

**EFEKTIVITAS IMUNOSTIMULAN EKSTRAK KASAR DAUN JAMBU BIJI
(*Psidium guajava*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL IKAN PATIN
(*Pangasius sp.*) YANG DI UJI TANTANG BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

Oleh:

**MUKHAMAD MUSTOFA
NIM.125080500111006**



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

**EFEKTIVITAS IMUNOSTIMULAN EKSTRAK KASAR DAUN JAMBU BIJI
(*Psidiumguajava*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL IKAN PATIN
(*Pangasiussp.*)YANG DI UJI TANTANG BAKTERI *Aeromonashydrophila***

**USULAN 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:

**MUKHAMAD MUSTOFA
NIM.125080500111006**



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

SKRIPSI

EFEKTIVITAS IMUNOSTIMULAN EKSTRAK KASAR DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL IKAN PATIN (*Pangasius sp.*) YANG DI UJI TANTANG BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Oleh :

MUKHAMAD MUSTOFA
NIM. 125080500111006

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. Maftuch, M.Si)
NIP. 19660825 199203 1 001
TANGGAL: 18 AUG 2016

Dosen Penguji I

(Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS)
NIP. 19611106 198602 1 001
TANGGAL: 18 AUG 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing II

(Ir. Ellana Sanoesi, MP)
NIP. 19630924 199803 2 002
TANGGAL: 18 AUG 2016

Dosen Penguji II

(Ir. Heny Suprastyan, MS)
NIP. 19620904 198701 2 001
TANGGAL: 18 AUG 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP



(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001
TANGGAL: 18 AUG 2016

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya 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, Juli 2016

Penulis



RINGKASAN

Mukhamad Mustofa. Efektivitas Imunostimulan Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava*) terhadap Histopatologi Ginjal Ikan Patin (*Pangasius* Sp.) yang Di Uji Tantang Bakteri *Aeromonas Hydrophila* (dibawah bimbingan **Dr. Ir. Maftuch, M, Si dan Ir. EllanaSanoesi, MP**).

Ikan Patin (*Pangasius* sp.) merupakan ikan istimewa, karena selain sebagai ikan konsumsi yang tergolong mewah, ikan Patin juga digunakan sebagai ikan hias. Sebagai ikan konsumsi, ikan Patin mempunyai nilai ekonomis yang termasuk tinggi diantara ikan air tawar lainnya. Dagingnya pun rendah sodium sehingga sangat cocok bagi orang yang diet garam, mudah dicerna oleh usus serta mengandung banyak kalsium, zat besi dan mineral yang sangat baik untuk kesehatan tubuh. Kegiatan budidaya ikan Patin ini juga tidak dapat lepas dari berbagai kendala salah satunya dari gangguan penyakit, salah satu penyakit yang sering menginfeksi ikan Patin adalah penyakit bakterial. Penyakit bakterial yang umum menyerang adalah *Aeromonas hydrophila*. Melihat dampak yang diakibatkan oleh infeksi bakteri ini maka perlu dilakukan upaya penanggulangan serta pengobatan dengan cara peningkatan imunostimulan pada ikan Patin (*Pangasius* sp.) salah satunya yaitu dengan menggunakan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap histopatologi ginjal ikan Patin (*Pangasius* sp.) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* serta untuk mengetahui dosis terbaik pemberian ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) yang digunakan sebagai imunostimulan pada ikan Patin (*Pangasius* sp.) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan, Ilmu Kelautan dan Rumah Sakit Syaiful Anwar (RSSA) Malang.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental, sedangkan rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri dari tiga perlakuan dengan dua control yaitu control positif dan control negative dengan tiga kali ulangan. Sebagai perlakuan pemberian ekstrak daun jambu biji yaitu A = dosis 2%, B = dosis 4%, C = dosis 6% sedangkan K(+) = dosis 0% dan K(-) = tanpa diinfeksi dan tanpa pemberian ekstrak daun jambu biji. Parameter utama pada penelitian ini adalah analisis statistik pemberian scoring jaringan ginjal ikan Patin (*Pangasius* sp.), sebagai parameter penunjang adalah pH, suhu dan oksigen terlarut.

Pengamatan histopatologi ginjal ikan Patin (*Pangasius* sp.), setiap perlakuan mengalami degenerasi hialin dan nekrosis. Pada perlakuan A (2%) jaringan mengalami kerusakan yang berat, perlakuan B (4%) jaringan mengalami kerusakan yang sedang, perlakuan C (6%) jaringan mengalami kerusakan yang berat, perlakuan K+ (0%) jaringan mengalami kerusakan yang sangat berat. Parameter penunjang yang diamati dalam penelitian ini adalah kualitas air dan hasilnya air pada akuarium masih dikatakan optimal untuk media hidup ikan Patin.

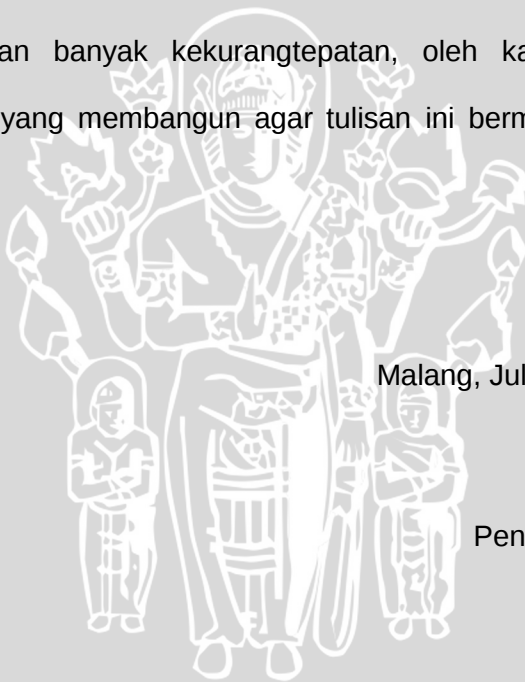
KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul Efektifitas Imunostimulan Ekstrak KasarDaunJambuBiji (*Psidiumguajava*) terhadap Histopatologi Ginjal Ikan Patin (*Pangasiussp.*) yang Di Uji Tantang Bakteri *Aeromonas hydrophila*.

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

Malang, Juli 2016

Penulis



UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyadari bahwa penulisan ini tidak terlepas dari dukungan moril dan materil dari semua pihak. Melalui kesempatan ini, dengan kerendahan hati perkenalkan penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- Bapak Dr. Ir Maftuch, MS selaku dosen pembimbing 1 yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan dan nasehat bagi penulis.
- Ibu Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku dosen pembimbing 2 yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan dan nasehat bagi penulis.
- Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku dosen penguji 1 yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan dan nasehat bagi penulis
- Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen penguji 2 yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan dan nasehat bagi penulis
- Bapak dan Ibu selaku orang tua yang telah memberikan do'a, dukungan, dan nasehat bagi penulis.
- Teman-teman Aquasean BP 2012 dan El-Quds PPMH Gading Malang yang telah mengukir sejarah bersama dalam kehidupan penulis selama menimba ilmu di kota Malang.
- Ahmad Khusnul Yaqin dan Muhammad Handoko yang jadi malaikat kanan dan kiri bagi penulis
- Arrifah Ratna Dewi, Ratih Ratnasari, Ananda Hayyu Nurani dan Miranty Anzelia Lubis sebagai pelecut penulis.
- Tim Penelitian Guajava dan Mas Beny yang sangat membantu penulis.
- Teman Teman Berbagi Bersama yang bagaikan keluarga bagi penulis dan sumber inspirasi

- Mas Boni, Mbak Ria dan Mbak Titin yang sangat memebantu penulis dalam menyelesaikan urusan skripsi.
- Sylvia Adi Carlina selaku penyemangat penulis dalam menyelesaikan laporan.
- Semua pihak yang telah banyak membantu penulis selama pembuatan skripsi ini.

Malang, Juli 2016

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
RINGKASAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
UCAPAN TERIMAKASIH.....	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	ix
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i>).....	5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran Daun Jambu Biji.....	6
2.1.3 Zat Antimikroba Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i>)	6
2.2 Biologi Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.).....	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.).....	7
2.2.2 Habitat dan Penyebaran	8
2.2.3 Pakan dan Kebiasaan Makan	9
2.2.4 Ginjal Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.)	9
2.3 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	10
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	10
2.3.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan	11
2.3.3 Infeksi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	11

2.4 Immunostimulan-----	12
2.4.1 Metode Pemberian Immunostimulan-----	13
2.2.1 Mekanisme Kerja Immunostimulan-----	13
2.5 Histopatologi -----	13
2.5.1 Pengertian Histopatologi-----	13
2.5.2 Pengamatan Histopatologi -----	14
2.6 Parameter Kualitas Air-----	16
2.6.1 Suhu -----	16
2.6.2 Oksigen Terlarut -----	17
2.6.3 pH -----	17

3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian -----	18
3.1.1 Alat Penelitian-----	18
3.1.2 Bahan Penelitian-----	19
3.2 Metode Penelitian-----	21
3.3 Rancangan Penelitian -----	21
3.3.1 Penelitian Pendahuluan-----	22
3.3.2 Penelitian Utama -----	23
3.4 Prosedur Penelitian-----	24
3.4.1 Persiapan Penelitian-----	24
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian-----	28
3.5 Parameter Uji -----	31
3.5.1 Parameter Utama-----	31
3.5.2 Parameter Penunjang -----	31
3.6 Analisis Data-----	31

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Histopatologi Ginjal Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.)-----	32
4.1.1 Gambaran Histopatologi Ginjal Ikan Patin yang Sehat-----	32
4.1.2 Gambaran Histopatologi Ginjal Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) Pada Setiap Perlakuan-----	33
4.2 Analisa Data Kerusakan Ginjal Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.)-----	35
4.2.1 Degenerasi hialin-----	35
4.2.2 Nekrosis -----	38
4.3 Pengamatan Kualitas Air-----	42
4.3.1 Suhu-----	42
4.3.2 Oksigen Terlarut -----	42
4.3.3 pH -----	42

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan-----	43
5.2 Saran -----	43

DAFTAR PUSTAKA-----	44
---------------------	----

LAMPIRAN -----	48
----------------	----

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i>) -----	5
2. Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp) -----	7
3. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> -----	10
4. Denah Penelitian Pendahuluan -----	22
5. Denah Penelitian Utama -----	23
6. Ginjal Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) yang Sehat -----	32
7. Histopatologi Ginjal pada tiap Perlakuan -----	33
8. Grafik Kerusakan Degenerasi Hialin pada Jaringan Ginjal -----	37
9. Grafik Kerusakan Nekrosis pada Jaringan Ginjal -----	41



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rerata Skoring Kerusakan Degenerasi Hialin pada Jaringan Ginjal Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.)-----	35
2. Sidik ragam Skoring Kerusakan Degenerasi Hialin pada Ginjal -----	36
3. Uji BNT Kerusakan degenerasi hialin pada jaringan Ginjal ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.)-----	37
4. Rerata Skoring Kerusakan nekrosis pada Jaringan Ginjal Ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.)-----	38
5. Sidik ragam Skoring Kerusakan Degenerasi Hialin pada Ginjal-----	39
6. Uji BNTKerusakan nekrosis pada jaringan Ginjal ikan Patin (<i>Pangasius</i> sp.) -----	40

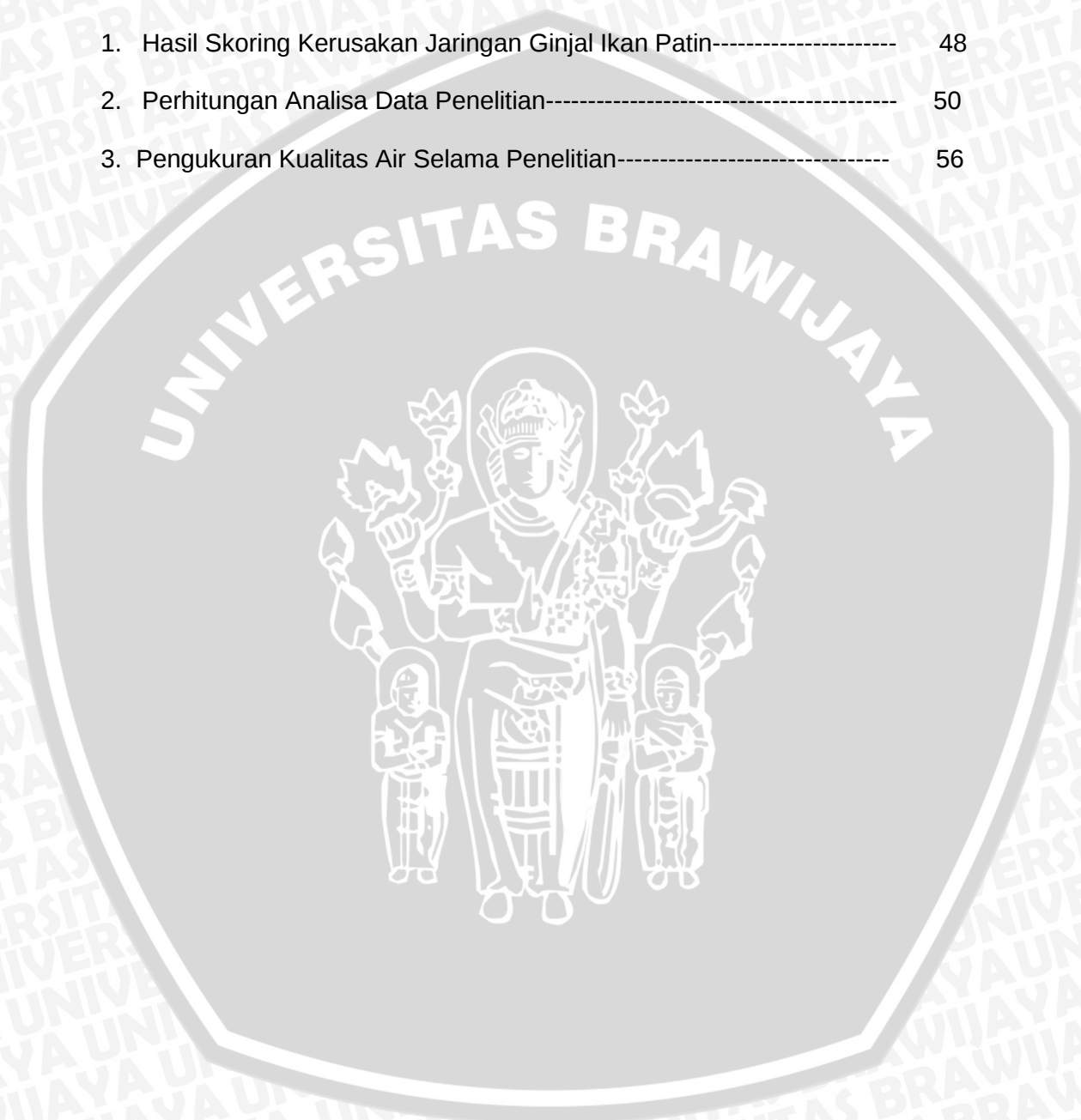


DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

Halaman

- | | |
|--|----|
| 1. Hasil Skoring Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Patin----- | 48 |
| 2. Perhitungan Analisa Data Penelitian----- | 50 |
| 3. Pengukuran Kualitas Air Selama Penelitian----- | 56 |



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan (*archipelagic state*) terluas di dunia dengan jumlah pulau sebanyak 17.504 buah dan panjang garis pantai mencapai 104.000 km. Total luas laut Indonesia sekitar 3,544 juta km² (Kelautan dan Perikanan Dalam Angka 2010) atau sekitar 70% dari wilayah Indonesia. Keadaan tersebut seharusnya meletakkan sektor perikanan menjadi salah satu sektor riil yang potensial di Indonesia (Dody, 2011).

