

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

Oleh:  
**KIKI NUR FITRIANA  
NIM. 125080501111022**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) 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:  
**KIKI NUR FITRIANA**  
**NIM. 125080501111022**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

Oleh:

**KIKI NUR FITRIANA**  
NIM. 125080501111022

telah dipertahankan didepan penguji  
pada tanggal 20 Juli 2016  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat  
Tanggal :

Dosen Penguji I

**(Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc)**  
NIP. 19621014 198701 1 001  
Tanggal : 11 AUG 2016

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I

**(Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS)**  
NIP. 19611106 198602 2 001  
Tanggal : 11 AUG 2016

Dosen Penguji II

**(Ir. Heny Suprastyani, MS)**  
NIP. 19620904 198701 2 001  
Tanggal : 11 AUG 2016

Dosen Pembimbing II

**(Dr. Ir. Maftuch, M.Si)**  
NIP. 19660825 199203 1 001  
Tanggal : 11 AUG 2016



Mengetahui,  
Ketua Jurusan MSP

**(Dr. Ir. Arning M. Ekawati, MS)**  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal : 11 AUG 2016

## LEMBAR ORISINALITAS

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

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang,  
Mahasiswa

KIKI NUR FITRIANA  
NIM. 125080501111022



## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Allah SWT atas terselesaikannya laporan penelitian ini, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu, Bapak dan Adek tercinta atas segala kasih sayang, do'a, bimbingan moril maupun materiil, dukungan serta motivasinya yang telah diberikan selama ini.
2. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS dan Bapak Dr. Ir. Maftuch, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah sabar membimbing dan meluangkan waktunya kepada penulis.
3. Bapak Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen penguji yang telah memberi masukan dan meluangkan waktunya kepada penulis.
4. Orang-orang dibalik layar: Ryan, Mili, Eka, Umaroh, Yogi, El, Charis, Putri Dwi, Arno, Denny, Sona, Rien, Mbak Fahma yang telah memberikan kasih sayang, semangat, motivasi dan bantuan selama penelitian.
5. Teman-teman Aquasean BP 2012 dan keluarga besar Budidaya Perairan yang telah ikut serta memberikan semangat dan bantuan selama penelitian.
6. Seluruh pihak yang telah membantu penulis selama penelitian.

Malang, 20 Juli 2016

Penulis

## RINGKASAN

**KIKI NUR FITRIANA.** Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Histopatologi Ginjal Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* (di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS** dan **Dr. Ir. Maftuch, M.Si**).

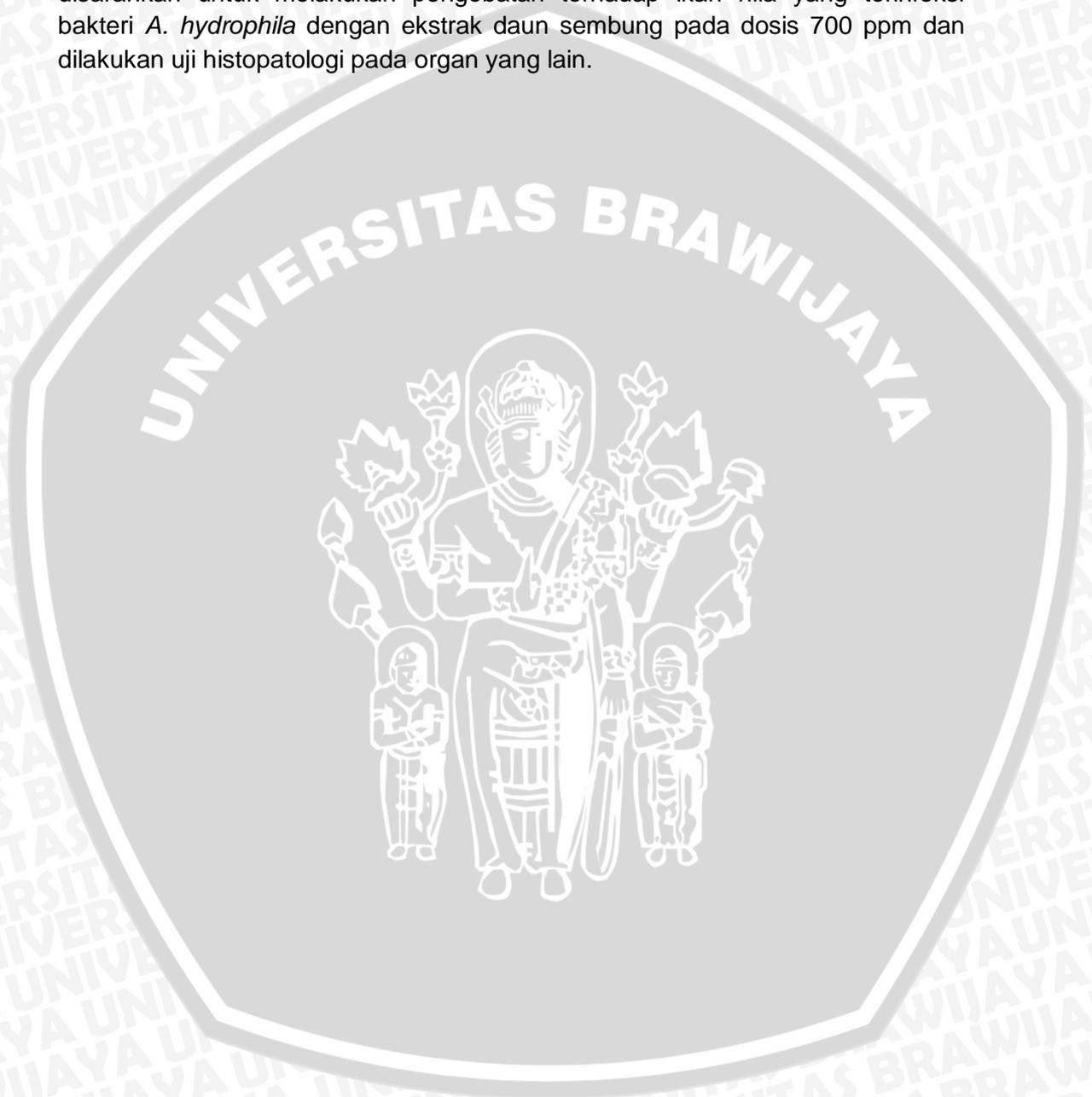
Ikan nila merupakan ikan air tawar yang bernilai ekonomis tinggi yang memiliki keunggulan berkembang dengan cepat dan digemari masyarakat Indonesia. Tetapi pada usaha budidaya ikan nila tidak lepas dari adanya infeksi penyakit yang dapat menyebabkan kerugian bagi pengusaha budidaya. Salah satu bakteri yang menyebabkan kerugian ikan air tawar adalah *Aeromonas hydrophila*. Fitofarmaka menjadi pilihan sebagai obat alami yang khasiat alaminya telah terbukti aman. Daun sembung adalah salah satu *herbal medicine* yang diketahui dapat dimanfaatkan sebagai anti biotik alami karena mengandung senyawa yang diduga dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri. Pengujian histopatologi ginjal diduga dapat dijadikan bukti pengaruh ekstrak kasar daun sembung dalam menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri.

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari hingga bulan Maret 2016 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Metode penelitian yang dilakukan adalah metode eksperimen dengan rancangan penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan 3 perlakuan (500 ppm, 600 ppm dan 700 ppm) dengan 3 kali ulangan serta dua kontrol pembanding yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Data hasil yang diperoleh dianalisis sidik ragam, dilanjutkan dengan uji BNT dan terakhir dilakukan uji *polynomial orthogonal*. Parameter utama yang diukur pada penelitian ini adalah histopatologi ginjal ikan nila, sedangkan parameter penunjang meliputi gejala klinis dan kualitas air seperti suhu, oksigen terlarut (DO) dan suhu.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini dapat dikatakan bahwa jaringan ginjal ikan nila yang telah terinfeksi bakteri *A. hydrophila* mengalami kerusakan berupa kongesti, edema dan nekrosis. Pada kerusakan kongesti, daun sembung memberikan pengaruh nyata, grafik yang terbentuk adalah linier dengan persamaan  $y = 4,556 - 0,004x$  dan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,867. Pada kerusakan edema, daun sembung juga memberikan pengaruh sangat nyata, grafik yang terbentuk adalah linier dengan persamaan  $y = 5,244 - 0,005x$  dan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,952. Pada kerusakan nekrosis, daun sembung memberikan pengaruh sangat nyata, grafik yang terbentuk adalah linier dengan persamaan  $y = 4,822 - 0,004x$  yang memiliki nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) yakni sebesar 0,937. Nilai koefisien korelasi dari semua kerusakan mendekati 1 yang artinya variasi dalam variabel Y dapat diterangkan oleh model regresi. Hasil pengamatan gejala klinis yang terjadi adalah adanya perubahan tingkah laku (berenang miring dan mendekati aerasi) dan perubahan morfologi (luka pada mulut dan ekor, perut menggebung, pendarahan pada sirip

pektoral). Hasil pengamatan kualitas air berupa suhu berkisar 26,4-29,4° C, DO berkisar 4,9-8,7 mg/l dan pH berkisar antara 6,7-8,1.

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah ekstrak kasar daun sembung mempengaruhi histopatologi ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan dosis terbaik sebesar 700 ppm. Berdasarkan penelitian ini disarankan untuk melakukan pengobatan terhadap ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan ekstrak daun sembung pada dosis 700 ppm dan dilakukan uji histopatologi pada organ yang lain.



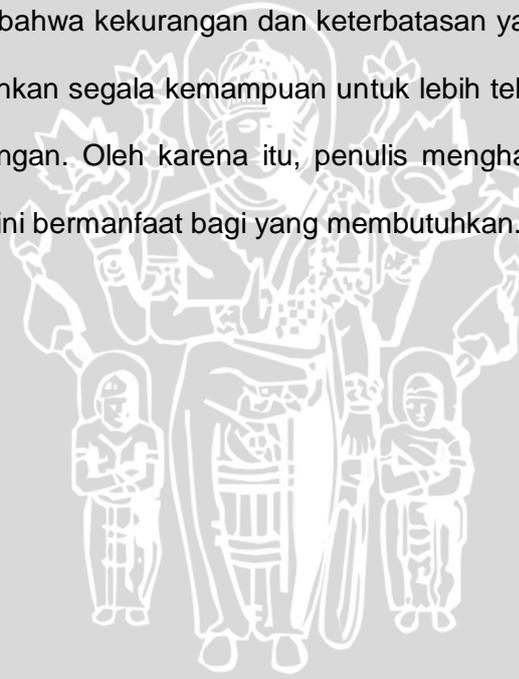
## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas limpahan nikmat serta karunia-Nya, maka penyusunan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*Blume balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Histopatologi Ginjal Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*” dapat diselesaikan dengan baik. Laporan skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

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

Malang, Juli 2016

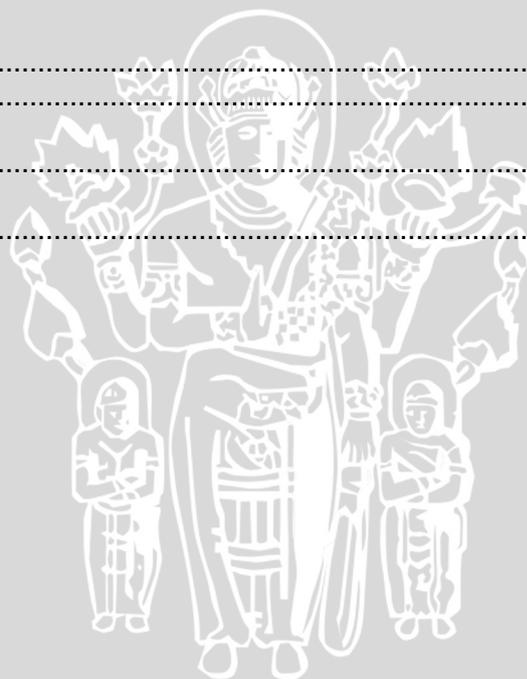
Penulis



DAFTAR ISI

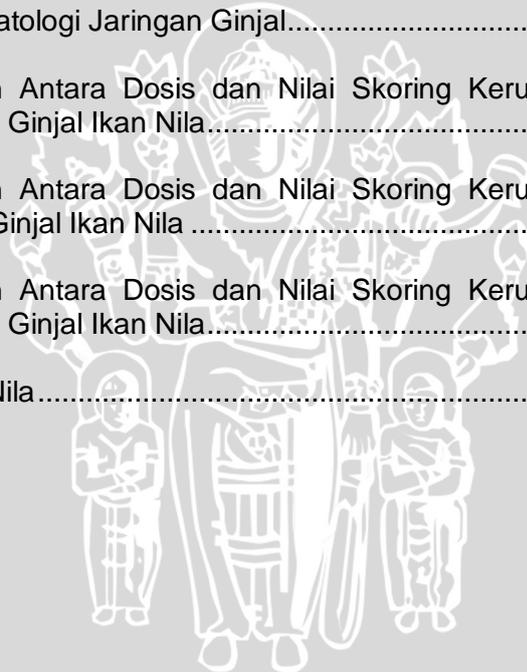
	Halaman
<b>RINGKASAN</b> .....	i
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	viii
<b>1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Hipotesis.....	5
1.5 Kegunaan Penelitian.....	5
1.6 Waktu dan Tempat Penelitian.....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Biologi Ikan Nila ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	7
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi .....	7
2.1.2 Habitat dan Penyebarannya .....	8
2.1.3 Makanan dan Kebiasaan Makan .....	9
2.2 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	10
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	10
2.2.2 Habitat dan Penyebaran.....	11
2.2.3 Infeksi.....	12
2.3 Daun Sembung ( <i>Blumea balsamifera</i> (L.) DC.).....	12
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi .....	12
2.3.2 Habitat dan Penyebaran .....	14
2.3.3 Kandungan dan Manfaat.....	14
2.3.4 Antimikroba.....	15
2.3.5 Proses Ekstraksi.....	16
2.4 Histopatologi.....	17
2.4.1 Pengertian Histopatologi.....	17
2.4.2 Pembuatan Preparat dalam Histopatologi.....	18
2.5 Ginjal Ikan.....	20
2.6 Kualitas Air .....	21
<b>3. METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Materi Penelitian.....	24
3.1.1 Alat Penelitian .....	24
3.1.2 Bahan penelitian .....	25
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian.....	25
3.2.1 Metode Penelitian .....	25

3.2.2 Rancangan penelitian .....	26
3.3 Prosedur Penelitian .....	28
3.3.1 Persiapan penelitian.....	28
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian .....	32
3.4 Parameter Uji .....	36
3.4.1 Parameter Utama.....	36
3.4.2 Parameter Penunjang.....	36
3.5 Analisis Data.....	37
<b>4. PEMBAHASAN</b>	
4.1 Gambaran Histopatologi Ginjal Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) .....	39
4.1.1 Gambaran Histologi Ginjal Ikan Sehat dan Ikan Yang Ter- Infeksi Bakteri.....	39
4.1.2 Gambaran Perubahan Histopatologi Pada Jaringan Ginjal Ikan Nila .....	40
4.2 Pengamatan Gejala Klinis Ikan.....	54
4.3 Pengamatan Kualitas Air.....	55
<b>5. PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan.....	57
5.1 Saran .....	57
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	58
<b>LAMPIRAN</b> .....	65



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ).....	8
2. Bakteri <i>A. hydrophila</i> (Perbesaran 100x) .....	11
3. Daun Sembung ( <i>B. balsamifera</i> (L.) DC.) .....	13
4. Denah Penelitian.....	28
5. Alur Perhitungan Skoring (Gerak zig zag).....	38
6. Histologi Ginjal Normal dan Terinfeksi Bakteri.....	40
7. Gambaran Histopatologi Jaringan Ginjal.....	41
8. Grafik Hubungan Antara Dosis dan Nilai Skoring Kerusakan Kongesti Jaringan Ginjal Ikan Nila.....	45
9. Grafik Hubungan Antara Dosis dan Nilai Skoring Kerusakan Edema Jaringan Ginjal Ikan Nila .....	49
10. Grafik Hubungan Antara Dosis dan Nilai Skoring Kerusakan Nekrosis Jaringan Ginjal Ikan Nila.....	53
11. Gejala Klinis Ikan Nila.....	55

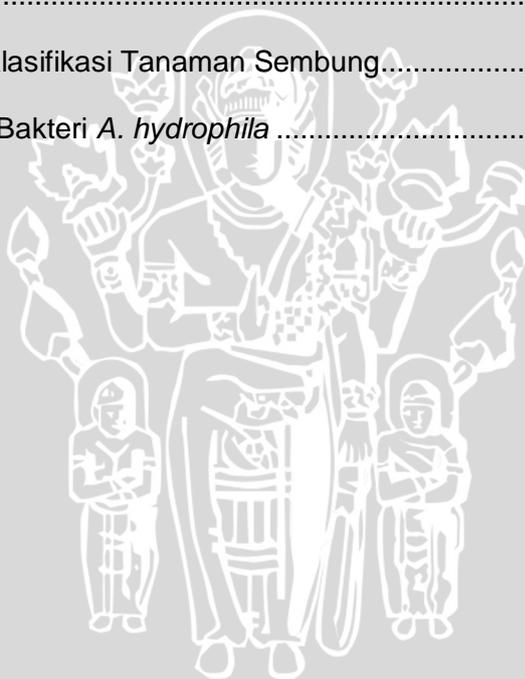


## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat-Alat Penelitian Beserta Fungsinya .....	24
2. Bahan-Bahan Penelitian Beserta Fungsinya .....	25
3. Rancangan Perlakuan .....	27
4. Larutan Standart Mc Farland .....	31
5. Rerata Skoring Kerusakan Kongesti Pada Jaringan Ginjal Ikan Nila .....	43
6. Hasil Uji Sidik Ragam Skoring Kerusakan Kongesti pada Jaringan Ginjal Ikan Nila .....	43
7. Hasil Uji BNT Skoring Kerusakan Kongesti pada Jaringan Ginjal Ikan Nila .....	44
8. Rerata Skoring Kerusakan Edema Pada Jaringan Ginjal Ikan Nila .....	46
9. Hasil Uji Sidik Ragam Skoring Kerusakan Edema Jaringan Ginjal Ikan Nila .....	47
10. Hasil Uji BNT Skoring Kerusakan Edema Pada Jaringan Ginjal Ikan Nila .....	48
11. Rerata Skoring Kerusakan Nekrosis Pada Jaringan Ginjal Ikan Nila .....	50
12. Hasil Uji Sidik Ragam Skoring Kerusakan Nekrosis Jaringan Ginjal Ikan Nila .....	51
13. Hasil Uji BNT Skoring Kerusakan Nekrosis Jaringan Ginjal Ikan Nila .....	52
14. Kisaran Parameter Kualitas Air Selama Penelitian .....	56

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan Penelitian .....	65
2. Penentuan Dosis Perendaman Ikan dengan Ekstrak Daun Sembung ( <i>B. balsamifera</i> (L.) DC.) .....	69
3. Dokumentasi Penelitian .....	70
4. Hasil Skoring Kerusakan Ginjal Ikan Nila .....	71
5. Perhitungan Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Nila .....	72
6. Data Kualitas Air .....	81
7. Hasil Identifikasi Klasifikasi Tanaman Sembung .....	84
8. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>A. hydrophila</i> .....	85



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Komoditas perikanan di Indonesia khususnya perikanan air tawar dewasa ini cukup menggoda untuk dicermati dan ditekuni. Keuletan, kegigihan serta rasa tidak cepat menyerah adalah hal penting dalam mendongkrak dan menggali potensi perikanan di Indonesia. Salah satu cara untuk menyikapi dan mengantisipasi hal tersebut tidak ada salahnya apabila potensi budidaya ikan air tawar atau budidaya ikan darat terus digali (Saparinto dan Rini, 2013). Hal ini ditambahkan pernyataan dari Kusumawardani, Kusdarwati dan Handijatno (2008), peluang dalam mengembangkan budidaya perikanan untuk memenuhi kebutuhan pasar semakin besar. Peluang tersebut tidak lepas dari adanya tantangan yang harus dihadapi misalnya mengenai mutu dan sanitasi (keamanan pangan).

Menurut Jalaluddin (2014), ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu ikan air tawar yang digemari masyarakat Indonesia. Bibit nila didatangkan ke Indonesia secara resmi oleh Balai Peneliti Perikanan Air Tawar (Balitkanwar) dari Taiwan pada tahun 1969. Setelah melalui masa penelitian dan diadaptasikan, ikan ini kemudian disebarluaskan kepada petani seluruh Indonesia. Nila adalah nama khas Indonesia yang diberikan pemerintah melalui Direktur Jenderal Perikanan. Menurut Putra, Setiyanto dan Wahyuningrum (2011), untuk meningkatkan produksi ikan nila, budidaya secara intensif perlu dilakukan dengan jalan pemberian makanan yang berkualitas dan kualitas air juga diperhatikan sehingga kelangsungan hidup ikan nila akan semakin terjaga.

Menurut Zheila (2013), ikan nila (*O. niloticus*) merupakan ikan budidaya yang menjadi salah satu komoditas ekspor. Ikan nila merupakan ikan air tawar yang memiliki nilai ekonomis tinggi, memiliki kandungan protein tinggi dan

keunggulan berkembang dengan cepat. Kandungan gizi ikan nila yaitu pada protein 16-24%, lemak 0,2-2,2% dan mempunyai kandungan karbohidrat, mineral dan vitamin. Ikan nila juga memiliki pertahanan yang tinggi terhadap gangguan dan serangan penyakit namun tidak berarti tidak terdapat hama dan penyakit yang akan mempengaruhi kesehatan dan pertumbuhan ikan nila, terlebih pada fase benih. Ikan dapat terserang penyakit yang disebabkan oleh organisme lain, pakan maupun kondisi lingkungan yang kurang baik.

Hama dan penyakit yang mengganggu usaha budidaya bisa berasal dari dalam atau luar tubuh ikan itu sendiri. Menurut Maftuch dan Dalimunthe (2013), salah satu mikroorganisme yang merupakan patogen pada ikan adalah bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri ini biasanya menyebabkan kerusakan pada kulit ikan. Menurut Prajitno (2007) dalam Maftuch dan Dalimunthe (2013) menyatakan munculnya bakteri ini sering kali dalam bentuk infeksi sekunder. Ikan yang terinfeksi akan mengalami pendarahan dan pembengkakan yang berisi cairan dan luka pada otot dan kulit.

