

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KULIT BUAH PETAI (*Parkia speciosa*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

SKRIPSI

Oleh:

**ULIFATUL SAFITRI
155080507111044**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KULIT BUAH PETAI (*Parkia speciosa*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

SKRIPSI

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

Oleh :

**ULIFATUL SAFITRI
NIM. 155080507111044**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KULIT BUAH PETAI (*Parkia speciosa*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

Oleh :

ULIFATUL SAFITRI

NIM. 155080507111044

**Telah Dipertahankan Didepan Penguji
Pada Tanggal 22 Mei 2019
Dan Dinyatakan Telah Memenuhi Syarat**

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing I**

**(Dr. Ir. Maftuch, M.Si)
NIP. 19660825 199203 1 001
TANGGAL: 19 JUN 2019**

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing II**

**(Ir. Heny Suprastyani, MS)
NIP. 19620904 1987012 001
TANGGAL: 19 JUN 2019**

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perikanan**



**(Dr. Ir. M. Firdaus, MP)
NIP. 19680919 200501 1 001
TANGGAL: 19 JUN 2019**

IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KULIT BUAH PETAI
(*Parkia speciosa*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas
aeruginosa***

Nama Mahasiswa : ULIFATUL SAFITRI
NIM : 155080507111044
Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING :
Pembimbing 1 : DR. IR. MAFTUCH, M.Si.
Pembimbing 2 : IR. HENY SUPRASTYANI, MS.

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING :
Dosen Penguji 1 : PROF. DR. IR. ARIEF PRAJITNO, MS.
Dosen Penguji 2 : BUDIANTO, S. Pi., MP., M. Sc.
Tanggal Ujian : 22 Mei 2019



DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Ulifatul Safitri adalah nama penulis skripsi ini. Penulis lahir dari orang tua Poniman dan Suryati sebagai anak kedua dari tiga bersaudara. Penulis dilahirkan di Surabaya, 22 Agustus 1997. Penulis menempuh pendidikan mulai dari SD Kupang Krajan I/604 Surabaya (lulus tahun 2009), melanjutkan SMP Negeri 43 Surabaya (lulus tahun 2012) dan kemudian ke SMA Negeri 6 Surabaya (lulus tahun 2015). Selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan di Universitas Brawijaya, Malang hingga akhirnya dapat menempuh kuliah Strata 1 di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Program Studi Budidaya Perairan.

Dengan ketekunan hati serta motivasi tinggi untuk terus berusaha dan belajar, penulis berhasil menyelesaikan pengerjaan skripsi ini. Semoga dengan penulisan skripsi ini mampu memberikan kontribusi positif bagi dunia pendidikan.

Akhir kata penulis mengucapkan syukur yang sebesar – besarnya atas terselesaikannya skripsi yang berjudul “**Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (*Parkia speciosa*) Terhadap Histopatologi Ginjal Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*”.**

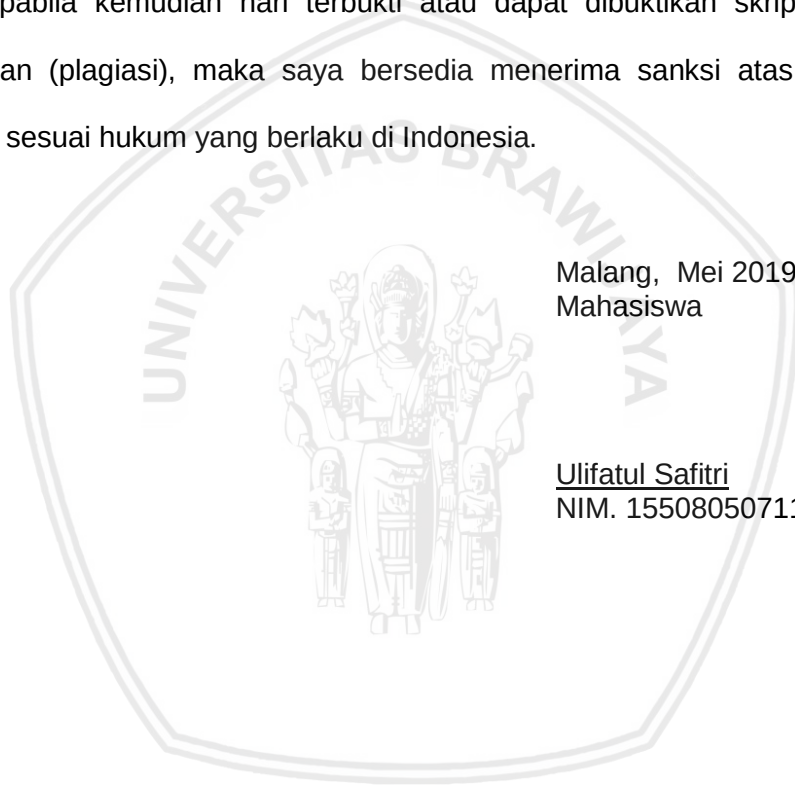
PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, Mei 2019
Mahasiswa

Ulifatul Safitri
NIM. 155080507111044



UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur penulis ucapkan atas terselesaikannya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih sebesar - besarnya kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan kelancaran dan berbagai kemudahan pada penulis dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
2. Kedua orang tua dan saudara saya yang selalu *mensupport* lewat doa maupun materiil.
3. Bapak Dr. Ir. Maftuch, M. Si selaku dosen pembimbing 1 dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen pembimbing 2, yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, motivasi, arahan, dan nasehat yang membangun sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno dan Bapak Budianto, S. Pi., MP., M. Sc selaku dosen penguji saya.
5. Tim PETAI (Dwi Ayuning, Farida Mauludia, dan Evi Zulviana)
6. Buat teman-teman (Etika, Rizqo, Lely, Nabila, Silvia, Ayu, Hfz dan Novi) yang setia menemani saya nongkrong.
7. Mbak mega, Mbak Heni, Pak udin dan Pak ribut yang telah memberikan kritik dan saran dalam penyelesaian skripsi ini sehingga menjadi lebih baik.
8. Teman-teman di surabaya (Mei,Kiki, Frisca, Erdin, dan Irfan) yang selalu mengajak holiday.
9. Mbak Sira yang membantu memberi saran hingga selesai penelitian yang saya lakukan dapat berjalan dengan lancar.