Kegiatan yang perludikembangkan saat ini adalah kegiatan perikanan budidaya, baik di perairan air tawar, payau, maupun laut. Selain perikanan tangkap, perikanan budidaya dapat digunakan sebagai mata pencaharian yang memiliki prospek yang menguntungkan dalam upaya memenuhi kebutuhan ekonomi masyarakat Indonesia saat ini.

Untuk perairan tawar sendiri, saat ini masih memiliki potensi yang cukup besar sebagai tempat untuk membudidayakan ikan, komoditas-komoditas ikan air tawar juga dapat terus dikembangkan demi tercapainya perikanan budidaya yang kompeten, namun apabila dibandingkan dengan luas perairan yang ada, hasil budidaya ikan air tawar juga belum maksimal, oleh sebab itu perlu perlakuan yang serius dari pemerintah terkait hal ini. Jenis-jenis ikan konsumsi yang saat ini dapat dibudidayakan sangatlah banyak salah satunya adalah budidaya ikan Patin (*Pangasius sp.*) (Lisna, 2011).

Ikan Patin merupakan jenis ikan konsumsi air tawar asli Indonesia yang tersebar di sebagian wilayah Sumatera dan Kalimantan. Daging ikan patin memiliki kandungan kalori dan protein yang cukup tinggi, rasa dagingnya khas, enak, lezat dan gurih sehingga digemari oleh masyarakat. Ikan patin dinilai lebih aman untuk kesehatan karena kadar kolesterolnya rendah dibandingkan

dengandaging hewan ternak. Selain itu ikan patin memiliki beberapa kelebihan lain, yaitu ukuran per individunya besar dan di alam panjangnya bisa mencapai 120 cm (Susanto dan Amri, 2002).

Serangan penyakit merupakan salah satu kendala yang sering terjadi dalam usaha budidaya ikan. Bakteri *Aeromonas hydrophila* sebagai bakteri patogen, penyebab penyakit pada berbagai jenis ikan air tawar, termasuk ikan Patin. Penyakit yang disebabkan bakteri ini dikenal dengan nama *Motil Aeromonas Septicemia* (MAS) atau penyakit bercak merah, serangannya dapat mematikan benih ikan dengan tingkat kematian mencapai 80%-100% dalam waktu 1-2 minggu (Cipriano, 2001).

Melihat dampak yang diakibatkan oleh serangan penyakit MAS, maka perlu dilakukan upaya penanggulangan serta pengobatan dengan cara peningkatan imunostimulan pada ikan Patin (*Pangasius sp.*). Salah satu upaya untuk mengatasi dampak negatif dari penggunaan bahan kimia dan antibiotik adalah menggunakan bahan obat alternatif yang lebih aman, ramah lingkungan, mudah didapat dan diaplikasikan serta mudah terurai secara alami di perairan. Bahan obat alternatif yang dapat digunakan untuk menanggulangi penyakit MAS adalah bagian daun dari tumbuhan jambu biji (Rosidah dan Afizia, 2012).

Hasil skrining fitokimia, daun jambu biji mengandung metabolit sekunder, terdiri dari tanin, polifenolat, flavonoid, monoterpenoid, siskulterpen, alkaloid, kuinon dan saponin (Kurniawati, 2006 dalam Rosidah dan Afizia, 2012). Senyawa flavonoid merupakan senyawa bioaktif yang mengubah reaksi tubuh terhadap senyawa lain, sehingga flavonoid mempunyai aktivitas sebagai antimikroba dan antioksidan, dan terbukti dapat menghambat aktivitas dari bakteri (Departemen Pertanian, 2008 dalam Amelia dan Prayitno, 2012).

1.2 Rumusan Masalah

Penyakit ikan yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* sangat mempengaruhi hasil budidaya karena penyakit tersebut dapat menurunkan produksi ikan budidaya. Diantaranya penyebaran penyakit yang disebabkan oleh bakteri tersebut adalah melalui luka ikan, luka pada ikan jika terus dibiarkan akan menyebabkan kematian dan penularan pada ikan yang dibudidayakan dalam satu tempat budidaya, sedangkan penggunaan bahan obat-obatan dapat mengakibatkan resistensi bakteri terhadap bahan kimia yang digunakan.

Berdasarkan uraian diatas, senyawa yang terdapat pada ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) diduga dapat digunakan sebagai imunostimulan pada ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) serta sebagai antibakteri yang dapat menurunkan jumlah *A. hydrophila* dalam darah ikan, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

- Apakah pemberian ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) dapat digunakan sebagai imunostimulan dan berpengaruh terhadap histopatologi ginjal ikan Patin (*Pangasius* sp.) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila* ?
- Berapakah dosis terbaik pemberian ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) yang digunakan sebagai imunostimulan pada ikan Patin (*Pangasius* sp.) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian tentang efektifitas imunostimulan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap histopatologi ginjal ikan Patin (*Pangasius* sp.) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah :

- Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap histopatologi ginjal ikan Patin (*Pangasius* sp.) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila*

1.4 Hipotesis

H_0 :Diduga pemberian ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) tidak berpengaruh kerusakan histopatologi ginjal ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila*.

H_1 :Diduga pemberian ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) dapat berpengaruh terhadap histopatologi ginjal ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila*.

1.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan dan Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada tanggal 28 april sampai tanggal 6 juni 2016.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Jambu Biji (*Psidium guajava*)

Menurut Anggraini (2010), jambu biji dapat diklasifikasikan sebagai berikut.

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Bangsa : Myrtales

Suku : Myrtaceae

Marga : *Psidium*

Jenis : *Psidium guajava*

Jambu biji (*Psidium guajava*) (Gambar 1) berasal dari Amerika tropik, tumbuh padatanah yang gembur maupun liat, pada tempat terbuka, dan mengandung air yang cukup banyak. Pohon jambu biji banyak ditanam sebagai pohon buah-buahan. Batangnya berkayu, keras, kulit batang licin, berwarna coklat kehijauan. Daun tunggal, bertangkai pendek, letak berhadapan, daun muda berambut halus, permukaan atas daun tua licin.



Gambar 1. Jambu Biji (*Psidium guajava*) (Sutama, 2002)

Helaian daun berbentuk bulat telur agak jorong, ujung tumpul, pangkal membulat, tepi rata agak melekok ke atas, pertulangan menyirip, panjang 6

sampai 12 cm, lebar 3 cm sampai 6 cm. Bunga tunggal, bertangkai, keluar dari ketiak daun, berkumpul 1 sampai 3 bunga, berwarna putih. Buahnya buah buni, berbentuk bulat sampai bulat telur, berwarna hijau sampai hijau kekuningan. Daging buah tebal, buah yang masak bertekstur lunak, berwarna putih kekuningan atau merah jambu. Biji buah banyak mengumpul ditengah, kecil-kecil, keras, berwarna kuning kecoklatan (Martha, 2006).

2.1.2 Habitat dan Pemyebaran Pohon Jambu Biji (*Psidium guajava*)

Pohon jambu biji (*Psidium guajava*) dapat tumbuh pada daerah dataran rendah dan tumbuh di tempat terbuka, pohon jambu biji (*Psidium guajava*) sering tumbuh liar dan dapat ditemukan pada ketinggian 1 m sampai 1.200 m dari permukaan laut. Jambu biji berbunga sepanjang tahun sehingga tidak mengenal musim hujan atau kemarau akan tetap menghasilkan buah. Pohon jambu biji (*Psidium guajava*) biasanya dapat tumbuh di pekarangan rumah, semak-semak, lading dan persawahan baik di kota maupun di desa (Martha, 2006).

2.1.3 Zat Anti Mikroba Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*)

Jambu biji termasuk salah satu jenis tanaman obat yang mudah ditemukan di Indonesia. Daun jambu biji (*Psidium guajava*) bermanfaat sebagai obat herbal dan dapat dimanfaatkan untuk pengobatan ikan yang teruji tanggap penyakit. Daun jambu biji mengandung tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, minyak atsiri dan quersetin (Yuliani et al., 2003).

Daun jambu biji mengandung ekstrak quersetin yang terdiri dari senyawa tanin dan flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan senyawa bioaktif yang mengubah reaksi tubuh terhadap senyawa lain, sehingga flavonoid mempunyai aktivitas sebagai antimikroba dan antioksidan, flavonoid berperan dalam penghambatan siklus sel mikroba. Quersetin dalam ekstrak daun jambu biji menghambat aktivitas enzim reversetranskriptase, yaitu enzim yang diperlukan virus untuk mereplikasi diri (Departemen Pertanian, 2008 dalam Amelia, 2012).

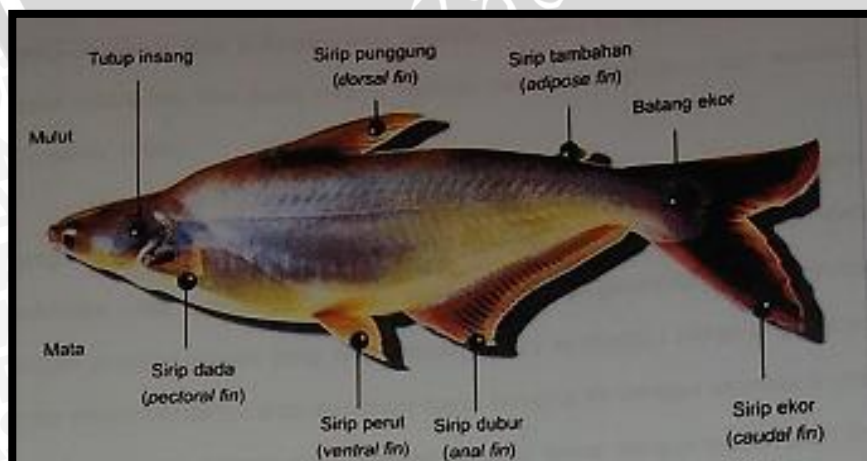
2.2 Biologi Ikan Patin (*Pangasius* sp.)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Patin(*Pangasius* sp.)

Menurut Kordik (2005), sistematika ikan patin diklasifikasikan sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Kelas	: Pisces
Sub-kelas	: Teleostei
Ordo	: Ostariophysi
Sub-ordo	: Siluroidae
Famili	: Pangasidae
Genus	: <i>Pangasius</i>
Spisies	: <i>Pangasius</i> sp.

Ikan Patin (Gambar 2) merupakan salah satu jenis ikan yang memiliki banyak kelebihan sehingga mendapat perlakuan dan diminati oleh petani ikan untuk budidaya, selain dagingnya yang lembut ikan Patin memiliki ukuran tubuh yang relatif besar dan sesuai sebagai ikan konsumsi, ikan Patin memiliki tubuh yang licin dan juga tidak memiliki sisik yang biasanya menyulitkan dalam proses pengolahan (Sumino *et al*, 2013).



Gambar 2. Ikan Patin (*Pangasius* sp.) (Mahyuddin, 2010)

Djariah (2001) mengemukakan, ikan patin memiliki warna tubuh putih keperak-perakan dan punggung kebiru-biruan, bentuk tubuh memanjang, kepala relatif kecil. Ujung kepala terdapat mulut yang dilengkapi dua pasang sungut pendek. Susanto dan Amri (2002) menambahkan, pada sirip punggung memiliki sebuah jari-jari keras yang berubah menjadi patil yang bergerigi dan besar di sebelah belakangnya. Sirip ekor membentuk cagak dan bentuknya simetris. Ikan patin tidak mempunyai sisik, sirip dubur relatif panjang yang terletak di atas lubang dubur terdiri dari 30-33 jari-jari lunak sedangkan sirip perutnya memiliki enam jari-jari lunak. Sirip dada mempunyai 12-13 jari-jari lunak dan sebuah jari-jari keras yang berubah menjadi senjata yang dikenal dengan patil. Di bagian permukaan punggung ikan patin terdapat sirip lemak yang berukuran kecil.

Ikan Patin memiliki keunggulan tersendiri, yaitu memiliki fekunditas yang tinggi, bersifat omnivora, memiliki laju pertumbuhan yang cepat sehingga dapat diproduksi secara masal, tidak bersisik, durinya relatif sedikit dan dagingnya putih kemerahan serta mudah dikuliti sehingga relatif mudah dibuat fillet yang baik, hal ini sangat penting dalam proses pengolahan dan memudahkan dalam pengambilan sampel penelitian.

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Ikan Patin merupakan salah satu jenis ikan yang hidup di perairan tawar ikan ini banyak ditemukan di perairan umum seperti sungai, waduk, dan rawa. Ikan Patin cenderung bersifat nokturnal (Beraktifitas pada malam hari), lingkungan hidup yang dibutuhkan ikan Patin tidaklah rumit karena ikan Patin termasuk golongan *cattfish* yang mampu bertahan hidup pada lingkungan perairan yang jelek misalnya keadaan perairan yang kekurangan oksigen. Kadar

oksigen yang optimal bagi ikan Patin adalah > 5 ppm sedangkan suhu yang optimal bagi ikan Patin adalah $24-30^{\circ}\text{C}$ (Adria dan jenny, 2006).

Patin adalah ikan sungai dan muara-muara sungai serta danau. Larva patin dapat hidup pada perairan sampai salinitas 5 ppt. Patin di kenal sebagai hewan nokturnal, yaitu hewan yang aktif pada malam hari dan sebagai hewan dasar, ini dilihat dari bentuk mulutnya yang agak ke bawah. Ikan ini juga sering bersembunyi di liang-liang di tepi sungai (Kordi, 2005).Selanjutnya dijelaskan bahwa benih patin di alam biasanya bergerombol dan sesekali muncul di permukaan air untuk menghirup oksigen langsung dari udara pada saat menjelang fajar. Kebiasaan patin ini di dimanfaatkan oleh nelayan dan petani ikan dalam melakukan penangkapan benih. Kemunculan benih patin dalam jumlah besar biasanya menjelang akhir musim hujan atau sekitar bulan Maret sampai Mei. Penangkapan benih patin biasanya menggunakan seser atau jala.

2.2.3 Pakan dan Kebiasaan Makan

Menurut Jusadi *et al.* (2004), pakan yang diberikan pada ikan Patin yang dibudidayakan adalah 5-15% dari total berat badan ikan dengan frekuensi pemberian pakan 2 kali sehari (pagi dan sore). Pembudidaya ikan Patin biasanya menggunakan pakan buatan yang dijual secara komersial. Upaya peningkatan laju pertumbuhan ikan Patin masih terus ditingkatkan agar penggunaan pakan buatan lebih efisien dan akan menurunkan biaya produksi.

Menurut Adria dan jenny (2006), Ikan Patin termasuk dalam golongan *cattfish*, ikan jenis ini beraktifitas pada malam hari termasuk dalam hal mencari makanan, sedangkan pada siang harinya ikan Patin menghindari permukaan air dan bersembunyi di dasar perairan, ditinjau dari jenis makanannya ikan Patin termasuk jenis ikan karnivor.

