adalah bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^8 sel/ml, kemudian dilakukan uji cakram. Setelah itu diletakkan di dalam inkubator, posisi terbalik dengan suhu 45°C selama 24 jam.

3.3.3 Pelaksanaan Penelitian

a) Pemberian Dosis Ekstrak Teripang Pasir Sebagai Imunostimulan

Ikan patin (*Pangasius sp.*) diaklimatisasi terlebih dahulu ± 7 hari. Media (air) sebelum digunakan ditreatment menggunakan 5 ml chlorin dalam bak volume 50 liter selama 3 hari, kemudian dinetralkan menggunakan Na-thiosulfat sebanyak 5 ml untuk menghilangkan toksik dari efek pemberian chlorin. Ikan patin pada hari ke 0 diberikan ekstrak bioaktif teripang melalui perendaman dengan dosis 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm ikan dengan perlakuan dua kali booster, interval waktu selama 7-14 hari (Selvaraj *et al.*, 2006).

Hasil uji pendahuluan didapatkan peningkatan optimal leukosit sampai dengan hari ke 4 dari penyuntikan pertama. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke 6 (setelah booster kedua). Ardo *et al.*, (2010) menyatakan pengambilan darah dilakukan setelah 7 hari, atau pada 0, 1, 2, 3, 5, 7 hari (Wu *et al.*, 2010)

untuk mengetahui efektifitas penggunaan ekstrak dan waktu pemberian booster kedua.

b) Penginfeksi dengan Bakteri *A. hydrophila*

Penginfeksi dilakukan 3 hari setelah perendaman ekstrak yang pertama dan kedua. Tahapan-tahapan dalam penginfeksi sebagai berikut :

- Penginfeksi menggunakan bakteri *A. hydrophila* dengan metode perendaman pada akuarium yang berbeda selama 24 jam dengan kepadatan bakteri 10^8 sel/ml,
- ikan patin (*Pangasius sp.*) dimasukkan kembali ke dalam akuarium perlakuan sesuai dosis yang telah ditentukan.
- Bakteri yang tersedia diencerkan dengan menggunakan air media pemeliharaan. Bakteri sebanyak 100 ml dengan kepadatan 10^{10} sel/ml dimasukkan ke dalam akuarium dengan volume air media 9 liter.
- Sehingga kepadatan bakteri yang digunakan dalam media penginfeksi adalah 10^8 sel/ml.

3.4 Parameter Uji

3.4.1 Parameter Utama

a) Prevalensi Ikan Patin

Penghitungan prevalensi dilakukan sebelum penghitungan kelulushidupan (SR). Yaitu dengan menghitung jumlah ikan yang sakit, ikan dikatakan sakit apabila menunjukkan gejala-gejala sering berenang dipermukaan, lebih pasif, nafsu makan berkurang, warna insang pucat dan terdapat luka pada tubuh (ikan mati dihitung juga ikan yang sakit). Adapun rumus untuk menghitung prevalensi sebagai berikut

$$\text{Prevalensi} = \frac{\sum \text{Ikan yang sakit}}{\sum \text{Populasi ikan}} \times 100\%$$

b) Kelulushidupan Ikan Patin

Penghitungan kelulushidupan (SR) ikan patin dilakukan setelah perhitungan prevalensi dilakukan atau pada akhir penelitian. Yaitu dengan menghitung total ikan yang hidup dan yang mati sampai akhir penelitian. Adapun rumus untuk menghitung kelulushidupan sebagai berikut :

$$\text{Survival Rate} = \frac{\sum \text{Ikan yang hidup pada akhir percobaan}}{\sum \text{Ikan yang ditebar pada awal percobaan}} \times 100\%$$

3.4.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah gejala klinis ikan dan kualitas air yang meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut.

3.5 Analisis Data

Analisis data dilakukan secara statistik mempergunakan program SPSS 16 *for windows*. Data yang didapatkan terlebih dahulu di uji kenormalannya menggunakan uji normalitas (*kolmogorov-smirnov*). Apabila $\text{sig} > 0,01$ maka dilanjutkan analisis keragaman menggunakan ANOVA sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Analisis ragam dilakukan untuk menguji pengaruh dosis ekstrak fenol terhadap parameter uji. Sedangkan uji setelah analisis ragam yang digunakan untuk mengetahui apakah ada perbedaan *mean* (rata-rata) parameter uji antara perlakuan dosis ekstrak, yaitu dengan Uji Tukey atau BNT (Beda Nyata Terkecil). Analisis Regresi dilakukan untuk mencari bentuk hubungan antara dosis ekstrak saponin (**X**) dengan parameter uji (prevalensi dan kelulushidupan) (**Y**). Perlakuan dosis ekstrak bersifat kuantitatif dengan 4 macam dosis, jadi perlu dilakukan Analisis Regresi dengan derajat polinom maksimum $4-1=3$, dengan praduga Persamaan Garis Regresi kurva linier $Y = c + b_1x$, kurva kudratik $Y = c + b_1x + b_2x^2$ dan kurva kubik $Y = c + b_1x + b_2x^2 + b_3x^3$.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Tingkat Prevalensi Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Hasil penelitian tentang prevalensi ikan patin menghasilkan presentase yang berbeda-beda, yaitu pada perlakuan A (50 ppm) dengan rata-rata 73.4 %, perlakuan B (100 ppm) dengan rata-rata 40%, perlakuan C (150 ppm) dengan rata-rata 93%, perlakuan kontrol (-) (0 ppm) dengan rata-rata 80% dan kontrol (+) (tanpa perlakuan apapun) dengan rata-rata 0%. Perhitungan prevalensi dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Data Hasil Perhitungan Rata-Rata Prevalensi Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila* Dalam Persentase (%)

Perlakuan/Dosis	Ulangan			Total	Rata-rata
	I	II	III		
A (50 ppm)	70	50	90	210	70
B (100 ppm)	30	40	40	110	36.67
C (150 ppm)	90	90	70	250	83.33
Kontrol (-) (0 ppm)	100	100	100	300	100
Kontrol (+)	0	0	0	0	0

Setelah dilakukan perhitungan menggunakan SPSS 16, maka didapatkan analisis sidik ragam seperti pada Tabel 7 .

Tabel 7. Analisis Sidik Ragam Prevalensi Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	6491,67	3	2163,89	15,275**	4,07	7,59
Acak	1133,33	8	141,67			
Total	7625	11				

** : berbeda sangat nyata

Analisis sidik ragam pada Tabel 7 menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata terhadap rata-rata prevalensi ikan patin (*Pangasius* sp.) dimana F hitung > F tabel 5% dan F table 1%. Untuk mengetahui pengaruh antara beda

perlakuan, maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Dari uji BNT diperoleh hasil seperti yang disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Uji BNT Rata-Rata Prevalensi Ikan Patin (*Pangasius* sp) Setelah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Rata - Rata Perlakuan	B (100 ppm)	A (50 ppm)	C (150 ppm)	K (0 ppm)	Notasi
B (100 ppm)	-	-	-	-	a
A (50 ppm)	33,333**	-	-	-	b
C (150 ppm)	46,667**	13,333 ^{ns}	-	-	bc
K (0 ppm)	63,333**	30*	16,667 ^{ns}	-	cd

Keterangan :