Malang, April 2019

Penulis

RINGKASAN

ULIFATUL SAFITRI. Skripsi tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (*P. speciosa*) Terhadap Histopatologi Ginjal Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (dibawah bimbingan **Dr. Ir. Maftuch, M.Si dan Ir. Heny Suprastyani, MS**).

Budidaya ikan nila (*O. niloticus*) sering menghadapi kendala salah satunya adalah karena serangan penyakit. Penyakit yang menyerang ikan nila salah satunya adalah *Hemoragi Septicemia* yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa*. Bakteri *P. aeruginosa* menyebabkan kematian pada ikan budidaya. Bakteri *P. aeruginosa* dapat menimbulkan kerugian yang sangat besar karena menyebabkan kematian ikan secara masal.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap histopatologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi oleh bakteri *P. aeruginosa* dan menentukan konsentrasi ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) yang paling efektif untuk pengobatan ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi oleh bakteri *P. aeruginosa*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Parasit dan Penyakit Ikan, Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan, Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perairan Divisi Keamanan Hasil Perikanan, dan Laboratorium Hidrobiologi Divisi Sumberdaya Ikan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Desember 2018 – Februari 2019.

Metode penelitian ini menggunakan metode eksperimen dan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sebagai rancangan penelitian dengan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan dosis perlakuan A (10 ppm), B (25 ppm), C (40 ppm), D (55 ppm), kontrol positif (K+) dengan menggunakan antibiotik *tetrasiklin* 30 ppm dan kontrol negatif (K-) tanpa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) maupun antibiotik *tetrasiklin*. Parameter utama dalam penelitian ini adalah histopatologi ginjal ikan nila (*O. niloticus*). Sedangkan parameter penunjang dalam penelitian ini adalah monitoring kualitas air antara lain suhu, pH dan oksigen terlarut yang dilakukan setiap hari pada pukul 08.00 dan 16.00 WIB, gejala klinis dan kelulushidupan ikan nila.

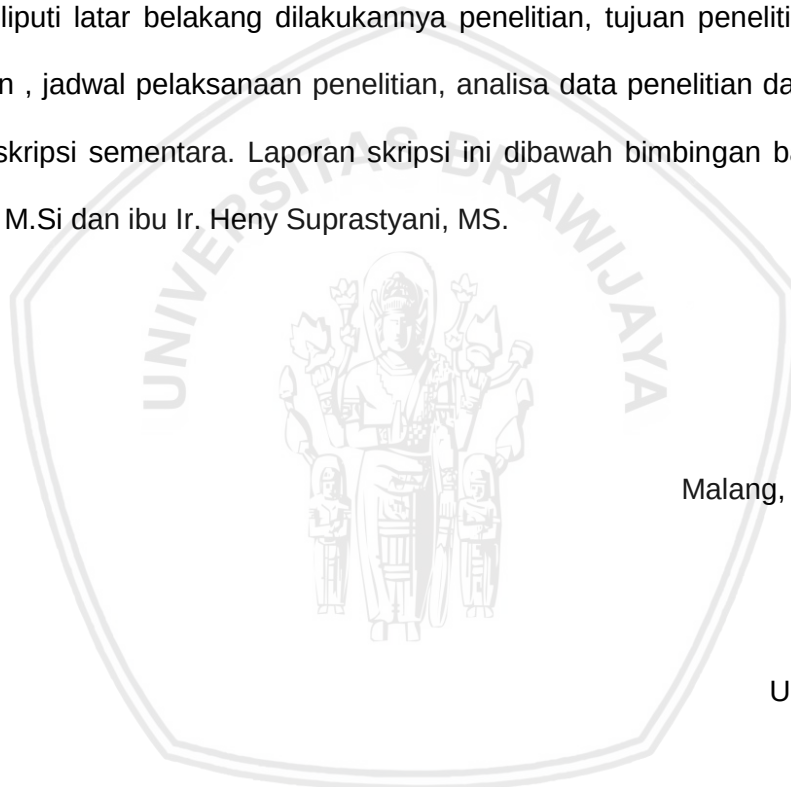
Hasil dari penelitian ini menyatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh terhadap histopatologi ginjal ikan nila (*O. niloticus*). Didapatkan dosis terbaik dari pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) yaitu sebesar 55 ppm, dibandingkan dengan dosis 10 ppm, 25 ppm dan 40 ppm. Namun perlu adanya penelitian dengan dosis lebih tinggi dan penelitian lanjutan untuk mengetahui dosis yang optimal ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap histopatologi ginjal ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Pada histopatologi ginjal terdapat kerusakan jaringan yaitu Kongesti dengan persamaan $y = 3,2333 - 0,0333x$ sehingga didapatkan nilai koefisien determinasi sebesar 75% dan Nekrosis dengan persamaan $y = 3,2156 - 0,0302x$ sehingga didapatkan nilai koefisien determinasi sebesar 74%.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT, atas kelimpahan rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyajikan proposal skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (*Parkia Speciosa*) Terhadap Histopatologi Ginjal Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* “. Di dalam tulisan ini disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi latar belakang dilakukannya penelitian, tujuan penelitian, metode perolehan , jadwal pelaksanaan penelitian, analisa data penelitian dan kerangka laporan skripsi sementara. Laporan skripsi ini dibawah bimbingan bapak Dr. Ir. Maftuch, M.Si dan ibu Ir. Heny Suprastyani, MS.