2.2.4 Ginjal Ikan Patin (*Pangasius* sp.)

Pada ikan, ekskresi dilakukan dengan menggunakan ginjal. Tetapi struktur dan cara kerja ginjal pada ikan bervariasi, tergantung dari lingkungan di mana ikan itu hidup. Kinerja ginjal pada ikan air tawar dan ikan air laut berbeda. Pada ikan air tawar ginjal lebih banyak bekerja untuk menyaring dan membuang kelebihan cairan dari dalam tubuh ikan serta mengatur agar garam yang terbuang hanya sedikit. Sebaliknya pada ikan yang hidup di laut, ginjal lebih berfungsi untuk membuang kelebihan garam dari dalam tubuh ikan.

Ginjal pada ikan tersusun dari unit-unit yang disebut tubulus ginjal atau nefron. Nefron terdiri dari korpuskula ginjal dan tubula. Korpuskula ginjal berfungsi sebagai alat penyaring yang mampu memisahkan materi-materi cair yang tidak bermanfaat dari dalam tubuh ikan dan kemudian mengalirkannya ke tubula dan nantinya akan dibuang dalam bentuk urine. Kinerja ginjal yaitu darah dari aorta dorsal dibawa ke ginjal lewat arteri ginjal. Kemudian darah disaring melewati kapiler pada glomerulus dan melewati kapiler dari sekitar tubulus. Materi-materi cair yang tidak berguna akan dibuang lewat tubula ginjal, sedangkan darah yang sudah bersih akan meninggalkan ginjal lewat vena ginjal (Windarti *et al.*, 2010).

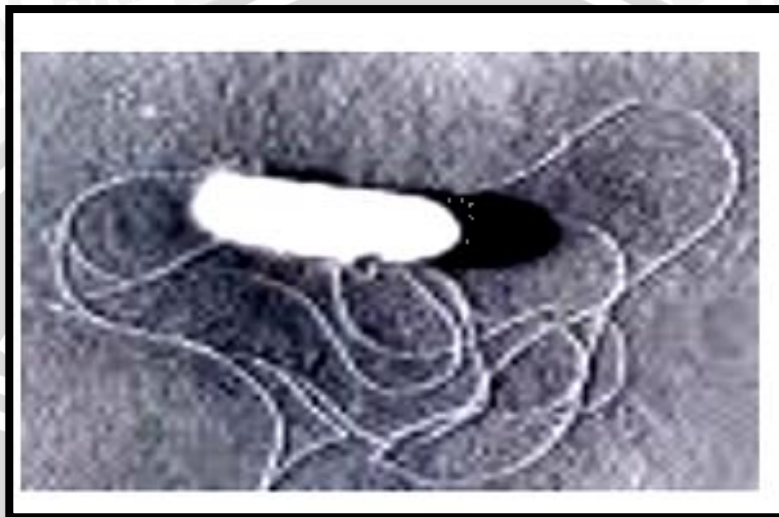
2.3 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Menurut Janda dan Sharon dalam Sari (2013), bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat diklasifikasikan sebagai berikut.

- Filum : Protobacteria
- Kelas : Gammaprotobacteria
- Ordo : Aeromonadales
- Family : Aeromonadaceae
- Genus : *Aeromonas*
- Spesies : *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* (Gambar 3) merupakan salah satu jenis bakteri yang hidup di perairan tawar. Ciri utama dari bakteri jenis ini adalah bentuknya seperti batang, memiliki ukuran 1-4,4 x 0,4-1 mikron, bersifat gram negatif, tidak memiliki spora, bersifat motil (bergerak aktif), hidup di perairan dengan suhu 15-30°C dan pH 5,5-9 (Afrianto dan Liviawaty, 1992).



Gambar 3. *Aeromonas hydrophila* (Aberoum dan Jooyandeh, 2010)

2.3.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

Bakteri gram negatif *A. hydrophila* mampu tumbuh secara maksimal pada kisaran suhu 38°C -41°C dan bakteri ini mengalami pertumbuhan minimal pada suhu 0°C-5°C sedangkan suhu yang paling optimal untuk pertumbuhannya adalah 22-28°C bakteri ini termasuk jenis bakteri anaerob sehingga dapat hidup meski tanpa oksigen (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

Bakteri *A. hydrophila* berkembangbiak secara asexual dengan cara pemanjangan sel yang diikuti dengan pembelahan inti yang disebut pembelahan biner, waktu yang diperlukan bakteri *A. hydrophila* untuk melakukan pembelahan dari satu sel menjadi dua sel kurang lebih 10 menit, bakteri ini hidup di perairan tawar khususnya di estuaria di daerah tropis dan subtropis (Volk dan Wehler dalam Samsundari, 2006).

2.3.3 Uji tantang Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* yang terdapat dalam tubuh inang dapat menyebar sangat cepat hal ini dapat menyebabkan peradangan dan kematian ikan 12-24 jam setelah injeksi bakteri ini, selain itu bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan penyakit menular pada ikan yang dibudidayakan termasuk ikan Patin, penularannya sangat cepat dapat berlangsung melalui perantara air, kontak badan, kontak dengan peralatan tercemar atau karena pemindahan ikan yang telah teruji tantang *A. hydrophila* dari satu tempat ke tempat lainnya (Gufran dan Kordi, 2004 dalam Simatupang dan Anggraini, 2013)

Ikan yang telah teruji tantang bakteri *A. hydrophila* akan mengalami pendarahan pada organ yang teruji tantang dan apabila dibiarkan akan menyebabkan ikan yang teruji tantang mengalami luka/borok, kemudian akan mengalami kerusakan sel namun gejala awalnya sisik ikan mengelupas dan pergerakan ikan melambat. Organ luar dan organ dalam ikan juga akan mengalami gejala abnormal dan dalam waktu 12-24 jam ikan akan mati (Hardi *et al*, 2014).

2.4 Immunostimulan

Imunostimulan adalah suatu bahan yang dapat digunakan untuk meningkatkan resistensi organisme terhadap uji tantang pathogen. Imunostimulan digunakan pada ikan budidaya karena kemoterapi yang diberikan pada ikan menyebabkan resistensi pada bakteri. Selain itu imunostimulan dapat meningkatkan daya tahan terhadap uji tantang penyakit (Trevesbrown, 2000).

Tanaman obat imunomodulator adalah tanaman yang dapat mempengaruhi atau memodulasi sistem imun tubuh. Beberapa tanaman obat memiliki fungsi sebagai imunomodulator diantaranya echinaceae, mengkudu,

jahe, meniran dan sambiloto. Penggunaan imunomodulator bagi kepentingan pengobatan sebaiknya diarahkan sebagai kombinasi sinergis pada terapi ujiantang. Di samping itu adalah untuk mengurangi keparahan, mempercepat masa penyembuhan, memperkecil angka kekambuhan. Immunostimulan yang sering dipakai untuk imunostimulasi adalah LPS (lipopolisakarida), dan 1,3 glukukan yang diperoleh dari *Saccharaomyces cerevisiae*, dan Levamisol. Beberapa vitamin seperti vitamin A, B dan vitamin C juga dapat digunakan sebagai imunostimulan (Sohne *et al.* 2000; Galeotti 1998).

2.4.1 Metode Pemberian Immunostimulan

Immunostimulan dapat diberikan pada ikan melalui injeksi, bersama pakan (*oral*) dan perendaman. Immunostimulan dapat diberikan pada larva ikan selama 1 minggu secara terus menerus selama masa pendederan. Pada tahap awal immunostimulan diberikan melalui perendaman, dan selanjutnya dapat diberikan bersama dengan pakan. Pemilihan cara aplikasi immunostimulan didasarkan atas kepraktisan dan efisiensi dalam kegiatan budidaya (Alifuddin, 2002).

2.4.2 Mekanisme Kerja Immunostimulan

Ikan yang telah diberikan immunostimulan akan menunjukkan peningkatan aktivitas sel fagositik. Peningkatan ini didasarkan pada kemampuan immunostimulan menginduksi berlangsung transformasi limfoblastik. Aktivitas fagositik ini merupakan manifestasi peningkatan respon seluler dan kemudian akan meningkatkan respon humoral (Alifuddin, 2002).

Pemberian immunostimulan direspon ikan dengan peningkatan aktivitas dan reaktivitas sel pertahanan seluler ataupun humoral, secara *in vitro* peningkatan respon seluler ditunjukkan oleh aktivitas fagositik yang diukur melalui uji *Nitro Blue Tetrazolium* (NBT). Dengan pemberian immunostimulan

limfosit dalam tubuh ikan juga diaktifkan yang dapat meningkatkan pertahanan tubuh terhadap ujiantang penyakit (Anderson dan Siwicki, 1993).

2.5 Histopatologi

2.5.1 Pengertian Histopatologi

Histopatologi adalah cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Histopatologi sangat penting dalam kaitan dengan diagnosis penyakit karena salah satu pertimbangan dalam penegakan diagnosis adalah melalui hasil pengamatan terhadap jaringan yang diduga terganggu. Histopatologi dapat dilakukan dengan mengambil sampel jaringan (misalnya seperti dalam penentuan kanker payudara) atau dengan mengamati jaringan setelah kematian terjadi. Dengan membandingkan kondisi jaringan sehat terhadap jaringan sampel dapat diketahui apakah suatu penyakit yang diduga benar-benar menyerang atau tidak.

Perubahan yang terjadi pada histopatologi telah banyak digunakan sebagai biomarker untuk mengevaluasi kondisi kesehatan ikan yang terujiantang bakteri maupun mikroba lainnya. Organ – organ yang terujiantang oleh bakteri akan nampak abnormal dari segi histopatologinya. Selain itu analisa histopatologi dapat digunakan untuk memonitoring lingkungan perairan yang mengalami pencemaran (Martinez dan Camargo, 2007 *dalam* Alifia, 2013).

Pengamatan histopatologi pada ikan yang telah terujiantang bakteri bermanfaat untuk mengetahui tingkat perubahan dan kerusakan jaringan ikan, langkah awal yang perlu dilakukan adalah diagnosa penyakit, dalam proses diagnosa penyakit terdapat beberapa hal yang perlu diperlukan antara lain, tanda-tanda klinis yang meliputi tingkah laku, ciri-ciri eksternal maupun internal serta perubahan patologi (Asniatih, 2013).

2.5.2 Pengamatan Histopatologi

Pengamatan dilakukan dengan cara pembuatan sediaan sampel histopatologi melalui beberapa tahap antara lain fiksasi, pemotongan jaringan, pelabelan spesimen, refiksasi, dan dekaflaso. Selanjutnya dilakukan pengolahan jaringan meliputi dehidrasi, penjernihan, pemberian parafin dan pembuatan blok. Jaringan berparafin dibuat irisan tipis dengan mikrotom sehingga menjadi preparat dan diwarnai dengan beberapa pewarna, misalnya giemsa, eosin dan lain-lain (Priosoetyanto, 2010).

Menurut Humason (1967) dalam Ersu (2008), sampel ginjal yang telah diambil dari ikan Patin yang telah diuji tangkai bakteri *A. hydrophila* dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm dengan ketebalan 2-3 mm dan diberi perlakuan sebagai berikut.

- a. Organ yang telah dipotong diawetkan dengan larutan formalin 4% selama 24 jam.
- b. Fiksasi, memindahkan ginjal ke dalam larutan FAA selama 24 jam.
- c. Dehidrasi, dilakukan secara bertingkat dengan alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, selama 2 jam.
- d. Tahap selanjutnya adalah *clearing*, yaitu proses perendaman organ hasil dehidrasi pada larutan xylol selama 20 menit.
- e. Infiltrasi, yaitu proses pengisian parafin ke dalam pori-pori jaringan organ. Organ dimasukkan ke dalam xylol : parafin (1:1) cair selama 20 menit, kemudian memasukkan parafin cair I, II, III masing-masing selama 20 menit di dalam oven dengan suhu 60°C.
- f. Embedding, tahapan menanam jaringan atau sampel yang digunakan dan dicetak menjadi blok-blok. Paraffin cair dituangkan ke dalam cetakan sampai penuh kemudian membenamkan potongan organ ke dalam parafin tersebut. Jaringan diletakkan pada posisi dasar dengan posisi melintang.

- g. Sectioning, sampel dipotong menggunakan microtome dengan ketebalan 6-10 mikron.
- h. Affixing, perekatan dengan menggunakan albumin dan gliserin dengan perbandingan 1:1, disimpan dalam kotak sediaan selama 1 hari. Deparafinisasi, untuk menghilangkan parafin, sediaan dimasukkan ke dalam xylol selama 10 menit.
- i. Staining atau pewarnaan, yaitu proses pewarnaan dengan menggunakan hematoxylin dan eosin dengan langkah sebagai berikut :
 - ✓ Sediaan histologi ginjal 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 dengan air mengalir kurang lebih 2 menit
 - ✓ Dimasukkan ke dalam haemotoxylin selama 4 menit
 - ✓ Dicuci dengan air mengalir selama 10 menit.
 - ✓ Dimasukkan ke dalam aquades dan alkohol 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 96% masing-masing beberapa celupan.
 - ✓ Dimasukkan ke dalam eosin selama 1,5 menit.
 - ✓ Dimasukkan ke dalam alkohol 70 %, 80%, 90%, 95%.
 - ✓ Preparat dikering-anginkan dan dimasukkan ke xylol selama 15 menit
 - ✓ Sediaan histologi ditetesi dengan canada balsam lalu ditutup dengan cover glass.
- j. Setelah tahap pewarnaan selesai, maka dilakukan perekatan (*mounting*) menggunakan zat perekat permount dengan entelan, kemudian ditutup dengan cover glass. Selanjutnya sediaan preparat yang telah tersedia siap untuk diamati.

2.6 Parameter Kualitas Air

Kualitas air pada media perlu dijaga dan dikontrol setiap harinya karena sangat berpengaruh pada hasil penelitian. Setiap hari biasanya air media tercemar kotoran dan sisa pakan. Kotoran dapat meracuni ikan sehingga perlu dibuang. Oleh karena kotoran yang sudah bercampur dengan air maka air perlu secara rutin diganti. Selain itu juga perlu dilakukan pengamatan parameter kualitas air antara lain adalah suhu, oksigen, pH (Akbar dan Sudaryanto, 2002).

2.6.1 Suhu

Menurut Breet (1987) dalam Hernawati dan Suantika (2007), suhu merupakan salah satu faktor yang penting dan berpengaruh terhadap konsumsi oksigen pada organisme akuatik di dalam perairan. Suhu secara langsung akan mempengaruhi laju proses biologi dan kadar oksigen terlarut di dalam perairan. Menurut Chua dan Theng dalam Langkosono (2007), suhu yang optimal bagi pertumbuhan ikan Patin adalah berkisar antara 24 – 30 °C. Kebutuhan akan oksigen dan laju konsumsi oksigen bervariasi tergantung pada faktor biotik dan abiotik termasuk aktivitas, temperatur lingkungan, berat badan dan pakan.