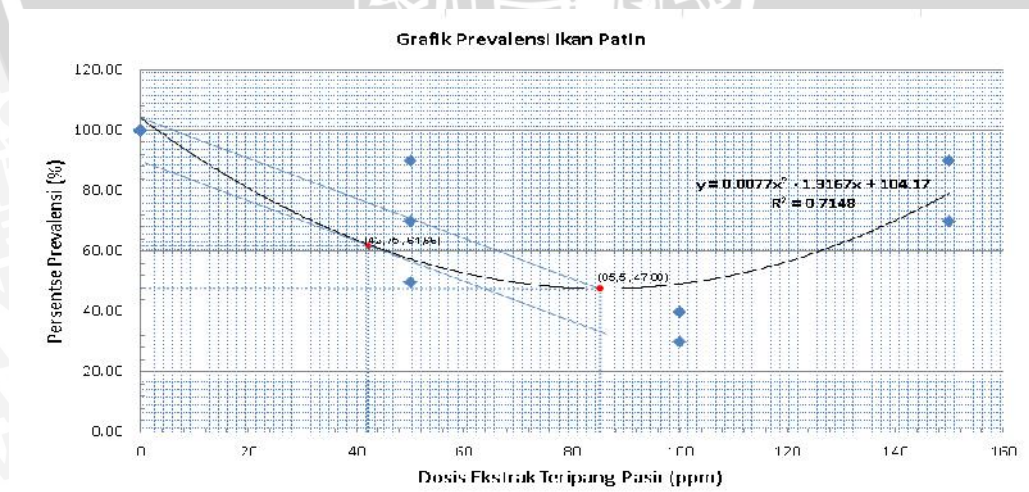
SED : 9,19

BNT 5% : 22, 41

BNT 1% : 32, 60

Notasi pada Tabel 8 menunjukkan bahwa prevalensi pada perlakuan B berbeda nyata terhadap perlakuan A. Perlakuan A tidak berbeda nyata terhadap perlakuan C. Begitu pula dengan perlakuan C terhadap perlakuan K menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata.

Untuk mengetahui seberapa besar pengaruh ekstrak teripang pasir (*H. scabra*) terhadap prevalensi ikan patin yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Teripang Pasir (*H. scabra*) Terhadap Rata-Rata Prevalensi Ikan Patin (*Pangasius* sp.) Setelah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*.

Grafik pada Gambar 5 menunjukkan adanya pengaruh yang nyata terhadap prevalensi ikan patin. Hal ini ditunjukkan oleh pola kuadratik dengan persamaan $y = 0,0077x^2 - 1,3167x + 104,17$ dan koefisien (R^2) = 0,7148. Dapat dilihat pula pada perlakuan A (50 ppm) dan perlakuan B (100 ppm) prevalensi serangan *A. hydrophila* menurun secara signifikan, lalu meningkat kembali setelah dosis 100 ppm pada perlakuan B. Hal ini dikarenakan pada range 0-100 ppm dosis ekstrak teripang pasir masih pada taraf yang dapat ditolerir tubuh ikan dan dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuhnya. Sedangkan pada range melebihi 100 ppm hal ini sudah tidak dapat ditolerir lagi oleh tubuh ikan, bisa dibayangkan ikan *overdose* sehingga ikan akan semakin sakit. Menurut Ramadany *et al.* (2012) menjelaskan bahwa ekstrak teripang pasir sebagai imunomodulator dalam jumlah normal akan berfungsi dengan baik sebagai imunostimulator (meningkatkan sistem imun), sehingga dapat menurunkan persentase prevalensi serangan *A. hydrophila*. Hal ini juga sesuai dengan pendapat Kurnianingtyas *et al.* (2013) bahwa glikosida triterpen pada saponin (ekstrak teripang pasir) dalam jumlah normal berperan sebagai immunostimulator yaitu dapat meningkatkan sistem imun, sedangkan dalam jumlah yang melebihi batas normal saponin akan berperan sebagai immunosupresor (zat yang menekan/menurunkan sistem imun) sehingga menjadi toksik.

Dari grafik pula dapat dilihat bahwa nilai maksimum yang didapat adalah dosis 85,5 ppm dengan rata-rata prevalensi sebesar 47,88% dan nilai optimal yang dapat memberikan hasil paling efektif adalah dosis 42,75 ppm dengan rata-rata prevalensi sebesar 61,66%.

Jadi, sesuai uraian di atas dapat disimpulkan bahwa dosis terbaik yang dapat memberikan pengaruh paling efektif adalah ekstrak teripang pasir dengan dosis 42,75 ppm.

4.2 Tingkat Kelulushidupan Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Dari hasil penelitian pemberian ekstrak teripang pasir pada ikan patin (*Pangasius sp.*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* masing-masing menunjukkan hasil persentase kelulushidupan yang berbeda-beda, yaitu pada perlakuan A (50 ppm) dengan rata-rata 50%, perlakuan B (100 ppm) dengan rata-rata 76.67%, perlakuan C (100 ppm) dengan rata-rata 36.67%, perlakuan kontrol (-) (0 ppm) dengan rata-rata 16.67% dan kontrol (+) (tanpa perlakuan apapun) dengan rata-rata 90%, seperti pada Tabel 9.

Tabel 9. Data Hasil Perhitungan Rata-Rata Kelulushidupan Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila* Dalam Persentase (%)

Dosis/Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	I	II	III		
A (50 ppm)	50	60	40	150	50
B (100 ppm)	80	70	80	230	76.67
C (150 ppm)	30	40	40	110	36.67
Kontrol - (0 ppm)	20	10	20	50	16.67
Kontrol +	90	90	90	270	90

Setelah dilakukan perhitungan menggunakan SPSS 16, maka didapatkan analisis sidik ragam seperti pada Tabel 10.

Tabel 10. Analisis Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	5700	3	1900	38**	4,07	7,59
Acak	400	8	50			
Total	6100	11				

** : berbeda sangat nyata

Analisis sidik ragam pada Tabel 10 menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata terhadap rata-rata kelulushidupan ikan patin (*Pangasius sp.*) dimana $F_{hitung} > F_{tabel\ 5\%}$ dan $F_{hitung} > F_{tabel\ 1\%}$. Untuk mengetahui pengaruh

antara beda perlakuan, maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Dari uji BNT diperoleh hasil seperti yang disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Uji BNT Rata-Rata Kelulushidupan Ikan Patin (*Pangasius* sp) Setelah Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Rata - Rata Perlakuan	K (0 ppm)	C (150 ppm)	A (50 ppm)	B (100 ppm)	Notasi
K (0 ppm)	-	-	-	-	a
C (150 ppm)	20**	-	-	-	b
A (50 ppm)	33,33**	13,33*	-	-	c
B (100 ppm)	60**	40**	26,67**	-	d

Keterangan :

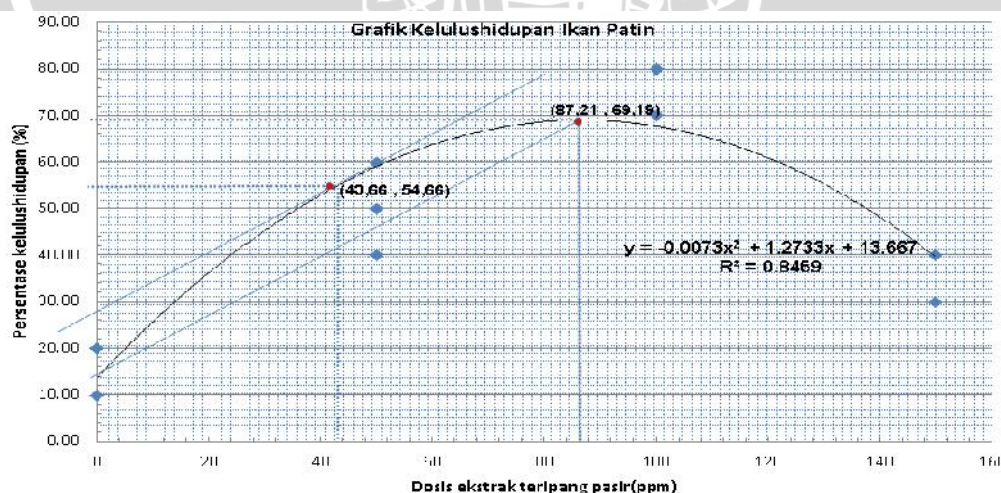
SED : 5,77

BNT 5% : 13,31

BNT 1% : 19,37

Notasi pada Tabel 11 menunjukkan bahwa rata-rata kelulushidupan pada perlakuan K berbeda nyata terhadap perlakuan C. Rata-rata kelulushidupan perlakuan C terhadap perlakuan A juga berbeda nyata. Begitu pula perlakuan A terhadap perlakuan B rata-rata kelulushidupannya berbeda nyata.