Malang, Maret 2019

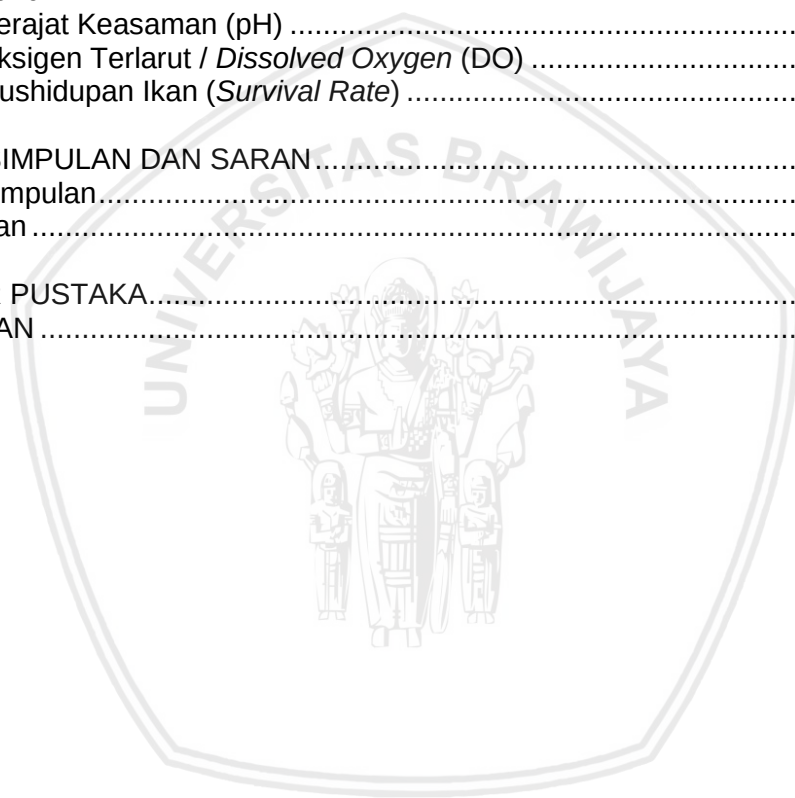
Ulifatul Safitri



DAFTAR ISI

IDENTITAS TIM PENGUJI.....	iii
UCAPAN TERIMAKASIH.....	v
RINGKASAN	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI.....	x
 1. PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis	5
1.5 Kegunaan	5
1.6 Tempat dan Waktu.....	5
 2. TINJAUAN PUSTAKA	 6
2.1 Sifat Biologi Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	6
2.1.2 Habitat dan Penyebaran.....	7
2.2 Sifat Biologi <i>P. aeruginosa</i>	8
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>P. aeruginosa</i>	8
2.2.2 Pertumbuhan Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	9
2.2.3 Infeksi Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	9
2.2.4 Mekanisme Kerja Antibakteri.....	10
2.3 Petai (<i>P. speciosa</i>).....	11
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Petai (<i>P. speciosa</i>)	11
2.3.2 Habitat dan Penyebaran Petai (<i>P. speciosa</i>)	12
2.3.3 Manfaat dan Kegunaan Petai (<i>P. speciosa</i>)	13
2.3.4 Kandungan Bahan Aktif Petai (<i>P. speciosa</i>)	14
2.4 Uji Efektivitas Antimikroba Secara In Vitro	14
2.5 Gejala Klinis.....	15
2.6 Histopatologi	15
2.7 Organ Ginjal Nila	16
2.7.1 Pengertian dan fungsi organ ginjal ikan	16
2.7.2 Kerusakan pada Organ Ginjal	17
2.7.3 Pembuatan preparat dalam Histopatologi	18
 3. Metode Penelitian	 20
3.1 Materi Penelitian	20
3.1.1 Alat Penelitian	20
3.1.2 Bahan	21
3.2 Metode Penelitian	22
3.3 Rancangan Penelitian.....	23
3.4 Prosedur Penelitian.....	25
3.4.1 Persiapan penelitian.....	25
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian.....	33
3.5 Uji Histopatologi Ginjal	35
3.5.1 Pengambilan Jaringan	35
3.5.2 Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal.....	35

3.5.3 Skoring Histopatologi Ginjal Nila (<i>O. niloticus</i>)	37
3.6 Parameter Uji.....	38
3.6.1 Parameter Utama.....	38
3.6.2 Parameter Penunjang	38
3.7 Analisis Data.....	39
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Gambaran Histopatologi Ginjal	40
4.1.1 Histopatologi Ginjal Ikan Normal yang Diinfeksi Bakteri <i>P. aeruginosa</i> ...	40
4.1.2 Gambaran Histopatologi Perlakuan pada Ginjal.....	41
4.2 Uji Cakram.....	49
4.3 Gejala Klinis.....	52
4.4 Pengamatan Kualitas Air	53
4.4.1 Suhu	53
4.4.2 Derajat Keasaman (pH)	53
4.4.3 Oksigen Terlarut / <i>Dissolved Oxygen</i> (DO)	54
4.5 Kelulushidupan Ikan (<i>Survival Rate</i>)	54
5. KESIMPULAN DAN SARAN	58
5.1 Kesimpulan.....	58
5.2 Saran	58
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN	66