Pada umumnya penanggulangan penyakit pada usaha budidaya dengan melakukan perendaman, penyuntikan dan menambahkan pakan pada ikan. Menurut Maftuch dan Dalimunthe (2013), metode perendaman dipilih terutama untuk mengobati ikan-ikan yang terinfeksi dibagian luar tubuh. Perendaman dilakukan dengan menggunakan obat-obat tertentu sebagai anti biotik. Pemakaian obat-obatan ini selalu disarankan agar dilakukan secermat mungkin karena apabila dosisnya terlalu sedikit tidak akan memberikan pengaruh, sebaliknya jika dosis yang diberikan terlalu tinggi akan mengakibatkan resistensi bakteri terhadap obat yang digunakan. Air bekas perendaman juga tidak boleh dibuang sembarangan karena jika dibuang ke perairan umum dapat mencemari perairan tersebut. Oleh karena itu diperlukan alternatif pengobatan lain yang ramah lingkungan dan tidak menimbulkan resistensi terhadap bakteri.

Menurut Darmayasa (2008), dewasa ini, kita tahu bahwa pengobatan tradisional dari nenek moyang mulai digali sebagai pengobatan alternatif dari pengobatan sintetis. Pengobatan sintetis dikenal memiliki efek samping yaitu terjadinya resistensi jika penggunaannya kurang tepat. Masyarakat cenderung memilih pengobatan tradisional karena dianggap lebih murah dan ramah lingkungan sehingga tidak mudah mencemari lingkungan. Menurut Wahjuningrum, Astrini dan Setiawati (2013), fitofarmaka memiliki beberapa keunggulan dibandingkan kegiatan pencegahan lainnya karena dapat dibuat dengan teknik yang sederhana dan ramah lingkungan untuk pemakaian dalam waktu yang lama. Fitofarmaka merupakan sediaan bahan alami dari tanaman yang telah terbukti keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji pra klinis dan uji klinis, sehingga bahan baku serta produk jadinya telah distandardisasi oleh pihak-pihak yang berwenang. Menurut Rahmiyani, Mulyono dan Mardiana (2015), tumbuhan merupakan sumber bahan kimia produk alami bahan obat yang sangat penting bagi kesehatan kesejahteraan manusia. Senyawa kimia yang terkandung dalam tumbuhan berkhasiat obat berasal dari hasil metabolisme sekunder, seperti senyawa golongan terpen, alkaloid, fenol, polipeptida dan flavonoid beserta turunannya.

Salah satu *herbal medicine* yang cukup potensial untuk dimanfaatkan sebagai anti biotik alami adalah daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.). Daun sembung mengandung tanin dan saponin yang diduga sebagai senyawa antimikroba (Sumarsono, 2008).

Menurut Maftuch dan Dalimunthe (2013), cara mendiagnosa atau memeriksa ikan yang sakit dapat dipilih beberapa metoda, diantaranya adalah pengamatan langsung di lapangan (in situ), pengamatan parasitologi, pengamatan histopatologi, pengamatan bakteriologi dan pengamatan serologi. Pengamatan histopatologi dimaksudkan untuk melihat kerusakan yang

ditimbulkan oleh agen penyakit pada sel dan jaringan tubuh ikat. Pengamatan ini dilakukan dengan cara mengamati jaringan ikan yang diduga telah terinfeksi. Jaringan ikan yang diamati sebelumnya harus diiris setipis mungkin (setebal satu sel saja). Hasil penelitian Ghufron (2014) menunjukkan bahwa ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*. Berdasarkan penelitian tersebut maka penulis akan melakukan penelitian untuk mengkaji pengaruh pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap histopatologi ginjal ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

## 1.2 Perumusan Masalah

Menurut Maftuch dan Dalimunthe (2013), budidaya merupakan upaya manusia dalam meningkatkan produksi dengan memanipulasi lingkup hidup ikan menyerupai kehidupan aslinya. Upaya ini bukan berarti tanpa masalah, bahkan dalam perkembangannya ditemukan banyak masalah-masalah baru. Salah satu masalah baru yang menjadi kendala adalah penyakit dalam budidaya perairan. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*.

Penelitian sebelumnya oleh Ghufron (2014) diketahui antibiotik alami berupa daun sembung dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* secara *in vitro*. Berhubungan dengan hal tersebut, maka rumusan masalah dalam penelitian yaitu:

- Apakah pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berpengaruh terhadap histopatologi ginjal ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*?
- Berapakah dosis yang tepat ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) yang mempengaruhi histopatologi ginjal ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

- Untuk mengetahui apakah ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) berpengaruh terhadap histopatologi ginjal ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*
- Untuk mengetahui dosis yang tepat dari ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) yang mempengaruhi histopatologi ginjal ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*

### 1.4 Hipotesis

H<sub>0</sub> : Diduga pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) tidak berpengaruh terhadap histopatologi ginjal ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

H<sub>1</sub> : Diduga pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dapat berpengaruh terhadap histopatologi ginjal ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

### 1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi bagi para pembudidaya ikan nila mengenai penggunaan tanaman herbal yaitu daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dimana ekstraknya dapat digunakan sebagai anti bakteri untuk membunuh bakteri *A. hydrophila* sehingga proses pencegahan atau pengendalian penyakit dapat bersifat ramah lingkungan.

### 1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 21 Januari 2016 sampai dengan tanggal 20 Maret 2016, yang meliputi persiapan alat dan bahan hingga pelaksanaan penelitian. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan

Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya,  
Malang dan Laboratorium Patologi Anatomi, Rumah Sakit Islam Aisyiah, Malang.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Saparinto dan Rini (2013), klasifikasi ikan nila adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Osteichthyes
Ordo	: Perciformes
Sub Ordo	: Labroidei
Famili	: Cichlidae
Genus	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>

Menurut Khairuman dan Amri (2003), secara umum, morfologi ikan nila (Gambar 1) memiliki bentuk tubuh panjang dan ramping dengan sisik berukuran besar. Ikan nila memiliki mata yang besar, menonjol, dan bagian tepinya berwarna putih. Gurat sisi (*linea lateralis*) terputus di bagian tengah badan kemudian berlanjut, tetapi letaknya lebih ke bawah daripada letak garis yang memanjang atas sirip dada. Sisik pada gurat sisi berjumlah 34 buah. Sirip perut, sirip punggung, dan sirip dubur mempunyai jari-jari lemah tetapi keras dan tajam seperti duri. Sirip punggungnya berwarna hitam. Sirip dada dan bagian pinggir sirip punggungnya juga tampak berwarna hitam.

Menurut Saparinto dan Rini (2013), beberapa ciri ikan nila antara lain bentuk tubuh pipih dan memanjang, memiliki sisik dan kasar serta gurat sisi terputus menjadi dua bagian, yaitu atas dan bawah. Kepala berbentuk segitiga



**Gambar 1.** Ikan Nila (*O. niloticus*) (Khairuman dan Amri, 2003)

dengan letak mulut terminal sebagai arah moncongnya. Matanya agak menonjol dengan biji mata hitam dan tepiannya berwarna putih. Ikan nila memiliki rumus sirip D.XVI-XVII.11-15; P.15; V.I.5, A.III; C.18. Sirip ekor ikan nila berbentuk agak melengkung.

### **2.1.2 Habitat dan Penyebaran**

Menurut Susanto (1986), ikan nila merupakan ikan yang biasa hidup disungai atau danau. Ikan nila cocok dipelihara pada perairan yang tenang, deras maupun reservoir. Toleransi yang dimiliki ikan nila terhadap salinitas sangat tinggi sehingga ikan ini sering ditemukan hidup dan berkembang pesat pada perairan payau seperti ditambak. Hal ini ditambahkan dengan pendapat Saporinto dan Rini (2013), ikan nila dengan aklimatisasi yang baik dapat hidup pada salinitas hingga 30 ppm. Oleh karena itu, ikan nila memiliki daya adaptasi mampu hidup mulai ketinggian 0–1000 m dpl. Suhu yang baik untuk pertumbuhan 25-30° C, pH 7-8 dan oksigen 3-5 ppm.

Menurut Yanti, Muchlisin dan Sugito (2013), ikan nila banyak dibudidayakan karena mudah beradaptasi sehingga penyebarannya di alam sangat luas, baik di daerah tropis maupun di daerah beriklim sedang. Menurut Kartolani (2012), ikan nila berasal dari Sungai Nil dan danau-danau disekitarnya. Menurut Khairuman dan Amri (2003), ikan nila melakukan migrasi dari habitat aslinya, yakni di bagian hulu Sungai Nil yang melewati Uganda ke arah selatan

melewati Danau Raft dan Tanganyika. Selain itu, ikan nila juga terdapat di Afrika bagian tengah dan barat. Populasi terbanyak ditemukan di kolam-kolam ikan di Chad dan Nigeria. Dengan campur tangan manusia, saat ini ikan nila telah menyebar ke seluruh dunia dari Benua Afrika, Amerika, Eropa, Asia sampai Australia.

### 2.1.3 Makanan dan Kebiasaan Makan

Menurut Kordi (2010), makanan nila berupa plankton, perifiton serta tumbuh-tumbuhan lunak, seperti hydrilla, ganggang sutera dan klekap. Oleh karena itu, nila digolongkan ke dalam omnivor (pemakan segala/pemakan hewan dan tumbuhan). Untuk pemeliharannya, nila diberikan pakan buatan (pelet) yang mengandung protein antara 20-25% agar pertumbuhannya optimal. Kebiasaan makan pada ikan nila berbeda sesuai dengan tingkatan umurnya. Pada saat benih, ikan lebih suka memakan zooplankton, seperti *Rototaria*, *Copepoda* dan *Cladocera*. Ikan nila dewasa memiliki kemampuan mengumpulkan makanan di perairan dengan bantuan *mucus* (lendir) dalam mulutnya. Makanan tersebut membentuk gumpalan partikel sehingga tidak mudah keluar.

Menurut Khairuman dan Amri (2003), nila tergolong ikan pemakan segala atau omnivor sehingga dapat mengonsumsi makanan berupa hewan atau tumbuhan. Ketika masih benih, makanan yang disukai ikan nila adalah zooplankton (plankton hewani), seperti *Rotifera* sp., *Moina* sp., atau *Daphnia* sp. Selain itu, ikan nila juga memangsa alga atau lumut yang menempel pada benda-benda di habitat hidupnya. Ikan nila juga memakan tanaman air yang tumbuh di kolam budidaya. Jika telah mencapai ukuran dewasa, ikan nila bisa diberi berbagai makanan tambahan, misalnya pelet.

## 2.2 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

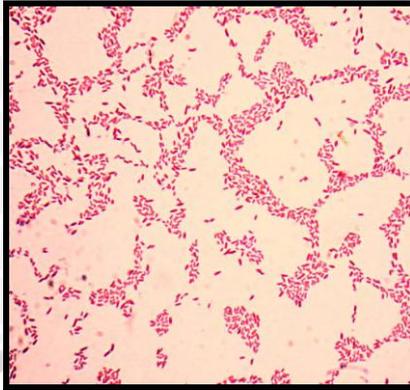
### 2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Alifia dan Bachli (2013), *Aeromonas hydrophila* adalah bakteri gram negatif, motil dan bersifat oportunistik yang dapat menyebabkan kematian pada ikan dalam waktu yang singkat. Hal ini dimungkinkan oleh adanya produk ekstraseluler toksin seperti haemolysin, aerolysin, cytolisin, enterotixin, amylase dan bahan toksin lainnya yang dikeluarkan sehingga dapat mengganggu kesehatan ikan bahkan kematian ikan tidak terhindarkan.

Menurut Hayes (2000), klasifikasi bakteri *A. hydrophila* adalah sebagai berikut:

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Proteobacteria
Phylum	: Gammaproteobacteria
Class	: Aeromonadales
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Species	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

Menurut Haryani, Grandiosa, Buwono dan Santika (2012), *A. hydrophila* (Gambar 2) merupakan bakteri *heterotrofik uniseluler*, tergolong protista prokariot yang dicirikan dengan tidak adanya membran yang memisahkan inti dengan sitoplasma. *A. hydrophila* dapat mencerna gelatin dan hemoglobin. Pada umumnya, bakteri ini berukuran 0,7-1,8 x 1,0-1,5  $\mu\text{m}$  dan bergerak menggunakan sebuah polar flagel. Bakteri ini berbentuk batang sampai dengan kokus dengan ujung membulat, dapat bertahan dalam lingkungan aerob dan anaerob, serta bersifat mesofilik dengan suhu optimum 20-30° C. *A. hydrophila* resisten terhadap *chlorine* serta suhu yang dingin (faktanya bakteri ini dapat bertahan dalam temperatur rendah  $\pm 4$  °C), tetapi setidaknya hanya dalam waktu kurang lebih 1 bulan.



**Gambar 2.** Bakteri *A. hydrophila* (Perbesaran 100x) (Samsundari, 2006)

### 2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Menurut Samsundari (2006), *A. hydrophila* tumbuh maksimal pada kisaran suhu 38°-41° C dan pertumbuhan minimal pada suhu 0°-5° C dengan kisaran pH 5,5-9. Habitatnya didaerah estuaria dan air tawar, keberadaannya berhubungan dengan kandungan bahan organik atau sedimen dasar perairan. Bakteri ini banyak terdapat didaerah tropis dan subtropis dibandingkan di daerah dingin. Kandungan oksigen yang rendah, suhu yang tinggi, akumulasi bahan organik atau sisa metabolisme ikan dan padat tebar yang tinggi sangat menunjang perkembangbiakan bakteri ini.

Menurut Mangunwardoyo, Ismayasari dan Riani (2010), bakteri *A. hydrophila* dapat hidup di lingkungan perairan tawar, payau dan laut yang memiliki kadar garam yang tinggi karena memiliki kemampuan osmoregulasi yang tinggi. Penyebaran bakteri ini dapat melalui air, kotoran burung, saluran pencernaan hewan darat, amfibi dan reptilia. Menurut Tanjung, Sadi, Maghfiroh, Dina dan Said (2013), bakteri ini dapat hidup di berbagai perairan karena merupakan bagian dari mikroflora perairan dan bisa ditemukan di dalam saluran ikan yang sehat. Keberadaan bakteri ini di danau, waduk, kolam atau sungai sering dihubungkan dengan kenaikan suhu dan karena telah terkontaminasi badan air tersebut oleh limbah domestik, terutama pada saat terjadinya eutrofikasi.

### 2.2.3 Infeksi

*A. hydrophila* sebelum melakukan infeksi, terlebih dahulu menempelkan flagel ke dalam *host cell*. Faktor virulen yang berada didalam mikroba akan beradaptasi dalam sel inang dan memantapkan keberadaannya. Pada umumnya, bakteri ini menyebabkan infeksi pada seluruh tubuh ikan disertai dengan adanya pendarahan pada organ dalam. Bakteri ini dapat menyebabkan kematian pada benih ikan hingga 90% (Shome dan Shome, 1999).

Menurut Irianto, Hernayanti dan Iriyanti (2006), bakteri *A. hydrophila* adalah bakteri patogen yang menyebabkan penyakit *Motile Aeromonas Septicaemia* (MAS) yang memiliki tanda-tanda berupa ikan dengan perut busung, peradangan di sekitar luka, pendarahan pada tubuh ikan, insang membusuk, timbul borok, lemas dan mata menonjol (*exophthalmia*). Infeksi *A. hydrophila* berakibat peradangan dan hemoragik (pendarahan) pada bagian ginjal, jaringan otot punggung dan usus. Setelah *Aeromonas* masuk ke dalam tubuh, bakteri ini akan menembus masuk kedalam pembuluh darah dan akhirnya tersebar di seluruh tubuh. Dampak yang terjadi yaitu pembuluh darah di dekat kulit pecah, sehingga permukaan tubuh berwarna kemerahan. Peradangan akan berlanjut ke seluruh bagian tubuh dan organ-organ dalam. Pada kejadian yang demikian maka sel-sel bakteri patogen dapat dijumpai pada organ-organ dalam seperti hati dan ginjal.

## 2.3 Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.)

### 2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Sembung dikenal memiliki banyak kegunaan sebagai tumbuhan obat tradisional. Bagian tanaman yang digunakan sebagai obat adalah daun (Sumarsono, 2008). Klasifikasi daun sembung menurut Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) dapat dilihat pada Lampiran 7. Adapun menurut Hani (2008), klasifikasi tanaman sembung sebagai berikut.

Divisi : Spermatopyta  
Sub divisi : Angiospermae  
Kelas : Dicotyledoneae  
Bangsa : Asterales  
Suku : Compositae  
Marga : Blumea  
Jenis : *Blumea balsamifera* (L.) DC.

Menurut Afifah (2005), sembung (Gambar 3) merupakan tanaman perdu tegak yang memiliki tinggi sekitar 2-4 meter. Batangnya memiliki bulu yang banyak seperti domba. Pada umumnya batang bagian bawahnya tidak bercabang namun bagian atasnya memiliki cabang banyak. Daun tanaman sembung ini panjang berbentuk taji, berlekuk dan bersirip serta memiliki rasa pahit. Bunganya mengumpul membentuk gerombolan berwarna kuning.



**Gambar 3.** Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) (Dokumen Pribadi, 2016)

Sembung merupakan tanaman mirip perdu, tegak, berbatang satu dan bercabang banyak. Tingginya mencapai 1-4 meter dan berbau sangat aromatis (Hani, 2008). Tanaman sembung memiliki daun tunggal, bagian bawah bertangkai dan bagian atas merupakan daun duduk, tumbuh berseling, bentuk daun bulat telur sampai lonjong, bagian pangkal dan ujung daun lancip, pertulangan daun menyirip, tepian daun bergerigi, panjang daun 4-40 cm dan

lebar 22 cm, terdapat 2-3 daun tambahan pada tangkai daunnya. Permukaan atas daun berambut agak kasar, sedangkan bawah berambut halus (Herliana, 2013).

### 2.3.2 Habitat dan Penyebaran

Menurut Herliana (2013), tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berasal dari Nepal. Hidup di tempat terbuka sampai agak terlindung di tepi sungai dan lahan pertanian. Tanaman ini dapat tumbuh pada ketinggian sampai 2.200 m dpl dengan kondisi tanah berpasir atau tanah yang agak basah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Isnawati, Arini dan Alegantina (2006) bahwa tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) termasuk dari suku *Asteraceae* biasanya dapat tumbuh ditempat terbuka, terlindung, tepi sungai, tanah pertanian, pekarangan, tanah berpasir dan tanah yang sedikit basah pada ketinggian 2200 meter diatas permukaan laut.

### 2.3.3 Kandungan dan Manfaat

Menurut Sumarsono (2008), tanaman sembung memiliki kandungan zat aktif yaitu minyak atsiri 0,5% terdiri dari sineol, borneol, landerol dan kamper; flavanol; tanin; dammar dan ksantoksilin. Tanin merupakan senyawa polifenol yang alami bersifat dapat berikatan dengan protein atau polimer lainnya seperti selulosa, hemiselulosa dan pectin untuk membentuk suatu senyawa kompleks yang stabil. Tanin dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Saponin termasuk salah satu senyawa sterolin atau glikosida sterol berdasarkan ketidaklarutannya dalam air dan tidak beracun terhadap hewan. Saponin adalah senyawa surfaktan serta bersifat imunostimulator dan antikarsinogenik. Saponin dapat meningkatkan permeabilitas sel-sel mukosa usus dalam konsentrasi rendah namun dalam dosis yang cukup tinggi dapat menekan dan menurunkan sistem kekebalan sehingga terjadi perlambatan pertumbuhan.

Daun sembung berkhasiat untuk memperlancar pengeluaran gas, memperlancar peredaran darah, sebagai antiperadangan, peluruh dahak (ekspektoran). Astrigen, tonikum, mematkan pertumbuhan kuman dan bersifat analgesik. Saat ini daun sembung banyak digunakan sebagai tanaman obat yang dapat mengatasi berbagai penyakit seperti rematik, persendian sakit setelah melahirkan diabetes (kencing manis), sesak nafas, influenza, demam, nyeri haid, perut kembung, bronchitis, diare, nyeri dada akibat penyempitan pembuluh darah koroner dan sariawan (Herliana, 2013).

#### **2.3.4 Antimikroba**

Antimikroba merupakan komponen yang mempunyai kemampuan dalam menghambat atau mematikan mikroorganisme. Antimikroba yang mempunyai kemampuan membunuh mikroba disebut bakterisidal, sedangkan antimikroba yang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba disebut bakteristatik (Volk dan Wheeler, 1998). Bahan antimikroba merupakan salah satu penghambatan mikroorganisme secara kimia yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba. Antimikroba yang digunakan harus memiliki tingkat toksisitas selektif setinggi mungkin. Toksisitas selektif yang dimaksud adalah memiliki sifat yang sangat toksik terhadap mikroba patogen namun relatif aman bagi inang. Aktivitas antimikroba tertentu dapat meningkat dari menghambat menjadi membunuh jika konsentrasi antimikrobanya ditingkatkan. Beberapa faktor yang mempengaruhi penghambatan mikroba oleh antimikroba yakni konsentrasi antimikroba, jumlah mikroorganisme, spesies mikroorganisme, temperatur dan adanya bahan organik (Pelczar dan Chan, 1986).

Menurut Kusmiyati dan Wayan (2007), mekanisme kerja senyawa antibakteri terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri dapat berupa merusak dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran

sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, penghambatan kerja enzim, perubahan molekul protein dan asam nukleat serta penghambatan sintesis asam nukleat dan protein.

### 2.3.5 Proses Ekstraksi

Menurut Senja, Issusilaningtyas, Nugroho dan Setyowati (2014), dalam proses ekstraksi suatu tanaman terdapat beberapa faktor yang perlu diperhatikan karena dapat mempengaruhi kandungan senyawa hasil ekstraksi, diantaranya jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi dan suhu yang digunakan untuk ekstraksi. Hal ini ditambahkan dengan pernyataan menurut Dewi (2010), proses pemisahan senyawa dalam simplisia menggunakan pelarut tertentu sesuai dengan sifat senyawa yang akan dipisahkan. Pemisahan pelarut berdasarkan kaidah '*like dissolved like*' yang berarti suatu senyawa polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar. Metode ekstraksi yang paling sederhana adalah maserasi. Menurut Istiqomah (2013), maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan dilakukan pengocokan atau pengadukan beberapa kali pada temperatur ruangan. Tujuan maserasi adalah untuk mendapatkan khasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi, maserasi termasuk ekstraksi dengan menggunakan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Dasar maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk saat penghalusan. Menurut Sholikhatin, Sarwiyono dan Surjowardjojo (2014), prosedur pembuatan ekstrak yaitu daun kersen yang telah halus ditimbang sebanyak 150 gram dan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer ukuran 1 liter; pembuatan campuran kersen dan etanol dengan menambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 150 gram daun kersen dan 600 ml pelarut (daun kersen kering : etanol sebanyak 1:4) dan untuk hasil yang maksimal campuran kersen dan etanol diendapkan selama satu malam;

pengocokan campuran menggunakan inkubator *shaker* dengan kecepatan 180 rpm selama 60 menit pada suhu ruang; campuran selanjutnya disaring dan apabila campuran masih kental dilakukan pengocokan ulang, umumnya campuran menjadi jernih setelah dilakukan lima kali pengocokan; proses evaporasi selanjutnya dilakukan untuk memisahkan hasil ekstrak yang diperoleh dengan pelarut etanolnya; hasil ekstrak ditimbang dengan timbangan analitik dan disimpan di dalam refrigerator pada suhu 5-10° C untuk pengawetan.