Untuk mengetahui seberapa besar pengaruh ekstrak teripang pasir (*H. scabra*) terhadap prevalensi ikan patin yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik Hubungan Pemberian Ekstrak Teripang Pasir (*H. scabra*) Terhadap Rata-Rata Kelulushidupan Ikan Patin (*Pangasius* sp.) Setelah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*.

Gambar di atas menunjukkan pola kuadratik dengan persamaan $y = -0,0073x^2 + 1,2733x + 13,667$ dan koefisien (R^2) = 0,8459. Dapat dilihat pula pada perlakuan A (50 ppm) dan perlakuan B (100 ppm) kelulushidupan ikan patin meningkat secara signifikan, kemudian menurun setelah dosis 100 ppm (perlakuan C). Hal ini disebabkan pada dosis di atas 100 ppm kekebalan tubuh ikan tidak lagi meningkat malahan cenderung menurun karena dosis yang berlebihan, mengakibatkan ikan *overdose* sehingga ikan akan semakin sakit. Glikosida triterpen memiliki peran yang kuat sebagai imunostimulator yaitu dengan menstimulasi aktivitas lisosom makrofag, sehingga dapat meningkatkan sistem imun non-spesifik (Aminin *et al.*, 2001). Menurut Pelczar dan Chan (1986) dalam Laili (2007), bahwa semakin tinggi dosis antibakteri yang digunakan, maka semakin cepat sel bakteri akan terbunuh. Namun tidaklah efektif menggunakan dosis yang terlalu tinggi dalam pengobatan. Disamping akan menimbulkan resistensi bakteri terhadap antibakteri tertentu, penggunaan dosis yang terlalu tinggi dapat membunuh hospes (ikan mas) dan juga kurang ekonomis dalam pemakaiannya.

Dapat dilihat pula pada grafik terdapat nilai maksimum sebesar 87,21 ppm dengan rata-rata kelulushidupan sebesar 69,19%. Nilai ini menunjukkan bahwa pada dosis 87,21 ppm adalah dosis maksimal yang bias diberikan untuk dapat meningkatkan kekebalan tubuh ikan. Sedangkan nilai optimal terletak pada dosis 43,66 ppm dengan rata-rata kelulushidupan sebesar 54,66%. Nilai ini menunjukkan bahwa dosis 43,66 ppm adalah dosis terbaik yang dapat diberikan untuk meningkatkan kekebalan tubuh ikan sehingga akan memberikan hasil maksimal untuk meningkatkan kelulushidupan ikan patin.

Sesuai uraian di atas dapat disimpulkan bahwa dosis terbaik untuk meningkatkan kelulushidupan ikan patin adalah dosis 43,66 ppm.

4.3 Gejala Patologi Klinis Pada Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Selain prevalensi dan kelulushidupan, pengamatan faktor gejala klinis juga penting untuk dilakukan untuk mengetahui perubahan sistem kekebalan tubuh (sistem imun) pada ikan patin (*Pangasius sp*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Pengukuran gejala klinis dilakukan selama masa penginfeksi dan 3 hari setelah ikan uji diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Pengamatan gejala klinis dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Pengamatan Gejala Klinis Ikan Uji Setelah Penginfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Hari	Perlakuan	Gejala Klinis
1	K	Ikan bergerak agresif dan berenang ke permukaan air Tidak ditemukan kerusakan pada bagian tubuh ikan Air media pemeliharaan terlihat agak keruh
	A	Ikan bergerak agak agresif Tidak ditemukan kerusakan pada bagian tubuh ikan Air media pemeliharaan terlihat sedikit keruh
	B	Ikan bergerak cenderung tenang Tidak ditemukan kerusakan pada bagian tubuh ikan Media pemeliharaan tidak keruh
	C	Ikan bergerak agresif dan cenderung bergerak menuju permukaan Tidak ditemukan kerusakan pada bagian tubuh ikan Air media pemeliharaan terlihat agak keruh
2	K	Ikan bergerak lambat dan cenderung diam di dasar air Kepala ikan terlihat sedikit memerah Media pemeliharaan terlihat keruh
	A	Ikan bergerak lambat dan cenderung sering menuju ke permukaan air Tubuh ikan terlihat berwarna agak pucat Media pemeliharaan tidak terlalu keruh.
	B	Ikan bergerak normal dan tenang Tubuh ikan terlihat berwarna pekat (normal) Media pemeliharaan terlihat agak keruh
	C	Ikan bergerak lambat, cenderung berenang di bagian dasar. Media pemeliharaan keruh. Tubuh ikan terlihat berwarna pucat
3	K	Ikan bergerak lambat dan cenderung mengambang di permukaan air dengan posisi tegak, beberapa diantaranya mengalami kematian Tubuh ikan berwarna pucat Kepala ikan terlihat sedikit memerah Media air berwarna keruh
	A	Ikan bergerak lambat, beberapa diantaranya mengambang tegak di permukaan air dan mengalami kematian Tubuh ikan berwarna pucat Kepala ikan terlihat memerah Media air sedikit keruh
	B	Ikan bergerak sedikit lambat dan cenderung berada dibagian

C	dasar. Tubuh ikan berwarna agak pucat Media pemeliharaan mulai terlihat keruh Gerakan ikan melambat dan cenderung mengambang di permukaan air dengan posisi tegak, beberapa diantaranya mengalami kematian. Tubuh ikan berwarna agak pucat. Media pemeliharaan terlihat keruh
---	--

Keterangan :

K = Ikan Uji dengan Immunostimulan Ekstrak *H. scabra* Konsentrasi 0 ppm

A = Ikan Uji dengan Immunostimulan Ekstrak *H. scabra* Konsentrasi 50 ppm

B = Ikan Uji dengan Immunostimulan Ekstrak *H. scabra* Konsentrasi 100 ppm

C = Ikan Uji dengan Immunostimulan Ekstrak *H. scabra* Konsentrasi 150 ppm

Data di atas terlihat bahwa perlakuan B menunjukkan hasil yang terbaik, dimana selama 3 hari setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* ikan patin pada perlakuan B terlihat paling sehat dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Meskipun ada ikan yang mati namun tidak sebanyak perlakuan yang lainnya. Glikosida triterpen memiliki peran yang kuat sebagai imunostimulator yaitu dengan menstimulasi aktivitas lisosom makrofag, sehingga dapat meningkatkan sistem imun non-spesifik (Aminin *et al.*, 2001). Pada saat pathogen memasuki tubuh, makrofag yang telah terstimulasi dan meningkat dapat mengurangi efek dari serangan pathogen sehingga ikan akan tetap sehat.