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Uji Efektivitas Antimikroba Secara In Vitro	14
2. Klasifikasi Respon Hambatan	15
3. Alat Penelitian.....	20
4. Bahan Penelitian.....	21
5. Hasil Pengamatan (Pendahuluan)	23
6. Hasil Uji Efektivitas Antimikroba.....	31
7. Rerata Hasil Penelitian Skoring Kerusakan Kongesti Histopatologi Ginjal Ikan Nila.....	43
8. Sidik Ragam Kerusakan Kongesti Histopatologi Ginjal Nila	43
9. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Kongesti Ginjal	44
10. Rerata Hasil Penelitian Skoring Kerusakan Nekrosis Histopatologi Ginjal Ikan Nila	46
11. Sidik Ragam Kerusakan Nekrosis Histopatologi Ginjal Nila	47
12. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Nekrosis Ginjal	47
13. Uji Cakram.....	50
14. Sumber Keragaman Uji Cakram	50
15. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Uji Cakram.....	51
16. Pemeriksaan Kualitas Air	53
17. Kelulushidupan Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	55
18. Sumber Keragaman Kelulushidupan.....	55
19. Uji (BNT) Kelulushidupan Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	6
2. <i>P. aeruginosa</i> dengan pembesaran 400x.....	8
3. Kurva pertumbuhan bakteri.....	10
4. Petai	12
5. Struktur histologi ginjal ikan. Glomerulus (G), Tubulus (T) dan Pembuluh Darah (PD), Kapsula Bowman (KB), stratum visceral (sv), stratum parietal (sp), <i>Spatium capsulare</i> (SC), Kapiler Glomerulus (KG) dan Podosit (P). Potongan melintang, pewarnaan HE dan pembesaran 100x	17
6. Perubahan pada ginjal ikan. K: kongesti, N: nekrosis Menggunakan Perbesaran 400x dengan Pewarnaan HE.....	18
7. Denah Rancangan Percobaan.....	24
8. Alur Perhitungan Skoring (Gerak zig zag)	37
9. Struktur ginjal ikan nila. (a) ginjal nila sehat; (b) ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri <i>P. aeruginosa</i> . (K) Kongesti (N) Nekrosis. Perbesaran 400x	40
10. Struktur Jaringan Histopatologi Ginjal Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) yang telah diberi perlakuan (a) Dosis 10 ppm, (b) Dosis 25 ppm, (c) Dosis 40 ppm dan (d) Dosis 55 ppm. (K) Kongesti, (N) Nekrosis Menggunakan Perbesaran 400x dengan Pewarnaan HE.	42
11. Hubungan antara Dosis Ekstrak dengan Nilai Skoring Ginjal yang Mengalami Kerusakan Kongesti.	44
12. Hubungan antara Dosis Ekstrak dengan Nilai Skoring Ginjal yang Mengalami Kerusakan Nekrosis	48
13. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Daya Hambat Uji Kertas Cakram ...	51
14. Gejala klinis ikan yang diinfeksi bakteri <i>P. aeruginosa</i> . (a) sisik mengelupas (b) ekor geripis.....	52
15. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Nilai Kelulushidupan Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian.....	66
2. Bahan Penelitian.....	70
3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (<i>P. speciosa</i>).....	73
4. Perhitungan kadar air dan rendemen Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (<i>P. speciosa</i>).....	74
5. Hasil Uji Biokimia <i>P. aeruginosa</i>	75
6. Perhitungan Kepadatan Bakteri dengan McFarland	76
7. Perhitungan Dosis Ekstrak pada Uji MIC	79
8. Perhitungan Dosis Uji In Vivo.....	80
9. Skoring Kelainan Patologi Ginjal Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	81
10. Perhitungan Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Nila	82
11. Uji Cakram	88
12. Pengamatan Kualitas Air.....	91
13. Kelulushidupan Ikan Nila.....	92
14. Uji Normalitas Kelulushidupan Menggunakan SPSS.....	95
15. Hasil Gambar Histopatologi Ginjal Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	96

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perikanan merupakan salah satu subsektor yang berperan dalam perekonomian nasional melalui penyediaan bahan baku, meningkatkan devisa negara melalui ekspor hasil perikanan, menyediakan lapangan pekerjaan, meningkatkan pendapatan petani serta berkontribusi dalam peningkatan Produk Domestik Bruto (PDB). Salah satu komoditas yang digemari oleh masyarakat Indonesia yaitu ikan nila. Menurut Putra, Gunanti dan Luthfiana (2017), Perkembangan nila cukup pesat di Asia. Spesies ini merupakan komoditas yang penting karena menjadi salah satu sumber protein yang relatif ekonomis. Produksi ikan nila di Indonesia tingkat nasional pada tahun 2010 tercatat sebesar 464.191 ton, dan naik menjadi 999.695 ton pada tahun 2014.

Menurut Lumentut dan Hartati (2015), potensi ekonomis budidaya ikan konsumsi terutama ikan air tawar lebih menggiurkan dibandingkan dengan ikan air payau. Budidaya ikan konsumsi mampu menghasilkan pemasukan yang lebih besar karena permintaan pasar yang selalu tinggi. Produksi perikanan air tawar menyumbang lebih dari 80% dari total produksi.

Penyakit dapat menjadi kendala utama dalam keberhasilan produksi budidaya perairan. Menurut Suwarsito dan Mustafidah (2011), penyakit merupakan salah satu kendala dalam keberhasilan suatu budidaya ikan. Penyakit pada ikan dapat menimbulkan gangguan baik secara langsung maupun tidak langsung. Penyakit pada ikan timbul apabila organisme lain, pakan dan kondisi lingkungan kurang menunjang kehidupan ikan. Sehingga serangan penyakit di kolam dapat terjadi karena interaksi yang tidak serasi antara ikan, kondisi lingkungan dan patogen. Interaksi yang tidak serasi dapat membuat ikan stres, sehingga mekanisme pertahanan tubuh pada ikan menurun dan mudah terserang oleh penyakit.

Penyakit dapat menjadi kendala utama dalam keberhasilan produksi budidaya perairan. Menurut Suwarsito dan Mustafidah (2011), penyakit merupakan salah satu bakteri yang mengakibatkan penyakit pada ikan. Bakteri *P. aeruginosa* dapat langsung menyerang berbagai jenis ikan air tawar salah satunya ikan nila. Ikan yang terserang bakteri ini dapat dilihat tanda-tanda klinis seperti pembusukkan pada bagian sirip, terdapatnya hemoragi pada insang dan pembengkakan pada organ internal (ginjal). Apabila ikan terserang bakteri *P. aeruginosa* maka dapat mengakibatkan kegagalan dalam budidaya.

Permasalahan yang muncul adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa* semakin meningkat dan merugikan sosial ekonomi bagi para pembudidaya. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa* adalah penyakit Hemoragik Septicemia. Gejala eksternal adalah erythema atau kemerahan pada pangkal sirip daerah mulut, operkulum dan sekitar anus. Gejala internal yaitu erythema dan hemoragik pada bagian rongga perut dan organ dalam seperti kemerahan pada usus dan terdapat banyak lendir. Pada penelitian yang dilakukan oleh Anshari, Tumbol dan Kolopita (2014), penyakit Hemoragik Septicemia dapat dilakukan dengan menggunakan oksitetrasilin dan sulfamerasin namun kedua antibiotik ini sudah tidak diperbolehkan untuk kegiatan budidaya.