## **2.4 Histopatologi**

### **2.4.1 Pengertian Histopatologi**

Histopatologi merupakan ilmu yang membahas mengenai sel-sel yang berkaitan dengan penyakit. Pengamatan histopatologi dimaksudkan untuk melihat kerusakan yang ditimbulkan oleh agen penyakit pada sel dan jaringan tubuh ikan (Maftuch dan Dalimunthe, 2013). Menurut Setyowati, Hidayati, Awik dan Abdulgani (2010), analisa histopatologi digunakan sebagai biomarker untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ-organ yang menjadi sasaran utama bahan pencemar seperti insang, hati, ginjal dan sebagainya. Selain itu, penggunaan biomarker histopatologi juga dapat digunakan dalam memonitoring lingkungan dengan mengamati organ-organ tersebut yang memiliki fungsi penting dalam metabolisme tubuh sehingga dapat digunakan sebagai diagnosis awal terjadinya gangguan kesehatan pada suatu organisme.

Menurut Asniatih, Idris dan Sabilu (2013), pemeriksaan histopatologi pada ikan dapat memberikan gambaran perubahan jaringan ikan yang terinfeksi penyakit. Diagnosa penyakit merupakan langkah awal yang perlu diterapkan dalam penentuan penyakit pada ikan. Proses diagnosa penyakit infeksi pada ikan memiliki beberapa hal yang harus diperhatikan yaitu, tanda-tanda klinis yang meliputi tingkah laku, ciri-ciri eksternal maupun internal serta perubahan patologi.

Perubahan patologi pada ikan yang terserang penyakit diketahui melalui pemeriksaan histologi yang digunakan untuk mendeteksi adanya komponen-komponen patogen yang bersifat infeksi melalui pengamatan secara mikro anatomi terhadap perubahan abnormal tingkat jaringan.

#### 2.4.2 Pembuatan Preparat dalam Histopatologi

Menurut Maftuch dan Dalimunthe (2013), pengamatan histopatologi bertujuan untuk melihat kerusakan yang ditimbulkan oleh agen penyakit pada sel dan jaringan tubuh ikan yang dilakukan dengan cara mengamati jaringan ikan yang diduga telah terinfeksi. Menurut Wikiandy, Rosidah dan Herawati (2013), pengamatan ikan yang terpapar logam menggunakan metode mikrotetik yaitu dengan membuat preparat histologi dengan cara organ insang, hati dan ginjal diawetkan dalam rendaman larutan fiksatif untuk kemudian dibuat menjadi preparat histologi. Jaringan ikan yang diamati sebelumnya harus diiris setipis mungkin (setebal satu sel saja). Pembuatan preparat histologi meliputi beberapa tahap yaitu *fiksasi*, *dehidrasi*, *clearing*, *infiltrasi paraffin*, *embedding paraffin*, penyayatan, penempelan sayatan dan pewarnaan H&E.

Menurut Setyowati, Hidayati, Awik dan Abdulgani (2010), prosedur dalam pembuatan preparat histologis adalah:

- Ikan dibedah dan diambil bagian ginjalnya
- Diawetkan dengan formalin 4% selama 24 jam.
- Fiksasi, memindahkan ginjal ke dalam larutan FAA selama 24 jam.
- Dehidrasi, dilakukan secara bertingkat dengan alkohol 70%, 80%, 90%, 95% serta alkohol masing-masing 1 jam.
- *Clearing*, dilakukan selama 1 jam yaitu dimasukkan ke dalam larutan alcohol-xylol, lalu memasukkannya ke dalam xylol murni I, II, III masing-masing selama 20 menit.

- Infiltrasi, menggunakan paraffin. Ginjal dimasukkan kedalam xylol : paraffin (1:1) cair selama 20 menit, kemudian memasukkan paraffin cair I, II, III masing-masing selama 20 menit ke dalam oven dengan suhu 60° C.
- *Embedding*, tahapan menanam jaringan atau sampel yang digunakan. Paraffin cair dituangkan ke dalam cetakan sampai penuh kemudian membenamkan potongan organ ke dalam paraffin tersebut. Jaringan diletakkan pada posisi dasar tengah dengan posisi melintang.
- *Sectioning*, sampel dipotong menggunakan *microtom* dengan ketebalan 6-10 mikron.
- *Afixxing*, perekatan dengan menggunakan albumin dan gliserin dengan perbandingan 1:1, disimpan dalam kotak sediaan selama 1 hari.
- Deparafiniasi, untuk menghilangkan paraffin, sediaan dimasukkan ke dalam xylol selama 10 menit.
- *Staining* atau pewarnaan, proses pewarnaan dengan menggunakan hematoxylin dan eosin dengan langkah sebagai berikut:
  - a. Sediaan histologi dihisap xylolnya dengan menggunakan kertas saring. Kemudian berturut-turut dimasukkan ke alkohol 96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40% dan 30% masing-masing selama 5 menit lalu ke aquades selama 5 menit. Dicuci menggunakan air mengalir kurang lebih 2 menit.
  - b. Dimasukkan ke dalam haemotoxylin selama 4 menit.
  - c. Dicuci dengan air mengalir selama 10 menit.
  - d. Dimasukkan ke dalam aquades dan alkohol 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 96% masing-masing beberapa celupan.
  - e. Dimasukkan ke dalam eosin selama 1,5 menit.
  - f. Dimasukkan ke dalam alkohol 70%, 80%, 90% dan 95%.
  - g. Preparat dikering-anginkan, dimasukkan ke dalam xylol selama 15 menit.

h. Sediaan histologi ditetesi dengan *canada balsam* lalu ditutup dengan cover glass.

- *Mounting* (Penutupan) dan *Labelling* (Pemberian Label) yaitu penutupan preparat dengan menggunakan kaca penutup dan member identitas pada preparat.

## 2.5 Ginjal Ikan

Menurut Widyaningrum dan Suharyanti (2011), ginjal merupakan salah satu organ yang paling banyak mengakumulasi logam berat. Fungsi ginjal antara lain untuk zat-zat ekskresi yang tidak dibutuhkan tubuh seperti senyawa nitrogen, asam urat dan bahan-bahan beracun yang terbawa dalam sistem sirkulasi, mengatur keseimbangan air dan elektrolit dalam tubuh dan mempertahankan keseimbangan asam-basa serta menghasilkan hormon renin. Renin berfungsi untuk mengatur tekanan, pH darah dan kadar ion  $\text{Na}^+$ . Ginjal mengatur susunan kimia lingkungan internal dengan proses yang kompleks, yaitu filtrasi, absorpsi dan sekresi.

Menurut Istikhanah, Sarjito dan Prayitno (2014), perubahan patologis pada ginjal akibat *A. hydrophila* pada ikan korean cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) yaitu degenerasi pada tubulus distal dan pada glomerulus serta jaringan hematopoetik mengalami nekrotik. Selain itu, infeksi yang disebabkan *A. hydrophila* juga mengakibatkan terjadinya infiltrasi sel radang meluas pada lapisan epidermis. Beberapa kerusakan ginjal pada ikan yang terserang *A. hydrophila* antara lain:

### a. Kongesti

Menurut Alifia (2013), kongesti adalah berlimpahnya darah dalam pembuluh darah sehingga kapiler darah membengkak. Menurut Solikhah dan

Widyaningrum (2015), kongesti ditandai dengan adanya dilatasi (talangiektasis) pembuluh darah karena adanya peningkatan jumlah eritrosit.

#### b. Edema

Menurut Putra (2014), edema merupakan suatu kondisi dimana meningkatnya jumlah cairan dalam jaringan interseluler. Kerusakan edema terjadi pada jaringan ikat longgar (sub kutis) dan rongga-rongga badan (rongga perut dan di dalam paru-paru). Penyebab edema adalah adanya peningkatan tekanan hidrostatik intra vaskula yang menimbulkan perembesan cairan plasma darah keluar dan masuk ke dalam ruang interstisium. Kondisi peningkatan tekanan hidrostatik sering ditemukan pada pembendungan pada vena (kongesti).

#### c. Nekrosis

Menurut Prince dan Wilson (2006) dalam Istikhanah, Sarjito dan Prayitno (2014), nekrosis merupakan sel-sel yang mempunyai aktivitas yang sangat rendah dan akhirnya mengalami kematian sel jaringan sehingga menyebabkan hilangnya fungsi pada daerah yang mengalami nekrosis.

### 2.6 Kualitas Air

Menurut Suherman, Iskandar dan Astuy (2002), suhu air sangat dipengaruhi oleh jumlah sinar matahari yang jatuh ke permukaan air yang sebagian dipantulkan kembali ke atmosfer dan sebagian lagi diserap dalam bentuk energy panas. Suhu air merupakan faktor abiotik yang memegang peranan penting bagi kehidupan organisme perairan. Pengukuran suhu sangat perlu dilakukan untuk mengetahui karakteristik perairan. Berdasarkan hasil penelitian Goldman pada tahun 1983 menunjukkan bahwa terjadi penurunan biomassa dan keanekaragaman ikan ketika suhu air meningkat lebih dari 28° C.

Pengaruh suhu secara tidak langsung adalah mempengaruhi metabolisme, daya larut gas-gas, termasuk oksigen serta berbagai reaksi kimia dalam air.

Semakin tinggi suhu air, semakin tinggi pula laju metabolisme yang berarti semakin besar konsumsi oksigennya, padahal kenaikan suhu tersebut bahkan mengurangi daya larut oksigen dalam air. Setiap kenaikan suhu  $10^{\circ}$  C akan mempercepat laju reaksi kimia sebesar 2 kali (Sonia, Sayekti dan Yuliani, 2014).

Menurut Praseno, Hary, Sidi dan Achmad (2010), oksigen terlarut (DO) merupakan perubahan mutu air paling penting bagi organisme air, pada konsentrasi lebih rendah dari 50% merupakan konsentrasi jenuh, tekanan parsial oksigen dalam air kurang kuat untuk mempenetrasi lamella, akibatnya ikan akan mati lemas. Kandungan DO di kolam tergantung pada suhu, banyaknya bahan organik dan banyaknya vegetasi akuatik. Oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen* = DO) dibutuhkan oleh semua jasad hidup untuk pernafasan, proses metabolisme atau pertukaran zat yang kemudian menghasilkan energi untuk pertumbuhan dan pembiakan. Kandungan oksigen terlarut (DO) minimum adalah 2 mg/l dalam keadaan normal dan tidak tercemar oleh senyawa beracun (*toksik*).

Menurut Salmin (2005), kandungan oksigen terlarut minimum sudah cukup mendukung kehidupan organisme. Idealnya, kandungan oksigen terlarut tidak boleh kurang dari 1,7 ppm selama waktu 8 jam dengan sedikitnya pada tingkat kejenuhan sebesar 70%. KLH menetapkan bahwa kandungan oksigen terlarut adalah 5 ppm untuk kepentingan wisata dan biota laut.

Menurut Nurhasanah (2014), pH adalah cerminan derajat keasaman yang diukur dari jumlah ion hidrogen. Air murni terdiri dari ion  $H^{+}$  dan  $OH^{-}$  dalam jumlah berimbang hingga pH air murni biasa 7. Makin banyak ion  $OH^{-}$  dalam cairan maka makin rendah ion  $H^{+}$  dan makin tinggi pH. Air yang mempunyai pH antara 6,7 sampai 8,6 mendukung populasi ikan dalam suatu perairan. Penentuan pH dapat dilakukan dengan menggunakan perangkat pH dengan indikator universal dan komparator warna.

Menurut Sonia, Sayekti dan Yuliani (2014), pH air mempengaruhi tingkat kesuburan perairan karena mempengaruhi kehidupan jasad renik. Perairan asam akan kurang produktif, malah dapat membunuh hewan budidaya. Pada pH rendah (keasaman akan tinggi) kandungan oksigen akan berkurang, sebagai akibatnya konsumsi oksigen akan menurun, aktivitas pernapasan naik dan selera makan akan berkurang. Hal ini akan terjadi sebaliknya jika suasana pH basa. Tidak hanya itu, dalam kondisi basa yang bersifat toksik terhadap organisme akuatik akan meningkat. Menurut Setijaningsih, Nafiqoh dan Yuliani (2011), adapun kisaran pH yang baik untuk pertumbuhan ikan berdasarkan PP/82/01 adalah antara 6 sampai 9.



### 3 METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat dan fungsinya yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada

Tabel 1.

**Tabel 1.** Alat-alat penelitian beserta fungsinya.

No.	Alat	Fungsi
1.	Timbangan Digital	Sebagai alat untuk menimbang bahan
2.	Hot Plate	Sebagai alat pemanas
3.	Tabung Reaksi	Sebagai wadah media biakan bakteri
4.	Erlenmeyer	Sebagai tempat bahan dalam proses maserasi
5.	Gelas Ukur	Sebagai alat untuk mengukur larutan
6.	Nampan	Sebagai tempat bahan
7.	<i>Laminary Flow</i>	Sebagai tempat steril untuk penanaman bakteri
8.	Vortex	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
9.	<i>Rotary evaporator</i>	Sebagai alat untuk mendapatkan ekstrak daun sembung ( <i>B. balsamifera</i> (L.) DC.)
10.	Akuarium	Sebagai wadah air media
11.	Aerator Set	Sebagai alat bantu penghasil oksigen
12.	Seser Ikan	Sebagai alat bantu untuk memindahkan ikan uji
13.	pH Meter	Sebagai alat untuk mengukur pH air media
14.	DO Meter	Sebagai alat untuk mengukur DO air media
15.	Lap Basah	Sebagai alat untuk mengkondisikan ikan saat dibedah
16.	Sectio Set	Sebagai alat bedah jaringan
17.	Botol Film	Sebagai wadah jaringan dan larutan uji histopatologi
18.	<i>Tissue Processor</i>	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan
19.	Wadah <i>embedding</i>	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan ( <i>embedding</i> )
20.	<i>Embedding Machine</i> LEICA EG 1120	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan ( <i>embedding</i> )
21.	<i>Microtom rotary</i>	Sebagai alat untuk pemotongan jaringan
22.	<i>Handtally counter</i>	Sebagai alat untuk pemotongan jaringan
23.	Beaker Glass	Sebagai alat untuk mencampurkan media biakan bakteri
24.	<i>Tissue Floath Bath</i>	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan
25.	<i>Objek Glass</i>	Sebagai alat untuk pengamatan jaringan
26.	<i>Water bath</i>	Sebagai alat untuk memanaskan sampel
27.	Inkubator	Sebagai alat untuk menumbuhkan bakteri
28.	Sprayer	Sebagai wadah alkohol 70%
29.	Termometer	Sebagai alat untuk mengukur suhu air media
30.	Autoklaf	Sebagai alat untuk sterilisasi alat dan bahan

### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Bahan-bahan penelitian beserta fungsinya.

No.	Bahan	Fungsi
1.	Ekstrak kasar Daun Sembung ( <i>B. balsamifera</i> (L.) DC.)	Sebagai bahan pengobatan
2.	Kertas Label	Sebagai penanda
3.	Aluminium Foil	Sebagai pembungkus alat saat sterilisasi
4.	NB ( <i>Nutrien Broth</i> )	Sebagai media tumbuh bakteri
5.	<i>Plastic Wrap</i>	Sebagai pembungkus alat saat sterilisasi
6.	Tisu	Sebagai bahan untuk membersihkan alat
7.	Akuades	Sebagai pelarut ekstrak
8.	Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> )	Sebagai hewan uji
9.	Bakteri <i>A. hydrophila</i>	Sebagai bahan penginfeksi
10.	Air Media	Sebagai media hidup hewan uji
11.	Pakan Ikan	Sebagai nutrisi ikan uji
12.	Alkohol 70%	Sebagai bahan aseptis
13.	Formalin 10%	Sebagai pengawet jaringan ginjal
14.	Aceton	Sebagai bahan pengawet jaringan ginjal (proses dehidrasi)
15.	Xylol	Sebagai bahan pengawet jaringan ginjal (proses <i>clearing</i> )
16.	<i>Lithium Carbonat</i>	Sebagai bahan untuk memekatkan warna pigmen
17.	Parafin Blok	Sebagai bahan pengawet jaringan ginjal (proses <i>embedding</i> )
18.	Gelatin	Sebagai bahan campuran saat pemanasan sampel
19.	Alkohol 96%	Sebagai bahan pengawet jaringan ginjal (proses deparafinisasi)
20.	Hematoksilin	Sebagai bahan pewarna pada jaringan ginjal
21.	Eosin	Sebagai bahan pewarna pada jaringan ginjal
22.	Organ Ginjal Ikan Nila	Sebagai bahan yang diuji histopatologi
23.	<i>Entellan</i> (Lem)/ <i>cannada balsem</i>	Sebagai bahan perekat sampel pada <i>cover glass</i>

## 3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

### 3.2.1 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah metode penelitian eksperimen. Menurut Subali (2010), penelitian eksperimen yaitu

dimana peneliti melakukan intervensi dengan cara memanipulasi variabel bebas yang dijadikan faktor untuk mengetahui akibat yang ditimbulkan. Peneliti akan mengontrol secara ketat semua faktor lain yang diduga dapat mempengaruhi atau menekan atau mengganggu hasil eksperimen. Hal ini didukung oleh pernyataan Myers dan Hansen (2002) dalam Hastjarjo (2014) yang merumuskan rancangan eksperimen sebagai struktur umum sebuah eksperimen, yang ditentukan oleh tiga aspek (a) jumlah variabel independen atau perlakuan, (b) jumlah variasi variabel independen atau kondisi perlakuan, dan (c) penggunaan subjek yang sama atau berbeda untuk masing-masing kondisi perlakuan.

Teknik pengambilan data yang digunakan pada penelitian ini adalah observasi langsung terhadap obyek yang diteliti. Menurut Chariri (2009), observasi partisipasi dilakukan secara langsung dengan mengamati perilaku individu dan interaksi yang terdapat pada saat penelitian berlangsung. Oleh karena itu, peneliti harus terlibat langsung dalam kehidupan sehari-hari dari subyek yang diteliti. Dengan cara ini maka peneliti dapat memperoleh data khusus di luar struktur dan prosedur formal organisasi.

### **3.2.2 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian merupakan gambaran umum penelitian yang akan dilaksanakan oleh peneliti untuk mencapai suatu tujuan yang diharapkan. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena media yang digunakan bersifat homogen, artinya keragaman antara satuan percobaan tersebut kecil sehingga yang mempengaruhi hasil penelitian hanya faktor kebetulan. RAL banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, rumah kaca dan peternakan karena memiliki media yang homogeny sehingga media atau tempat percobaan tidak mempengaruhi pada respon yang diamati (Sastrosupadi, 2000). Perhitungan RAL dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

$i$  = Perlakuan A, B, C

$j$  = Ulangan 1, 2 dan 3

$Y_{ij}$  = Nilai pengamatan

$\mu$  = nilai rerata harapan (mean)

$\tau$  = pengaruh faktor perlakuan

$\varepsilon$  = pengaruh galat

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun sembung dengan dosis berdasarkan dari percobaan LD<sub>50</sub> ekstrak kasar daun sembung (Lampiran 2) terhadap ikan nila. Setelah mendapatkan dosis yang sesuai dengan LD<sub>50</sub>, maka didapatkan dosis perlakuan 500 ppm, 600 ppm dan 700 ppm. Pada penelitian ini digunakan 2 kontrol pembanding yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* tanpa pengobatan ekstrak kasar daun sembung sedangkan kontrol negatif sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri dan tanpa pemberian pengobatan ekstrak kasar daun sembung. Perlakuan yang ada pada penelitian ini berjumlah tiga dan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali sehingga total sampel yang diamati ada 15 sampel. Rancangan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3 dan denah penelitian dapat dilihat pada Gambar 4.

**Tabel 3.** Rancangan Perlakuan

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>
B	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>
C	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>
K(+)	K(+) <sub>1</sub>	K(+) <sub>2</sub>	K(+) <sub>3</sub>
K(-)	K(-) <sub>1</sub>	K(-) <sub>2</sub>	K(-) <sub>3</sub>

Keterangan:

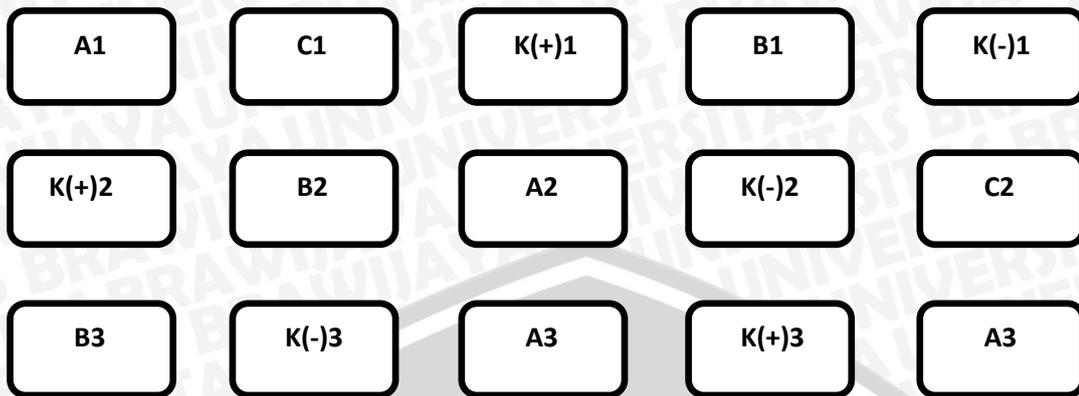
A : Pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) 500 ppm

B : Pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) 600 ppm

C : Pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) 700 ppm

K(+): Penginfeksi bakteri *A. hydrophila* tanpa pengobatan ekstrak kasar daun sembung

K(-): Perlakuan tanpa penginfeksi bakteri dan tanpa pemberian pengobatan ekstrak kasar daun sembung



Gambar 4. Denah Penelitian

Keterangan:

A, B, C: Perlakuan

K (+) : Kontrol positif

K (-) : Kontrol negatif

1,2,3 : Ulangan

### 3.3 Prosedur Penelitian

#### 3.3.1 Persiapan Penelitian

##### 1). Persiapan Wadah

Pada penelitian ini, wadah yang digunakan adalah akuarium dengan ukuran 30x30x30 cm<sup>3</sup> sebanyak 15 buah. Sebelum digunakan, akuarium dicuci dengan deterjen kemudian direndam menggunakan klorin selama 30 menit. Setelah itu, dinetralsir dengan menggunakan Na-Thiosulfat. Selanjutnya akuarium dibilas dan dikeringkan selama 1 hari untuk kemudian siap diisi dengan media pemeliharaan yaitu air tawar. Air diisi hingga tinggi air mencapai 22,2 cm dengan volume air 20 liter untuk kepadatan 20 ekor ikan dengan ukuran 8-12 cm. Akuarium juga dilengkapi dengan instalasi aerasi untuk ketersediaan oksigen.