Pada perlakuan kontrol yang tidak diberi ekstrak teripang pasir menunjukkan gejala yang parah, mulai dari seringnya kepermukaan untuk mengambil udara dan pergerakannya yang melambat sampai memperlihatkan kerusakan jaringan pada bagian tubuh. Hal ini disebabkan karena sistem imun pada tubuh ikan yang terus menurun akibat tidak diberi immunostimulan untuk meningkatkan sistem imunnya. Menurut Angka *et al.* (2001) *A. hydrophila* menghasilkan produk yang bersifat toksin sehingga menyebabkan darah mengalami hemolisis, kemungkinan hemolisis ini yang menyebabkan kematian walaupun kelainan klinis yang terlihat dari luar karena peradangan.

4.4 Kualitas Air

Kualitas air selama masa pemeliharaan berlangsung merupakan salah satu faktor penting yang harus diperhatikan karena kualitas air dapat mempengaruhi kelangsungan hidup ikan. Selama penelitian berlangsung, dilakukan pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Parameter kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Parameter Kualitas Air pada Media Pemeliharaan Selama Penelitian

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

Berdasarkan Tabel 14, menunjukkan bahwa air sebagai media pemeliharaan dan media hidup ikan patin (*Pangasius* sp.) masih memenuhi syarat sehingga tidak berpengaruh terhadap kelangsungan hidup ikan patin (*Pangasius* sp.).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian pengaruh pemberian ekstrak teripang pasir (*H. scabra*) sebagai immunostimulan terhadap prevalensi dan kelulushidupan ikan patin (*Pangasius sp.*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak teripang pasir (*H.scabra*) dengan dosis yang berbeda dan lama perendaman 1 jam memberikan hasil yang berbeda nyata terhadap prevalensi ikan patin (*Pangsius sp.*). Dosis terbaik untuk prevalensi ikan patin adalah dosis 42,75 ppm.
2. Pemberian ekstrak teripang pasir (*H. scabra*) dengan dosis yang berbeda dan lama perendaman 1 jam memberikan hasil yang berbeda sangat nyata terhadap kelulushidupan ikan patin (*Pangasius sp.*). Dosis terbaik untuk kelulushidupan ikan patin adalah dosis 43,66 ppm.
3. Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian masih berada pada kondisi yang layak bagi kehidupan ikan patin, suhu 25-28°C, pH 6,88-8.16 dan Oksigen terlarut 4,49-7 ppm.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan adalah dosis yang terbaik digunakan untuk menghambat prevalensi adalah pada dosis 42,75 ppm. Sedangkan untuk meningkatkan kelulushidupan dapat digunakan dosis 43,66 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- A'in, C. 2009. **Alternatif Pemanfaatan Ex Disposal Area Untuk Kegiatan Perikanan Dan Pertanian Di Kawasan Segara Anakan Berdasarkan Sistem Informasi Geografis**. Universitas Diponegoro.
- Afrianto, E. dan Liviawaty. 1992. **Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan**. Kanisius. Yogyakarta. Hlm. 20.
- Albuntana, Arum, Yasman, dan W. Wardhana. 2011. **Uji Toksisitas Ekstrak Empat Jenis Teripang Suku Holothuriidae Dari Pulau Penjaliran Timur, Kepulauan Seribu, Jakarta Menggunakan Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)**. Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis, Vol. 3, No. 1, Hal. 65-72, Juni 2011.
- Aliffudin, M. 1999. **Peran Immunostimulan (Lipopolisakaria, *Saccharomyces cerevisiae* dan Levamisol) Terhadap Peningkatan Respon Immunitas Ikan Jambal Siam *Pangasius hypophthalmus***. Tesis. Program Studi Ilmu Perairan, Program Pascasarjana IPB. Bogor. 46 hlm. Tidak dipublikasikan.
- Alifuddin, M. 2002. **Imunostimulan Pada Hewan Akuatik**. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 1(2):87-92.
- Aminin, D., I. Agafonova, E. Isachenko, E. Avilov, V. Stonik. 2001. **Immunomodulatory Properties of Cucumarioidae from the Edible Far-Eastern Holothurian *Cucumaria japonica***, *Journal of Medicinal Food*, 4 (3):127-135.
- Amri, K. 2007. **Budidaya Ikan Patin**. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Anderson, D.P. 1992. **Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: Applications to aquaculture**. *Annual Review of Fish Diseases* 21, 281-307
- Andri, PM dan Jenny MU. 2006. **Pengaruh Formula Pakan Terhadap Perkembangan Ikan Patin (*Pangasius sp.*) Yang Diperlihara Di Waring Apung**. Risalah seminar ilmiah. Aplikasi Isotop dan Radiasi. BATAN. Hal. 217-220.
- Angka, S.L., 2001. **Studi Karakteristik dan Patologi *Aeromonas hydrophilapada* Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)**. Makalah FalsafahSains.<http://www.hayatiipb.com/users/rudyct/indiv2001/srilestari.htm>. Diakses tanggal 15 Jauari 2014
- Anshary, H., Sriwulan dan J. Talunga. 2006. **Tingkat Infeksi Parasit *Thaparocleidus Sp Jain, 1952* (Monogenea: Ancylostoididae) Pada Insang Ikan Patin (*Pangasius Sp.*)**. Universitas Hasanudin. Makasar.
- Aras, T. R. 2013. **Uji Toksisitas Ekstrak Teripang *Holothuria Scabra* Terhadap *Artemia salina***. Program Studi Ilmu Kelautan Jurusan Ilmu Kelautan. Universitas Hasanuddin. Tidak dipublikasikan.

- Ardo, L., Z. Jeney, A. Adams, dan G. Jeney, 2010. **Immune response of resistant and sensitive common carp families following experimental challenge with *Aeromonas hydrophila***. Fish & Shellfish Immunology xxx. P: 1-6
- Atmodjo, J. T. 2011. **Jenis Metode Penelitian**. Universitas Mercubuana. Jakarta hlm. 19.
- Aziz, A. 1997. **Status penelitian teripang komersial di Indonesia**. Oseana. 22 (1) : 9 – 19.
- Boyd, C.E. 1982. **Water quality management in pond fish culture**. Elsevier Scientific Published. Amsterdam. 318p.
- Bleeker. 1846. http://zipcodezoo.com/key/animalia/eukaryota_domain.asp. *Pangasius djambal*. (Online) 22 Juli 2014.
- Capuccino dan Sherman, 1988. **Microbiology, A laboratory Manual**. Benjamin/Cumming Science Publishing. Menlo Park. California : 477
- Darsono, P. 1998. **Pengenalan Secara Umum tentang Teripang (Holothirians)**. ISSN. LIPI. Hlm. 1-8.
- Djariah, A.S. 2001. **Budi Daya Ikan Patin**. Kanisius. Yogyakarta. Hlm. 87.
- Febriansyah, A. R. 2009. **Uji Efek Imunomodulator Ekstrak Metanol Daun Dan Kulit Batang *Rhodamnia cinerea* Jack Melalui Pengukuran Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritoneum Mencit Yang Diinduksi *Staphylococcus epidermidis* Secara In Vitro**. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah : Jakarta. Tidak dipublikasikan.
- Galindo, J. dan H. Hosokawa. 2004. **Immunostimulant : Towards Temporary Prevention of Disease in Marine Fish**. Trends in Aqua. Nut. VII: 279–319.
- Gusnanto, A., G. N. Susanto dan S. Murwani. 2013. **Maskulinisasi Lobster Air Tawar (*Cherax quadricarinatus*) Dengan Ekstrak Steroid Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) Pada Umur Larva Yang Berbeda**. Universitas Lampung, Lampung. Hlm. 321.
- Gusrina. 2008. **BUDIDAYA IKAN JILID 3**. Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah : Departemen Pendidikan Nasional.
- Kabat, E.A. dan M. M. Mayer. 1993. **Carbohydrate estimation**. In **Experimental Immunochemistry**, 2nd ed.; Thomas, C.C. Publisher: Springfield, IL, USA, Stoskopf, M.K.. Fish Medicine. WB Saunders Company Harcourt Brace Jovanovich Inc. North Carolina. 882 p; p. 527
- Khairuman, D. Sudenda dan B. Gunadi. 2008. **Budi daya ikan mas secara intensif**. Agromedia Pustaka. Jakarta. 99 hlm.
- Khairuman dan D. Sudenda. 2009. **Budidaya Patin Secara Intensif Revisi**. Agromedia. Jakarta. 116 hlm.
- KKP. 2012. **Outlook Perikanan 2012 : Industrialisasi Perikanan Budidaya**. Arsip Berita Perikanan.umm.ac.id. Universitas hammadiyah Malang. 2 hal.