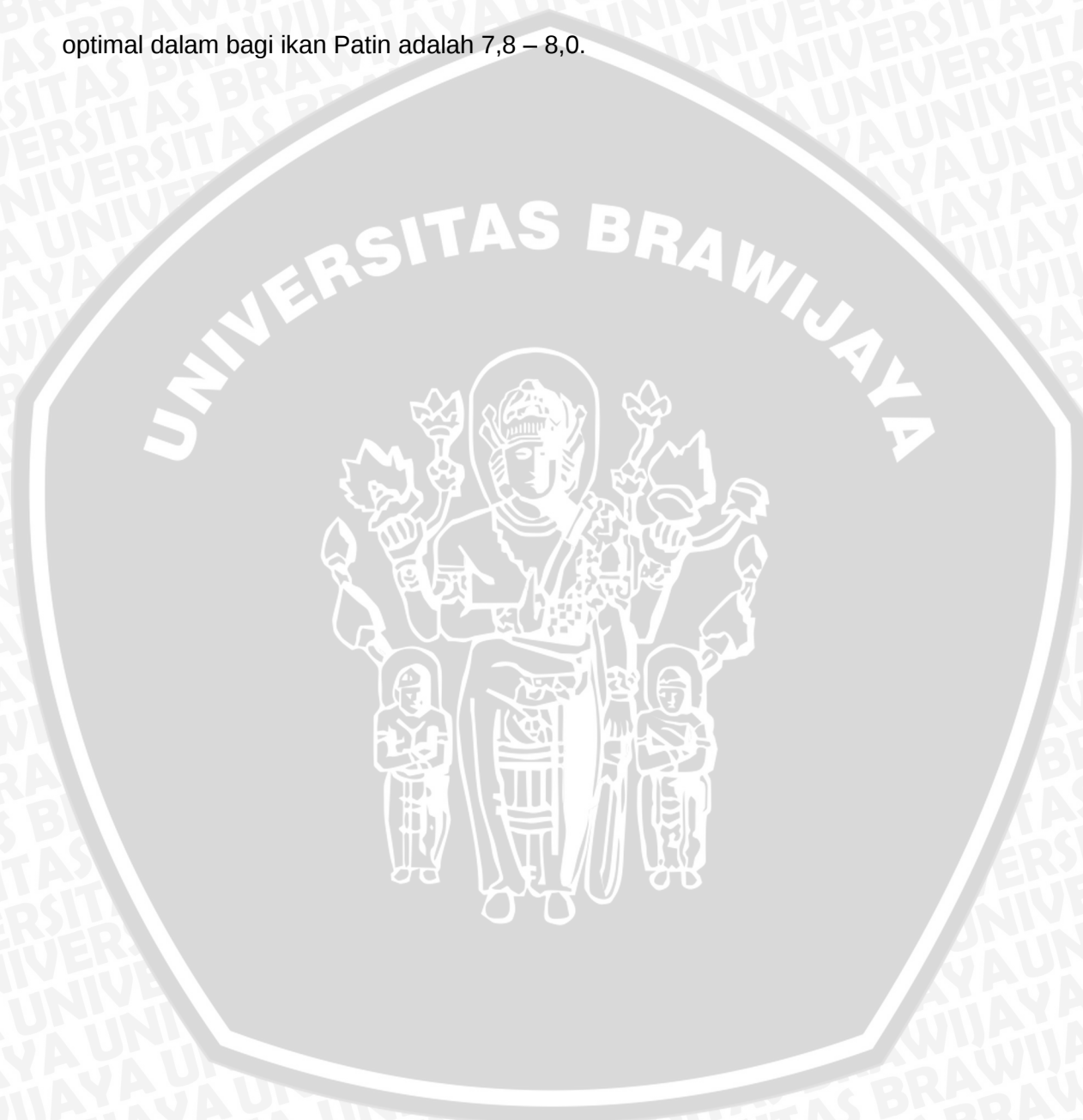
2.6.2 Oksigen Terlarut

Menurut Izzati (2009), konsentrasi oksigen ditentukan oleh keseimbangan antara produksi dan konsumsi oksigen dalam ekosistem. Oksigen diproduksi oleh komunitas autotrof melalui proses fotosintesis dan dikonsumsi oleh semua organisme perairan melalui proses pernafasan. Disamping itu, oksigen juga diperlukan untuk perombakan bahan organik dalam ekosistem perairan itu sendiri. Menurut Suprakto dan Fahliwi (2007) dalam Langkosono (2007), kadar oksigen terlarut yang optimal bagi ikan Patin adalah > 5 ppm.

2.6.3 pH

Menurut Wetzel (1983) dalam Izzati (2009), perubahan pH ditentukan oleh aktivitas fotosintesis dan respirasi dalam ekosistem. Fotosintesis memerlukan karbondioksida, yang oleh komponen autotrof akan dirubah menjadi

monosakarida. Penurunan karbondioksida dalam ekosistem akan meningkatkan pH perairan. Sebaliknya, proses respirasi oleh semua komponen ekosistem akan meningkatkan jumlah karbondioksida, sehingga akan menyebabkan pH perairan menurun. Menurut Chua dan Theng *dalam* Langkosono (2007), kadar pH yang optimal dalam bagi ikan Patin adalah 7,8 – 8,0.



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitan

3.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian beserta fungsinya adalah sebagai berikut.

- Nampan : Sebagai tempat alat dan bahan.
- Gunting : Sebagai alat pemotong bahan.
- Pisau : Sebagai alat pemotong bahan.
- Timbangan digital : Sebagai alat penimbang bahan dengan ketelitian 10^{-2} .
- Hot plate : Sebagai alat pemanas.
- Beaker glass : Sebagai tempat bahan dalam proses maserasi.
- Gelas ukur : Sebagai alat pengukur jumlah larutan tertentu.
- Rotari evaporator : Sebagai untuk mendapatkan ekstrak vacuum
- Toples : Sebagai wadah air media.
- Aerator set : Sebagai alat bantu aerasi.
- Scoop net : Sebagai alat untuk memindahkan ikan uji.
- Termometer : Sebagai alat untuk mengukur suhu.
- pH-meter : Sebagai alat untuk mengukur pH air media.
- Do-meter : Sebagai alat pengukur kandungan oksigen terlarut
- Spektofotometer : Sebagai alat pengukur panjang gelombang bahan.
- Section set : Sebagai alat untuk membedah ikan.
- Tissue processor : Sebagai alat untuk pengamatan jaringan.
- *Embedding machine* : Sebagai alat untuk pengamatan jaringan
- Mikrotom : Sebagai alat untuk pemotongan jaringan.

- Fotomikroskop : Sebagai alat untuk pengamatan jaringan.
- Botol : Sebagai tempat bahan dalam proses maserasi.
- Labu Erlenmayer : Sebagai tempat pembiakan bakteri.
- Botol Akuades : Sebagai alat akuades
- Cawan Petri : Sebagai tempat agar dan bakteri.
- Corong : Sebagai alat pembantu penuangan larutan.
- Autoklave : Sebagai alat sterilisasi.
- Loyang : Sebagai alat bahan dalam proses *waterbath*
- Bunsen : Sebagai alat sterilisasi
- Magnetik Stirer : Untuk menghomogenkan larutan
- Tabung Reaksi : Sebagai tempat kultur bakteri
- Rak Tabung Reaksi : Sebagai tempat tabung reaksi
- Jarum Ose : Sebagai alat penggoresan bakteri
- Spatula : Untuk menghomogenkan larutan
- Lemari Pendingin : Untuk menyimpan bakteri pada suhu rendah
- Voertex Mixer : Untuk menghoogenkan larutan
- Pipet Volume : Untuk mengambil larutan dalam jumlah banyak
- Mikropipet : Untuk mengambil larutan dalam jumlah sedikit
- Bola Hisap : Sebagai alat bantu untuk mengambil larutan
- Triangle : Sebagai alat penyangga pada Bunsen
- Mistar : Untuk mengukur zona hambat bakteri

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan beserta fungsinya yang digunakan dalam penilitia ini adalah sebagai berikut.

- Ekstrak daun Jambu biji : Sebagai bahan immunostimulan
(*Psidium guajava*)
- Spirtus : Sebagai bahan pembakaran pada Bunsen

- Biakan murni bakteri : Sebagai bahan penguji tantangan
- *A. hydrophila*
- Alkohol : Sebagai bahan sterilisasi
- Etanol 96% : Sebagai bahan pelarut dalam ekstraksi.
- Aseton : Sebagai bahan pengawet jaringan ginjal
(proses dehidrasi)
- Xylol : Sebagai bahan pengawet jaringan ginjal
(proses *cleaning*)
- Formalin : Sebagai bahan pengawet jaringan ginjal
- Es batu : Sebagai pendingin dalam proses rotary
- Kertas label : Sebagai penanda
- Kertas saring : untuk menyaring bahan ekstrak
- Tissue : Sebagai bahan pembersih
- Kapas : untuk menutup labu erlenmayer
- Hematoksin eosin : Sebagai bahan pewarna jaringan ginjal
- Benang : Sebagai pengikat
- Paraffin cair : Sebagai bahan pengawet jaringan ginjal
(proses *impregnasi*)
- Parafin blok : Sebagai bahan pengawet jaringan ginjal
(proses *embedding*)
- Masker : Sebagai penutup mulut
- Sarung tangan : Sebagai bahan penutup tangan
- NB (*Nutrien Broth*) : Sebagai media kultur bakteri (cair)
- TSA (*Trypton Soya Agar*) : Sebagai bahan media tumbuh bakteri
- Litium karbonat : Sebagai bahan untuk memekatkan warna
pigmen
- NA (*Nutrien Agar*) : Sebagai bahan peremajaan bakteri

- Entellan : Sebagai bahan perekat sampel pada cover glass
- Ikan Patin (*Pangasius* sp.) : Sebagai hewan uji ukuran 7-12 cm
- Air tawar : Sebagai media hidup hewan uji
- Pelet : Sebagai pakan ikan uji
- Chlorin : Sebagai bahan desinfektan pada akuarium
- Na-Thiosulfat : Untuk menghilangkan toksik pada akuarium

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental, metode ini merupakan metode penelitian yang memungkinkan peneliti memanipulasi variable dan meneliti akibatnya. Penelitian jenis ini ditujukan untuk mengetahui hubungan sebab dan akibat dengan memanipulasikan satu variable atau lebih pada satu kelompok eksperimen atau lebih dan membandingkannya dengan kelompok lain yang tidak mengalami manipulasi (Atmodjo, 2011).

Untuk menganalisa histopatologi ginjal ikan Patin dalam penelitian ini menggunakan metode deskriptif. Metode deskriptif merupakan metode penelitian yang berusaha menggambarkan dan menginterpretasikan objek sesuai dengan apa adanya. Selain itu penelitian deskriptif juga dapat digunakan untuk melihat pertanyaan penelitian atau hipotesis yang berkaitan dengan keadaan dan kejadian sekarang (Hartoto, 2009).

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Menurut Hanafiah (2013), Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan yang paling sederhana daripada

rancangan lainnya. Dalam rancangan ini tidak terdapat *local kontrol*, sehingga sumber keragaman yang dapat diamati hanya perlakuan dengan galat. Kondisi ini hanya dicapai di ruangan-ruangan terkontrol seperti di laboratorium. Adapun Rancangan Acak Lengkap yang secara umum dinyatakan dalam model matematika adalah sebagai berikut.

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

Keterangan :

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

μ = nilai rerata umum (mean)

T_i = pengaruh faktor perlakuan ke- i

ε_{ij} = pengaruh galat

3.3.1 Penelitian Pendahuluan

a. Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*)

Penelitian pendahuluan bertujuan untuk mengetahui dosis terbaik pada pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) yang ditinjau dari kenaikan sel darah putih ikan patin, Sel darah putih diketahui berhubungan langsung dengan sistem imun dari ikan patin itu sendiri, selain itu sel darah putih berperan dalam mencegah masuk dan berkembangnya antigen dalam tubuh, hal tersebut dijelaskan oleh Dontriska, *et al.* (2014) bahwa leukosit bertanggung jawab terhadap sistem imun tubuh dan bertugas untuk memusnahkan benda-benda yang dianggap asing dan berbahaya oleh tubuh, misal bakteri atau virus.

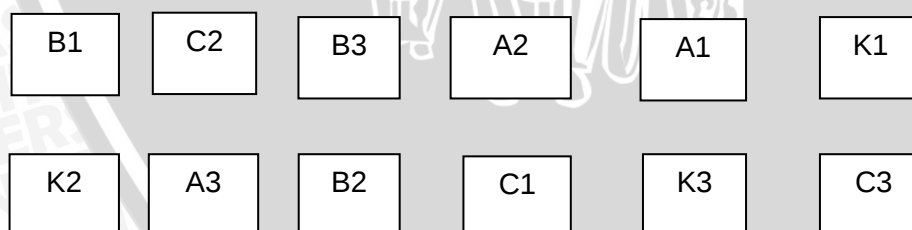
Penelitian pendahuluan dilakukan melalui pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji sebesar 2%, 6%, dan 10% dari pakan ikan Patin (*Pangasius sp.*) dengan 2 kali ulangan. Dosis tersebut mengacu pada penelitian Utama (2002) yang menggunakan 2 gram ekstrak daun jambu biji per 100 gram

Penelitian ini akan dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak daun jambu biji (*Psidium quajava*) yang di

campurkan kedalam pakan pellet (100 gr) dengan dosis 2% ,4%, 6% .Dosis ini berdasarkan dari percobaan in vivo ekstrak daun jambu biji terhadap bakteri *A. hydrophila*. Pada penelitian ini digunakan 3 perlakuan dengan 2 kali ulangan serta 2 kontrol sebagai pembanding kontrol normal dan kontrol ujiantang. Kontrol normal sebagai perlakuan sampel tanpa pengujian tantangan bakteri *A. hydrophilla* serta tanpapemberian ekstrak daun jambu biji. Sedangkan kontrol ujiantang sebagai perlakuan sampel dengan pengujian tantangan bakteri tanpapemberian ekstrak daun jambu biji. Dari perlakuan tersebut diperoleh total sampel sebanyak 8 sampel. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- A :Perlakuan pengujian tantangan bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian ekstrak daun jambu biji2% kedalam 100 gr pakan
- B : Perlakuan pengujian tantangan bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian ekstrak daun jambu biji 4% kedalam 100 gr pakan
- C :Perlakuan pengujian tantangan bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian ekstrak daun jambu biji6% kedalam 100 gr pakan
- K : Perlakuan sampel dengan pengujian tantangan bakteri *A. hydrophilla* serta tanpapemberian ekstrak daun jambu biji

Denah penelitian disajikan pada Gambar 4 berikut ini



Gambar 5.Denah penelitian

Keterangan:

A-B-C :Perlakuan penelitian

1, 2, 3 : Ulangan

K : Kontrol

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

a. Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*)

Pembuatan ekstrak daun jambu biji dilakukan dengan pelarut etanol 95% dengan perbandingan 1:6. Daun jambu biji pohon dibersihkan dan dikeringkan dengan cara di oven kemudian dihaluskan sampai berbentuk serbuk. Serbuk daun jambu biji dimasukkan kedalam toples dan diberi pelarut etanol 95% kemudian dihomogenkan dengan diaduk menggunakan spatula. Proses maserasi ini didiamkan selama 2 hari pada tempat yang gelap. Setelah 2 hari hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan larutan dengan endapannya. Setelah terpisah, larutan hasil saringan kemudian diuapkan untuk mendapatkan ekstrak murni dari daun jambu biji. Proses penguapan ini menggunakan alat yang disebut *rotary evaporator* dengan suhu 50° C dengan kecepatan 80 rpm. Setelah diuapkan maka akan dihasilkan ekstrak murni yang kental. Ekstrak murni yang didapatkan dicampurkan dengan pakan pellet dengan pemberian perekat putih telur sesuai perlakuan.