##### 2). Persiapan Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan yaitu benih ikan nila (*O. niloticus*) yang memiliki ukuran 8-12 cm sebanyak 300 ekor diperoleh dari petani ikan di daerah Banjar Tengah, kecamatan Sumber Sekar, Kota Batu. Kepadatan ikan yang digunakan adalah 20 ekor ikan uji per akuarium. Sebelum digunakan, ikan diaklimatisasi

selama 7 hari dan diberi pakan komersil secara *ad libitum* dengan frekuensi pemberian 2 kali sehari yaitu pagi (08.00) dan sore (16.00). Aklimatisasi bertujuan untuk mengadaptasikan ikan terhadap lingkungan barunya dan mengurangi resiko stres yang dapat berpengaruh terhadap kesehatan ikan. Pada masa pemeliharaan juga dilakukan penyiponan setiap pagi apabila kondisi air dalam akuarium telah keruh akibat sisa pakan dan feses. Hal ini dilakukan untuk mencegah timbulnya kondisi lingkungan yang buruk pemicu terjadinya penyakit.

### 3). Sterilisasi Alat dan Bahan

Sebelum digunakan dalam penelitian, alat-alat yang digunakan disterilisasi dengan tujuan untuk menghancurkan/memusnahkan mikroorganisme yang terdapat pada alat-alat tersebut. Adapun langkah-langkah sterilisasi adalah sebagai berikut:

- Alat dan bahan yang akan disterilisasi disiapkan dan dicuci hingga bersih menggunakan deterjen, kemudian dikeringkan dan dibungkus Koran serta diikat menggunakan benang.
- Air dituang secukupnya ke dalam autoklaf, kemudian alat dan bahan yang telah dibungkus dapat dimasukkan ke dalam autoklaf dan autoklaf ditutup dengan posisi simetris.
- Tombol ON dinyalakan, setelah mencapai suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dan tekanan 1 atm, keadaan ini dipertahankan selama 15 menit dengan cara membuka dan atau menutup kran uap yang berada di bagian atas tutup autoklaf.
- Tombol OFF ditekan, ditunggu beberapa saat hingga suhu menunjukkan angka 0 (nol), kemudian kran uap dibuka dan penutup autoklaf dibuka dengan cara simetris.
- Alat dan bahan dikeluarkan yang telah disterilisasi diambil.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin

#### 4). Pemiakan Bakteri *A. hydrophila*

*Nutrien Broth* (NB) ditimbang sebanyak 6 gram dan dilarutkan dalam 200 ml akuades dalam erlenmeyer, kemudian diaduk hingga larut sempurna berwarna kuning. Selanjutnya Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil lalu diikat menggunakan benang kasur. Media disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121° C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Kemudian media dikeluarkan dari autoklaf dan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas. Kemudian jarum ose dipanaskan diatas bunsen hingga berpijar, setelah dingin jarum ose disentuhkan ke biakan murni *A. hydrophila* kemudian dicelupkan pada NB sebanyak 2 ose. Kemudian larutan NB dibiarkan 12-24 jam dalam inkubator dengan suhu 37° C. Berikut perhitungan secara rinci pembuatan larutan NB sebagai media biakan bakteri:

$$8 \text{ gram}/1000 \text{ ml} = X/500 \text{ ml}$$

$$X \cdot 1000 = 8 \cdot 500$$

$$X = 4 \text{ gram}$$

Ketentuan 8 gram/1000 ml akuades, sehingga untuk membuat media dengan volume 500 ml dibutuhkan 4 gram NB

#### 5). Cara Memperoleh Bakteri *A. hydrophila* 10<sup>7</sup> sel/ml

Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara, Jawa Tengah. Adapun hasil uji biokimia bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Lampiran 8. Bakteri yang diperoleh adalah bakteri dengan kepadatan 6 x 10<sup>8</sup> sel/ml, hasil pengkulturan pada media NB sudah dicocokkan dengan metode Mc Farland. Langkah-langkah dalam penentuan kepadatan tersebut adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan Biakan Bakteri pada Media NB

Larutan NB disiapkan sebanyak 220 ml, selanjutnya jarum ose dipanaskan diatas Bunsen hingga berpijar, setelah dingin jarum ose disentuhkan ke biakan murni bakteri *A. hydrophila* lalu dicelupkan pada media NB sebanyak 2 ose. Selanjutnya larutan NB dibiarkan selama 12-24 jam dalam incubator pada suhu 37° C.

## 2. Perhitungan Jumlah Bakteri

Perhitungan jumlah bakteri yang ada pada media *Nutrien Broth* (NB) dapat dilakukan dengan menggunakan metode Mc Farland dengan cara:

- Menyediakan 10 tabung reaksi yang steril
- Membuat larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> murni dalam 1% dan membuat larutan BaCl<sub>2</sub> dalam 1%
- Mencampurkan kedua jenis larutan tersebut dalam tabung berdasarkan perbandingan yang ada pada Tabel 4 sehingga isi dari satu tabung tersebut menjadi 10 ml larutan. Kemudian tabung reaksi ditutup.
- Suspensi larutan yang terdapat dalam tabung tersebut sama dengan jumlah suspensi sel *E. coli* per ml seperti dalam tabel berikut.

**Tabel 4.** Larutan Standart Mc Farland

Nomor Tabung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
BaCl <sub>2</sub> (ml)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (ml)	9,9	9,8	9,7	9,6	9,5	9,4	9,3	9,2	9,1	9
Kepadatan sel <i>E. coli</i> (x10 <sup>8</sup> )	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30

Metode pengenceran berseri digunakan untuk mendapatkan bakteri yang dikehendaki yaitu bakteri dengan kepadatan 10<sup>7</sup>. Langkah-langkah pengenceran berseri adalah sebagai berikut:

- Bakteri *A. hydrophila* disiapkan
- Tabung reaksi masing-masing diisi 9 ml akuades
- 1 ml bakteri dari stok diambil menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung pertama kemudian di vortex

- 1 ml bakteri dari tabung reaksi pertama diambil menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kedua kemudian di vortex
- Didapatkan bakteri dengan kepadatan  $10^7$

#### **6). Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.)**

Pembuatan ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) yakni menggunakan daun sembung yang dicuci bersih kemudian dijemur dalam ruangan khusus hingga kering. Setelah kering, daun sembung digiling menggunakan mesin khusus hingga menjadi serbuk halus. Pembuatan ekstrak kasar menggunakan perbandingan 1 : 3 antara serbuk daun sembung dan etanol 96%. Kemudian daun sembung ditimbang sebanyak 500 gram dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan diberi pelarut etanol 96% sebanyak 1500 ml lalu dihomogenkan menggunakan spatula. Proses maserasi direndam selama 2x24 jam dalam keadaan gelap dengan suhu ruang. Hal ini sesuai dengan pendapat Sakee, Maneerat, Cushine dan Eknankul (2011), proses maserasi yang paling efektif dilakukan selama 48 jam. Setelah proses perendaman selama 2 hari, hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan larutan dengan endapannya. Jika larutan telah terpisah, hasil saringan diuapkan untuk mendapatkan ekstrak murni daun sembung. Proses penguapan ini menggunakan alat yang disebut *rotary evaporator* dengan suhu  $50^{\circ}$  C dengan kecepatan 80 rpm. Setelah diuapkan selama 1 jam, maka akan dihasilkan ekstrak murni dari daun sembung sebanyak 8,53 gram. Hasil yang diperoleh dimasukkan ke dalam botol kaca yang sudah dipersiapkan dan disimpan dalam kulkas.

#### **3.3.2 Pelaksanaan Penelitian**

##### **a). Penginfeksian Bakteri pada Ikan Uji**

Penginfeksian bakteri pada ikan uji dilakukan dengan menggunakan metode perendaman yaitu dengan merendam ikan uji pada media pemeliharaan

yang telah tercampur dengan bakteri. Penginfeksian pada penelitian ini menggunakan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan  $10^7$  yang dicampurkan pada media air. Rumus pengenceran yang digunakan untuk mendapatkan kepadatan bakteri  $10^7$  sel/ml adalah sebagai berikut.

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

Keterangan:

$V_1$  : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan (ml)

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

$V_2$  : Volume yang diinginkan (ml)

$N_2$  : Kepadatan populasi bakteri yang diinginkan (sel/ml)

Perendaman ikan nila dengan bakteri *A. hydrophila* menggunakan satu akuarium berukuran  $80 \times 40 \times 50 \text{ cm}^3$  dengan volume air 40 liter (40.000 ml) dan tinggi air 12,5 cm sehingga didapatkan volume suspensi bakteri dari perhitungan pengenceran sebagai berikut.

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

$$V_1 \times (6 \times 10^8) = 40.000 \text{ ml} \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{40.000 \text{ ml} \times 10^7}{6 \times 10^8}$$

$$V_1 = 667 \text{ ml}$$

Berdasarkan perhitungan diatas, diketahui bahwa kebutuhan bakteri yang digunakan adalah sebanyak 667 ml dan air tawar yang digunakan sebanyak 39.333 ml. Setelah perendaman dengan menggunakan bakteri, ikan dipindahkan ke dalam akuarium yang berisi air tawar dan diamati gejala klinis ikan yang sudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Selanjutnya ikan dipindahkan pada akuarium yang sudah ditambahkan dengan ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) sesuai dengan dosis yang sudah ditentukan.

#### **b). Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (Pengobatan Dilakukan dengan Perendaman)**

Pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) pada ikan nila (*O. niloticus*) yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dilakukan dengan

cara perendaman. Pengobatan menggunakan 3 akuarium berisi air masing-masing sebanyak 20 liter. Tiap akuarium diisi ikan uji sebanyak 60 ekor ikan (1 perlakuan dengan tiga kali ulangan). Sebelum dilakukan perendaman, dihitung terlebih dahulu jumlah ekstrak kasar daun sembung yang digunakan untuk mendapatkan ketepatan dosis. Perendaman dilakukan satu kali selama  $\pm$  13 jam (berdasarkan uji LD<sub>50</sub>). Kemudian ikan diangkat dan dipindahkan ke akuarium pemeliharaan serta dipelihara selama 6 hari.

#### **c). Pemeliharaan Setelah Pengobatan**

Ikan nila (*O. niloticus*) yang sudah diobati dipindahkan ke dalam akuarium pemeliharaan yang sudah disiapkan sebelumnya yaitu dengan ukuran 30x30x30 cm dengan volume air yang digunakan sebanyak 20 liter dan dilengkapi dengan aerasi serta pemberian pakan 2 kali sehari pada pukul 08.00 dan 16.00. Masing-masing akuarium berisi 20 ekor ikan uji dan dipelihara selama 6 hari untuk selanjutnya dilakukan uji histopatologi.

#### **d). Pengambilan Jaringan Ginjal**

Pengambilan jaringan ginjal dilakukan sebanyak 3 kali yaitu pada ikan nila normal sebelum diinfeksi, pada ikan nila yang sudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan pada ikan nila setelah pengobatan pada hari ke enam penelitian. Ikan diambil ginjalnya untuk diamati histopatologinya. Sampel ginjal yang sudah diambil, dimasukkan ke dalam botol film dan diberi bahan pengawet berupa larutan formalin 10% hingga sampel melayang dalam larutan, dilanjutkan dengan pembuatan preparat untuk histopatologi dan pengamatan preparat hasil histopatologi.

#### **e). Pembuatan Histopatologi Ginjal Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Setelah masa adaptasi selesai, ikan nila (*O. niloticus*) diambil sampel ginjal untuk diamati histopatologinya. Sampel ginjal dimasukkan ke dalam botol film dan diberi bahan pengawet yaitu formalin 10%, dilanjutkan dengan pembuatan

dan pengamatan preparat hasil histopatologi. Adapun tahapan-tahapannya adalah sebagai berikut:

- Tahap Fiksasi

Sampel ginjal ikan yang akan diamati jaringannya diambil. Jaringan tersebut kemudian direndam dalam larutan buffer yaitu formalin 10% selama 24 jam.

- Tahap Dehidrasi

Tahap dehidrasi dilakukan dengan penarikan air secara bertahap menggunakan alat *auto technicon* selama 20 jam. Tabung *auto technicon* terdiri atas alkohol 70% selama 1 jam, alkohol 80% selama 1 jam, alkohol 90% selama 2 jam, alkohol 96% selama 2 jam, alkohol absolut 1 selama 2 jam dan alkohol absolut 2 selama 2 jam.

- Tahap Clearing

Tahap clearing bertujuan untuk mentransparankan serta menggantikan larutan alkohol dari jaringan. Dilakukan dengan mencelupkan ke dalam larutan xylol 1 selama 1 jam, xylol 2 selama 2 jam dan xylol 3 selama 2 jam.

- Tahap Impregnasi

Tahap impregnasi bertujuan untuk menyamakan keadaan jaringan dengan bahan pengeblokan (*embedding*). Dilakukan dengan mencelupkan bahan ke parafin cair dengan suhu 56-60° C selama 2 jam, kemudian dilanjutkan dengan mencelupkan kembali ke dalam parafin cair dengan suhu 56-60° C selama 2 jam.

- Tahap Embedding (pengeblokan)

Tahap pengeblokan bertujuan untuk memudahkan penyayatan dengan menggunakan *mikrotom rotary*. Setelah penyayatan bahan yang sudah diblok selesai, langkah berikutnya adalah memasukkan hasil sayatan ke dalam waterbath (suhu 40° C), kemudian dipilih hasil sayatan yang terbaik

dan disiapkan obyek glass (untuk persiapan pewarnaan HE), sebelumnya obyek glass harus diolesi dengan perekat polyisin. Berikutnya, dikeringkan pada oven dengan suhu 50-60° C kurang lebih selama 30 menit.

- Teknik pewarnaan jaringan menggunakan HE

Pewarnaan dengan menggunakan HE dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu deparafinisasi, hidrasi, cat utama, dehidrasi dan clearing.

- Tahap Mounting

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

### 3.4 Parameter Uji

#### 3.4.1 Parameter Utama

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini adalah histopatologi ginjal ikan nila (*O. niloticus*).

#### 3.4.2 Parameter Penunjang

- Pengamatan Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis dilakukan setelah penginfeksi bakteri *A. hydrophila* meliputi tingkah laku (respon makan dan refleks gerak) dan morfologi serta dilakukan pengamatan setelah pengobatan dengan perendaman ekstrak kasar daun sembung.

- Pengamatan Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diamati pada media pemeliharaan ikan nila meliputi suhu, oksigen terlarut (DO) dan derajat keasaman (pH). Parameter ini

diukur setiap hari sebanyak 2 kali sehari yaitu pagi (08.00) dan sore (16.00) selama 6 hari pemeliharaan.

### 3.5 Analisis Data

Data yang didapatkan dari hasil penelitian akan dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap respon parameter utama yaitu histopatologi ginjal ikan uji yang diberi perlakuan, maka digunakan analisis keragaman satu arah uji F. Apabila hasil perhitungan uji F berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perlakuan yang memberikan hasil terbaik taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%). Kemudian untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil yang dipengaruhi, dilakukan perhitungan analisis regresi yang tujuannya untuk mengetahui sifat dan fungsi regresi yang memberikan keterangan tentang pengaruh perlakuan yang terbaik pada respon.

Untuk hasil uji histopatologi ginjal pada ikan nila (*O. niloticus*) menggunakan analisis secara deskriptif. Untuk mengetahui tingkat kerusakan jaringan ginjal ikan nila yang diberikan pengobatan dengan ekstrak kasar daun sembung maka dilakukan analisis statistik pemberian skoring menurut Santoso dan Nurliani (2005) dengan metode semi kuantitatif menurut Kakkilaya (2002) yang digunakan untuk menghitung jumlah area yang terwarnai dan dilakukan secara manual dengan menghitung persentasenya. Pembacaan dimulai dari tepi kiri (sesuai dengan posisi ekor preparat) ke arah kepala kemudian turun ke bawah dan bergeser ke arah ekor kembali (gerak zig zag). Gerak zig zag dapat dilihat pada gambar 5.



**Gambar 5.** Alur Perhitungan Skoring (Gerak zig zag) (Sawandari, 2005)

Pada metode semi kuantitatif dilihat dari lima luas bidang lapang pandang sehingga mendapatkan hasil yang maksimal pada tingkat kerusakan jaringannya dengan kriteria nekrosis, degenerasi, pyknosis, hialinasi, edema (meningkatnya jumlah cairan antar jaringan) (Panigoro *et al.*, 2007). Persentase kerusakan setiap luas bidang lapang pandang dihitung berdasarkan jumlah sel yang mengalami kerusakan menurut KIM (2006) dalam Raza'i (2008) dengan rumus:

$$\text{Persentase kerusakan} = \frac{\text{Jumlah sel yang rusak}}{\text{Jumlah sel analisis}} \times 100\%$$

Kemudian persentase yang telah didapatkan diberi skoring dari angka 1 sampai 4. Angka 1 (ringan) mempunyai tingkat persentase kerusakan jaringan 0-5%, angka 2 (sedang) tingkat persentase kerusakan jaringan 6-25%, angka 3 (berat) tingkat persentase kerusakan jaringan 26-50% dan angka 4 (sangat berat) tingkat persentase kerusakan jaringan >50%.

Pengamatan terhadap gejala klinis dan kualitas air dilakukan setiap hari selama penelitian setelah ikan diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Pengamatan terhadap parameter penunjang dianalisa secara deskriptif.

## 4. PEMBAHASAN

### 4.1 Gambaran Histopatologi Ginjal Ikan Nila (*O. niloticus*)

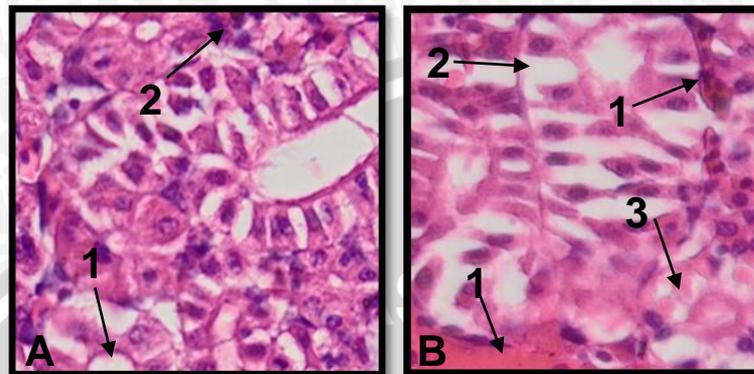
#### 4.1.1 Gambaran Histologi Ginjal Ikan Sehat dan Ikan yang Terinfeksi Bakteri

Menurut Fujaya (2008), ginjal merupakan salah satu organ osmoregulasi selain insang dan usus. Menurut Lantu (2010), osmoregulasi terjadi pada hewan perairan karena adanya perbedaan tekanan osmosis antara larutan (biasanya garam-garam) di dalam tubuh dan di luar tubuh. Sehingga osmoregulasi merupakan upaya hewan air untuk menyeimbangkan larutan yang terdapat di dalam tubuhnya dan lingkungan melalui sel permeabel. Penyeimbangan larutan ini sangat mempengaruhi metabolisme tubuh dalam menghasilkan energi.

Menurut Tresnati, Djawad dan Bulqish (2007), fungsi ginjal dimulai pada glomerulus yang tersusun dari kapiler darah. Glomerulus merupakan pembentuk ultrafilter dari plasma. Ultrafilter akan memasuki kapsul Bowman dan menuju ke lumen pada tubulus. Penyaringan melalui berbagai segmen pada tubulus sehingga terjadi perubahan-perubahan volume dan komposisi cairan filtrasi sebagai akibat proses reabsorpsi dan sekresi di sepanjang tubulus.

Berdasarkan hasil penelitian, gambaran jaringan ginjal pada ikan nila normal (tanpa diinfeksi bakteri dan tanpa perendaman ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dan ikan nila setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 6. Kondisi ginjal ikan nila (*O. niloticus*) tanpa infeksi bakteri menunjukkan bentuk histologi yang normal. Menurut Ahmadmoradi, Rezaie dan Mousavi (2012), perubahan histologis diindikasikan respon ikan terhadap kondisi lingkungan yang tidak diinginkan. Pola histopatologi yang menunjukkan gangguan metabolisme, penekanan kekebalan, pengembangan dan reaksi fungsional serta beberapa parasit yang terdapat pada organ vital yang dipelajari pada ikan. Kondisi ini mempengaruhi jaringan normal dan kerusakan sel

langsung dan perubahan fisiologis dan patologis yang mungkin beberapa dari mereka adalah patognomik. Hal ini yang mungkin menjadikan histopatologi sebagai alat diagnostik dan diterapkan pada penyakit ikan.



**Gambar 6.** (A) Histologi ginjal normal. Tanda panah No. 1. Tubulus Distal; 2. Jaringan Hematopoetik. (B) Ginjal yang terinfeksi bakteri. Tanda panah No. 1. Kongesti; 2. Edema; 3. Nekrosis. *Software OlyVIA* perbesaran 40x.