- Kordi, M. G. H. 2010. **Budidaya Ikan Patin Di Kolam Terpal**. Lily Publisher. Yogyakarta. 98 hlm.
- Kurnianingtyas, E., M. S. Djati dan M. Rifa'i. 2013. **Aktivitas Imunomodulator *Polyscias obtusa* Terhadap Sistem Imunitas Pada Bone Marrow Broiler Setelah Pemberian *Salmonella typhimurium***. J.Exp. Life Sci. Vol. 3 No. 1, 2013.
- Kusmita, L., Endang D.W., Erlita V. 2011. **Isolasi dan Standarisasi Bahan Alam**. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Semarang
- Laili, U. 2007. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) Terhadap Prevalensi Dan Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophyla***. Skripsi. Universitas Islam Negeri Malang, Malang.
- Lengka, K., H. Manoppo dan M. E. F. Kolopita. 2013. **Peningkatan Respon Imun Non Spesik Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) Melalui Pemberian Bawang Putih (*Allium Sativum*)**. Budidaya Perikanan : Jakarta. Vol. 1 No. 2 : 21-28.
- Listyanto, N. dan S. Andriyanto. 2010. **Pengaruh Pemberian Salinitas Pada Pemeliharaan Benih Patin Jambal (*Pangasius djambal*) Dalam Akuarium**. Prosidium Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. Hal. 87-92.
- Luanaigh, P. O. dan C. Carlson. 2005. **Ilmu Kesehatan Untuk Mahasiswa Kebidanan**. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 336 hlm.
- Mahyuddin, K.. 2010. **Panduan Lengkap Agribisnis Patin**. Penebar Swadaya. Jakarta. 212 hlm.
- Mudjiutami, E., Ciptoroso, Z. Zainun, Sumarjo dan Rahmat. 2005. **Pemanfaatan Immunostimulan Untuk Pengendalian Penyakit Pada Ikan Mas**. *Jurnal Budidaya Air Tawar*. 4(1): 1-9.
- Ozer, N.P., Mol, S., dan Varlik, C. 2004. **Effect of the Handling Procedure on the Chemical Composition of Sea Cucumber**. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 4:71-74.
- Ramadany, H. M., D. Winarni dan H. Soerpriandono. 2012. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Tiga Jenis Teripang Lokal Pantai Timur Surabaya Terhadap Hepar Menci (*Mus musculus*) Setelah Infeksi *Escherichia coli***. Universitas Airlangga. Surabaya. 9 hlm.
- Sastrosupadi, A. 2000. **Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian Edisi Revisi**. Kanisius. Yogyakarta. 276 hlm.
- Selvaraj, V., K. Sampath, V. Sekar, 2006. **Adjuvant and immunostimulatory effects of b-glucan administration in combination with lipopolysaccharide enhances survival and some immune parameters in carp challenged with *Aeromonas hydrophila***. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 114. p : 15 –24
- Setiawan, J. E., Tarsim, Y.T. Adiputra dan S. Hudaiah. 2013. **Pengaruh Penambahan Probiotik Pada Pakan Dengan Dosis Berbeda Terhadap**

Pertumbuhan, Kelulushidupan, Efisiensi Pakan Dan Retensi Protein Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). e-Jurnal Rekayasa Dan Teknologi Budidaya Perairan, Vol. 1 No 2, Februari 2013.

Suhermanto, A., S. Andayani dan Maftuch. 2011. **Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) untuk Meningkatkan Leukosit dan Diferensial Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*.** Jurnal Kelautan. 4(2):49-56.

Surachmad, W. 1998. **Pengantar Penelitian Ilmiah Dasar.** Tarsito. Bandung. 118 hlm.

Susanto, H. 2009. **Pembenihan dan Pembesaran Patin.** Penebar swadaya. Jakarta. 105 hlm.

Sutardjo, S. C. 2012. **Menteri Ingin Konsumsi Ikan Indonesia Samai Jepang.** Investor Daily. www.investor.co.id/agribusiness/menteri-inginkan-konsumsi-ikan-indonesia-samai-jepang/35193.

Sutisna, D. Heryadi dan R. Sutarmanto. 1995. **Pembenihan Ikan Air Tawar.** Kanisius. Yogyakarta. 135 hlm.

Thant, V. H. Nguyen, Dang, V. Phan, Kiem, N, Xuan C., T, Hoang dan V. Chau. 2006. **A New Triterpene Glycoside From The Sea Cucumber *Holothurian Scabra* collected In Vietnam,** AJSTD, Vol. 23 Issue 4 pp : 253-259.

Timmreck, T. C. 1998. **Epideminologi: Suatu Pengantar.** Buku Kedokteran ECG. Jakarta. 480 hlm.

Wahjuningrum, D., N. Ashry, dan S. Nuryati. 2008. **Pemanfaatan Ekstrak Daun Ketapang *Terminalia Cattapa* Untuk Pencegahan Dan Pengobatan Ikan Patin (*Pangasionodon hypophthalmus*) Yang Terinfeksi *Aeromonas Hydrophila*.** Akuakultur. 7: 79–94.

Wibowo S, Yunizal, Setiabudi E, Erlina MD, Tazwir. 1997. **Teknologi Penanganan dan Pengolahan Teripang (*Holothuridea*).** Jakarta. IPPL Slipi.