b. Persiapan Ikan

Ikan uji yang digunakan adalah ikan Patin (*Pangasius* sp) yang diperoleh dari petani ikan di daerah kota Mojokerto. Dipilih ikan Patin yang sehat sebanyak 200 ekor ukuran 7-12 cm dan diaklimatisasi selama 3 hari pada akuarium. Proses aklimatisasi ini untuk mengetahui ikan yang digunakan adalah ikan yang benar-benar sehat dan telah beradaptasi dengan lingkungan barunya. Selama aklimatisasi ikan diberi pakan pelet secara adlibitum 2 kali sehari pada pagi hari pukul 09.00 WIB dan sore hari pukul 15.00 WIB. Selain itu juga dilakukan penyiponan setiap pagi apabila kondisi air pada akuarium telah kotor akibat sisa pakan dan feses. Apabila ikan sudah beradaptasi dengan lingkungan barunya, maka ikan siap untuk digunakan. Setelah proses aklimatisasi ikan Patin

dipindahkan kedalam wadah toples kapasitas 10 liter sebanyak 8 buah masing-masing toples diisi 10 ekor ikan Patin dan di pelihara selama 10 hari.

c. Sterilisasi Alat Dan Bahan

- Alat yang dicuci, dikeringkan kemudian dibungkus dengan koran dan diikat
- Akuades dimasukkan ke dalam ruang sterilisasi autoklaf sampai menutup sistem pemanas untuk mencegah penimbunan kapur pada elemen pemanas
- Keranjang yang berisi bahan atau alat yang akan disterilkan dimasukkan ke dalam autoklaf, kemudian tutup autoklaf
- Pada saat menutup, selang dimasukkan ke posisi yang tepat. Tanda panah pada penutup sejajar dengan garis. Tuas ditutup secara diagonal agar seimbang kekuatan pada saat menutup autoklaf
- Klep keluarnya uap diposisikan berdiri atau tegak
- Tombol ditekan ke arah ON
- Thermostat diputar pada posisi maximal di angka 10
- Tunggu hingga keluar uap air dari klep lalu tutup atau arahkan ke samping
- Tunggu sampai jarum menunjukkan suhu sterilisasi, temperatur diturunkan sampai lampu pada sterilisasi berwarna kuning
- Atur time pada posisi 15 menit
- Alarm berbunyi tanda sterilisasi berakhir, turunkan temperatur pada posisi minimal, matikan autoklaf pada posisi kebawah (OFF)

d. Pembiakan Bakteri *A. hydrophila*

1) Media Padat NA (*Nutrien Agar*)

- NA merk OXOID dengan dosis 40gram/L
- NA sebanyak 2,4 gram dilarutkan ke dalam 60 ml akuades pada erlenmeyer
- Media dipanaskan di atas hotplate hingga homogen
- Erlenmeyer ditutup dengankapas dan kertas perkamen/aluminium foil lalu ditali dengan benang

- Media sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121 C, tekanan 1 atm selama 15 menit
- Media dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas
- Media dituang pada cawan petri lalu ditunggu hingga dingin dan digunakan atau disimpan pada lemari pendingin dengan diberi label pada setiap cawan petri yang digunakan.

2) Media Cair NB (*Nutrien Broth*)

- NB ditimbang 6 gram dilarutkan dalam 200 ml akuades dalam erlemneyer kemudian diaduk hingga larut sempurna berwarna kuning
- Erlemneyer ditutup kapas dan aluminium foil lalu diikat menggunakan benang
- Media sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121 C, tekanan 1 atm selama 15 menit
- Media dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas

3) Pembiakan Bakteri *A. hydrophila*

- Larutan NB disiapkan sebanyak 6 gram dalam erlemneyer sebanyak 220 ml
- Jarum osse dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum osse disentuh ke biakan murni *A. hydrophila* kemudian dicelupkan pada NB sebanyak 2 osse
- Larutan NB dibiarkan 12 - 24 jam dalam inkubator pada suhu 37 C
- Disiapkan cawan petri yang berisi media NA
- Setelah NB menjadi keruh, jarum osse dicelupkan ke NB dan digoreakan ke permukaan NA
- Digoreskan ke dalam media NA secara zig zag dengan metode goresan sinambung, T, atau kuadran
- Media NA di inkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam.

e. Pengenceran Bakteri

Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Bakteri yang diperoleh adalah bakteri dengan kepadatan 6×10^9 sel/ml. Bakteri yang digunakan adalah bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/ml. Untuk mendapatkan kepadatan 10^7 sel/ml dilakukan pengenceran. Perhitungan suspensi bakteri dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

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

Dimana :

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

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

V_1 : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V_2 : Volume media air dalam wadah pemeliharaan ikan

Peremajaan bakteri 10^9 sel/ml dilakukan dengan penanaman bakteri pada media NA (*Nutrien Agar*) dan diinkubasi selama 2 hari pada inkubator. Bakteri 10^9 sel/ml tersebut kemudian diencerkan menggunakan air pada media ujiantang. Berdasarkan rumus di atas didapatkan bahwa untuk mendapatkan bakteri kepadatan 10^7 sel/ml sebanyak 8 liter (8.000 ml) adalah dengan memasukkan bakteri kepadatan 10^9 sel/ml sebanyak 80 ml ke dalam air sebanyak 8.000 ml. Kepadatan bakteri dan dosisnya berpengaruh terhadap gejala-gejala klinis yang akan terjadi pada ikan Patin yang diuji tantang.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Pemberian Ekstrak Daun Jambu Biji pada Ikan Patin (*Pangasius sp.*)

Pemberian ekstrak daun jambu biji dilakukan dengan cara penambahan melalui pakan pellet sesuai dengan dosis 2 gram/100 gram pakan, 4 gram/100 gram pakan dan 6 gram/100 gram pakan. Ikan Patin ditempatkan kedalam toples kapasitas 10 liter. Pemeliharaan ikan dilakukan selama 10 hari dengan pemberian pakan pellet yang telah dicampur ekstrak daun jambu biji. Saat pemeliharaan ikan diberi makan 2 kali yakni pada pagi dan sore hari, dilakukan sifon sedikitnya dua hari sekali dan dilakukan pengukuran suhu, pH dan DO setiap hari pada pagi dan sore.

b. Penguji tantangan Bakteri Pada Ikan Patin (*Pangasius sp.*)

Penguji tantangan dilakukan dengan lama waktu maksimal 24 jam. Penguji tantangan dilakukan menggunakan bakteri *A. hydrophila* dengan metode perendaman. Pada perendaman ikan dengan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^7 sel/ml menggunakan toples kapasitas 10 liter yang sudah dilengkapi aerasi. Perendaman ini dilakukan menggunakan kapasitas air 8 liter, sehingga dapat digunakan rumus pengenceran:

$$\begin{aligned}
 V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\
 V_1 \times 10^9 &= 8.000 \times 10^7 \\
 V_1 &= \frac{8.000 \times 10^7}{10^9} \\
 &= 80 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Hasil tersebut dapat diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan sebanyak 80 ml. Selanjutnya diambil sampel ginjal ikan Patin, sebelum perendaman dan diamati ginjal ikan tersebut dari warna, struktur, dan bentuknya. Ikan Patin direndam masing-masing 10 ekor/toples, kemudian dilakukan perendaman dengan bakteri. Ditunggu ikan hingga gelisah pertama kalinya dengan ciri-ciri

ikan bergerak tidak beraturan. Ikan Patin diamati gejala klinisnya selama 3 hari, kemudian diambil sampel ginjal ikan Patin setelah perendaman.

c.Pembuatan Histopatologi ginjal ikan Patin (*Pangasius sp*)

Ikan diambil ginjalnya untuk diamati histopatologi ginjal ikan. Sampel ginjal yang sudah diambil dimasukkan ke dalam toples kaca kecil dan diberi bahan pengawet berupa larutan formalin 10%, dilanjutkan dengan pembuatan preparat untuk histopatologi dan pengamatan preparat hasil histopatologi. Tahapan-tahapannya yaitu:

- Tahap Fiksasi

Sampel ginjal yang akan diamati jaringannya diambil. Jaringan tersebut kemudian direndam dalam larutan 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 *absolute* 1 selama 2 jam dan alkohol *absolute* 2 selama 2 jam.

- Tahap Clearing

Tahap *clearing* untuk mentransparankan serta menggantikan larutan alkohol dari jaringan. Dilakukan dengan mencelupkan kedalam 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 kedalam parafin cair dengan suhu 56-60°C selama 2 jam

- **Tahap *Embedding* (Pengeblokan)**

Tahapan ini bertujuan untuk memudahkan penyayatan dengan menggunakan mikrotom. Setelah penyayatan bahan yang sudah diblok selesai, langkah berikutnya adalah memasukkan hasil sayatan ke dalam *waterbath* (suhu 40°C), kemudian pilih hasil sayatan yang terbaik dan siapkan obyek glass (untuk persiapan pewarnaan HE (*Haematoxylin Eosin*)), sebelumnya obyek glass harus diolesi dengan perekat polyisin. Berikutnya, keringkan pada oven dengan suhu 50-60°C kurang lebih selama 30 menit.

- **Teknik Pewarnaan Jaringan Dengan Menggunakan HE (*Haematoxylin Eosin*)**

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

- **Tahap *Mounting***

Tahapan ini merupakan prosedur akhir dalam pembuatan preparat sebelum diamati secara makroskopik dan mikroskopik bertujuan untuk mempermudah saat pengamatan. Preparat dilem dengan menggunakan DPX mounting medium, kemudian ditutup dengan *cover glass*. Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai lem mengering kemudian diamati dibawah mikroskop. Dengan pewarnaan HE, inti yang bersifat asam akan berwarna ungu tua oleh *Haematoxylin* yang bersifat basa, sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan berwarna merah oleh *eosin* yang bersifat asam perbedaan warna ini akan memudahkan dalam melakukan pengamatan.

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengamatan histopatologi ginjal ikan Patin. Pengamatan ini dilakukan untuk melihat perbedaan ikan Patin yang sehat, ikan Patin yang teruji tantang bakteri *A. hydrophila* dan ikan Patin setelah diberikan bakteri *A. hydrophila* yaitu dengan melihat histopatologi jaringan ginjal ikan.

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang diamati dalam penelitian ini adalah pengamatan parameter kualitas air yang meliputi suhu yang diukur menggunakan thermometer, pH air yang diukur dengan menggunakan pH meter dan Oksigen terlarut dalam perairan yang diukur dengan menggunakan DO meter.

3.6 Analisis Data

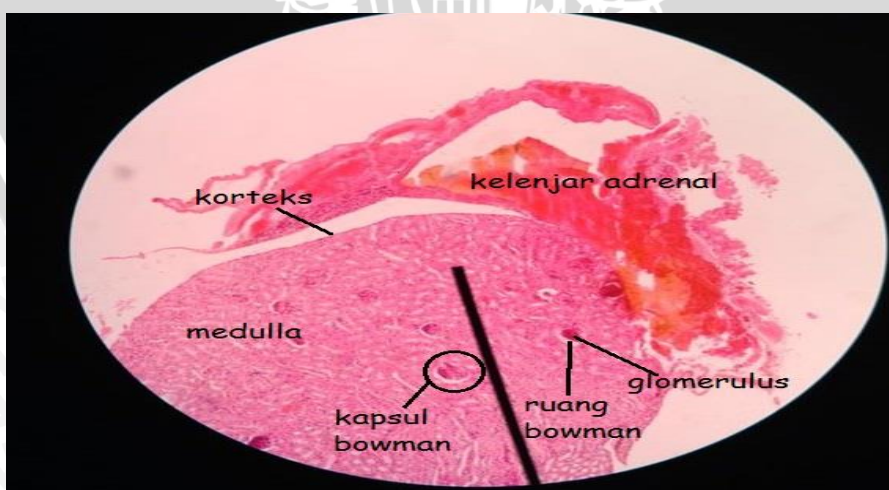
Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variable bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk menentukan perbedaan antar perlakuan kemudian untuk menentukan hubungan antara respon (tanggapan) dengan perlakuan yang terlibat dalam kisaran taraf factor penelitian dilakukan analisa Regresi.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Histopatologi Ginjal Ikan Patin (*Pangasius* sp.)

4.1.1 Gambaran Histopatologi Ginjal Ikan Patin(*Pangasius* sp.) yang Sehat

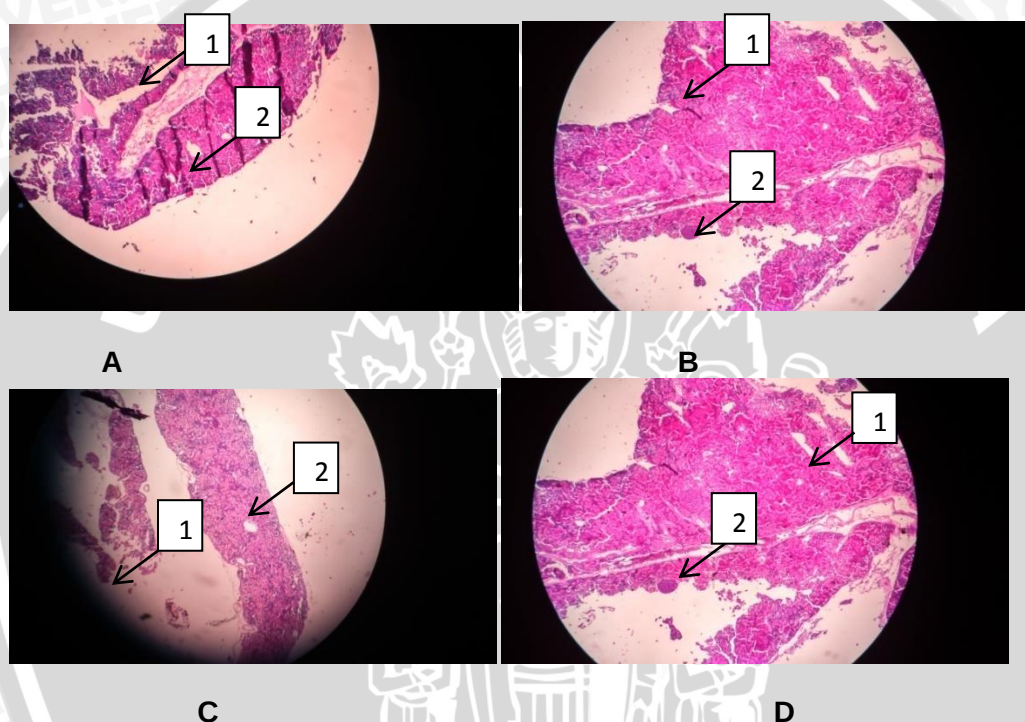
Dari hasil penelitian diketahui bahwa struktur jaringan ginjal ikan yang teruji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* dan direndam dengan ekstrak kasar daun jambu biji menunjukkan hasil yang berbeda. Pada ikan yang tidak diberi perlakuan dengan bakteri *A. hydrophila*, struktur jaringan ginjal terlihat normal. Pada ginjal yang normal glomerulus dan unit-unit nefron terlihat jelas, inti bulat letaknya sentralis juga tampak jelas (Gambar 6). Ginjal ikan yang sehat akan bekerja secara normal hal ini sesuai dengan pernyataan Windarti *et al.*, (2010) bahwa ginjal pada ikan tersusun dari unit-unit yang disebut tubulus ginjal atau nefron. Nefron terdiri dari korpuskula ginjal dan tubula. Kinerja ginjal yaitu darah dari aorta dorsal dibawa ke ginjal lewat arteri ginjal. Kemudian darah disaring melewati kapiler pada glomerulus dan melewati kapiler dari sekitar tubulus. Materi-materi cair yang tidak berguna akan dibuang lewat tubula ginjal, sedangkan darah yang sudah bersih akan meninggalkan ginjal lewat vena ginjal.