Salah satu cara mencegah apabila ikan terserang *P. aeruginosa* adalah pengobatan. Hal ini sesuai dengan pendapat Haryani, Grandiosa, Buwono dan Santika (2012), pengobatan dengan perendaman dalam larutan tradisional seperti kulit buah petai sangat efektif karena senyawa anti bakteri yang larut dalam air dapat diserap dengan baik oleh insang, ginjal, hati dan kulit. Penggunaan larutan tradisional seperti kulit buah petai merupakan sesuatu yang baru bagi kesehatan ikan dan pencegahan penyakit dalam kegiatan budidaya, terutama bagi histopatologi ginjal.

Menurut Mandia, Marusin dan Santoso (2013), ginjal melakukan fungsi penting yang berkaitan dengan elektrolit dan keseimbangan air serta mempertahankan lingkungan internal yang stabil (osmoregulasi). Organ ginjal dapat di jadikan indikator adanya pencemaran perairan. Pada ikan yang terinfeksi bakteri menunjukkan gejala ginjal ikan menunjukkan adanya kerusakan berupa hipertopi, kongesti dan nekrosis. Oleh karena itu, penggunaan bahan alami seperti kulit buah petai dapat mengatasi kerusakan terhadap ginjal ikan.

Menurut Rianti, (2018), kandungan dalam kulit buah petai merupakan flavanoid sebagai antioksidan, saponin mempercepat penyembuhan luka, alkaloid sebagai antimikroba. Senyawa tanin pada kulit buah petai dapat sebagai antibakteria. Pengobatan dari bahan tumbuhan alami dapat meningkatkan respon imun dari ikan.

Penelitian tentang manfaat ekstrak kasar kulit buah petai pernah dilakukan Fatimah (2016), melakukan penelitian kandungan didalam petai. Kandungan yang terdapat pada petai yaitu flavonoid, saponin dan tanin sebagai senyawa aktif antioksidan dimana kadar saponin dan tanin 50-85% dan flavonoid 5-6%. Hal ini juga pernah diujikan oleh Abdul, uyub, Ikenna, Nwachukwu, Azlan dan Fariza (2010), dengan dosis 32 ppm menghasilkan zona hambat 6,5-7,3 mm. Namun saat ini penelitian tentang ekstrak kasar kulit buah petai terhadap histopatologi ginjal nila (*O. niloticus*) yang telah diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* belum pernah dilakukan, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh ekstrak kasar kulit buah petai dalam mengobati ikan nila.

1.2 Rumusan Masalah

Salah satu permasalahan yang dihadapi dalam budidaya ikan nila (*O. niloticus*) adalah penyakit yang sering muncul dan organisme berbahaya lain. Penyakit

infeksi yang sering menyerang ikan nila adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa*.

Bakteri *P. aeruginosa* dapat menyerang ikan air tawar dan merugikan bagi pembudidaya karena dapat menyebabkan kematian pada organisme budidaya. Pemberian antibiotik pada komoditas budidaya untuk menanggulangi penyakit tidak diperbolehkan lagi karena dapat mengakibatkan sifat resisten terhadap bakteri, selain itu akumulasi dari antibiotik yang terkumpul pada tubuh ikan akan berdampak pada manusia.

Larutan kulit buah petai (*P. speciosa*) diharapkan dapat meningkatkan respon imun pada ikan nila (*O. niloticus*) dengan kandungan flavonoid didalamnya.

Dari uraian diatas, dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap histopatologi ginjal nila (*O. niloticus*) yang telah diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*?
2. Berapa pemberian dosis terbaik ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap histopatologi ginjal nila (*O. niloticus*) yang telah diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk :

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap histopatologi ginjal nila (*O. niloticus*) yang telah diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*
2. Menentukan konsentrasi ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap histopatologi ginjal nila (*O. niloticus*) yang telah diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*

1.4 Hipotesis

H0 : Diduga pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan dosis yang berbeda tidak mempengaruhi gambaran histopatologi jaringan ginjal ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*

H1 : Diduga pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan dosis yang berbeda dapat mempengaruhi gambaran histopatologi jaringan ginjal ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*

1.5 Kegunaan

Kegunaan bahan alami kulit buah petai (*P. speciosa*) sebagai salah satu alternatif pencegahan terhadap ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Selain itu, kegunaan dari penelitian ini adalah untuk memberi wawasan tentang bakteri *P. aeruginosa* yang bermanfaat bagi para pembaca.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Parasit dan Penyakit Ikan, Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Reproduksi Ikan, Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perairan Divisi Keamanan Hasil Perikanan, dan Laboratorium Hidrobiologi Divisi Sumberdaya Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Desember 2018 hingga Februari 2019.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sifat Biologi Ikan Nila (*O. niloticus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Nila (*O. niloticus*)

Menurut Arifin (2016), klasifikasi ikan nila adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Pisces
Subkelas	: Teleostei
Ordo	: Perchomorphi
Subordo	: Perchoidae
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>



Gambar 1. Ikan Nila (*O. niloticus*) (Heriyanto dan Ristiyanto, 2017)

Morfologi ikan nila dapat dilihat pada Gambar 1. Menurut Mujalifah, Santoso dan Laili (2018), ikan nila memiliki mata (*organum visus*) dengan retina hitam gelap dan bulat menonjol, tepi mata berwarna abu-abu, operkulum putih kehijauan. Sirip punggung (*dorsal fin*) keras dan terdapat garis berwarna hitam keabu-abuan. Sirip dada (*pectoral fin*) hitam keabu-abuan agak terang. Sirip perut (*ventral fin*) hitam keabu-abuan agak terang. Sirip anus (*anal fin*) keras berwarna hitam gelap. Sirip ekor (*caudal fin*) garis melintang yang ujungnya berwarna

kemerah-merahan. Sisik (*squama*) terdapat garis hitam keabu-abuan. Perut (*abdomen*) jika ditekan terasa keras.