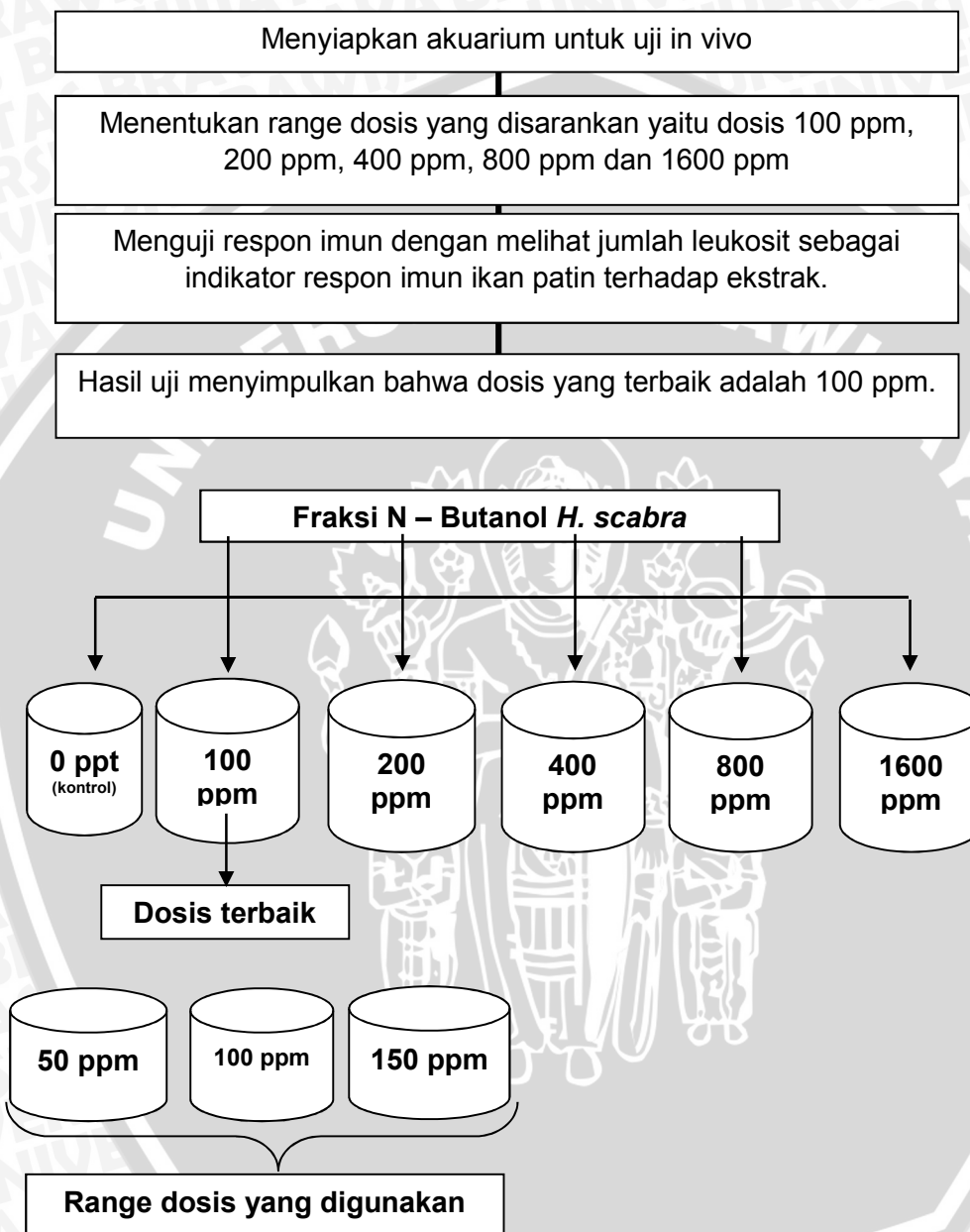
Winarsih, H. 2010. **Protein Kedelai dan Kecambah.** Kanisius. Yogyakarta. Hal. 84.

Wu, C.C., Liu C.H., Chang Y. P., dan Hsieh S.L., 2010. **Effect of hot water extract of toona sinensis on immune response and resistance to *Aeromonashydrophilain Oreochromis mossambicus*.** Fish and Shellfish Immunology 29, P: 258-263

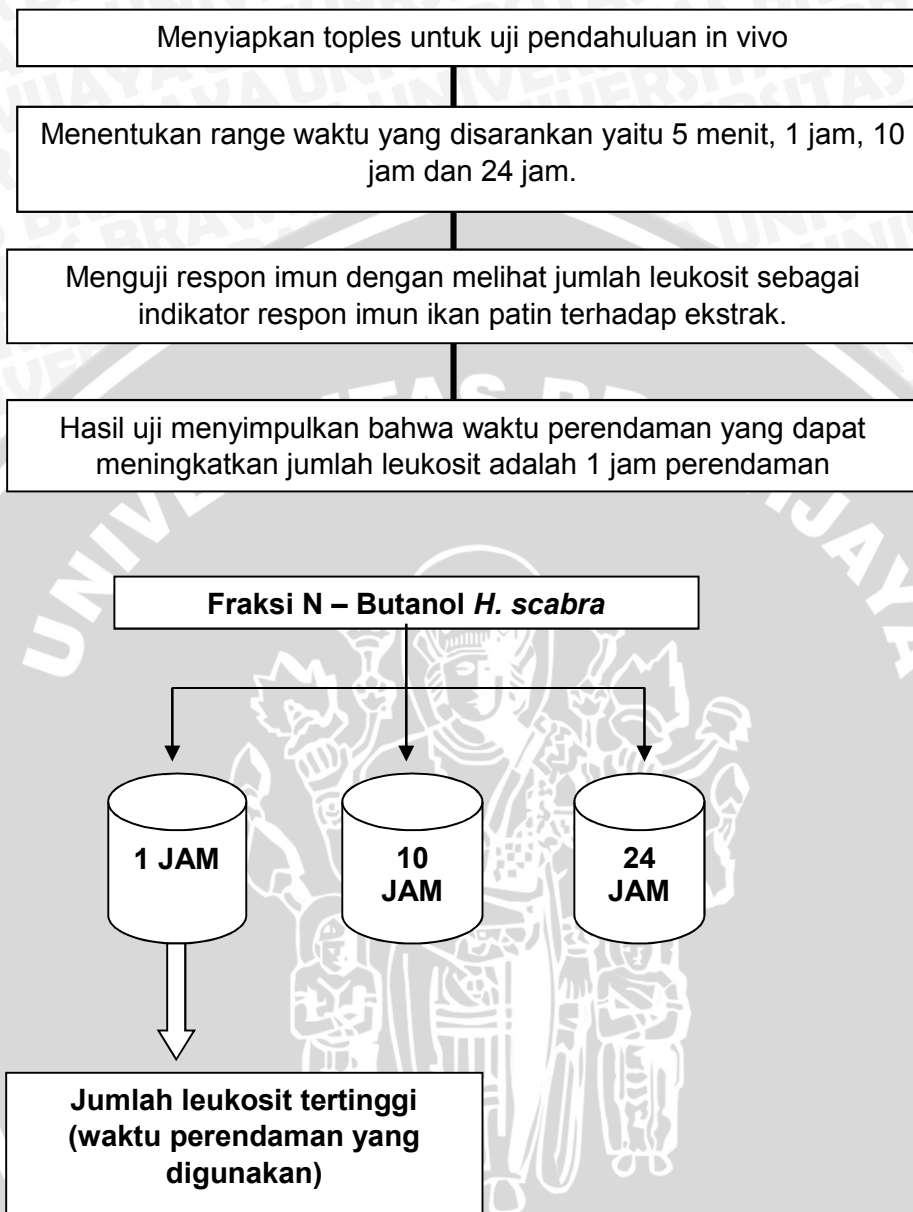
Zhang, S. Y. dan Y. H. Yi. 2006. **Cytotoxsisulfated triterpene glycosides from the sea cucumber (*Pseudocolochirus violaceus*).** Chemistry & Biodiversity, 3:807-817.