Gambar 6. Ginjal Ikan Patin yang Sehat (Google Image, 2016).

4.1.2 Gambaran Histopatologi Ginjal Ikan Patin (*Pangasius* sp.) pada Setiap Perlakuan

Berdasarkan hasil Penelitian, gambaran jaringan ginjal ikan Patin yang diberikan perlakuan pemberian ekstrak kasar daun jambu biji dengan konsentrasi 0%, 2%, 4% dan 6% yang diuji tantang bakteri *A. hydrophila* mengalami kerusakan jaringan antara lain degenerasi hialin dan nekrosis (Gambar 7).



Gambar 7. Histopatologi Ginjal pada tiap Perlakuan: (A) Perlakuan Ikan dengan Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) 2%, (B) Perlakuan Ikan dengan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) 4%, (C) Perlakuan Ikan dengan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) 6%, (D) Perlakuan Ikan dengan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) 0% serta kerusakan jaringan yakni (1) Degenerasi Hialin dan (2) Nekrosis. Mikroskop cahaya perbesaran 40x.

Histopatologi ginjal pada perlakuan A menunjukkan tingkat kerusakan jaringan sedang dengan presentase kerusakan antara 26 – 50% (disajikan pada Lampiran 1), perlakuan A dengan pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun Jambu biji 2%, kerusakan yang terjadi antara lain degenerasi hialin dan

nekrosis. Kerusakan jaringan ginjal yang masih tinggi terjadi akibat pemberian dosis ekstrak kasar daun jambu biji yang terlalu kecil sehingga tidak dapat meningkatkan sistem imun dalam tubuh ikan secara maksimal, kemampuan imunostimulan dalam meningkatkan respon imun dan mengembangkan proteksi terhadap ujiantang patogen dipengaruhi oleh dosis pemberian imunostimulan yang diberikan. Daun jambu biji sedikit banyak akan mencegah ujiantang yang disebabkan oleh bakteri, Hal ini diduga karena adanya kandungan flavonoid dan tanin yang terdapat dalam ekstrak daun jambu biji. Pernah dilaporkan oleh Hidayati *et al.*, (2013) bahwa dalam ekstrak daun jambu biji terdapat bahan aktif berupa flavonoid dan tanin yang bersifat antiinflamasi dan antibakteri.

Pada perlakuan B dengan pemberian imunostimulan ekstrak daun Jambu biji 4%, tingkat kerusakan jaringan lebih kecil jika dibandingkan dengan perlakuan A dengan presentase kerusakan antara 6 – 25% (disajikan pada Lampiran 1), kerusakan yang terjadi antara lain degenerasi hialin dan nekrosis. Dari hasil pada perlakuan B dapat diketahui bahwa kerusakan jaringan ginjal relatif kecil hal ini terjadi akibat pemberian dosis ekstrak daun jambu biji yang optimal sehingga dapat meningkatkan sistem imun dalam tubuh ikan secara maksimal. Dengan pemberian imunostimulan secara optimal limfosit dalam tubuh ikan juga diaktifkan yang dapat meningkatkan pertahanan tubuh terhadap ujiantang penyakit (Anderson dan Siwicki, 1993).

Pada perlakuan C dengan pemberian imunostimulan ekstrak daun Jambu biji 6%, menunjukkan tingkat kerusakan jaringan yang berat dibandingkan dengan perlakuan B dengan presentase kerusakan >50% (disajikan pada Lampiran 1), kerusakan yang terjadi antara lain degenerasi hialin dan nekrosis. Sesuai dengan pernyataan Ridho (2009) bahwa dosis imunostimulan yang terlalu tinggi yang diberikan tidak memberikan efek atau berperilaku sebagai inhibitor. Hal inilah yang menyebabkan kerusakan jaringan ginjal pada perlakuan B terjadi

sangat berat. Pemberian dosis ekstrak daun jambu biji yang terlalu tinggi tidak dapat meningkatkan sistem imun dalam tubuh ikan secara optimal.

Pada perlakuan D dengan pemberian imunostimulan ekstrak daun Jambu biji 0%, menunjukkan tingkat kerusakan jaringan yang sangat berat dibandingkan dengan semua perlakuan dengan presentase kerusakan >50% (disajikan pada Lampiran 1), kerusakan yang terjadi antara lain degenerasi hialin dan nekrosis.

4.2 Analisa Data Kerusakan Ginjal Ikan Patin (*Pangasius sp.*)

4.2.1 Degenerasi hialin

Berdasarkan perhitungan rerata skoring kerusakan pada jaringan ginjal ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *A. hydrophila* serta pemberian imunostimulan ekstrak daun Jambu biji (*psidium guajava*) terdapat kerusakan berupa degenerasi hialin pada beberapa jaringan ginjal yang diamati disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Skoring Kerusakan Degenerasi Hialin pada Ginjal Ikan Patin (*Pangasius sp.*).

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
2% (A)	1,8	2,4	2,4	6,6	2,20
4% (B)	2,2	2	1,6	5,8	1,93
6% (C)	2	2,6	2,6	7,2	2,40
Kontrol Positif (K+)	3,2	3	3	9,2	3,07

Berdasarkan Tabel 1 di atas dapat diketahui bahwa pemberian imunostimulan ekstrak daun jambu biji dengan konsentrasi 2% (Perlakuan A) menunjukkan nilai kerusakan jaringan berupa degenerasi hialin yang sedang dengan nilai rerata skoring sebesar 2,20. Pada perlakuan B dengan pemberian imunostimulan ekstrak daun jambu biji 4% menunjukkan nilai skoring kerusakan

jaringan yang paling kecil yaitu sebesar 1.93 (disajikan pada Lampiran 1). Pada perlakuan C dengan pemberian imunostimulan ekstrak daun jambu biji 6% menunjukkan nilai skoring kerusakan jaringan yang berat dengan nilai rerata skoring sebesar 2,40. Sedangkan pada perlakuan K+ penguji tantangan bakteri *A. hydrophila* tanpa pemberian imunostimulan ekstrak daun jambu biji menunjukkan adanya kerusakan jaringan yang paling tinggi dengan nilai rerata skoring sebesar 3,07 (disajikan pada Lampiran 1).

Setelah dilakukan skoring dan mendapatkan rerata skoring pada Tabel 1, selanjutnya dilakukan uji sidik ragam. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian imunostimulan ekstrak daun Jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap kerusakan jaringan ginjal ikan Patin berupa degenerasi hialin. Hasil uji sidik ragam skoring kerusakan degenerasi hialin pada jaringan ginjal disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Sidik Ragam Skoring Kerusakan Degenerasi Hialin pada Ginjal.

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2,11	0,70	8,10**	4.07	7.59
Acak	8	0,69	0,09			
Total	11					

Keterangan ** = Berbeda Sangat Nyata

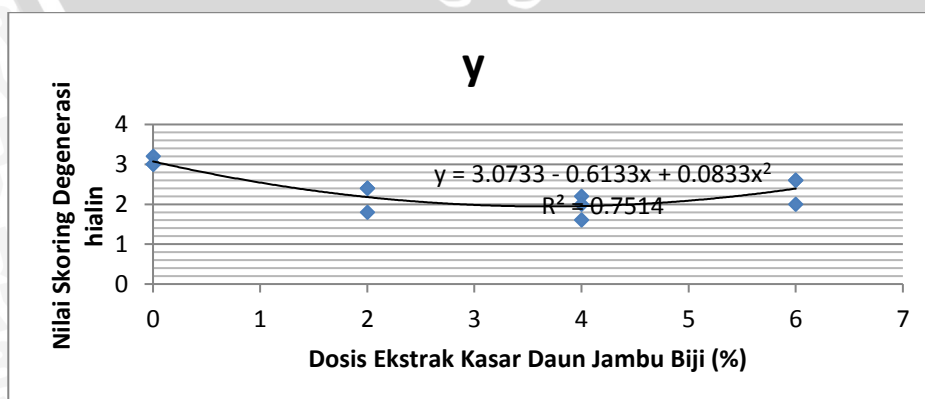
Berdasarkan Tabel 2 di atas dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak kasar daun Jambu biji berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan jaringan ginjal berupa degenerasi hialin yang teruji tantang bakteri *A. hydrophila*. Hal ini diketahui dari nilai F hitung yang lebih tinggi dari F 5% dan F 1%. Untuk mengetahui perbedaan antar dua perlakuan digunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil perhitungan uji BNT skoring kerusakan degenerasi hialin disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Uji BNT Kerusakan Degenerasi Hialin pada Ginjal ikan Patin (*Pangasius sp.*)

Perlakuan	Rerata	B	A	C	K	Notasi
		1,93	2,20	2,40	3,06	
B	1,93	0,00				a
A	2,20	0.27 ^{ns}	0,00			b
C	2,40	1.24 ^{**}	0.20 ^{ns}	0,00		bc
K	3,06	1.13 ^{**}	0.86 ^{**}	0.66 ^{**}	0,00	d

Tabel 3 di atas menunjukkan notasi dari kerusakan ginjal ikan berupa degenerasi hialin dengan notasi a, b, bc dan d. Perlakuan B (4%) dengan notasi a berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (2%) dan perlakuan C (6%) yang ditunjukkan dengan notasi ab serta perlakuan K+ (0%) yang ditunjukkan dengan notasi bc. Degenerasi hialin adalah keadaan serabut ginjal yang akan mudah mengalami kerusakan daripada serabut ginjal normal. Serabut ginjal menunjukkan penampilan homogen dan menyerap pewarnaan eosin secara dominan. Nukleus ginjal pada serabut ginjal normal berada disekitar ginjal yang mengalami hialinasi (Hibya, 1995).

Dari Tabel 3 maka dapat digambarkan grafik hubungan pemberian imunostimulan ekstrak daun Jambu biji (*psidium guajava*) dengan konsentrasi yang berbeda dengan nilai rerata skoring hasil pengamatan kerusakan jaringan ginjal ikan Patin berupa degenerasi hialin yang disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Grafik Kerusakan Degenerasi Hialin pada Jaringan Ginjal

Gambar 8 diatas menunjukkan adanya hasil hubungan antara pemberian imunostimulan ekstrak daun Jambu biji (*Psidium guajava*) dengan dosis yang berbeda terhadap kerusakan ginjal ikan Patin berupa degenerasi hialin adalah kuadratik dengan persamaan $y = 3.0733 - 0.6133x + 0.0833x^2$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,751$, nilai optimalnya adalah 3,681 (Lampiran 2). Dapat diartikan bahwa 75.10% tingkat kerusakan degenerasi hialin dipengaruhi oleh dosis pemberian imunostimulan yang diberikan. Pada dosis kontrol yakni 0%, kerusakan yang terjadi sangat tinggi yakni pada nilai 3. Kemudian untuk dosis ekstrak kasar daun jambu biji 2% terjadi kerusakan yang menurun dari 0%. Selanjutnya untuk dosis 4% nilai kerusakan semakin rendah. Namun saat dosis 6%, nilai kerusakan menjadi tinggi lagi. Dari hasil tersebut diketahui bahwa kandungan ekstrak kasar daun jambu biji memiliki tingkat keoptimalan yang berbeda-beda. Hal ini diduga karena adanya kandungan tanin dan flavonoid dalam ekstrak daun jambu biji (Chakraborty et al., 2012) yang berfungsi sebagai antibakteri dan antiinflamansi Hasil ini juga didukung dari analisis ragam yang menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak daun jambu biji berpengaruh nyata terhadap kelulushidupan ikan patin yang diuji tantang *A. hydrophila*, dengan dosis terbaik 4%.

4.2.2 Nekrosis

Berdasarkan perhitungan rerata skoring kerusakan pada jaringan ginjal ikan Patin (*Pangasius* sp.) yang diuji tantang bakteri *A. hydrophila* serta pemberian imunostimulan ekstrak daun Jambu biji (*psidium guajava*) terdapat kerusakan berupa nekrosis pada beberapa jaringan ginjal ikan patin yang diamati disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata Skoring Kerusakan Nekrosis pada Jaringan Ginjal Ikan Patin (*Pangasius* sp.)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
2% (A)	1,6	3	2,2	6,8	2,27
4% (B)	2	1,8	1,4	5,2	1,73
6% (C)	2,4	3,2	2,4	8	2,67
Kontrol Positif (K+)	3,2	3,2	3	9,4	3,13

Berdasarkan tabel 4 dapat diketahui bahwa pemberian imunostimulan ekstrak daun jambu biji dengan konsentrasi 2% (Perlakuan A) menunjukkan nilai kerusakan jaringan berupa nekrosis yang sedang dengan nilai rerata skoring sebesar 2.27 (disajikan pada Lampiran 1). Pada perlakuan B dengan pemberian imunostimulan ekstrak daun jambu biji 4% menunjukkan nilai skoring kerusakan jaringan yang paling kecil yaitu sebesar 1.73. Pada perlakuan C dengan pemberian imunostimulan ekstrak daun jambu biji 6% menunjukkan nilai skoring kerusakan jaringan yang berat dengan nilai rerata skoring sebesar 2.67. Sedangkan pada perlakuan K+ penguji tantangan bakteri *A. hydrophila* tanpa pemberian imunostimulan ekstrak daun jambu biji menunjukkan adanya kerusakan jaringan yang paling tinggi dengan nilai rerata skoring sebesar 3.13. Nekrosis menggambarkan keadaan terjadinya penurunan aktivitas jaringan yang ditandai dengan hilangnya beberapa bagian sel satu demi satu dari satu jaringan sehingga dalam waktu yang tidak lama akan mengalami kematian. Gambaran sitoplasma yang mengalami nekrosis mencakup eosinophilia yang parah, hilangnya basophilia dan fragmentasi atau hyalinisasi dari komponen sitoplasma (Takashima dan Hibiya, 1995).

Setelah dilakukan skoring dan mendapatkan rerata skoring pada Tabel 5, selanjutnya dilakukan uji sidik ragam. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian imunostimulan ekstrak daun Jambu biji (*Psidium guajava*)

terhadap kerusakan jaringan ginjal ikan Patin berupa nekrosis. Hasil uji sidik ragam skoring kerusakan nekrosis pada jaringan ginjal disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Sidik ragam Skoring Kerusakan Nekrosis pada Jaringan Ginjal.