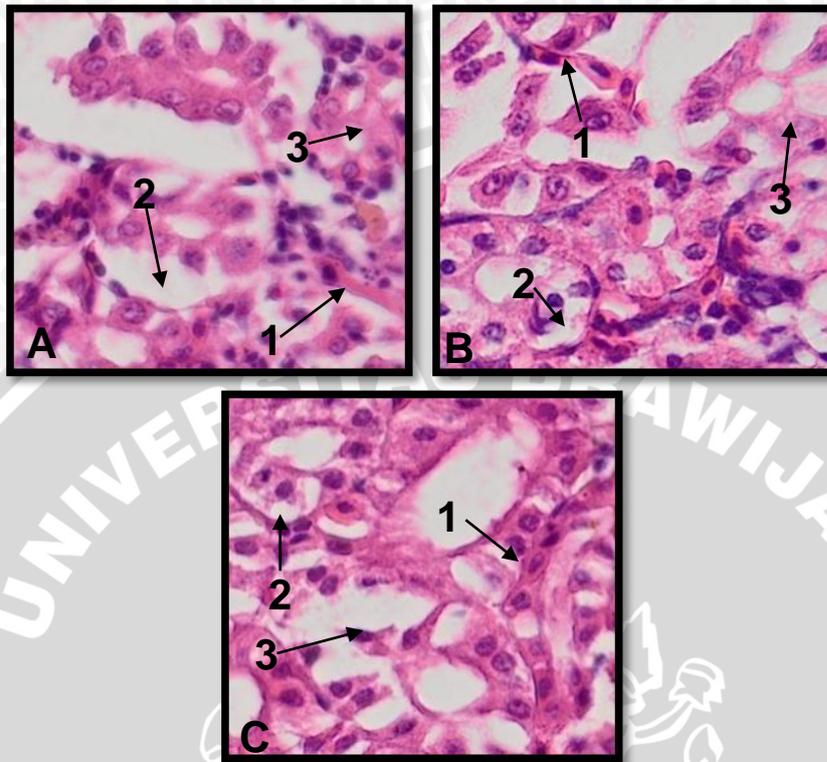
Pada Gambar 6 terlihat bahwa jaringan ginjal ikan sehat menunjukkan gambar yang normal tidak terdapat kerusakan. Penampang jaringan pada bagian glomerulus dan tubulus terlihat normal, sedangkan pada jaringan ginjal ikan yang terinfeksi bakteri menunjukkan beberapa kerusakan. Kerusakan yang terjadi antara lain kongesti, edema dan nekrosis.

#### 4.1.2 Gambaran Perubahan Histopatologi Pada Jaringan Ginjal Ikan Nila

Pengamatan histopatologi digunakan untuk melihat kerusakan jaringan ginjal ikan nila yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan direndam menggunakan ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dengan dosis yang berbeda. Kerusakan yang terjadi diduga akibat infeksi bakteri *A. hydrophila* pada sel jaringan ginjal ikan nila.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, didapatkan hasil gambaran histopatologi jaringan ginjal (Gambar 7) sesuai perlakuan perendaman ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dengan dosis 500 ppm, 600 ppm dan 700 ppm. Dosis yang telah diberikan tetap menghasilkan kerusakan jaringan

yang sama terhadap ikan yang telah terinfeksi bakteri *A. hydrophila* yaitu kongesti, edema dan nekrosis.



**Gambar 7.** Gambaran Histopatologi Jaringan Ginjal Setelah Infeksi dan Pengobatan, (a) Perendaman ekstrak kasar daun sembung 500 ppm, (b) Perendaman ekstrak kasar daun sembung 600 ppm, (c) perendaman ekstrak kasar daun sembung 700 ppm. Tanda panah No. 1 Kongesti; 2. Edema; 3. Nekrosis. Perbesaran 40x Menggunakan Software OlyVIA dan Pewarnaan HE.

Hasil pengamatan histopatologi diatas menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) sebagai anti bakteri dengan dosis yang berbeda dapat memberikan pengaruh terhadap tingkat kerusakan yang terjadi pada ginjal ikan nila. Menurut Sukarni, Maftuch dan Nursyam (2012), sel yang mengalami nekrosis dapat dikenali dari bentuk intinya yang mengecil (piknotik), membesar, kabur atau hilang (karyolisis). Nekrosis juga dikenali dari hilangnya sitoplasma sehingga tidak menyerap zat warna HE yang diberikan dalam proses pembuatan preparat histologi. Menurut Cahyaningrum, Sarjito dan Haditomo (2015), nekrosis menggambarkan keadaan dimana terjadi penurunan aktivitas jaringan dengan mulai hilangnya beberapa bagian sel satu

demam satu dari suatu jaringan yang akan mengalami kematian sel dalam waktu singkat.

Pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) sebagai anti bakteri pada ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh terhadap tingkat kerusakan yang terjadi pada jaringan ginjal. Hal ini diketahui dari perhitungan nilai skoring kerusakan yang terjadi pada ginjal ikan nila (*O. niloticus*). Hasil analisis data keragaman satu arah menunjukkan hasil bahwa kerusakan yang terjadi pada jaringan ginjal (kongesti, edema dan nekrosis) memiliki hasil yang berbeda nyata. Hasil analisis data kerusakan pada jaringan ginjal yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) sebagai berikut:

#### **a. Kerusakan Kongesti Pada Jaringan Ginjal Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Kongesti adalah salah satu kerusakan yang terjadi pada jaringan ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Menurut Wiegertjes and Flik (2004) dalam Sari (2014), kongesti merupakan berlimpahnya darah dalam area pembuluh darah vena. Kongesti dapat menyebabkan hemoragi (pendarahan) jika darah keluar dari pembuluh darah. Terjadinya kongesti disertai oleh peningkatan jumlah sel-sel granul eosinofil. Menurut Parameswari, Sasanti dan Muslim (2013), kongesti juga merupakan pembendungan darah pada ginjal yang disebabkan adanya gangguan sirkulasi yang dapat menyebabkan kekurangan oksigen dan zat gizi.

Hasil perhitungan rerata skoring kerusakan kongesti pada jaringan ginjal ikan nila disajikan pada Tabel 5. Dapat dilihat pada tabel bahwa perlakuan 700 ppm memiliki nilai rerata kerusakan kongesti terendah yaitu 2,067. Dan kerusakan kongesti tertinggi pada dosis 500 ppm dengan nilai rerata kerusakan 2,8.

**Tabel 5.** Rerata Skoring Kerusakan Kongesti Pada Jaringan Ginjal Ikan Nila

Perlakuan	Ulangan Rerata Lapang			Jumlah	Rerata
	Pandang				
	1	2	3		
500 ppm (A)	2,6	2,8	3	8,4	2,8
600 ppm (B)	2,2	2,4	2	6,6	2,2
700 ppm (C)	1,8	2,2	2,2	6,2	2,067

Berdasarkan Tabel 5 dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dengan dosis 500 ppm (Perlakuan A) menunjukkan nilai skoring kerusakan jaringan hampir berat. Hal ini diketahui dari nilai rerata skoring kerusakan jaringan ginjal sebesar 2,8. Pada pemberian ekstrak kasar daun sembung dengan dosis 600 ppm (Perlakuan B) menunjukkan nilai kerusakan jaringan sedang. Hal ini diketahui dari nilai skoring kerusakan ginjal sebesar 2,2. Pada pemberian ekstrak kasar daun sembung dengan dosis 700 ppm (Perlakuan C) menunjukkan nilai kerusakan jaringan sedang. Hal ini diketahui dari nilai skoring kerusakan ginjal sebesar 2,067.

Berdasarkan Tabel 5 dilakukan uji sidik ragam yang digunakan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap kerusakan kongesti pada jaringan ginjal ikan nila. Hasil uji ragam skoring kerusakan kongesti pada jaringan ginjal disajikan pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Hasil Uji Sidik Ragam Skoring Kerusakan Kongesti pada Jaringan Ginjal Ikan Nila

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	2	0.916	0.458	10,3*	5,14	10,9
Acak	6	0.267	0.0444			
Total	8	1.182				

Keterangan \* : Berbeda Nyata

Tabel 6 menunjukkan bahwa pada hasil uji sidik ragam, nilai F hitung > F5% < F1% yang berarti tolak  $H_0$  dan terima  $H_1$  sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berpengaruh nyata terhadap kerusakan kongesti pada jaringan ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Hal ini sesuai dengan pendapat Rosmalawati (2008), daun

sembung memiliki senyawa aktif yang dapat mematikan pertumbuhan bakteri patogen (*bakterisida*).

Sehingga untuk mengetahui perbedaan tiap perlakuan pemberian dosis daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil perhitungan Uji BNT skoring kerusakan kongesti pada jaringan ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Tabel 7.

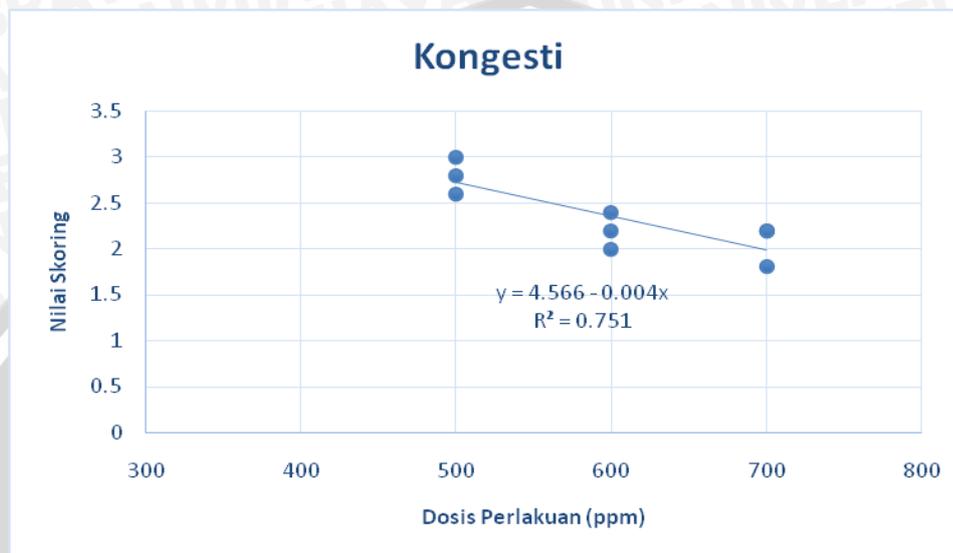
**Tabel 7.** Hasil Uji BNT Skoring Kerusakan Kongesti pada Jaringan Ginjal Ikan Nila

Perlakuan	Rerata	C	B	A	Notasi
		2.067	2.2	2.8	
<b>C</b>	2.067	-			a
<b>B</b>	2.2	0.133 <sup>ns</sup>	-		a
<b>A</b>	2.8	0.733 <sup>**</sup>	0.6 <sup>**</sup>	-	B

Keterangan: ns : tidak berbeda nyata      \*\* : berbeda sangat nyata

Tabel 7 di atas menunjukkan bahwa kerusakan kongesti tertinggi pada jaringan ginjal ikan nila terdapat pada perlakuan A dengan dosis perendaman ekstrak daun sembung 500 ppm, kemudian diikuti perlakuan B (Dosis 600 ppm) dan C (Dosis 700 ppm). Perlakuan A memberikan pengaruh yang berbeda terhadap perlakuan B dan C, namun perlakuan B dan C tidak saling berhubungan. Hal ini terjadi karena semakin tinggi dosis yang diberikan maka kerusakan jaringan akan berkurang. Hal ini sesuai dengan pendapat Nursal (1998), dengan konsentrasi yang semakin tinggi maka kemampuan antibakterinya juga semakin besar. Menurut Ruhimat (2015), salah satu kandungan yang terdapat dalam daun sembung adalah minyak atsiri 0,5% berupa sineol, borneol dan landerol. Serta pendapat menurut Marliyana, Handayani, Ngaisah dan Setyowati (2013), minyak atsiri memiliki aktivitas antibakteri yaitu dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri patogen. Minyak atsiri mengandung senyawa-senyawa volatile seperti golongan monoterpen dan sesquiterpen yang bersifat antibakteri.

Berdasarkan hasil perhitungan Uji BNT yang menunjukkan hasil yang berbeda nyata, dilakukan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui respon daun sembung terhadap kerusakan kongesti jaringan ginjal yang ditunjukkan dengan grafik pada Gambar 8.



**Gambar 8.** Grafik Hubungan Antara Dosis dan Nilai Skoring Kerusakan Kongesti Jaringan Ginjal Ikan Nila

Pada grafik regresi diatas dapat dikatakan bahwa dosis ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berpengaruh terhadap presentase kerusakan ginjal kongesti. Dapat ditunjukkan pula dengan persamaan  $y = 4,556-0,004x$  yang memiliki nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) yakni sebesar 0,751 dan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,867, dimana nilai koefisien korelasi mendekati 1 yang artinya dosis ekstrak kasar daun sembung berpengaruh terhadap kerusakan ginjal kongesti. Sesuai dengan pendapat Noor (2014), keselarasan model regresi dapat diterangkan dengan menggunakan nilai  $R^2$  semakin besar nilai tersebut maka model semakin baik. Nilai  $R^2$  mempunyai karakteristik diantaranya 1) selalu positif, 2) Nilai  $R^2$  maksimal sebesar 1. Jika Nilai  $R^2$  sebesar 1 akan mempunyai arti kesesuaian yang sempurna. Hal ini mempunyai arti bahwa seluruh variasi dalam variabel Y dapat diterangkan oleh model regresi. Sebaliknya jika  $R^2$  sama dengan 0, maka tidak ada hubungan linier

antara X dan Y. Hal ini dapat dikarenakan pemberian ekstrak kasar daun sembung sebagai anti bakteri mempengaruhi ikan nila yang telah terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan di laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, daun sembung sebagai anti bakteri memiliki kandungan senyawa aktif terbanyak yaitu tanin. Menurut Ngajow, Abidjulu dan Kamu (2013), tanin memiliki aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati.

#### **b. Kerusakan Edema Pada Jaringan Ginjal Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Menurut Takashima dan Hibiya (1995) dalam Priosoeryanto, Ersa, Tiuria dan Handayani (2010), edema merupakan suatu akumulasi cairan yang abnormal di dalam rongga tubuh dari jaringan dan organ yang dapat mengakibatkan kebengkakan. Kerusakan mekanis atau penyakit menyebabkan infeksi lebih lanjut karena edema menyediakan media pertumbuhan bakteri.

Pada penelitian ini, edema terjadi pada ikan nila disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* sehingga dilakukan perendaman ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.). Dosis yang digunakan adalah 500 ppm, 600 ppm dan 700 ppm. Adapun hasil perhitungan rerata skoring kerusakan edema pada jaringan ginjal ikan nila (*O. niloticus*) pada Tabel 8.

**Tabel 8.** Rerata Skoring Kerusakan Edema Pada Jaringan Ginjal Ikan Nila

Perlakuan	Ulangan Rerata Lapang Pandang			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
500 ppm (A)	2,8	3	2,6	8,4	2,8
600 ppm (B)	2,6	2,8	2,6	8	2,667
700 ppm (C)	2	1,8	1,8	5,6	1,867

Berdasarkan Tabel 8 dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dengan dosis 500 ppm (Perlakuan A) menunjukkan nilai skoring kerusakan jaringan berat. Hal ini diketahui dari nilai rerata skoring kerusakan jaringan ginjal sebesar 2,8. Pada pemberian ekstrak kasar daun sembung dengan dosis 600 ppm (Perlakuan B) menunjukkan nilai kerusakan jaringan hampir berat. Hal ini diketahui dari nilai skoring kerusakan ginjal sebesar 2,667. Pada pemberian ekstrak kasar daun sembung dengan dosis 700 ppm (Perlakuan C) menunjukkan nilai kerusakan jaringan ringan. Hal ini diketahui dari nilai skoring kerusakan ginjal sebesar 1,867.

Berdasarkan Tabel 8, dilakukan uji sidik ragam yang digunakan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap kerusakan edema pada jaringan ginjal ikan nila. Hasil uji ragam skoring kerusakan edema pada jaringan ginjal disajikan pada Tabel 9.

**Tabel 9.** Hasil Uji Sidik Ragam Skoring Kerusakan Edema pada Jaringan Ginjal Ikan Nila

Sidik Ragam	Db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	2	1,529	0.764	34,4**	5,14	10,9
Acak	6	0.133	0.022			
Total	8	1.662				

Keterangan \*\*: berbeda sangat nyata

Tabel 9 menunjukkan bahwa nilai F hitung > F5% > F1% yang berarti tolak  $H_0$  dan terima  $H_1$  sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan edema pada jaringan ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Hal ini dikarenakan daun sembung merupakan obat tradisional yang mengandung senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Sesuai dengan pernyataan Ruhimat (2015), salah satu tanaman obat yang bisa dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah daun sembung. Daun sembung memiliki kandungan beberapa zat aktif yang mempunyai aktivitas antibakteri

seperti saponin, tanin dan flavonoid. Menurut Haryani, Grandiosa, Buwono dan Santika (2012), flavonoid dan flavonol disintesis tanaman dalam responnya terhadap infeksi mikroba. Senyawa ini berperan sebagai antimikroba karena mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut serta dinding sel mikroba. Flavonoid yang bersifat lipofilik akan merusak membran mikroba. Flavonoid juga bersifat anti inflamasi sehingga dapat mengurangi peradangan serta membantu mengurangi rasa sakit bila terjadi pendarahan atau pembengkakan pada luka.

Sehingga untuk mengetahui perbedaan tiap perlakuan pemberian dosis daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil perhitungan Uji BNT skoring kerusakan edema pada jaringan ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Tabel 10.

**Tabel 10.** Hasil Uji BNT Skoring Kerusakan Edema pada Jaringan Ginjal Ikan Nila

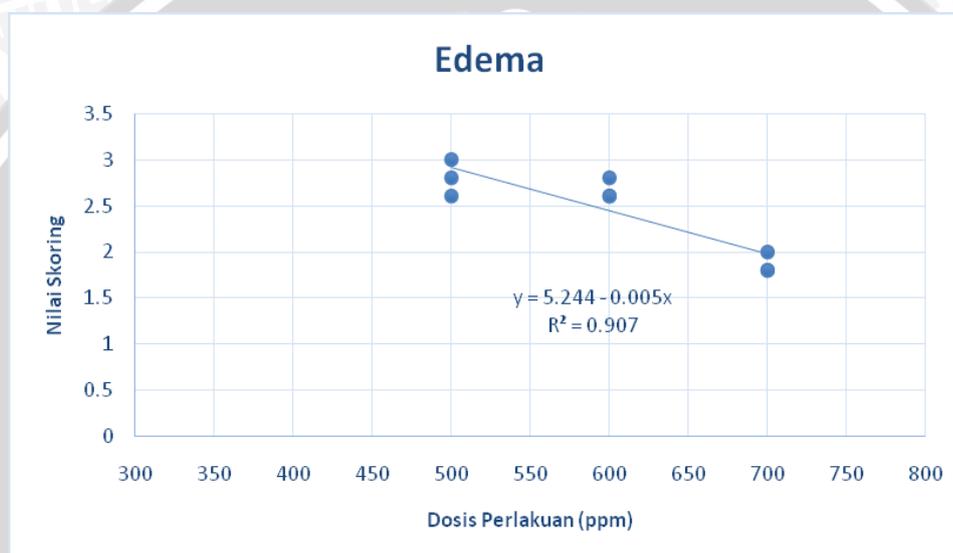
Perlakuan	Rerata	C	B	A	Notasi
		1.867	2.667	2.8	
C	1.867	-			a
B	2.667	0.800**	-		b
A	2.8	0.933**	0.133 <sup>ns</sup>	-	bc

Keterangan: ns : tidak berbeda nyata      \*\* : berbeda sangat nyata

Tabel 10 diatas menunjukkan bahwa kerusakan nekrosis tertinggi pada jaringan ginjal ikan nila terdapat pada perlakuan A dengan dosis perendaman ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) 500 ppm, kemudian diikuti perlakuan B (600 ppm) dan C (700 ppm). Perlakuan A memberikan pengaruh yang berbeda terhadap perlakuan B dan C, namun perlakuan A tidak saling berhubungan dengan perlakuan B. Kerusakan ginjal dapat menyebabkan proses osmoregulasi pada tubuh tidak berjalan dengan normal. Hal ini sesuai dengan pendapat Mandia, Marusin dan Santoso (2013), ginjal melakukan fungsi penting yang berkaitan dengan elektrolit dan keseimbangan air serta mempertahankan

lingkungan internal yang stabil (osmoregulasi). Sehingga jika proses tersebut tidak berjalan normal maka lama-kelamaan ikan akan mati.

Berdasarkan hasil perhitungan Uji BNT yang menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata, maka untuk mengetahui respon pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap kerusakan edema jaringan ginjal ikan nila (*O. niloticus*) dilakukan uji polynomial orthogonal yang ditunjukkan dengan grafik pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Grafik Hubungan Antara Dosis dan Nilai Skoring Kerusakan Edema Jaringan Ginjal Ikan Nila

Pada grafik regresi diatas dapat dikatakan bahwa dosis ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berpengaruh terhadap presentase kerusakan ginjal edema. Dapat ditunjukkan pula dengan persamaan  $y = 5,244-0,005x$  yang memiliki nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) yakni sebesar 0,907 dan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,952, dimana nilai koefisien korelasi mendekati 1 yang artinya dosis ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berpengaruh terhadap kerusakan edema pada jaringan ginjal ikan nila. Hal ini dapat dikarenakan pemberian ekstrak kasar daun sembung sebagai anti bakteri mempengaruhi ikan nila yang telah terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Menurut Ruhimat (2015), daun sembung mengandung senyawa saponin, flavonoid dan

tanin yang mempunyai aktivitas antibakteri. Sesuai dengan pernyataan Pradana, Suryanto dan Yunasfi (2014), saponin akan mengganggu tegangan permukaan dinding sel, maka saat tegangan permukaan terganggu zat antibakteri akan dengan mudah masuk ke dalam sel dan akan mengganggu metabolisme hingga akhirnya terjadi kematian bakteri. Mekanisme penghambatan tanin yaitu dengan cara dinding bakteri yang telah lisis akibat senyawa saponin dan flavonoid, menyebabkan senyawa tanin dengan mudah masuk ke dalam sel bakteri dan mengkoagulasi protoplasma sel bakteri.

### c. Kerusakan Nekrosis Pada Jaringan Ginjal Ikan Nila (*O. niloticus*)

Menurut Alifia (2013), nekrosis merupakan kematian sel yang diduga terjadi sebagai akibat dari gangguan sirkulasi dan iskemik yang terjadi secara mendadak, serta pendapat dari Istikhanah, Sarjito dan Prayitno (2014) bahwa nekrosis merupakan sel-sel yang mempunyai aktivitas yang sangat rendah dan akhirnya mengalami kematian sel jaringan sehingga menyebabkan hilangnya fungsi pada daerah yang mengalami nekrosis. Adapun hasil perhitungan rerata skoring kerusakan nekrosis jaringan ginjal ikan nila disajikan pada Tabel 11.