LAMPIRAN

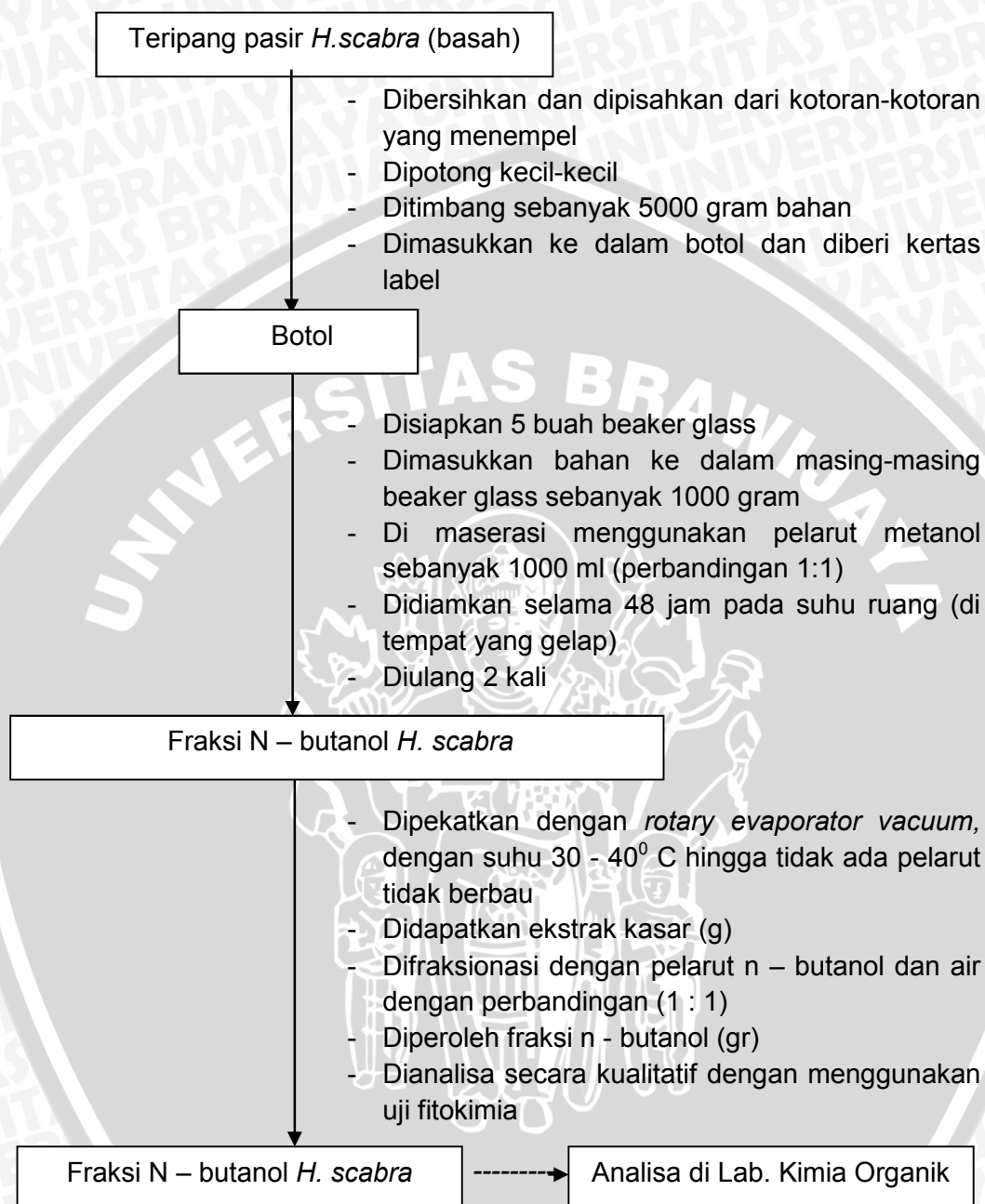
Lampiran 1. Bagan Penentuan Dosis Perendaman Ikan Patin Menggunakan Fraksi N – Butanol *H. scabra* untuk Penelitian In Vivo



Lampiran 2. Bagan Penentuan Lama Waktu Perendaman Ikan Patin Terbaik Menggunakan Fraksi N – Butanol *H. scabra* (In Vivo)



Lampiran 3. Bagan Pembuatan Ekstrak Teripang Pasisir



Lampiran 4. Uji Kualitatif



Uji fitokimia



Indikator saponin (busa)



Larutan uji triterpen



Indikator triterpen (warna merah)

Lampiran 5. Perhitungan Konsentrasi Bakteri *A. hydrophila***Uji Pendahuluan :**

Stok Bakteri dengan kepadatan 10^9 sel/ml

Konsentrasi yang dipakai pada perlakuan adalah 10^7 sel/ml

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 10^{10} = 20.000 \text{ ml} \cdot 10^8$$

$$V_1 = \frac{2 \cdot 10^4 \cdot 10^8}{10^{10}}$$

$V_1 = 200$ ml (diambil dari bakteri kepadatan 10^9 sel/ml ditambahkan 19.800 ml air sehingga volume total 20.000 ml untuk masing-masing akuarium)

Uji Inti :

Stok Bakteri dengan kepadatan 10^9 sel/ml

Konsentrasi yang dipakai pada perlakuan adalah 10^7 sel/ml

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 10^9 = 20.000 \text{ ml} \cdot 10^7$$

$$V_1 = \frac{2 \cdot 10^4 \cdot 10^8}{10^{10}}$$

$V_1 = 200$ ml (diambil dari bakteri kepadatan 10^9 sel/ml ditambahkan 19.800 ml air sehingga volume total 20.000 ml untuk masing-masing akuarium)

Lampiran 6. Data Hasil Perhitungan Rata – Rata Prevalensi Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Rata-rata Prevalensi Ikan Patin (%)

Dosis/Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	I	II	III		
A (50 ppm)	70	50	90	210	70
B (100 ppm)	30	40	40	110	36,67
C (150 ppm)	90	90	70	250	83,33
K- (0 ppm)	100	100	100	300	100
K+	0	0	0	0	0

**Hasil Uji Normalitas Kolmogorof-Sminov ($p>0,05$)
One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Prevalensi
N		12
Normal Parameters ^a	Mean	72.5000
	Std. Deviation	26.32835
Most Extreme Differences	Absolute	.247
	Positive	.148
	Negative	-.247
Kolmogorov-Smirnov Z		.855
Asymp. Sig. (2-tailed)		.457

a. Test distribution is Normal.

Nilai Z = 0,855, $\alpha>0,05$, Sehingga data diatas normal.

Uji antar perlakuan dan efek

ANOVA					
Prevalensi					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6491.667	3	2163.889	15.275**	.001
Within Groups	1133.333	8	141.667		
Total	7625.000	11			

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata.