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3,18	1,06	5,21*	4.07	7.59
Acak	8	1,62	0,20			
Total	11					

Keterangan * = Berbeda Nyata

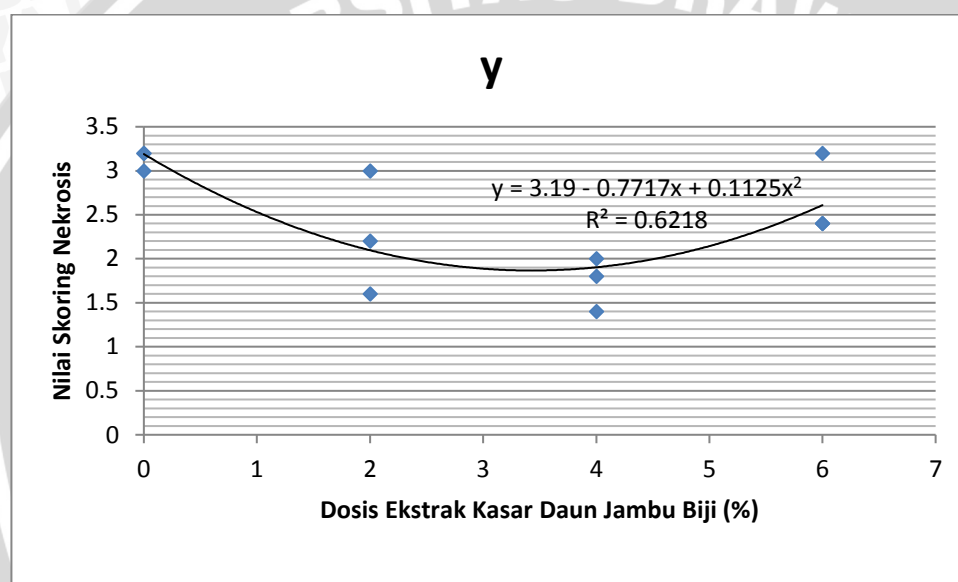
Berdasarkan Tabel 5 diatas dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun Jambu biji berpengaruh nyata terhadap kerusakan jaringan ginjal berupa degenerasi hialin yang teruji tantang bakteri *A. hydrophila*. Hal ini diketahui dari nilai F hitung yang lebih tinggi dari F 5% dan lebih rendah dari F 1%. Untuk mengetahui perbedaan antar dua perlakuan digunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil perhitungan uji BNT skoring kerusakan nekrosis disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Uji BNT Kerusakan Nekrosis pada Jaringan Ginjal Ikan Patin

Perlakuan	Rerata	B	A	C	K	Notasi
		1,73	2,27	2,67	3,13	
B	1,73	0,00				a
A	2,27	0.54*	0,00			b
C	2,67	0.94**	0.13*	0,00		bc
K	3,13	1,4**	0.86**	0.46*	0,00	d

Tabel 6 diatas menunjukkan notasi dari kerusakan jaringan ginjal ikan berupa nekrosis dengan notasi a, b, bc dan d. Perlakuan B (4%) dengan notasi a berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (2%) dan perlakuan C (6%) yang ditunjukkan dengan notasi ab dan bc serta perlakuan K+ (0%) yang ditunjukkan dengan notasi cd. Lisis dan hipertropi merupakan gejala awal nekrosis. Hal demikian berpengaruh terhadap fungsi ginjal dan metabolisme. Kerusakan pada

dinding sel atau terhambatnya sintesis dinding sel akibat senyawa tertentu akan mengakibatkan lisis pada sel. Semakin lama ginjal terpapar senyawa toksik, maka jumlah sel jaringan organ ginjal yang mengalami nekrosis semakin besar (Takashima dan Hibiya, 1995). Berdasarkan data pada tabel 6 maka dapat digambarkan grafik hubungan pemberian imunostimulan ekstrak daun Jambu biji (*psidium guajava*) dengan konsentrasi yang berbeda dengan nilai rerata skoring hasil pengamatan kerusakan jaringan ginjal ikan Patin berupa nekrosis yang disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Grafik Kerusakan Nekrosis pada Jaringan Ginjal

Grambar 9 diatas menunjukkan adanya hasil hubungan antara pemberian imunostimulan ekstrak daun Jambu biji (*Psidium guajava*) dengan dosis yang berbeda terhadap kerusakan jaringan ginjal ikan Patin berupa nekrosis adalah kuadratik dengan persamaanya $y = 3.19 - 0.7717x + 0.1125x^2$ $R^2 = 0.6218$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0.621$, nilai optimalnya adalah 3,429 (Lampiran 2). Dapat diartikan bahwa 62.10% tingkat kerusakan nekrosis dipengaruhi oleh dosis pemberian imunostimulan yang diberikan. Pada dosis kontrol yakni 0%, kerusakan yang terjadi sangat tinggi yakni pada nilai 3. Kemudian untuk dosis ekstrak kasar daun jambu biji 2% terjadi kerusakan yang

menurun dari 0%. Selanjutnya untuk dosis 4% nilai kerusakan semakin rendah. Namun saat dosis 6%, nilai kerusakan menjadi tinggi lagi. Dari hasil tersebut diketahui bahwa kandungan ekstrak kasar daun jambu biji memiliki tingkat keoptimalan yang berbeda-beda. Hal ini dikarenakan Tanin yang terkandung dalam ekstrak daun jambu biji memiliki aktifitas antibakteri yang dapat menyebabkan nekrosis pada ginjal ikan, tanin mampu mengaktifkan system imun pada tubuh ikan, tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna (Cowan, 1999)

4.3 Pengamatan Kualitas Air

Parameter kualitas air juga harus diperhatikan selama masa pemeliharaan ikan patin saat proses penelitian berlangsung karena akan mempengaruhi kelulushidupan ikan. Parameter kualitas air yang diukur antara lain suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Adapun hasil pengukuran kualitas air selama penelitian sebagai berikut.

a. Suhu

Pengukuran suhu pada saat penelitian dilakukan 2 kali sehari, pagi pukul 08.00 dan sore hari pukul 16.00. Suhu air selama proses penelitian berkisar antara 27 - 29°C. suhu masih dikatakan bisa ditolelir oleh ikan Patin (*Pangasius* sp.), menurut Subachri, *et al.* (2011), dalam pemeliharaan ikan harus diperhatikan beberapa faktor salah satunya suhu, kisaran suhu yang baik untuk ikan patin yaitu 25°C - 30°C.

b. pH (*Puissance Negative de Hidrogen*)

pH (*Puissance Negative de Hidrogen*) diukur dengan menggunakan pH meter model Hanna. pH (*Puissance Negative de Hidrogen*). Pengukuran pH (*Puissance Negative de Hidrogen*) pada saat penelitian memiliki nilai berkisar 7,4 - 7,7. Nilai pH masih dikatakan normal dan baik untuk pemeliharaan ikan

patin. Menurut Subachri, *et al.* (2011), pH merupakan tingkat keasaman, pH yang baik dalam proses pemeliharaan ikan yaitu pada nilai >7 .

c. DO (*Disolved Oxigen*)

Pengukuran DO (*Disolved Oxigen*) harus dilakukan untuk mengetahui nilai DO (*Disolved Oxigen*) yang terkandung pada air akuarium pemeliharaan ikan. DO (*Disolved Oxigen*) pada air akan sangat mempengaruhi kualitas dan kehidupan ikan Patin. Pengukuran DO (*Disolved Oxigen*) dilakukan pada pagi hari pukul 08:00 WIB dan 16:30 WIB. Nilai DO (*Disolved Oxigen*) selama pemeliharaan berkisar antara 5,9-8ppm, DO (*Disolved Oxigen*) masih dikatakan baik, sesuai persyaratan yang dipaparkan oleh Subachri, *et al.* (2011), Oksigen terlarut merupakan faktor penentu kelulushidupan ikan yang dipelihara, oksigen terlarut harus lebih dari atau sama dengan 5ppm.



5.KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) memberikan pengaruh terhadap histopatologi ginjal ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *A. Hydrophila*, dengan dosis optimal 4%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, disarankan untuk memberikan ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) dengan dosis 3,681% pada ikan patin (*Pangasius sp.*) yang teruji tantang bakteri *A. Hydrophila*.



DAFTAR PUSTAKA

- Aberoum, A., dan H. Jooyandeh. 2010. A Review on Occurrence and Characterization of the Aeromonas Species from Marine Fishes. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. 2(6): 519-523
- Adria, PM dan M. U.Jenny . 2006. Pengaruh Formula Pakan Terhadap Perkembangan Ikan Patin(*Pangasius* Sp.) yang Dipelihara di Waring Apung. *Risalah Seminar Ilmiah*. Vol.1.No. 1.Hal.217-220.
- Afrianto, E dan E. Liviawaty.1992.Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.33 hal.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas Salmonella typhimurium Terhadap Ekstrak daun Jambu Biji (Psidium guajava L.). *Bioscientiae*. Volume I, No. 1
- Akbar, S dan Sudaryanto.2002. Pembenihan Dan Pembesaran Kerapu Bebek.PT Penebar Swadaya. Jakarta. hlm: 63-65
- Alifia, F. 2013. Histopatologi Insang Ikan Bandeng (*Chanos chanos forskall*) yang Tercemar Logam Timbal (Pb). *Jurnal Balik Diwa*. Vol. 4.No.1.Hal.38-45.
- Alifuddin, M. 2007. Imunostimulasi Pada Hewan Akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 1(2): 87-92.
- Amelia, N dan B. Prayitno.2012.Pengaruh Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium guajava) untuk Menginaktifkan ViralNervous Necrosis (VNN) pada Ikan Kerapu Bebek (*Epinephelus fuscoguttatus*).*Journal Of Aquaculture Management and Technology*.Vol.1.No. 1. Hal 264-278.
- Anderson, D. P., and A.K. Siwicki. 1993. Basic Hematology and Serology for fish Health Programs. *Second Symposium On Diseases in Asian Aquaculture Aquatic Animal Health and the Environment*. Phuket, Thailand. 25-29th October 1993.
- Ariyanto, D., B. Gunadi dan Sularto. 2007. Pengaruh Formula Pakan Terhadap Perkembangan Ikan Patin(*Pangasius* Sp.) yang Dipelihara di Waring Apung. *Jurnal Perikanan*. Vol. 9.No. 1.Hal.49-55.
- Asniatih., M. Idris dan K. Sabilu. 2013. Studi Histopatologi pada Ikan Lele Dum (*Clarias gariepinus*) yang Teruji tantang Bakteri *Aeromonas hydrophila*.*Jurnal Mina Laut Indonesia*.Vol.3.No. 1.Hal. 13-21
- Atmodjo, J. T. 2011. Jenis Metode Penelitian. Universitas Mercubuana. Jakarta. 19 hlm.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564 –582.
- Ersa, E. M. 2008. Gambaran Histopatologi Insang, Usus dan Ginjal Pada Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) di Daerah Ciampea Bogor. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.

Febriani, D., Sukenda, S. Nuryati. 2013. Kappa karagenan sebagai imunostimulan untuk penendalian penyakit *infectious myonecrosis* (IMN) pada udang vaname *Litopenaeus Vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 12(1), 77-85.

Hanafiah, K. 2013. Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi Edisi 3. PT Raja Grafindo Prasada. Jakarta. 259 hlm.

Hardi, E., C.A. Pebrianto. T. Hidayanti, dan R. Handayani. 2014. Uji tantang *Aeromonas hydrophila* Melalui Jalur Yang Berbeda Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Loa Kulu Kutai Kertanegara Kalimantan Timur Kalimantan Timur. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 8(2): 130-133.

Hartoto. 2009. Penelitian Deskriptif dalam sebuah Rancangan penelitian. Universitas Sebelas Maret. 17 hlm.

Hernawati dan Gede Suantika. 2007. Penggunaan system resirkulasi dalam Pendederan Benih Ikan Gurami. *Disaintek*. Vol 1. No. 1: 1-2 hlm

Hibya, T. 1995. An Atlas of Fish Histology Normal and Pathological Features (Second edition). Kodansa LTD, Tokyo.

Izzati, M. 2009. Perubahan Konsentrasi Oksigen Terlarut dan pH Perairan Tambak setelah Penambahan Rumpuk Laut *Sargassum Plagiosphyllum* dan Ekstraknya. Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA UNDIP. 69 hlm.

Jusadi, D., E. Gandara dan I. Mokoginita. 2004. Pengaruh Penambahan Probiotik *Bacillus* Sp. pada Pakan Komersial Terhadap Konversi Pakan dan Pertumbuhan Ikan Patin *Pangasius hypophthalmus*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. Vol. 3. No. 1. Hal. 15-18.

Komariyah dan A. I. Setiawan. 2009. Pengaruh Penambahan Berbagai Dosis Minyak Ikan yang Berbeda pada Pakan Buatan Terhadap Pertumbuhan Benih Ikan Patin (*Pangasius pangasius*). *Pena Akuatika*. Vol. 1. No. 1. Hal. 19-29.

Langkosono. 2007. Budidaya Ikan Kerapu (Serranidae) dan Kualitas Perairan. *Neptunus*. 14 (1) : 61 – 67.

Lesson, C. R and L. L. Papano. *Buku Ajar Histologi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

Lisna. 2011. Biologi Reproduksi Ikan Seluang (*Rasbora argyroteenia* Blkr) di Sungai Kumpeh Jambi. *Tesis*. Program Pascasarjana Fakultas Perikanan Universitas Andalas Padang. Padang.

Martha, R. 2006. Analisa Kelayakan Industri Fillet Ikan Patin Beku (*Pangasius hypophthalmus*) di Kabupaten Bogor. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian Bogor, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Peturnov, B., Nenkov, P., and Shekerdjiisky, R. (2007). *The Role Of Immunostimulants In Immunotherapy And Immunoprophylaxis*. Bulgaria: National Center Of Infectious And Parasitic Disease, Bulbio-Ncipd, Natsim Ltd.

Prihatman, K. 2000. Tentang Budidaya Pertanian Kedelai. Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Permasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.

Priosoetyanto., I. M. Ersu., R. Tiura dan S. U. Handayani. 2010. Gambaran Histopatologi insang, Usus, dan Ginjal Ikan Mujair (*Oerochromis mossambicus*) yang Berasal dari Daerah Ciampea, Bogor. *Journal of Veterinary Science and Medicine*. 2(1): 1-8.

Price, A. S., Wilson M. L., 2006. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Alih Bahasa: dr. Brahm U. Penerbit. Jakarta: EGC

Ridlo, A dan R. Pramesti. 2009. Aplikasi Ekstrak Rumput Laut Sebagai Agen Immunostimulan Sistem Pertahanan Non Spesifik Pada Udang (*Litopennaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan*. Vol.14 (3): 133-137.

Rosidah dan W. M. Afizia. 2012. Potensi Ekstrak Daun Jambu Biji sebagai Antibakterial untuk Menanggulangi Serangan Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Pada Ikan Gurame (*Osphronemus Gouramy Lacepede*). *Jurnal Akuatika*. Vol. 3. No. 1. Hal. 19-27.

Samsundari, Sri. 2006. Pengujian Ekstrak Temulawak Dan Kunyit Terhadap Resistensi Bakteri *Aeromonas hydrophila* yang Menyerang Ikan M (*Cyprinus carpio*). *GAMMA*. Vol. 2. No.1. Hal 71-83.

Sari, N. R. 2013. Pengaruh Pemberian Immunostimulan Ekstrak Kasar Fenol *Gracillaria verrucosa* terhadap Histopatologi Insang Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.

Simatupang, N dan D Anggraini. 2013. Potensi Tanaman Herbal Sebagai Antimikrobia pada Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias sp.*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. Vol.1. No. 2. Hal 216-225.

Soeharmanto, D; B. Hanggono; S. Djunadidan A. B Muslim. 2010. Rekayasa Hibridisasi Ikan Kerapu Macan dan Kertang (Cantang) Melalui Pembuahan Buatan. *Seminar Indonesian Aquaculture*. 9 hlm.

Subachri, W., Zainuddin, D. Yanuarita. 2011. Budidaya Kerapu Sistem Keramba Jaring Apung dan Tancap. *Seri Panduan Perikanan Skala Kecil*. Vol 1, 5-44.