**Tabel 11.** Rerata Skoring Kerusakan Nekrosis Pada Jaringan Ginjal Ikan Nila

Perlakuan	Ulangan Rerata Lapang Pandang			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
500 ppm (A)	2,8	2,6	2,8	8,2	2,733
600 ppm (B)	2,6	2,6	2,6	7,8	2,6
700 ppm (C)	1,8	1,8	2,2	5,8	1,933

Berdasarkan Tabel 11 dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dengan dosis 500 ppm (Perlakuan A) menunjukkan nilai skoring kerusakan jaringan hampir berat. Hal ini diketahui dari nilai rerata skoring kerusakan jaringan ginjal sebesar 2,733. Pada pemberian ekstrak kasar daun sembung dengan dosis 600 ppm (Perlakuan B) menunjukkan nilai kerusakan jaringan hampir berat. Hal ini diketahui dari nilai skoring kerusakan ginjal sebesar 2,6. Pada pemberian ekstrak kasar daun sembung

dengan dosis 700 ppm (Perlakuan C) menunjukkan nilai kerusakan jaringan hampir sedang. Hal ini diketahui dari nilai skoring kerusakan ginjal sebesar 1,933.

Berdasarkan Tabel 11, dilakukan uji sidik ragam yang digunakan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap kerusakan nekrosis jaringan ginjal ikan nila. Hasil uji sidik ragam skoring kerusakan nekrosis pada jaringan ginjal disajikan pada Tabel 12.

**Tabel 12.** Hasil Uji Sidik Ragam Skoring Kerusakan Nekrosis Jaringan Ginjal Ikan Nila

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	JK	KT	FHIT	F5%	F1%
Perlakuan	2	1.102	0.551	24.8**	5.14	10.9
Acak	6	0.133	0.022			
Total	8	1.236				

Keterangan \*\*: berbeda sangat nyata

Tabel 12 menunjukkan bahwa nilai F hitung  $> F5\% > F1\%$  yang berarti tolak  $H_0$  dan terima  $H_1$  sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan nekrosis pada jaringan ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Hal ini sesuai dengan pendapat Hikma (2015), pengobatan tradisional atau herbal dapat dilakukan dengan menggunakan tanaman tertentu yang berpotensi dalam pengobatan penyakit infeksi. Sumarsono (2008), salah satu *herbal medicine* yang cukup potensial untuk dimanfaatkan sebagai anti biotik alami adalah daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.). Menurut pendapat Ruhimat (2015), senyawa yang terkandung dalam daun sembung memiliki aktivitas antibakteri, diantaranya saponin, flavonoid dan tanin.

Sehingga untuk mengetahui perbedaan tiap perlakuan pemberian dosis ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil perhitungan Uji BNT skoring kerusakan nekrosis pada

jaringan ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Tabel 13.

**Tabel 13.** Hasil Uji BNT Skoring Kerusakan Nekrosis Jaringan Ginjal Ikan Nila

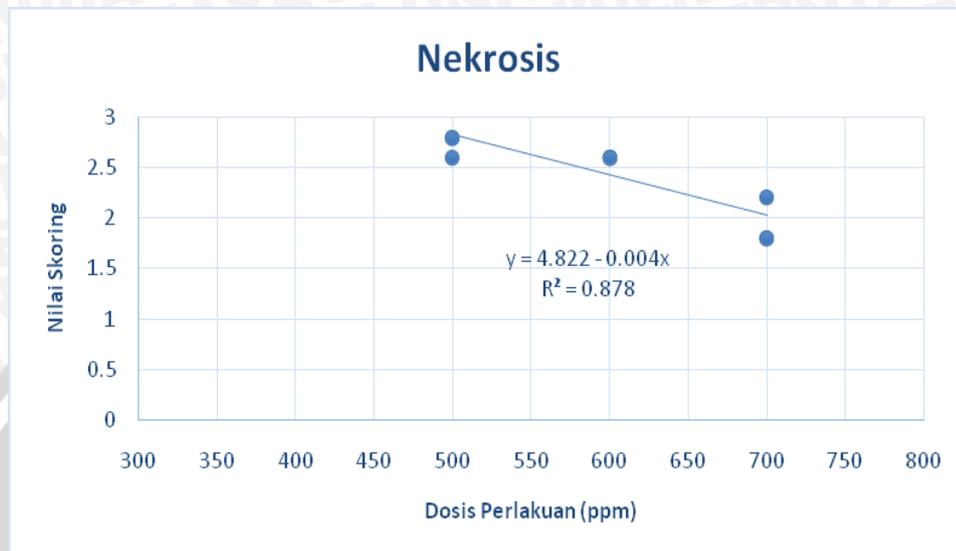
Perlakuan	Rerata	C	B	A	Notasi
		1.933	2.6	2.733	
C	1.933	-			a
B	2.6	0.667**	-		b
A	2.733	0.800**	0.133 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan: ns : tidak berbeda nyata      \*\* : berbeda sangat nyata

Tabel 13 diatas menunjukkan bahwa kerusakan nekrosis tertinggi pada jaringan ginjal ikan nila terdapat pada perlakuan A dengan dosis perendaman ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) 500 ppm, kemudian diikuti perlakuan B (600 ppm) dan C (700 ppm). Perlakuan C dengan pemberian notasi a memberikan pengaruh yang berbeda terhadap perlakuan B dan A, namun perlakuan A tidak saling berhubungan terhadap perlakuan B sehingga diberikan notasi b. Menurut Mandia, Marusin dan Santoso (2013), nekrosis menggambarkan keadaan terjadinya penurunan aktivitas jaringan yang ditandai dengan hilangnya beberapa bagian sel satu demi satu dari satu jaringan sehingga tidak lama akan mengalami kematian. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, daun sembung juga mengandung senyawa aktif alkaloid. Menurut Nababan (2015), alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga terjadi adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

Berdasarkan hasil perhitungan Uji BNT yang menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata, maka untuk mengetahui respon pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.)DC.) terhadap kerusakan nekrosis jaringan

ginjal ikan nila (*O. niloticus*) dilakukan uji polynomial orthogonal yang ditunjukkan dengan grafik hubungan antara dosis dan nilai skoring kerusakan nekrosis jaringan ginjal ikan nila pada Gambar 10.



**Gambar 10.** Grafik Hubungan Antara Dosis dan Nilai Skoring Kerusakan Nekrosis Jaringan Ginjal Ikan Nila

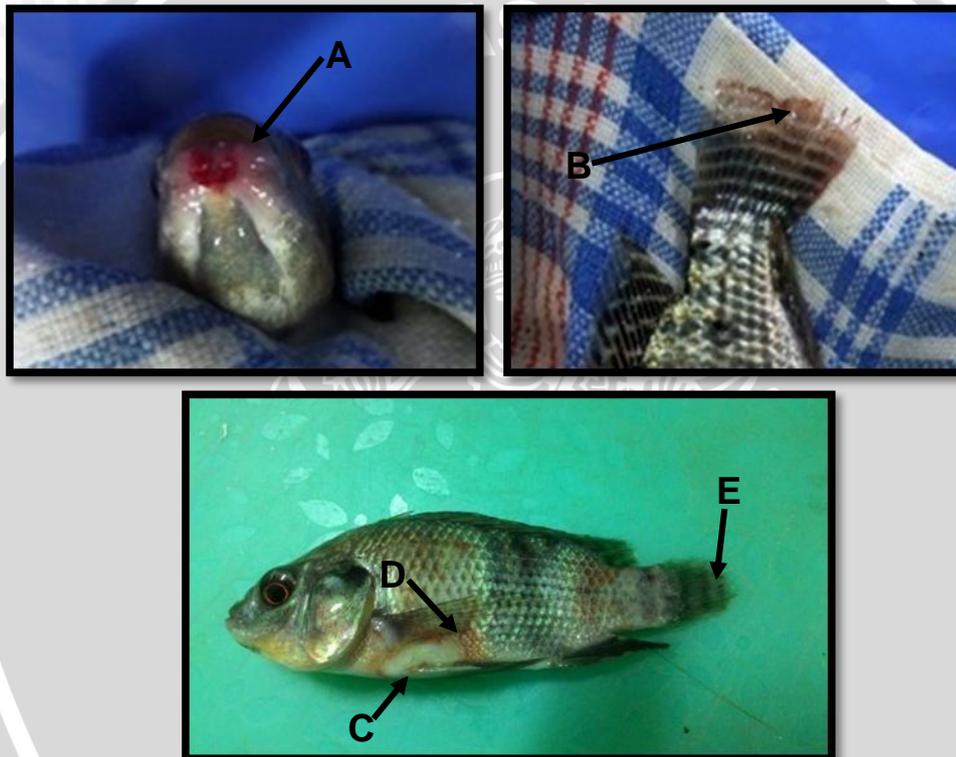
Pada grafik regresi diatas dapat dikatakan bahwa dosis ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berpengaruh terhadap presentase kerusakan ginjal nekrosis. Dapat ditunjukkan pula dengan persamaan  $y = 4,822 - 0,004x$  yang memiliki nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) yakni sebesar 0,878 dan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,937, dimana nilai koefisien korelasi mendekati 1 yang artinya dosis ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berpengaruh terhadap kerusakan nekrosis pada jaringan ginjal ikan nila. Hal ini dikarenakan pemberian ekstrak kasar daun sembung sebagai anti bakteri (mengandung tanin) mempengaruhi ikan nila yang telah terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Sesuai dengan pernyataan Noriko (2013), tanin merupakan senyawa fenolik terkandung pada berbagai jenis tumbuhan hijau dengan kadar yang berbeda-beda. Tanin termasuk golongan senyawa polifenol yang mempunyai salah satu manfaat sebagai antibakteri. Menurut Sudirman (2014), tanin memiliki sasaran terhadap polipeptida dinding sel yang menyebabkan kerusakan pada

dinding sel. Tanin dalam konsentrasi rendah dapat menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan dalam konsentrasi tinggi, tanin bekerja sebagai antimikroba dengan cara mengkoagulasi atau menggumpalkan protoplasma kuman, sehingga terbentuk ikatan stabil dengan protein kuman pada saluran pencernaan, tanin juga mampu menggugurkan toksin.

#### 4.2 Pengamatan Gejala Klinis Ikan

Pengamatan gejala klinis dilakukan untuk mengetahui tingkah laku yang terjadi pada ikan selama penelitian. Pengamatan dilakukan setelah penginfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* (sebelum pengobatan) dan akhir masa pemeliharaan setelah perendaman ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.). Gejala klinis yang terjadi setelah penginfeksi bakteri adalah adanya perubahan morfologi dan tingkah laku. Perubahan tingkah laku yang terjadi adalah ikan berenang tidak teratur (miring), mendekati aerasi dan nafsu makan menurun, sedangkan perubahan morfologi yang terjadi adalah adanya luka pada bagian bawah mulut dan ekor, pembengkakan pada bagian perut, pendarahan pada sirip pectoral dan sirip menjadi geripis (Gambar 11), produksi lendir bertambah banyak serta adanya perubahan warna tubuh ikan nila menjadi lebih gelap. Hal ini sesuai dengan pendapat Cahyaningrum, Sarjito dan Haditomo (2015), perubahan tingkah laku yang timbul pada ikan uji yang diinfeksi *A. hydrophila* adalah nafsu makan yang menurun, berenang miring dan berenang mendekati aerasi. Sedangkan perubahan morfologi yang terjadi seperti pendarahan pada sirip perut dan anus, serta perut yang menggembung. Disusul pendapat Maftuch dan Dalimunthe (2013), gejala yang terjadi saat ikan terinfeksi bakteri *A. hydrophila* adalah warna tubuh ikan menjadi lebih gelap atau keabu-abuan, terdapat luka di kulit dan terjadi pendarahan. Serta pernyataan dari Haryani, Grandiosa, Buwono dan Santika (2012), gejala klinis yang teramati setelah ikan

terinfeksi bakteri *A. hydrophila* berupa peradangan (inflamasi) yang dicirikan dengan pembengkakan dan terjadi pendarahan. Selain itu, ikan terlihat stres, bergerak/berada di sekitar aerasi dan pada umumnya ikan berenang dengan posisi tubuh miring dikarenakan keseimbangan tubuhnya berkurang akibat infeksi. Setelah dilakukan pengobatan dengan pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) ikan berenang normal, nafsu makan bertambah dan produksi lendir berkurang.



**Gambar 11.** Gejala Klinis Ikan Nila. Tanda Panah (A) Luka pada bagian bawah mulut; (B) Luka pada bagian ekor; (C) Pembengkakan pada bagian perut; (D) Pendarahan pada bagian sirip pektoral; (E) Ekor geripis.

#### 4.3 Pengamatan Kualitas Air

Kualitas air pada masa pemeliharaan ikan merupakan indikator penting yang harus diperhatikan karena mempengaruhi kelangsungan hidup ikan. Selama penelitian, kualitas air yang diukur meliputi suhu, oksigen terlarut (DO) dan pH. Hasil pengukuran kualitas air dapat dilihat pada Tabel 14.

**Tabel 14.** Kisaran Parameter Kualitas Air Selama Penelitian

No.	Parameter Kualitas Air	Kisaran Parameter Kualitas Air pada Perlakuan	Literatur
1.	Suhu	26,4-29,4° C	25-30° C (Mas'ud, 2010)
2.	Oksigen Terlarut (DO)	4,9-8,7 mg/l	>4 mg/l (Khairuman dan Amri, 2013)
3.	pH	6,7-8,1	6-9 (Erlania, Rusmaedi, Praseto dan Haryadi, 2010)

Tabel diatas menunjukkan bahwa kualitas air selama penelitian masih dalam kisaran normal sehingga kualitas air tidak memberikan pengaruh terhadap kondisi ikan. Menurut Kordi (2010), kualitas air merupakan faktor pembatas dalam pertumbuhan ikan budi daya, termasuk nila. Sekalipun nila dapat hidup pada kualitas air yang buruk, namun pertumbuhan nila akan terhambat karena energinya digunakan untuk bertahan pada lingkungan perairan yang buruk sehingga pertumbuhannya melambat. Kualitas air yang buruk juga menjadi sumber perkembangan penyakit sehingga dapat menginfeksi ikan budi daya.

## 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Histopatologi Ginjal Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*”, maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

- Pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berpengaruh terhadap histopatologi ginjal ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.
- Dosis yang tepat ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) yang mempengaruhi histopatologi ginjal ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* adalah 700 ppm.

### 5.1 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran yang dapat diberikan adalah dapat digunakan dosis 700 ppm untuk mengobati ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk uji histopatologi organ yang lain seperti hati dan usus.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, E. 2005. Tanaman Obat Untuk Mengatasi Hepatitis. Agromedia Pustaka: Jakarta. 94 hlm.
- Ahmadmoradi, E., A. Rezaie dan S.M. Mousavi. 2012. Histopathological study of the kidney, liver and intestine tissues in goldfish (*Carassius auratus*) and angelfish (*Pterophyllum sp.*). *AAL Bioflux*. **5**(4): 282-288.
- Alifia, F. dan A. E. M. Bachli. 2013. Viabilitas *Aeromonas hydrophila* dalam ginjal dan sintasan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada salinitas dan suhu yang berbeda. *Jurnal Balik Diwa*. **4**(2): 35-38.
- Alifia, F. 2013. Histopatologi insang ikan bandeng (*Chanos chanos* Forskall) yang tercemar logam timbale (Pb). *Jurnal Balik Diwa*. **4**(1): 38-45.
- Asniatih, M. Idris dan K. Sabilu. 2013. Studi histopatologi pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Mina Laut Indonesia*. **3**(12): 13-21.
- Cahyaningrum, D., Sarjito dan A. H. C. Haditomo. 2015. Pengaruh perendaman ekstrak daun ceremai (*Phyllacanthus acidus* [L] skeels) terhadap keluluanhidupan dan histopatologi ginjal ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **4**(1): 40-46.
- Chariri, A. 2009. *Landasan Filsafat dan Metode Penelitian Kualitatif*, Paper disajikan pada Workshop Metodologi Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif, Laboratorium Pengembangan Akuntansi (LPA). Universitas Diponegoro: Semarang. 13-14.
- Darmayasa, I. B. C. 2008. Daya hambat fraksinasi ekstrak sembung delan (*Sphaerantus indicus* L) terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphlococcus aureus*. *Jurnal Biologi*. **11**(2): 74-77.
- Dewi, F. K. 2010. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia, Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar*. Skripsi. Universitas Sebelas Maret: Surakarta.
- Erlania., Rusmaedi., A.B. Prasetio dan J. Haryadi. 2010. *Dampak manajemen pakan dari kegiatan budidaya ikan nila (Oreochromis niloticus) di keramba jaring apung terhadap kualitas Perairan Danau Maninjau*. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur 2010. 621-631.
- Fujaya, Y. 2008. Fisiologi Ikan. Rineka Cipta: Jakarta. 179 hlm.
- Ghufron, H. 2014. *Uji Daya Hambat Bakteri Aeromonas hydrophila Setelah Pemberian Ekstrak Kasar Daun Sembung (Blumea balsamifera (L.) DC.) Secara In Vitro*. Skripsi. Universitas Brawijaya: Malang.

Hani, I. 2008. *Uji Efek Ekstrak Etanol 70% Daun Sembung (Blumea balsamifera (L.) DC.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Kelinci Jantan*. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta: Surakarta.

Haryani, A., R. Grandiosa., I, D. Buwono dan A. Santika. 2012. Uji efektifitas daun pepaya (*Carica papaya*) untuk pengobatan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas koki (*Carassius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3**(3): 213-220.

Hastjarjo, T. D. 2014. Rancangan eksperimen acak. *Buletin Psikologi*. **22**(2): 73-86.

Hayes, J. 2000. *Aeromonas hydrophila*. Spring Term Project .Orgon State University.<http://www.osu.orst.edu/> [22 Oktober 2015].

Herliana, E. 2013. *Diabetes Kandas Berkat Herbal*. FMedia: Jakarta. 106 hlm.

Hikma, N. 2015. *Pengaruh Perasan Daun Sirsak (Annona muricata L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*. Skripsi. Universitas Negeri Gorontalo: Gorontalo.

Irianto, A., Hernayanti dan N. Iriyanti. 2006. Pengaruh suplementasi probiotik A3-51 terhadap derajat imunitas *Oreochromis niloticus* didasarkan pada angka kuman pada ginjal setelah uji tantang dengan *Aeromonas hydrophila* dan *Aeromonas salmonicida achromogenes*. *Jurnal Perikanan*. **8**(2): 144-152.

Istikhanah,. Sarjito dan S. B. Prayitno. 2014. Pengaruh pencelupan ekstrak daun sirih Temurose (*Piper betle linn*) terhadap mortalitas dan histopatologi ginjal ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3**(3): 51-57.

Isnawati, A., M. Raini dan S. Alegantina. 2006. Standarisasi simplisia dan ekstrak etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera (L)*) dari tiga tempat tumbuh. *Media Litbang Kesehatan*. **16**(2): 1-6.

Istiqomah. 2013. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (Pipes retrofracti fructus)*. Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah: Jakarta.

Jalaluddin. 2014. Pengaruh salinitas terhadap fekunditas fungsional, daya tetas telur dan benih ikan Nila Salin (*Oreochromis niloticus Linn*). *Jurnal Manajemen Perikanan dan Kelautan*. **1**(2): 17-32.

Kakkilaya, B.S. 2002. *Peripheral smear examination for malaria parasite.CE Update Microbiology Molecular Diagnostics*. **34**(8): 602-608.

Khairuman dan K. Amri. 2003. *Budi Daya Ikan Nila Secara Intensif*. Agromedia Pustaka: Jakarta. 145 hlm

\_\_\_\_\_. 2013. *Budi Daya Ikan Nila*. Agromedia Pustaka: Jakarta. 108 hlm.

- Kartolani, A. 2012. *Gurahnya Laba Bisnis Ikan Konsumsi*. Araska: Yogyakarta. 144 hlm.
- Kordi, M. G. H. 2010. *Budi Daya Ikan Nila di Kolam Terpal*. Lily Publisher: Yogyakarta. 112 hlm.
- Kusmiyati, dan N. Wayan S. A. 2007. Uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga *Porphyridium cruentum*. *BIODIVERSITAS*. **8**(1): 48-53.
- Kusumawardani, I. R., R. Kusdarwati dan D. Handijatno. 2008. Daya anti bakteri ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc.) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*. *Berkala Ilmiah Perikanan*. **3**(1): 75-82.
- Lantu, S. 2010. Osmoregulasi pada hewan akuatik. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **6**(1): 46-50.
- Maftuch, dan S. Dalimunthe. 2013. *Penyakit Hewan Akuakultur*. UB Press: Malang. 153 hlm.
- Mandia, S., N. Marusin dan Santoso. 2013. Analisis histologist ginjal ikan Asang (*Osteochilus hasselti*) di Danau Maninjau dan Singkarak, Sumatera Barat. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. **2**(3): 194-100.
- Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari dan E. Riani. 2010. Uji patogenitas dan virulensi *Aeromonas hydrophila* stanier pada ikan nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) melalui postulat Koch. *J. Ris. Akuakultur*. **5**(2): 245-255.
- Marliyana, S.D., N. Handayani., S. Ngaisah dan E.N. Setyowati. 2013. AKtivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah (*Piper Crocantum* Ruiz & Pav.). *Jurnal Penelitian Kimia*. **9**(2): 33-40.
- Mas'ud, F. 2014. Pengaruh kualitas air terhadap pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis* sp.) di kolam beton dan terpal. *Grouper Faperik*. 1-6.
- Nababan, E. dan Hasruddin. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*. *Jurnal Biosains*. **1**(2): 51-56.
- Ngajow, M., J. Abidjulu dan V.S. Kamu. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. **2**(2): 128-132.
- Noor, H.F. 2014. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Binahong (Anredera cordifoli) Terhadap Perubahan Histopatologi Ginjal Ikan Koi (Cyprinus carpio) yang Diinfeksi Bakteri Aeromonas hydrophila*. Skripsi. Universitas Brawijaya: Malang.
- Noriko, N. 2013. Potensi daun teh (*Camellia sinensis*) dan daun anting-anting *Acalypha indica* L. dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*. **2**(2): 104-110.