Post Hoc Test

Beberapa perbandingan

Multiple Comparisons

Prevalensi

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	50	30.00000	9.71825	.059	-1.1213	61.1213
	100	63.33333	9.71825	.001	32.2121	94.4546
	150	16.66667	9.71825	.376	-14.4546	47.7879
50	0	-30.00000	9.71825	.059	-61.1213	1.1213
	100	33.33333	9.71825	.036	2.2121	64.4546
	150	-13.33333	9.71825	.548	-44.4546	17.7879
100	0	-63.33333	9.71825	.001	-94.4546	-32.2121
	50	-33.33333	9.71825	.036	-64.4546	-2.2121
	150	-46.66667	9.71825	.006	-77.7879	-15.5454
150	0	-16.66667	9.71825	.376	-47.7879	14.4546
	50	13.33333	9.71825	.548	-17.7879	44.4546
	100	46.66667	9.71825	.006	15.5454	77.7879

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Berdasarkan objek yang diamati:

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

* = tidak berbeda nyata

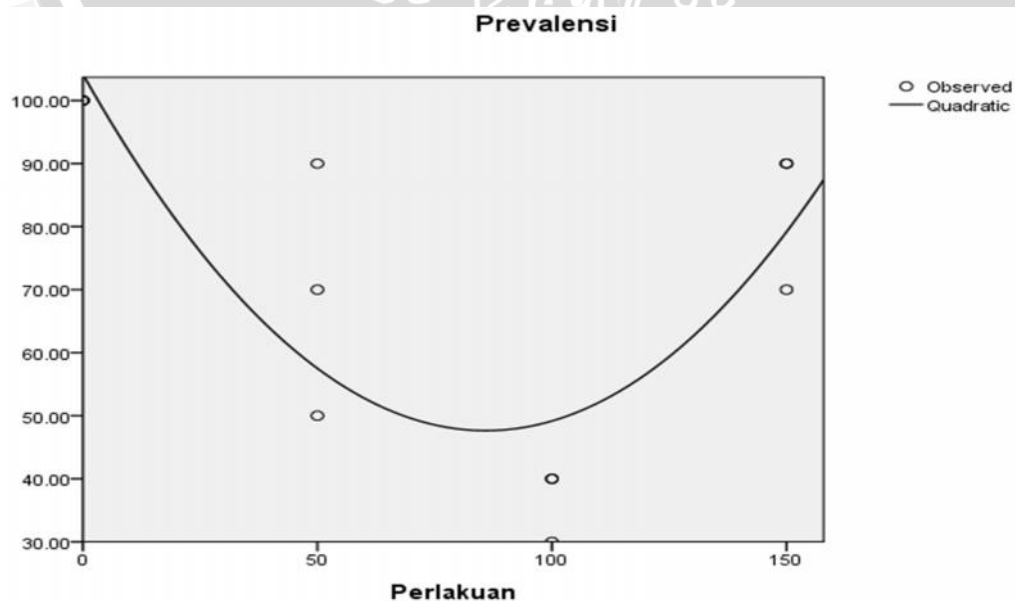
Keterangan:

Jika Sig > 0,05 : tidak berbeda nyata

Sig < 0,05 : berbeda nyata

Sig < 0,01 : sangat berbeda nyata

Hubungan antara dua variabel tersebut berbentuk quadratic dengan Grafik Sebagai Berikut :



Lampiran 7. Data Hasil Perhitungan Rata – Rata Kelulushidupan Ikan Patin Yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Rata-rata persentase kelulushidupan ikan patin yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*

Dosis/Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	I	II	III		
A (50 ppm)	50	60	40	150	50,00
B (100 ppm)	80	70	80	230	76,67
C (150 ppm)	30	40	40	110	36,67
K - (0 ppm)	20	10	20	50	16,67
K +	90	90	90	270	90

**Hasil Uji Normalitas Kolmogorof-Sminov ($p>0,05$)
One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Kelulushidupan
N		12
Normal Parameters ^a	Mean	45.0000
	Std. Deviation	23.54879
Most Extreme Differences	Absolute	.167
	Positive	.167
	Negative	-.106
Kolmogorov-Smirnov Z		.580
Asymp. Sig. (2-tailed)		.890

a. Test distribution is Normal.

Nilai Z = 0,580, $\alpha>0,05$, Sehingga data diatas normal.

Uji antar perlakuan dan efek

ANOVA					
Kelulushidupan					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5700.000	3	1900.000	38.000**	.000
Within Groups	400.000	8	50.000		
Total	6100.000	11			

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata.

Post Hoc Test

Beberapa perbandingan

Multiple Comparisons

Kelulushidupan

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	50	-33.33333 [*]	5.77350	.002	-51.8221	-14.8445
	100	-60.00000 [*]	5.77350	.000	-78.4888	-41.5112
	150	-20.00000 [*]	5.77350	.035	-38.4888	-1.5112
50	0	33.33333 [*]	5.77350	.002	14.8445	51.8221
	100	-26.66667 [*]	5.77350	.007	-45.1555	-8.1779
	150	13.33333	5.77350	.175	-5.1555	31.8221
100	0	60.00000 [*]	5.77350	.000	41.5112	78.4888
	50	26.66667 [*]	5.77350	.007	8.1779	45.1555
	150	40.00000 [*]	5.77350	.001	21.5112	58.4888
150	0	20.00000 [*]	5.77350	.035	1.5112	38.4888
	50	-13.33333	5.77350	.175	-31.8221	5.1555
	100	-40.00000 [*]	5.77350	.001	-58.4888	-21.5112

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Berdasarkan objek yang diamati:

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

* = tidak berbeda nyata

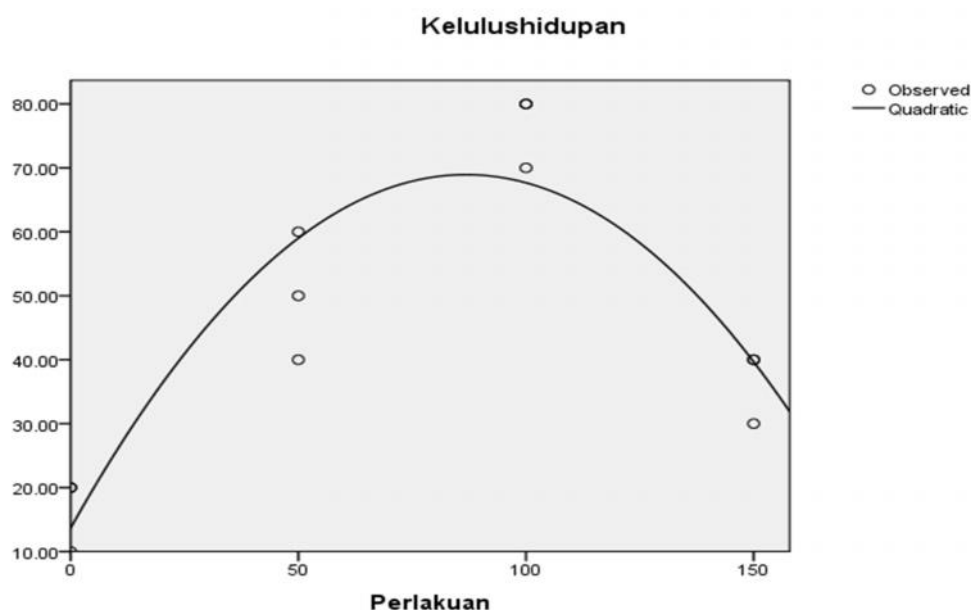
Keterangan:

Jika Sig > 0,05 : tidak berbeda nyata

Sig < 0,05 : berbeda nyata

Sig < 0,01 : sangat berbeda nyata

Hubungan antara dua variabel tersebut berbentuk quadratic dengan Grafik Sebagai Berikut :



Lampiran 8. Foto Ikan Patin



Foto Ikan Yang Sehat



Foto Ikan Yang Sakit



Pada mulut terlihat luka



Insang ikan sakit

Warna insang sangat pucat



Insang ikan sehat

Warna insang berwarna merah

Lampiran 9. Data Kualitas Air DO (ppm), pH dan Suhu ($^{\circ}\text{C}$) pada Media Pemeliharaan Selama Penelitian

DATA DO (ppm)

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

Lampiran 9. (Lanjutan)

DATA pH

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

Lampiran 9. (Lanjutan)

DATA SUHU (°C)

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