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Menurut Jakfar, Agustono dan Manan (2014), ikan nila merupakan biota sungai yang ada di Indonesia dan memiliki nilai komersil yang cukup tinggi dan telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Habitat ikan nila yaitu di sungai, waduk dan lain-lain. Ikan nila suka mencari tempat yang aman dengan arus yang tidak terlalu deras.

Menurut Muhaemi, Tuhumury dan Siegers (2015), ikan nila dapat dijumpai di perairan dengan arus yang tenang dan mudah menyesuaikan dengan lingkungan. Kisaran oksigen terlarut yang baik untuk pertumbuhan dan perkembangan ikan nila sebesar tidak kurang dari 5 mg/l.

2.1.3 Kebiasaan Makan Ikan Nila

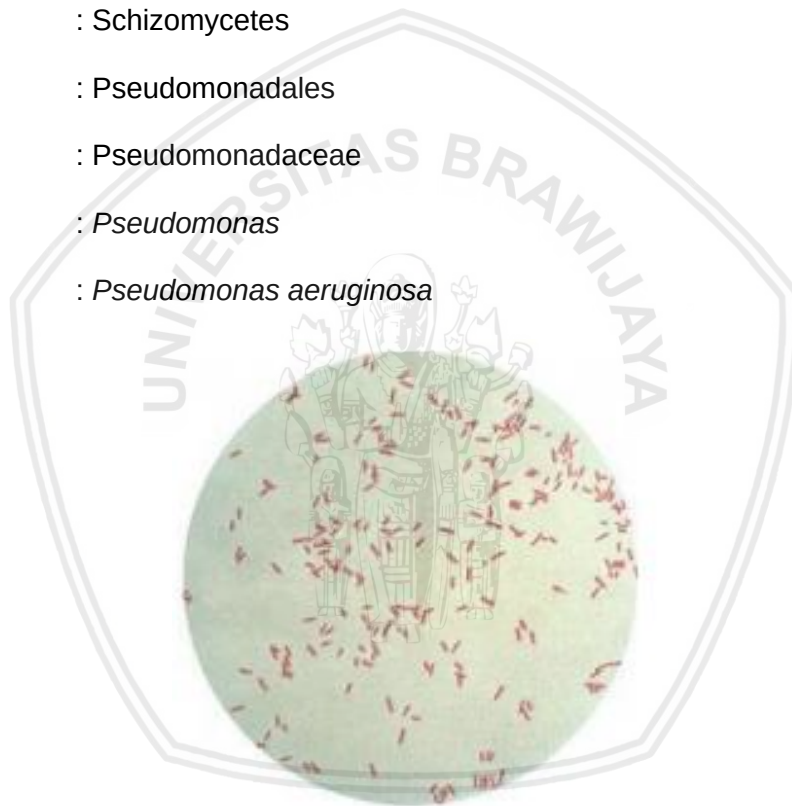
Menurut pendapat Iskandar dan Elrifadah (2015), ikan nila tergolong pemakan segala (*omnivora*), sehingga mudah untuk diberikan pakan tambahan. Pakan tambahan atau pelet dapat diberikan pada nila dengan minimal kandungan protein sebanyak 25%. Hal ini sesuai dengan pendapat Rukmana (1997), pada stadium larva atau benih memiliki kebiasaan mencari makan di perairan dangkal. Jenis makanan yang disukai larva atau benih yaitu zooplankton seperti algae, zat-zat renik yang melayang-layang dalam air dan udang-udang kecil. Pada saat ikan nila sudah dewasa ataupun ikan induk umumnya akan mencari makan di tempat yang dalam. Jenis pakan yang disukai nila dewasa yaitu fitoplankton, seperti algae berfilamen, tumbuhan air dan organisme renik yang melayang dalam air. Hal ini menunjukkan, bahwa budidaya nila memerlukan ketersediaan pakan alami yang memadai terutama pada stadium larva atau benih.

2.2 Sifat Biologi *P. aeruginosa*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi *P. aeruginosa*

Menurut Dwijayanti dan Pamungkas (2016), klasifikasi *P. aeruginosa* adalah sebagai berikut :

Klndom	: Prokaryota
Division	: Prothophyt
Subdivisi	: Schizomycetae
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>



Gambar 2. *P. aeruginosa* dengan pembesaran 400x (Ekawati, Husnul dan Herawati, 2018)

Hasil pewarnaan *P. aeruginosa* dapat dilihat pada Gambar 2. Pendapat Rahmadian, Ismail, Abrar, erina, Rastina dan Fahrimal (2018), *P. aeruginosa* merupakan bakteri patogen yang menyerang ikan air tawar. Bakteri *P. aeruginosa* memiliki karakteristik seperti bergram negatif, berbentuk batang atau kokus, aerob obligat, mempunyai motil atau flagel polar. Bentuk bakteri ini berbentuk batang dengan ukuran sekitar $0,6 \times 2 \mu\text{m}$.

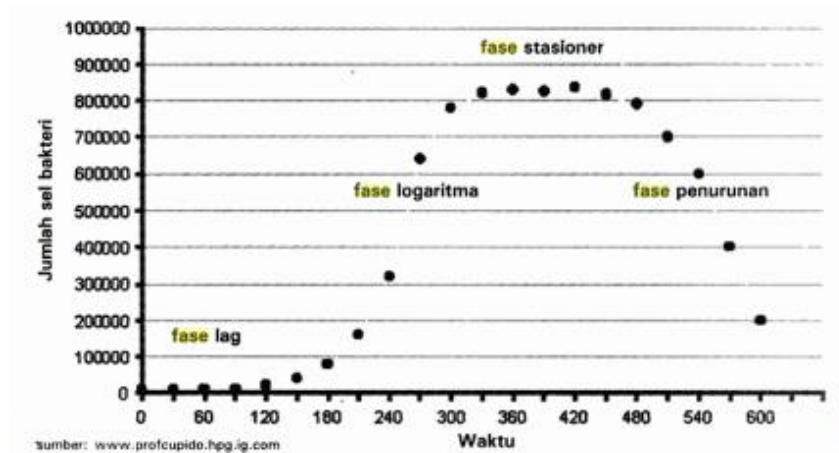
2.2.2 Pertumbuhan Bakteri *P. aeruginosa*

Menurut Hardi, Pebrianto, dan Saptiani (2014), bakteri *P. aeruginosa* dapat tumbuh baik pada suhu 15-30°C. Bakteri ini memiliki rentang pH tertentu yaitu antara 5,5-9,0. pH yang rendah merupakan keadaan yang optimal untuk bakteri ini berkembangbiak dengan pesat sehingga menyebabkan ikan stres ataupun mati.