- Nurhasanah. 2014. *Keanekaragaman Mikroalga di Balai Budidaya Air Tawar (BBAT) Kecamatan Sungai Gelam Jambi*. Artikel Ilmiah. Universitas Jambi: Jambi. 12 hlm.
- Nursal. 1998. *Pengaruh ekstrak akar Acanthus ilicifolius terhadap pertumbuhan bakteri Vibrio sp.* Prosiding Seminar Nasional VI Ekosistem Mangrove. Pekanbaru 15-18 September 1998. 273-277.
- Panigoro, N., I. Astuti., M. Bahnan., Prayudha., Salfira dan K. Wakita. 2007. *Teknik Dasar Histologi dan Atlas Dasar-Dasar Histopatologi Ikan*. Balai Budidaya Air Tawar Jambi dan *Japan International Cooperation Agency*. 56 hlm.
- Parameswari, W., A.D. Sasanti dan Muslim. 2013. Populasi bakteri, histology, kelangsungan hidup dan pertumbuhan benih ikan Gabus (*Chana striata*) yang dipelihara dalam media dengan penambahan probiotik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. 1(1): 76-89.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E. C. S. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi 1*, Alih bahasa: Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S. dan Angka, S. L. Jakarta: UI Press. 433 hlm.
- Praseno, O., H. Krettiawan., S. Asih dan A. Sudradjat. 2010. *Uji Ketahanan Salinitas Beberapa Strain Ikan Mas yang Dipelihara di Akuarium*. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. 93-100.
- Pradana, D., D. Suryanto dan Yunasfi. 2014. Uji daya hambat ekstrak kulit batang *Rhizophora mucronata* terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae* dan jamur *Saprolegnia* sp. secara *In Vitro*. 78-92.
- Priosoeryanto, B.P., I.M. Ersa., R. Tiuria dan S.U. Handayani. 2010. Gambaran histopatologi insang, usus dan otot ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) yang berasal dari Daerah Ciampea, Bogor. *Indonesian Journal of Veterinary Science & Medicine*. 2(1): 1-8.
- Putra, I., D. D. Setiyanto dan D. Wahyuningrum. 2011. Pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan nila *Oreochromis niloticus* dalam sistem resirkulasi. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 16(1): 56-63.
- Putra, D. A. 2014. *Ram Jet Ventilation, Perubahan Struktur Morfologi dan Gambaran Mikroanatomi Insang Ikan Lele (Clarias batrachus) Akibat Paparan Limbah Cair Pewarna Batik*. Skripsi. Universitas Negeri Semarang: Semarang.
- Rahmiyani, I., Mulyono M. S. dan R. Mardiana. 2015. Inventarisasi dan skrining fitokimia tumbuhan obat berkhasiat antiinflamasi yang digunakan oleh masyarakat Kampung Naga. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 13(1): 54-62.
- Raza'i, T.S. 2008. *Analisis Histopatologi Organ Insang dan Usus Ikan Kerapu Lumpur (Epinephelus coloides) yang Diberi Khamir Laut (Marine Yeast) Sebagai Immunostimulan*. Tesis. 95 hlm.

- Rosmalawati, N. 2008. *Pengaruh Penggunaan Tepung Daun Sembung (Blumea balsamifera) dalam Ransum Terhadap Profil Darah Ayam Broiler Periode Finisher*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Ruhimat, U. 2015. Daya hambat infusum daun sembung (*Blumea balsamifera*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. **13**(1): 142-148.
- Sakee, U., S. Maneerat., T.P.T Cushine dan W.D. Eknamkul. 2011. Antimicrobial activity of *Blumea balsamifera* (Lin.) DC. Extracts and essential oil. *Journal Natural Product Research*. **25**(19): 1849:1850.
- Salmin. 2005. Oksigen terlarut (DO) dan kebutuhan oksigen biologi (BOD) sebagai salah satu indikator untuk menentukan kualitas perairan. *Oseana*. **30**(3): 21-26.
- Samsundari, S. 2006. Pengujian ekstrak temulawak dan kunyit terhadap resistensi bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menyerang ikan mas (*Cyprinus caprio*). *GAMMA*. **2**(1): 71-83.
- Santoso, H. B. dan A. Nurliani. 2005. Efek doksisisiklin selama masa organogenesis pada struktur histology organ hati dan ginjal fetus mencit. *BIOSCIENTIAE*. **3**(1): 15-27.
- Saparinto, C. dan Rini S. 2013. *Sukses Pembenuhan 6 Jenis Ikan Air Tawar Ekonomis*. Lily Publisher: Yogyakarta. 278 hlm.
- Sari, R. E. R. 2014. *Perubahan Histopatologi Jaringan Kulit Ikan Komet (Carassius auratus auratus) Akibat Infestasi Argulus japonicas*. Skripsi. Universitas Airlangga: Surabaya.
- Sastrosupadi, A. 2000. *Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian Edisi Revisi*. Kanisius: Yogyakarta. 276 hlm.
- Sawandari, W. 2005. *Nilai Diagnosis Pemeriksaan Imunositokimia Limfosit Sediaan Apus Darah Tepi Dibandingkan Analisis Kromosom pada Penderita Dengan Dugaan Sindroma Fragile X*. Tesis. 74 hlm.
- Senja, R. Y., E. Issusilaningtyas., A.K. Nugroho dan E. P. Setyowati. 2014. Perbandingan metode ekstraksi dan variasi pelarut terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan ekstrak kubis ungu (*Brassica oleracea L. var. capitata f. rubra*). *Traditional Medicine Journal*. **19**(1): 43-48.
- Setijaningsih, L., N. Nafiqoh dan E. Nugroho. 2011. *Pengaruh Pemberian Probiotik pada Pemeliharaan Benih Ikan Nila (Oreochromis niloticus)*. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. 745-752.
- Setyowati, A., D. Hidayati., Awik P. N. dan N. Abdulgani. 2010. Studi histopatologi hati Ikan Belanak (*Mugil cephalus*) Di Muara Sungai Aloo Sidoarjo. *Jurnal Akuakultur*. **1**(1): 1-10.

- Sholikhatin, E., Sarwiyono dan P. Surjowardjojo. 2014. Ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Streptococcus agalatae* pada sapi perah di daerah Ngantang, Malang. *Jurnal FAPET*. Universitas Brawijaya. 1-11.
- Shome, R., dan B. R. Shome. 1999. A typical chronic from oh hydrophila infection in Indian major carp, *Calta calta* from Andaman. *Curr. Sci.* **76**(6): 1188-1190.
- Solikhah, T. dan T. Widyaningrum. 2015. Pengaruh surfaktan terhadap pertumbuhan dan histopatologi insang ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sebagai materi pembelajaran siswa SMA kelas X. *JUPEMASI-PBIO.* **2**(1): 249-255.
- Sonia, F., R. W. Sayekti dan E. Yuliani. 2014. Studi evaluasi kualitas air Waduk Selorejo akibat erupsi Gunung Kelud untuk budidaya perikanan air tawar. Universitas Brawijaya: Malang.
- Subali, B. 2010. Metodologi Penelitian Pendidikan Biologi. Universitas Negeri Yogyakarta: Yogyakarta. 58 hlm.
- Sudirman, T. A. 2014. *Uji efektivitas ekstrak daun salam (Eugenia polyantha) terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus secara in vitro*. Skripsi. Universitas Hasanudin: Makassar. 133 hlm.
- Suherman, H., Iskandar dan S. Astuy. 2002. Studi Kualitas Air Pada Petakan Pendederan Benih Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) di Kabupaten Indramayu. Laporan Penelitian. Universitas Padjadjaran: Bandung. 22 hlm.
- Sukarni., Maftuch., H. Nursyam. 2012. Kajian penggunaan Ciprofloxacin terhadap histologi insang dan hati ikan Botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *J. Exp. Life Sci.* **2**(1): 6-12.
- Sumarsono, H. O. P. 2008. *Pengaruh Penggunaan Tepung Daun Sembung (Blumea balsamifera) dalam Ransum Terhadap Performa Ayam Broiler*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Susanto, H. 1986. Budidaya Ikan di Pekarangan. Penebar Swadaya: Jakarta. 152 hlm.
- Tanjung, L. R., N. H. Sadi., M. Maghfiroh., R. Dina dan D. S. Said. 2013. Keanekaragaman bakteri *Aeromonas* dari KJA di Waduk Jatiluhur dan kolam budidaya di Pulau Lombok dan Sumbawa. *LIMNOTEK.* **20**(1): 100-110.
- Tresnati, J., M. I. Djawad dan A. S. Bulqish. 2007. Kerusakan ginjal ikan pari kembang (*Dasyatis kuhli*) yang diakibatkan oleh logam berat timbel (Pb). *J. Sains & Teknologi.* **7**(3): 153-160.
- Volk, W.A. dan Wheeler, M.F. 1993. Mikrobiologi Dasar (jilid 1) Diterjemahkan oleh Markham. Jakarta: Erlangga Press. 376 hlm.

Wahjuningrum, D., R. Astrini.dan M. Setiawati. 2013. Pencegahan *Aeromonas hydrophila* pada benih ikan lele menggunakan bawang putih dan meniran. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **12**(1): 86-94.

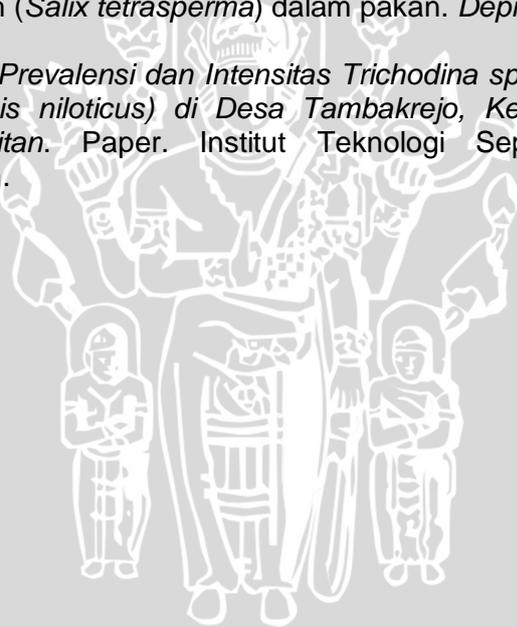
\_\_\_\_\_. 2013. Pencegahan infeksi *Aeromonas hydrophila* pada benih ikan lele *Clarias* sp. yang berumur 11 hari menggunakan bawang putih *Allium sativum* dan meniran *Phyllanthus nirura*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **12**(1): 94-104.

Widyaningrum, T. dan T. Suharyanti.2011. *Pengaruh Merkuri Klorida Terhadap Pertumbuhan dan Histopatologi Ginjal Ikan Nila (Oreochromis niloticus, Linn)*. Seminar Nasional VIII Pendidikan Biologi. Universitas Ahmad Dahlan: Yogyakarta. 1-10.

Wikiandy, N., Rosidah dan T. Herawati. 2013. Dampak pencemaran limbah industry tekstil terhadap kerusakan struktur organ ikan yang hidup di Daerah Aliran Sungai (DAS) Citarum bagian hulu. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **4**(3): 215-225.

Yanti, Z., Z. A. Muchlisin dan Sugito. 2013. Pertumbuhan dan kelangsungan hidup benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada beberapa konsentrasi tepung daun jalloh (*Salix tetrasperma*) dalam pakan. *Depik*. **2**(1): 16-19.

Zheila, P. R. N. 2013. *Prevalensi dan Intensitas Trichodina sp. Pada Benih Ikan Nila (Oreochromis niloticus) di Desa Tambakrejo, Kecamatan Pacitan, Kabupaten Pacitan*. Paper. Institut Teknologi Sepuluh November: Surabaya. 11 hlm.



## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian

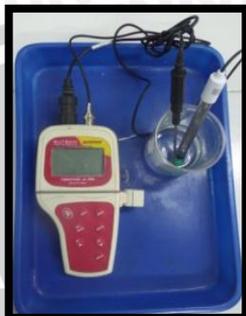
#### a). Alat yang digunakan dalam penelitian



Rotary Evaporator



Timbangan Digital



pH Meter



DO Meter



Microtom Rotary



Akuarium



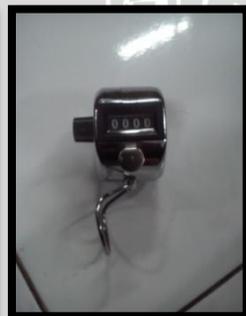
Termometer



Tabung Reaksi



Autoklaf



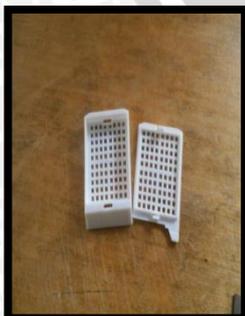
Handtally Counter



Sectio Set



Botol Film



Wadah Embedding



Inkubator



Beaker Glass



Lap Basah

Lampiran 1. (Lanjutan)



Aerator Set



Hot Plate



Vortex



Laminary Flow



Seser Ikan



Sprayer



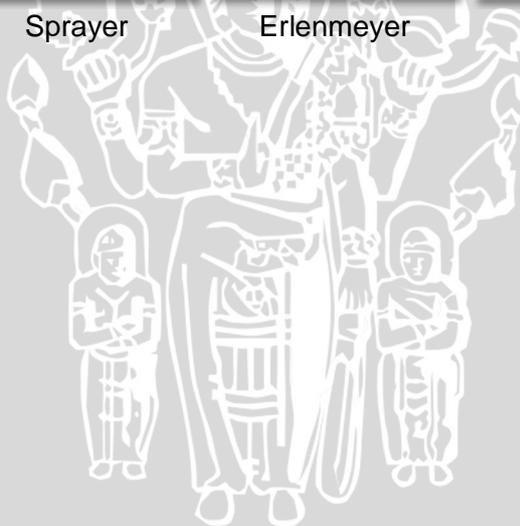
Erlenmeyer



Nampan



Gelas Ukur



Lampiran 1. (Lanjutan)

b). Bahan yang digunakan dalam penelitian



Serbuk Daun Sembung



NB



Aluminium Foil



Ekstrak Daun Sembung



Plastic Wrap



Ikan Nila



Formalin 10%



Tisu



Kertas Label



Organ Ginjal Ikan Nila



Haematoxilin



Etanol



Alkohol Absolut



Alkohol 96%



Alkohol 80%



Lithium Carbonat



Lampiran 1. (Lanjutan)



Alkohol 96%



Alkohol 70%



**Lampiran 2.** Penentuan Dosis Perendaman Ikan dengan Ekstrak Kasar Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.)

Menyiapkan akuarium yang berisi media air tawar

Menentukan range dosis yang disarankan yaitu 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 800 ppm

Menunggu waktu kematian ikan nila sampai 50% dan mengamati gejala klinis ikan nila

Hasil uji menyimpulkan bahwa dosis yang dapat ditoleris oleh ikan adalah 500 ppm, 600 ppm dan 700 ppm



Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



Bakteri dikultur pada media NB



Media NB yang berisi bakteri dimasukkan dalam *incubator shaker* selama 48 jam



NB yang tercampur bakteri dituang dalam akuarium



Ikan diinfeksi selama 24 jam



Pengobatan ikan dengan ekstrak daun sembung selama 13 jam



Pengambilan sampel organ ginjal



Lampiran 4. Hasil Skoring Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Nila

Kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	Area Lapang Pandang					Rerata LP	Rerata Sampel
			1	2	3	4	5		
Kongesti	A	1	2	2	3	3	3	2,6	2,533
		2	3	2	3	3	3	2,8	
		3	3	3	2	3	4	3	
	B	1	3	2	1	3	2	2,2	2,2
		2	2	2	3	2	3	2,4	
		3	2	1	3	2	2	2	
	C	1	1	1	2	2	3	1,8	2,067
		2	2	2	2	2	3	2,2	
		3	1	2	3	3	2	2,2	
	K(-)	1	1	1	1	1	1	1	1
		2	1	1	1	1	1	1	
		3	1	1	1	1	1	1	
	K(+)	1	3	3	3	2	2	2,6	2,6
		2	4	2	3	2	2	2,6	
		3	2	2	3	2	4	2,6	
Edema	A	1	2	2	3	3	4	2,8	2,8
		2	3	3	2	4	3	3	
		3	3	3	2	2	3	2,6	
	B	1	3	3	3	2	2	2,6	2,667
		2	2	2	3	3	4	2,8	
		3	3	2	2	3	3	2,6	
	C	1	2	2	3	2	1	2	1,867
		2	3	1	1	1	3	1,8	
		3	1	2	1	2	3	1,8	
	K(-)	1	1	1	1	1	1	1	1
		2	1	1	1	1	1	1	
		3	1	1	1	1	1	1	
	K(+)	1	3	2	3	3	4	3	3,067
		2	3	3	4	3	4	3,4	
		3	2	3	3	2	4	2,8	
Nekrosis	A	1	4	2	2	3	3	2,8	2,733
		2	3	3	2	2	3	2,6	
		3	2	2	3	4	3	2,8	
	B	1	3	3	2	3	2	2,6	2,6
		2	2	2	3	3	3	2,6	
		3	2	2	2	4	3	2,6	
	C	1	2	2	1	2	2	1,8	1,933
		2	2	1	2	2	2	1,8	
		3	2	3	3	2	1	2,2	
	K(-)	1	1	1	1	1	1	1	1
		2	1	1	1	1	1	1	
		3	1	1	1	1	1	1	
	K(+)	1	3	3	2	2	3	2,6	2,933
		2	2	4	3	4	3	3,2	
		3	3	3	2	3	4	3	

### Lampiran 5. Perhitungan Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Nila

#### a). Kongesti

Perlakuan	Ulangan Rerata Lapang Pandang			Jumlah	Rerata	Total <sup>2</sup>
	1	2	3			
500 ppm (A)	2,6	2,8	3	8,4	2,8	70,56
600 ppm (B)	2,2	2,4	2	6,6	2,2	43,56
700 ppm (C)	1,8	2,2	2,2	6,2	2,067	38,44
<b>Total</b>	6,6	7,4	7,2	21,2	7,067	152,56

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi} &= \text{Total}^2 / n.r \\ &= (21,2)^2 / 9 \\ &= 49,937 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat (JK) Total} &= (A1)^2+(A2)^2+(A3)^2+(B1)^2+\dots+(C3)^2 - \text{FK} \\ &= (2,6)^2+(2,8)^2+(3)^2+(2,2)^2+\dots+(2,2)^2 - 49,937 \\ &= 1,182 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan} &= \frac{\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2}{r} - \text{FK} \\ &= \frac{6,6^2 + 7,4^2 + 7,2^2}{3} - 49,937 \\ &= 0,915 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 1,182 - 0,915 \\ &= 0,267 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (t) * (r) - 1 \\ &= (3) * (3) - 1 \\ &= 8 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Db Perlakuan} &= (t) - 1 = (3) - 1 = 2 \\ \text{Db Acak} &= \text{db Total} - \text{db Acak} = 8 - 2 = 6 \end{aligned}$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{1,915}{2} = 0,457$$

$$\text{KT Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,267}{6} = 0,044$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{0,457}{0,044} = 10,3$$

#### Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	2	0.916	0.458	10,3*	5,14	10,9
Acak	6	0.267	0.0444			
<b>Total</b>	8	1.182				

Keterangan: \* = berbeda nyata

### Lampiran 5. (Lanjutan)

Karena didapatkan hasil nilai F hitung berada diantara F tabel 5% dan F tabel 1%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

#### Menghitung Nilai BNT

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{2} \text{ KT acak/r} = \sqrt{2} \times 0.044 / 3 = 0.172 \\ \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} = 1.943 \times 0.172 = 0.344 \\ \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} = 3.143 \times 0.172 = 0.541 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rerata	C	B	A	Notasi
		2.067	2.2	2.8	
C	2.067	-			a
B	2.2	0.133 <sup>ns</sup>	-		b
A	2.8	0.733 <sup>**</sup>	0.6 <sup>**</sup>	-	b

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata

\*\* = berbeda sangat nyata

#### Perhitungan Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A	8.4	-1	1
B	6.6	0	-2
C	6.2	1	1
Q= $\sum Ci \cdot Ti$		-2.2	1.4
Hasil Kuadrat Ci		2	6
Kr= ( $\sum Ci^2$ )*r		6	18
JK regresi = $Q^2/Kr$		0.806667	0.1088889

$$\begin{aligned} \text{JK Regresi Total} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} \\ &= 0,807 + 0,109 \\ &= 0,916 \end{aligned}$$

#### Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0,916	-	-	-	-
Linier	1	0,807	0,807	18,15 <sup>**</sup>	5,14	10,9
Kuadratik	1	0,109	0,109	2,45	5,14	10,9
Acak	6	0,267	0,044			
Total	8	1,182				

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata

#### Mencari R Square (R<sup>2</sup>)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,807}{0,807 + 0,267} = 0,751$$

## Lampiran 5. (Lanjutan)

$$R^2 \text{ Kuadrat} = \frac{JK \text{ Kuadrat}}{JK \text{ Kuadrat} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,109}{0,109 + 0,267} = 0,289$$

Perhitungan regresi kuadrat di atas, didapatkan bahwa regresi linier bernilai lebih besar dibanding dengan nilai regresi kuadrat. Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah  $y = 4,556 - 0,004x$  dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	x	y	xy	X <sup>2</sup>
A1	500	2,6	1300	250000
A2	500	2,8	1400	250000
A3	500	3	1500	250000
B1	600	2,2	1320	360000
B2	600	2,4	1440	360000
B3	600	2	1200	360000
C1	700	1,8	1260	490000
C2	700	2,2	1540	490000
C3	700	2,2	1540	490000
<b>Total</b>	$\Sigma x = 5400$	$\Sigma y = 21,2$	$\Sigma xy = 12500$	$\Sigma x^2 = 3300000$
<b>Rata-rata</b>	$\bar{x} = 600$	$\bar{y} = 2,356$	1388,889	366666,7

Mencari b<sub>1</sub>

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{12500 - \frac{5400 \cdot 21,2}{9}}{3300000 - \frac{5400^2}{9}} = -0,004$$

$$\begin{aligned} b_0 &= \bar{y} - b_1 \cdot \bar{x} \\ &= 2,356 - (-0,004 \cdot 600) \\ &= 4,556 \end{aligned}$$

Persamaan regresi linier adalah  $y = b_0 + b_1 \cdot x$  sehingga didapatkan persamaan  $y = 4,556 - 0,004x$ .