Sumino., A. Supriyadi, Wardiyanto. 2013. Efektivitas Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) untuk Pengobatan Uji tantang *Aeromonas salmonicida* pada Ikan Patin (*Pangasionodon hypophthalmus*). *Jurnal Sain Veteriner*. Vol. 31. No. 1. Hal. 79-88.

Sutama, I. K. J. 2002. Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dan Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Ujiantang Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias* sp.). *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Takashima, F and T. Hibiya. 1995. *An Atlas of Fish Histology Normal and Pathological Feature*. Second Edition. Kodansha Ltd. Tokyo.

Trevesborn, KM. 2002. *Applied Fish Pharmacology, Aquaculture Series 3*. Netherlands: Kluwer Academic Publisher.

Yuliani, S., L. Udamo & E. Hayani. 2003. Kadar Tanin dan Querestin Tiga Tipe Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*). *Buletin Tanaman Rempah*. 14(1): 17-24.

Yulita, I. 2002. Efektifitas bubuk daun jambu biji (*Psidium guajava* L), daun sirih (*Piper betle* L) dan daun sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. F.) Ness) untuk pencegahan dan pengobatan pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diuji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor



LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Skoring Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Patin

Kelainan	Sampel	Ulangan	area lapang pandang					Rerata LP	Rerata sampel
			1	2	3	4	5		
Degenerasi Hialin	A	1	1	2	2	2	2	1.8	2.133333
		2	3	2	2	2	2	2.2	
		3	2	3	2	3	2	2.4	
	B	1	1	1	2	2	1	1.4	1.4
		2	2	1	1	1	1	1.2	
		3	2	3	1	1	1	1.6	
	C	1	3	3	2	2	2	2.4	2.533333
		2	2	3	2	2	3	2.4	
		3	3	3	3	2	3	2.8	
	K+	1	3	3	4	3	3	3.2	2.906667
		2	2	4	3	2	3	2.8	
		3	3	3	3	2	2	2.6	
	K-	1	1	1	1	1	1	1	1
		2	1	1	1	1	1	1	
		3	1	1	1	1	1	1	
Nekrosis	A	1	2	2	1	2	3	2	2.066667
		2	3	3	2	2	1	2.2	
		3	2	3	2	2	1	2	
	B	1	3	2	1	1	2	1.8	1.666667
		2	1	2	1	1	2	1.4	
		3	1	2	2	2	2	1.8	
	C	1	2	3	3	3	1	2.4	2.2
		2	2	2	3	3	2	2.4	
		3	1	2	2	2	2	1.8	
	K+	1	3	3	2	3	2	2.6	2.666667
		2	2	2	3	3	4	2.8	
		3	2	4	3	2	2	2.6	
	K-	1	1	1	1	1	1	1	1
		2	1	1	1	1	1	1	
		3	1	1	1	1	1	1	

Lampiran 2. Perhitungan Analisa Data Penelitian

- Rerata Kerusakan Degenerasi Hialin pada Ginjal

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²
	1	2	3			
2% (A)	1,8	2,4	2,4	6,6	2,20	40.96
4% (B)	2,2	2	1,6	5,8	1,93	17.64
6% (C)	2	2,6	2,6	7,2	2,40	57.76
Kontrol Positif (K+)	3,2	3	3	9,2	3,07	73.96
Total				26.8		6,6
FK	59.85					
JK TOTAL	4.15					
JK PERLAKUAN	3.59					
JK ACAK	0.56					

- Analisa Sidik Ragam Skoring Kerusakan Degenerasi Hialin pada Ginjal

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2,11	0,70	8,10**	4.07	7.59
Acak	8	0,69	0,09			
Total	11					

Uji BNT t Tabel 5% dan t Tabel 1%

Uji BNT	
BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED	
BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED	
SED	0.22
BNT 5%	0.50
BNT 1%	0.72

Perlakuan	Rerata	B	A	C	K	Notasi
		1,93	2,20	2,40	3,06	
B	1,93	0,00				A
A	2,20	0.27ns	0,00			B
C	2,40	1.24**	0.20ns	0,00		Bc
K	3,06	1.13**	0.86**	0.66**	0,00	D

Lampiran 2. (Lanjutan)

Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	6.4	-3	1	-1
B	4.2	-1	-1	3
C	7.6	1	-1	-3
D	8.6	3	1	1
$Q = \sum ci \cdot Ti$		10	3.2	-8
Hasil Kuadrat		20	4	20
$Kr = (\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kr$		1.67	0.85	1.07
JK REGRESI	3.59			

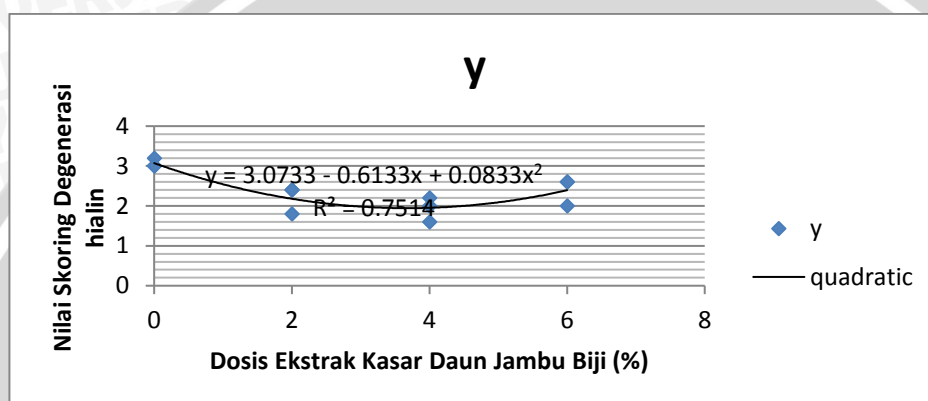
Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3.59			3.48	5.99
Kuadratik	1	1.67	1.67	23.81	**	
Linier	1	0.85	0.85	12.20	Ns	
Kubik	1	1.07	1.07	15.24	Ns	
Acak	8	0.56	0.07			
Total	11					
R ² Linier	0.86					
R ² Kuadratik	0.60					
R ² Kubik	0.66					

X	y		xy
2	1.8	-11.73	3.6
2	2.20	-11.73	4.4
2	2.40	-11.73	4.8
4	1.40	-11.52	5.6
4	1.20	-11.52	4.8
4	1.6	-11.52	6.4

Lampiran 2. (Lanjutan)

6	2.4	-11.32	14.4
6	2.4	-11.32	14.4
6	2.8	-11.32	16.8
0	3.2	-11.93	0
0	2.8	-11.93	0
0	2.6	-11.93	0

Hialin



$$y = 3,0733 - 0,6133x + 0,0833x^2$$

$$y' = -0,6133 + 2 \times 0,0833x$$

$$= -0,6133 + 1,666x$$

$$X = 3,681$$

Rerata Skoring Kerusakan nekrosis pada Jaringan Ginjal Ikan Patin

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²
	1	2	3			
2% (A)	1,6	3	2,2	6,8	2,27	38.44
4% (B)	2	1,8	1,4	5,2	1,73	25.00
6% (C)	2,4	3,2	2,4	8	2,67	43.56
Kontrol Positif (K+)	3,2	3,2	3	9,4	3,13	64.00
				25.8		171.00

Lampiran 2. (Lanjutan)

FK	55.47
JK TOTAL	1.93
JK PERLAKUAN	1.53
JK ACAK	0.40

Analisa Sidik Ragam Skoring Kerusakan Nekrosis pada Jaringan Ginjal.

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3,18	1,06	5,21*	4.07	7.59
Acak	8	1,62	0,20			
Total	11					

Uji BNT t Tabel 5% dan t Tabel 1%

Uji BNT	
BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED	
BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED	
SED	0.18
BNT 5%	0.42
BNT 1%	0.61

Perlakuan	Rerata	B	A	C	K	Notasi
		1,73	2,27	2,67	3,13	
B	1,73	0,00				a
A	2,27	0.54*	0,00			b
C	2,67	0.94**	0.13*	0,00		bc
K	3,13	1,4**	0.86**	0.46*	0,00	d

Lampiran 2. (Lanjutan)

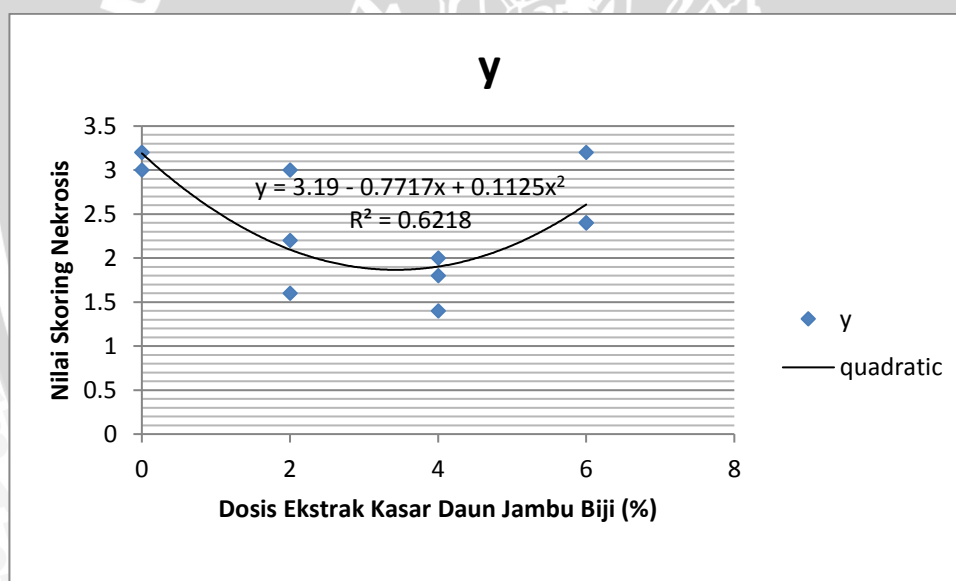
Uji Polinomial Orthogonal Nekrosis pada Ginjal

Uji Polinomial				
Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadrat	Kubik
A	6.2	-3	1	-1
B	5	-1	-1	3
C	6.6	1	-1	-3
K	8	3	1	1
Q= $\sum ci \cdot Ti$		7	2.6	-3
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK= Q^2 / Kr		0.82	0.56	0.15
Jk REGRESI	1.53			

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1.53			3.48	5.99
Kuadrat	1	0.82	0.82	16.33	**	
Linier	1	0.56	0.56	11.27	Ns	
Kubik	1	0.15	0.15	3	ns	
Acak	8	0.4000	0.05			
Total	11					
R ² Linier	0.79					
R ² Kuadrat	0.58					
R ² Kubik	0.27					

Lampiran 2. (Lanjutan)

X	Y		Xy
2	2	-11.73	4
2	2.20	-11.73	4.4
2	2.00	-11.7	4
4	1.80	-11.52	7.2
4	1.40	-11.52	5.6
4	1.8	-11.52	7.2
6	2.4	-11.32	14.4
6	2.4	-11.32	14.4
6	1.8	-11.32	10.8
0	2.6	-11.9	0
0	2.8	-11.93	0
0	2.6	-11.93	0



$$y = 3.19 - 0.7717x + 0.1125x^2$$

$$y' = -0.7717 + 2 \times 0.1125x$$

$$= -0.7717 + 0.225x$$

$$x = 3,429$$

Lampiran 3 Pengukuran Kualitas Air Selama Penelitian

Tanggal	Perlakuan	Suhu		pH		DO	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
18 Juni 2016	A1	28	29	7,5	7,5	6,4	7,9
	A2	27	28	7,4	7,4	6,0	7,7
	A3	27	29	7,4	7,4	6,0	7,7
	B1	27	28	7,5	7,5	6,2	7,8
	B2	27	28	7,5	7,5	6,6	7,7
	B3	27	28	7,5	7,5	6,3	7,8
	C1	28	29	7,7	7,7	6,2	7,8
	C2	28	29	7,7	7,7	6,3	7,7
	C3	27	28	7,7	7,7	6,0	7,7
	K1	27	28	7,5	7,5	6,6	7,7
	K2	28	29	7,5	7,5	5,9	7,8
	K3	28	29	7,6	7,6	6,6	7,7
19 Juni 2016	A1	28	29	7,6	7,6	6,0	7,7
	A2	27	28	7,6	7,6	6,6	7,7
	A3	27	28	7,5	7,5	6,4	7,9
	B1	27	28	7,4	7,4	6,3	7,8
	B2	27	29	7,4	7,4	6,0	7,7
	B3	27	28	7,5	7,5	6,6	7,7
	C1	27	28	7,5	7,5	6,0	7,7
	C2	28	29	7,7	7,7	6,2	7,8
	C3	28	29	7,7	7,7	6,6	7,7
	K1	28	29	7,6	7,6	6,3	7,7
	K2	28	29	7,6	7,6	6,3	7,8
	K3	28	29	7,5	7,5	6,2	7,8
20 Juni 2016	A1	28	29	7,5	7,5	6,0	8,0
	A2	28	29	7,6	7,6	6,0	7,7
	A3	28	29	7,5	7,5	6,4	7,7
Tanggal		Suhu		pH		DO	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
21 Juni 2016	B1	28	29	7,6	7,6	6,0	7,7
	B2	28	28	7,5	7,5	6,4	7,9
	B3	27	28	7,6	7,6	6,3	7,8
	C1	27	29	7,6	7,6	6,3	7,8
	C2	28	29	7,5	7,5	6,2	7,8
	C3	28	29	7,5	7,5	6,2	7,8
	K1	28	29	7,5	7,5	6,3	7,8
	K2	28	28	7,6	7,6	6,3	7,8
	K3	27	28	7,6	7,6	6,3	7,7
22 Juni 2016	A1	27	28	7,5	7,5	6,0	7,7
	A2	27	28	7,5	7,5	6,2	7,8
	A3	27	29	7,5	7,5	6,6	7,6
	B1	28	29	7,5	7,5	6,0	7,7
	B2	28	29	7,6	7,5	6,0	6,4
	B3	27	28	7,6	7,4	6,6	7,0
	C1	27	28	7,5	7,4	6,4	6,0
	C2	27	28	7,4	7,5	6,3	6,2

23 Juni 2016	C3	27	29	7,4	7,5	6,0	7,6
	K1	27	28	7,5	7,5	6,6	7,3
	K2	27	28	7,5	7,7	6,0	7,2
	K3	28	29	7,7	7,7	6,2	6,3
	A1	28	29	7,7	7,7	6,6	6,0
	A2	28	29	7,6	7,5	6,3	6,6
	A3	28	29	7,6	7,5	6,3	5,9
	B1	28	29	7,5	7,6	6,2	6,6
	B2	26	27	7,5	7,7	6,0	6,0
	B3	27	25	7,8	7,8	6,0	6,6
	C1	28	29	7,6	7,5	6,4	6,4
Tanggal		Suhu		pH		DO	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
24 Juni 2016	B1	28	29	7,6	7,6	6,0	7,7
	B2	28	28	7,5	7,5	6,4	7,9
	B3	27	28	7,6	7,6	6,3	7,8
	C1	27	29	7,6	7,6	6,3	7,8
	C2	28	29	7,5	7,5	6,2	7,8
	C3	28	29	7,5	7,5	6,2	7,8
	K1	28	29	7,5	7,5	6,3	7,8
	K2	28	28	7,6	7,6	6,3	7,8
	K3	27	28	7,6	7,6	6,3	7,7