Menurut Suyono dan Salahudin (2011), *P. aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif. Bakteri ini banyak ditemukan pada tanah, tanaman maupun air. Suhu optimal untuk *P. aeruginosa* berkisar antara 4-43°C.

2.2.3 Infeksi Bakteri *P. aeruginosa*

Daya tahan tubuh mempengaruhi kesehatan ikan dan menyebabkan ikan stres sehingga imun ikan akan melemah dan mudah terkena infeksi bakteri. Frekuensi ikan terinfeksi bakteri bervariasi, beberapa hari hingga beberapa minggu. Infeksi bakteri dapat terjadi karena permukaan tubuh yang luka, makanan dan sesuatu yang masuk melalui ginjal dan mengalir ke pembuluh darah dan menyebar sehingga menyebabkan septicemia (pecahnya pembuluh darah). Penularan penyakit dapat melalui kontak langsung dengan ikan yang sakit, melalui alat, dan cara penanganan dalam budidaya. Hal ini sesuai dengan pendapat Haryani, Grandiosa, Buwono dan Santika (2012), penularan bakteri *P. aeruginosa* sangat cepat melalui perantara air, kontak bagian tubuh ikan atau peralatan budidaya yang tercemar atau terkontaminasi bakteri. Apabila dalam kegiatan budidaya terdapat ikan yang terserang *P. aeruginosa*, dapat dikatakan penularan bakteri ini terjadi dalam waktu yang singkat. Bakteri ini bersifat patogen sehingga menyebar secara cepat pada padat penebaran yang tinggi dan mengakibatkan kerusakan pada bagian sirip bahkan kematian sampai 100%.



Gambar 3. Kurva pertumbuhan bakteri (Setiowati dan Furqonita, 2007)

Kurva pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Gambar 3. Terdapat 4 fase pada pertumbuhan bakteri yaitu fase lag, logaritma, stationer dan penurunan.

- Fase Lag

Fase ini merupakan perubahan bentuk dan pertumbuhan jumlah individu. Fase ini biasa disebut fase adaptasi (penyesuaian) dalam lingkungan yang baru.

- Fase eksponensial

Fase ini bakteri mulai berubah bentuk dan meningkatkan jumlah sel sehingga kurva meningkat dengan tajam.

- Fase Stasioner

Fase ini menunjukkan puncak aktivitas pertumbuhan pada titik yang tidak dapat dilampaui lagi, sehingga pada fase ini grafik mendatar.

- Fase Penurunan

Fase ini menunjukkan jumlah individu yang menurun secara tajam.

2.2.4 Mekanisme Kerja Antibakteri

Kematian bakteri oleh senyawa antimikroba biasanya disebabkan oleh mekanisme kerja antibakteri. Mekanisme antibakteri dapat menghambat sintesis protein dan merusak membran sitoplasma bakteri. Kulit buah petai dapat digunakan sebagai antibakteri karena adanya senyawa kimia yang terkandung

didalamnya, yaitu flavonoid, saponin tanin dan alkaloid (Retnowati, Bialangi dan Posangi, 2011).

Senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin dan tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan berbagai mekanisme kerja. Hal ini sesuai dengan pendapat Heni, Areneuz dan Zaharah (2015), bakteri dapat dihambat pertumbuhannya dengan cara merusak dinding sel, merubah molekul protein dan asam nukleat. Rusaknya dinding sel akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri sehingga menyebabkan kematian. Secara umum adanya kerja suatu bahan kimia sebagai senyawa antibakteri yang dapat mengakibatkan terjadinya perubahan yang mengarah pada kerusakan hingga terhambatnya sel bakteri tersebut. Flavonoid merupakan senyawa antibakteri yang dapat mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel. Mekanisme penghambatannya dengan cara merusak dinding sel yang terdiri atas lipid dan asam amino yang akan bereaksi dengan gugus alkohol pada flavonoid. Senyawa flavonoid mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga struktur tersier protein terganggu, dan protein tidak dapat berfungsi lagi sehingga terjadi kerusakan/denaturasi protein dan asam nukleat. Denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein serta mengganggu metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri.

2.3 Petai (*P. speciosa*)

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Petai (*P. speciosa*)

Menurut Sansena, Oktorida dan Wahyuni (2018), Klasifikasi petai adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Rosopsida

Ordo : Fabales
Family : Fabaceae
Genus : *Parkia*
Speies : *Parkia speciosa*



Gambar 4. Petai (Abdullah, Chang dan Lim, 2011).

Petai (Gambar 4) merupakan tanaman yang sering digunakan masyarakat sebagai bahan makanan. Menurut Nursucihta, Thai'in, Putri, Utami dan Ghani (2014), petai mempunyai manfaat yaitu sebagai anti hipertensi, menyembuhkan konstipasi, antidepresan dan kaya akan mineral. Selain itu, petai dapat digunakan sebagai antioksidan alami.

2.3.2 Habitat dan Penyebaran Petai (*P. speciosa*)

Tanaman petai merupakan tanaman asli Asia Tenggara salah satunya Indonesia. Tanaman petai memiliki khasiat yang luar biasa dan telah lama dikonsumsi oleh masyarakat. Secara umum semua bagian dari tumbuhan petai dapat dimanfaatkan. Pete mengandung senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan. Tanaman petai tersedia sangat melimpah di Indonesia, akan tetapi kulit buah petai masih belum banyak dipergunakan dan dibuang begitu saja sebagai limbah. Oleh karena itu, pemanfaatan kulit buah petai perlu diteliti lebih dalam. Selain itu, petai bermanfaat untuk pengobatan berbagai penyakit antara

lain mengobati hati dan ginjal, menurunkan tekanan darah tinggi dan stroke, luka lambung (Elidar, 2017).