## b). Edema

Perlakuan	Ulangan Rerata Lapang Pandang			Jumlah	Rerata	Total <sup>2</sup>
	1	2	3			
500 ppm (A)	2,8	3	2,6	8,4	2,8	70,56
600 ppm (B)	2,6	2,8	2,6	8	2,667	64
700 ppm (C)	2	1,8	1,8	5,6	1,867	31,36
<b>Total</b>	7,4	7,6	7	22	7,333	165,92

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi} &= \text{Total}^2 / n \cdot r \\ &= (22)^2 / 9 \\ &= 53,778 \end{aligned}$$

**Lampiran 5. (Lanjutan)**

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat (JK) Total} &= (A1)^2+(A2)^2+(A3)^2+(B1)^2+\dots+(C3)^2 - FK \\ &= (2,8)^2+(3)^2+(2,6)^2+(2,6)^2+\dots+(1,8)^2 - 53,778 \\ &= 1,662\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Perlakuan} &= \frac{\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2}{r} - FK \\ &= \frac{8,4^2 + 8^2 + 5,6^2}{3} - 53,778 \\ &= 1,529\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 1,662 - 1,529 \\ &= 0,133\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas (db) Total} &= (t) \cdot (r) - 1 \\ &= (3) \cdot (3) - 1 \\ &= 8\end{aligned}$$

$$\text{Db Perlakuan} = (t) - 1 = (3) - 1 = 2$$

$$\text{Db Acak} = \text{db Total} - \text{db Acak} = 8 - 2 = 6$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{1,529}{2} = 0,764$$

$$\text{KT Acak} = \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{0,133}{6} = 0,022$$

$$\text{F Hitung} = \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{0,764}{0,022} = 34,4$$

**Analisis Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	2	1,529	0,764	34,4**	5,14	10,9
Acak	6	0,133	0,022		5,14	10,9
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>1,662</b>				

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata

Karena didapatkan hasil nilai F hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

**Menghitung Nilai BNT**

$$\text{SED} = \sqrt{2} \text{ KT acak}/r = \sqrt{2} \times 0,022 / 3 = 0,121$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} = 1,943 \times 0,121 = 0,236$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} = 3,143 \times 0,121 = 0,382$$

Lampiran 5. (Lanjutan)

Perlakuan	Rerata	C	B	A	Notasi
		1.867	2.667	2.8	
C	1,867	-			a
B	2,667	0,800**	-		b
A	2,8	0,933**	0,133 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata  
 \*\* = berbeda sangat nyata

Perhitungan Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)	
		Linier	Kuadratik
C	8,4	-1	1
B	8	0	-2
A	5,6	1	1
<b>Q=Σci*Ti</b>		-2,8	2
<b>Hasil Kuadrat Ci</b>		2	6
<b>Kr= (Σci^2)*r</b>		6	18
<b>JK regresi =Q^2/Kr</b>		1,307	0,222

JK Regresi Total = JK Linier + JK Kuadratik  
 = 1,307 + 0,222  
 = 1,529

Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1,529				
Linier	1	1,307	1,307	58,8**	5,14	10,9
Kuadratik	1	0,222	0,222	10	5,14	10,9
Acak	6	0,133	0,022			
Total	8					

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata

Menghitung R Square (R<sup>2</sup>)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{1,307}{1,307 + 0,133} = 0,907$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,222}{0,222 + 0,133} = 0,625$$

Perhitungan regresi kuadrat diatas, didapatkan bahwa regresi linier bernilai lebih besar dibanding dengan nilai regresi kuadratik. Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah  $y = 5,244 - 0,005x$  dengan perhitungan sebagai berikut:



Lampiran 5. (Lanjutan)

Perlakuan	x	Y	xy	X <sup>2</sup>
A1	500	2,8	1400	250000
A2	500	3	1500	250000
A3	500	2,6	1300	250000
B1	600	2,6	1560	360000
B2	600	2,8	1680	360000
B3	600	2,6	1560	360000
C1	700	2	1400	490000
C2	700	1,8	1260	490000
C3	700	1,8	1260	490000
<b>Total</b>	$\Sigma x = 5400$	$\Sigma y = 22$	$\Sigma xy = 12920$	$\Sigma x^2 = 3300000$
<b>Rata-rata</b>	$\bar{x} = 600$	$\bar{y} = 2.444444$	1435,556	366666,67

Mencari b1

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

$$= \frac{12920 - \frac{5400 \times 22}{9}}{3300000 - \frac{5400^2}{9}} = -0,005$$

Mencari b0

$$b_0 = \bar{y} - b_1 \cdot \bar{x}$$

$$= 2.444 - (-0.005 \cdot 600)$$

$$= 5,244$$

Persamaan regresi linier adalah  $y = b_0 + b_1 \cdot x$  sehingga didapatkan persamaan  $y = 5,244 - 0,005x$ .

c). Nekrosis

Perlakuan	Ulangan Rerata Lapang Pandang			Jumlah	Rerata	Total <sup>2</sup>
	1	2	3			
500 ppm (A)	2,8	2,6	2,8	8,2	2,733	67,24
600 ppm (B)	2,6	2,6	2,6	7,8	2,6	60,84
700 ppm (C)	1,8	1,8	2,2	5,8	1,933	33,64
<b>Total</b>	7,2	7	7,6	21,8	7,267	161,72

Faktor Koreksi = Total<sup>2</sup> / n.r  
 = (21,8)<sup>2</sup> / 9  
 = 52,80

Jumlah Kuadrat (JK)Total = (A1)<sup>2</sup>+(A2)<sup>2</sup>+(A3)<sup>2</sup>+(B1)<sup>2</sup>+.....+(C3)<sup>2</sup> - FK  
 = (2,8)<sup>2</sup>+(2,6)<sup>2</sup>+(2,8)<sup>2</sup>+(2,6)<sup>2</sup>+.....+(2,2)<sup>2</sup> - 52,80  
 = 1,236



**Lampiran 5. (Lanjutan)**

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan} &= \frac{\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2}{r} - FK \\ &= \frac{8,2^2 + 7,8^2 + 5,8^2}{3} - 52,80 \\ &= 1,102 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 1,235 - 1,102 \\ &= 0,133 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (t) \cdot (r) - 1 \\ &= (3) \cdot (3) - 1 \\ &= 8 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Db Perlakuan} &= (t) - 1 = (3) - 1 = 2 \\ \text{Db Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 8 - 2 = 6 \end{aligned}$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{1,102}{2} = 0,551$$

$$\text{KT Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,133}{6} = 0,022$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{0,551}{0,022} = 24,8$$

**Analisis Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	2	1,102	0,551	24,8**	5,14	10,9
Acak	6	0,133	0,022			
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>1,236</b>				

Keterangan: \*\* =berbeda sangat nyata

Karena didapatkan hasil nilai F hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

**Menghitung Nilai BNT**

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{2 \text{ KT acak}/r} = \sqrt{2 \times 0,022 / 3} = 0,121 \\ \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} = 1,943 \times 0,121 = 0,236 \\ \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} = 3,143 \times 0,121 = 0,382 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rerata	C	B	A	Notasi
		1,933	2,6	2,733	
<b>C</b>	1,933	-			a
<b>B</b>	2,6	0,667**	-		b
<b>A</b>	2,733	0,800**	0,133 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata      \*\* = berbeda sangat nyata

## Lampiran 5. (Lanjutan)

## Perhitungan Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)	
		Linier	Kuadratik
C	8,2	-1	1
B	7,8	0	-2
A	5,8	1	1
$Q = \sum C_i \cdot T_i$		-2,4	-1,6
Hasil Kuadrat Ci		2	6
$Kr = (\sum C_i^2) \cdot r$		6	18
JK regresi $= Q^2 / Kr$		0,96	0,142

$$\begin{aligned} \text{JK Regresi Total} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} \\ &= 0,96 + 0,142 \\ &= 1,102 \end{aligned}$$

## Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1,102	-	-	-	-
Linier	1	0,96	0,96	43,2**	5,14	10,9
Kuadratik	1	0,142	0,142	6,4	5,14	10,9
Acak	6	0,133	0,022			
Total	8					

Keterangan : \*\* = berbeda sangat nyata

Menghitung R Square ( $R^2$ )

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,96}{0,96 + 0,133} = 0,878$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,142}{0,142 + 0,133} = 0,516$$

Perhitungan regresi kuadrat diatas, didapatkan bahwa regresi linier bernilai lebih besar dibanding dengan nilai regresi kuadratik. Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah  $y = 4,822 - 0,004x$  dengan perhitungan sebagai berikut:

## Lampiran 5. (Lanjutan)

Perlakuan	x	y	xy	X <sup>2</sup>
A1	500	2.8	1400	250000
A2	500	2.6	1300	250000
A3	500	2.8	1400	250000
B1	600	2.6	1560	360000
B2	600	2.6	1560	360000
B3	600	2.6	1560	360000
C1	700	1.8	1260	490000
C2	700	1.8	1260	490000
C3	700	2.2	1540	490000
<b>Total</b>	$\Sigma x = 5400$	$\Sigma y = 21,8$	$\Sigma xy = 12840$	$\Sigma x^2 = 3300000$
<b>Rata-rata</b>	$\bar{x} = 600$	$\bar{y} = 2,422$	1426,667	366666,7

Mencari b<sub>1</sub>

$$\begin{aligned}
 b_1 &= \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} \\
 &= \frac{12840 - \frac{5400 \times 21,8}{9}}{3300000 - \frac{5400^2}{9}} = -0,004
 \end{aligned}$$

Mencari b<sub>0</sub>

$$\begin{aligned}
 b_0 &= \bar{y} - b_1 \cdot \bar{x} \\
 &= 2,422 - (-0,004 \cdot 600) \\
 &= 4,822
 \end{aligned}$$

Persamaan regresi linier adalah  $y = b_0 + b_1 \cdot x$  sehingga didapatkan persamaan  $y = 4,822 - 0,004x$ .

## Lampiran 6. Data Kualitas Air

## a). Suhu

Akuarium	Rabu		Kamis		Jumat		Sabtu		Minggu		Senin	
	Pagi	Sore										
A1	26,4	27,5	26,6	27,5	27,2	29,3	27,2	29,3	26,9	28,2	27,4	28,9
A2	26,9	28,5	26,6	27,6	26,8	28,5	26,7	28,5	27,1	28,7	26,3	27,9
A3	26,9	28,3	26,7	28,5	26,9	28,4	26,9	28,4	27,2	28,5	26,4	28,3
<b>Rata-rata</b>	<b>26,7</b>	<b>28,1</b>	<b>26,6</b>	<b>27,9</b>	<b>27,0</b>	<b>28,7</b>	<b>26,9</b>	<b>28,7</b>	<b>27,1</b>	<b>28,5</b>	<b>26,7</b>	<b>28,4</b>
B1	26,6	28,3	26,4	27,4	26,3	28,3	26,3	28,4	26,4	28,5	27,3	29,3
B2	26,5	27,9	26,3	27,9	26,7	27,8	26,7	28,7	26,8	28,9	26,4	28,7
B3	26,9	27,3	26,6	27,3	27,1	28,4	27,4	28,4	27,3	28,6	27,4	28,4
<b>Rata-rata</b>	<b>26,7</b>	<b>27,8</b>	<b>26,4</b>	<b>27,5</b>	<b>26,7</b>	<b>28,2</b>	<b>26,8</b>	<b>28,5</b>	<b>26,8</b>	<b>28,7</b>	<b>27,0</b>	<b>28,8</b>
C1	26,4	27,4	26,3	27,6	26,5	27,9	26,5	28,4	26,3	28,5	27,1	28,5
C2	26,8	27,8	26,7	27,9	26,6	28,3	26,7	28,3	26,4	28,2	27,2	28,4
C3	26,4	27,4	26,7	27,9	26,8	28,8	26,8	28,3	26,5	28,4	26,9	28,4
<b>Rata-rata</b>	<b>26,4</b>	<b>27,5</b>	<b>26,6</b>	<b>27,8</b>	<b>26,6</b>	<b>28,3</b>	<b>26,7</b>	<b>28,3</b>	<b>26,4</b>	<b>28,4</b>	<b>27,1</b>	<b>28,4</b>
K(+1)	26,3	28,7	27,2	28,3	26,8	28,3	27,1	28,4	27,4	28,3	27,3	28,4
K(+2)	26,8	28,3	26,8	28,4	26,4	28,4	27,3	28,9	27,4	28,9	26,9	28,3
K(+3)	26,9	28,4	26,6	28,9	26,8	28,5	27,4	28,5	27,2	28,8	27,2	28,8
<b>Rata-rata</b>	<b>26,7</b>	<b>28,5</b>	<b>26,9</b>	<b>28,5</b>	<b>26,7</b>	<b>28,4</b>	<b>27,3</b>	<b>28,6</b>	<b>27,3</b>	<b>28,7</b>	<b>27,1</b>	<b>28,5</b>
K(-1)	26,7	27,5	26,9	27,5	26,9	28,3	26,6	28,4	26,9	28,1	26,5	28,8
K(-2)	26,3	27,8	27,1	27,8	27,1	29,1	27,1	29,4	27,3	29,1	26,4	28,3
K(-3)	26,9	27,6	26,7	27,6	26,4	28,7	26,3	28,7	26,4	28,1	26,8	27,8
<b>Rata-rata</b>	<b>26,6</b>	<b>27,6</b>	<b>26,9</b>	<b>27,6</b>	<b>26,8</b>	<b>28,7</b>	<b>26,7</b>	<b>28,8</b>	<b>26,9</b>	<b>28,4</b>	<b>26,6</b>	<b>28,3</b>

- Kisaran suhu selama penelitian adalah 26,4-29,4° C

## Lampiran 6. (Lanjutan)

## b). Oksigen Terlarut (DO)

Akuarium	Rabu		Kamis		Jumat		Sabtu		Minggu		Senin	
	Pagi	Sore										
A1	7,7	7,6	7,7	7,4	7,3	8,0	7,8	7,0	5,0	4,9	8,1	7,9
A2	7,3	7,2	7,4	6,9	7,9	8,5	8,3	7,9	8,1	8,0	8,4	8,4
A3	6,9	6,2	7,1	5,7	6,5	7,2	6,4	7,3	5,9	6,7	7,3	7,8
<b>Rata-rata</b>	<b>7,3</b>	<b>7,0</b>	<b>7,4</b>	<b>6,6</b>	<b>7,3</b>	<b>7,9</b>	<b>7,5</b>	<b>7,4</b>	<b>6,3</b>	<b>6,5</b>	<b>7,9</b>	<b>8,1</b>
B1	7,2	7,4	6,2	6,3	7,5	7,3	6,8	6,6	7,6	7,7	8,0	8,0
B2	6,2	5,6	7,7	6,1	7,0	5,9	6,7	5,6	5,8	6,6	7,8	6,9
B3	7,4	7,0	7,3	6,9	7,3	7,6	7,4	7,3	7,1	7,4	7,7	7,8
<b>Rata-rata</b>	<b>6,9</b>	<b>6,7</b>	<b>7,1</b>	<b>6,4</b>	<b>7,3</b>	<b>6,9</b>	<b>7,0</b>	<b>6,5</b>	<b>6,9</b>	<b>7,2</b>	<b>7,8</b>	<b>7,6</b>
C1	7,1	6,2	7,3	6,8	7,1	7,1	7,3	7,2	6,8	7,4	7,7	7,6
C2	7,4	7,4	7,9	7,5	7,6	7,6	7,6	7,9	7,8	7,9	7,9	7,8
C3	6,9	7,0	7,5	7,2	7,3	7,2	7,4	7,6	7,6	7,9	8,0	7,8
<b>Rata-rata</b>	<b>7,1</b>	<b>6,9</b>	<b>7,6</b>	<b>7,2</b>	<b>7,3</b>	<b>7,3</b>	<b>7,4</b>	<b>7,6</b>	<b>7,4</b>	<b>7,7</b>	<b>7,9</b>	<b>7,7</b>
K(+1)	7,8	7,3	8,0	7,5	7,9	8,5	7,5	7,9	7,9	7,3	8,0	8,1
K(+2)	7,9	7,6	7,8	7,1	7,5	7,8	7,4	7,2	7,2	7,1	7,6	7,5
K(+3)	6,9	6,5	8,2	7,5	7,9	8,7	8,3	7,4	7,4	7,8	7,8	7,8
<b>Rata-rata</b>	<b>7,5</b>	<b>7,1</b>	<b>8,0</b>	<b>7,4</b>	<b>7,7</b>	<b>8,3</b>	<b>7,7</b>	<b>7,5</b>	<b>7,5</b>	<b>7,4</b>	<b>7,8</b>	<b>7,8</b>
K(-1)	7,3	6,8	6,8	6,8	6,5	7,1	6,4	5,8	5,8	7,3	7,8	7,8
K(-2)	6,9	5,5	6,4	6,1	6,3	6,8	6,2	6,1	7,5	7,5	8,0	7,4
K(-3)	7,3	7,0	7,2	7,4	7,4	7,2	7,2	7,5	7,6	7,6	7,8	7,9
<b>Rata-rata</b>	<b>7,2</b>	<b>6,4</b>	<b>6,8</b>	<b>6,8</b>	<b>6,7</b>	<b>7,0</b>	<b>6,6</b>	<b>6,5</b>	<b>6,7</b>	<b>7,4</b>	<b>7,9</b>	<b>7,7</b>

- Kisaran DO selama penelitian adalah 4,9-8,7 mg/l

## Lampiran 6. (Lanjutan)

## c). pH

Akuarium	Rabu		Kamis		Jumat		Sabtu		Minggu		Senin	
	Pagi	Sore										
A1	7,8	7,9	8,0	8,1	8,1	8,2	8,1	7,3	7,1	6,7	6,8	6,9
A2	7,6	7,8	8,1	8,0	8,0	8,1	8,0	7,9	8,1	8,1	8,0	8,0
A3	7,3	7,5	7,4	7,4	7,2	7,6	7,5	7,3	7,7	7,4	7,2	7,2
<b>Rata-rata</b>	<b>7,6</b>	<b>7,7</b>	<b>7,8</b>	<b>7,8</b>	<b>7,8</b>	<b>8,0</b>	<b>7,9</b>	<b>7,5</b>	<b>7,6</b>	<b>7,4</b>	<b>7,3</b>	<b>7,3</b>
B1	7,5	7,6	7,4	7,4	7,4	7,5	7,7	7,6	8,0	7,7	7,9	8,2
B2	7,3	7,4	7,4	7,4	7,3	7,6	7,6	7,4	7,6	7,4	7,5	7,6
B3	7,5	7,8	7,9	8,0	7,9	7,9	8,2	7,9	8,1	7,7	7,9	8,0
<b>Rata-rata</b>	<b>7,4</b>	<b>7,6</b>	<b>7,5</b>	<b>7,6</b>	<b>7,5</b>	<b>7,6</b>	<b>7,8</b>	<b>7,7</b>	<b>7,9</b>	<b>7,6</b>	<b>7,8</b>	<b>8,0</b>
C1	7,3	7,6	7,7	7,7	7,6	7,7	8,0	7,9	8,1	7,9	8,0	8,1
C2	7,6	7,9	8,0	8,1	8,0	8,1	8,1	8,1	8,1	8,0	8,1	8,1
C3	7,9	8,1	7,8	8,0	7,9	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1
<b>Rata-rata</b>	<b>7,6</b>	<b>7,8</b>	<b>7,8</b>	<b>7,9</b>	<b>7,8</b>	<b>7,9</b>	<b>8,1</b>	<b>8,0</b>	<b>8,1</b>	<b>8,0</b>	<b>8,1</b>	<b>8,1</b>
K(+)-1	7,6	7,9	7,9	7,8	7,9	7,9	7,8	7,8	8,1	7,5	7,6	7,7
K(+)-2	7,4	7,7	7,9	7,8	7,8	7,8	8,1	7,8	7,9	7,5	7,6	7,6
K(+)-3	7,0	7,2	8,0	8,0	7,8	7,9	7,8	7,7	8,0	7,8	7,7	7,8
<b>Rata-rata</b>	<b>7,4</b>	<b>7,6</b>	<b>7,9</b>	<b>7,9</b>	<b>7,8</b>	<b>7,8</b>	<b>7,9</b>	<b>7,8</b>	<b>8,0</b>	<b>7,6</b>	<b>7,6</b>	<b>7,7</b>
K(-)-1	7,4	7,6	7,2	7,2	7,5	7,4	7,8	7,5	7,5	7,7	7,9	7,9
K(-)-2	7,5	7,6	7,4	7,5	7,5	7,5	7,7	7,8	7,7	7,8	8,0	7,8
K(-)-3	7,7	7,9	7,8	7,8	7,8	7,8	8,1	7,9	8,0	7,8	7,9	8,0
<b>Rata-rata</b>	<b>7,4</b>	<b>7,6</b>	<b>7,9</b>	<b>7,9</b>	<b>7,8</b>	<b>7,8</b>	<b>7,9</b>	<b>7,8</b>	<b>8,0</b>	<b>7,6</b>	<b>7,6</b>	<b>7,7</b>

- Kisaran pH selama penelitian adalah 6,7-8,1

Lampiran 7. Hasil Identifikasi Klasifikasi Tanaman Sembung

84



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN  
KEBUN RAYA PURWODADI**

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046 Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046  
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**

No. 470/IPH.06/HM/I/2016

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

**Kiki Nur Fitriana, NIM : 125080501111022**

Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 26 Januari 2016 berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume II, tahun 1965, halaman 387 dan PROSEA ( Plants Resources of South-East Asia ) No 12 (1) ; Medicinal and poisonous plants 1, editor L.S. de Padua ,N. Bunyaphatsara dan R.H.M.J. Lemmens, tahun 1999, halaman 155

nama ilmiahnya :

Genus : *Blumea*  
Species : *Blumea balsamifera* (L.) DC.

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVII adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*  
Class : *Magnoliopsida*  
Subclass : *Asteridae*  
Ordo : *Asterales*  
Family : *Asteraceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 03 Februari 2016

An. Kepala

Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,



Deden Mudlana, S.Hut, M.Si



Lampiran 8. Hasil Uji Biokimia Bakteri *A. hydrophila*



KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN  
 DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA  
 BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU  
 LABORATORIUM UJI BBPBAP JEPARA  
 Alamat surat: PO Box 1 Jepara, Kantor: Jl. Cik Lanang – Bulu Jepara 59418  
 Telp. : (0291) 591125, Faximili : (0291) 591724  
 Email : bbbapjpr@rad.net.id Website : udang-bbbap.com

HASIL UJI BOKIMIA

Uji Bio Kimia	<i>Aeromonas hydrophilla</i>
Gram	—
Bentuk	Batang
Katalase	+
Oksidase	+
H2S	—
Indol	+
Motil	+
OF medium	Fermentatif
VP	+
MR	—
Gelatin	+
Urea	—
Glukosa	+
Sukrosa	+

Lab. Mikrobiologi BBPBAP Jepara



Sri Murni Astuti, SP.