Menurut Zulhendra, Fitmawati dan Sofiyanti (2016), petai (*P. speciosa*) merupakan tanaman bermanfaat yang tumbuh di daerah tropis, salah satunya di Indonesia. Petai mempunyai nilai guna yang cukup tinggi sebagai bahan pangan dan industri, serta berpotensi dimanfaatkan sebagai obat-obatan seperti obat hati, ginjal, sembelit, depresi, anemia dan lain-lain. Sehingga tanaman petai menjadi salah satu idola di masyarakat karena memiliki banyak manfaat. Salah satu penyebaran petai yang memiliki potensi paling tinggi yaitu di Kabupaten Indragiri. Hal ini dapat dilihat banyaknya pesanan petai yang berada di Indragiri.

2.3.3 Manfaat dan Kegunaan Petai (*P. speciosa*)

Manfaat dari tanaman ini sangat besar dalam pengobatan dan dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Tanaman ini memiliki kandungan antioksidan dan antimikroba yang tinggi. Secara tradisional petai memiliki manfaat sebagai obat untuk penyakit ginjal, hati, peluruh cacing, meningkatkan kekebalan tubuh, menambah vitalitas bagi laki-laki, anti radang alami, serta membersihkan selaput lendir (Prayoga, 2018).

Menurut Sirumapea dan Aswardi (2016), petai memiliki berbagai macam khasiat. Petai memiliki kandungan flavonoid dari tumbuhan dilaporkan dapat bertindak sebagai antioksidan disebabkan kemampuannya yang dapat menangkal radikal bebas. Kulit buah petai diketahui memiliki manfaat sebagai antioksidan, antidiabetik, dan antiangiogenik. Hal ini karena di dalamnya mengandung senyawa fenol dan flavonoid dalam jumlah yang besar. Dikalangan masyarakat hanya diketahui bahwa kulit buah petai yang mengandung fenol dapat digunakan untuk anti-inflamasi luar.

2.3.4 Kandungan Bahan Aktif Petai (*P. speciosa*)

Petai (*P. speciosa*) merupakan salah satu herbal yang sudah diteliti mempunyai kandungan flavonoid dan mempunyai efek antioksidan. Kandungan antioksidan di ketahui dapat dipergunakan untuk mengurangi nekrosis sel atau kerusakan sel pada ginjal. Antioksidan bekerja sebagai penangkal radikal bebas dengan mengikat ion logam, mendegradasi peroxidase menjadi senyawa non radikal, mencegah reaksi berantai dan memecah reaksi berantai. Sehingga antioksidan dapat mencegah kerusakan lebih lanjut pada ginjal dan mempercepat proses regenerasi pada sel-sel tubulus ginjal (Deviana, 2018). Senyawa kimia aktif yang berada pada kulit buah petai adalah flavonoid, saponin dan tanin. Flavonoid dapat mengurangi aktivitas antimikroba. Selain itu, kandungan didalam kulit buah petai dapat menyembuhkan luka pada lambung (Fatimah, 2016).

2.4 Uji Efektivitas Antimikroba Secara In Vitro

Selain metode MIC digunakan juga metode difusi cakram. Menurut Novita (2016), metode difusi cakram adalah metode yang paling sering digunakan dimana cara kerja difusi cakram yaitu antibakteri fraksi yang akan diuji diterapkan pada kertas cakram dan ditempelkan pada media agar yang telah dihomogenkan dengan bakteri kemudian diinkubasi sampai terlihat zona hambat didaerah sekitar cakram. Hasil uji efektivitas antimikroba secara In vitro dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Efektivitas Antimikroba Secara In Vitro

Perlakuan	Ulangan		Total	Rerata $\pm$ STD
	D1	D2		
A (10 ppm)	6,8	7,4	14,2	7,10 $\pm$ 0,42
B (25 ppm)	6,75	8,4	15,15	7,58 $\pm$ 1,17
C (40 ppm)	8,55	9,3	17,85	8,93 $\pm$ 0,53
D (55 ppm)	9,8	10,25	20,05	10,03 $\pm$ 0,32

Hasil uji in vitro memiliki kisaran zona hambat 7,10-10,03 mm. Zona bening tersebut terbentuk karena aktifitas antimikroba pada ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dan dapat digolongkan pada respon hambat sedang. Hal ini sesuai

dengan pendapat Kusmarwati dan Indriati (2008), aktivitas daya hambat bakteri dinyatakan berdasarkan zona bening yang dihasilkan di sekitar blank disk. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dalam satuan mm dan dijadikan ukuran kuantitatif untuk ukuran zona hambat. Aktivitas tersebut dikelompokkan menjadi 4 kategori yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Klasifikasi Respon Hambatan

Diameter Zona Bening	Respon Hambatan Pertumbuhan
(<5mm)	aktivitas lemah
(5–10 mm)	Sedang
(>10–20 mm)	Kuat
(>20–30 mm)	sangat kuat

2.5 Gejala Klinis

Menurut Sholichah (2014), gejala klinis merupakan tanda-tanda awal ikan terserang atau terinfeksi bakteri. Ikan yang terinfeksi bakteri biasanya memiliki beberapa tanda gejala klinis. Gejala klinis ikan yang terinfeksi bakteri yaitu ikan berenang ke permukaan dan menggosok-gosokkan badan pada bagian dinding toples, nafsu makan berkurang, gerakan berputar-putar, warna tubuh menjadi pucat, serta sisik mengelupas. Hal ini sesuai dengan pendapat Hardi, Pebrianto dan Saptiani (2014), gejala klinis ikan yang terinfeksi *P. aeruginosa* adalah warna tubuh menjadi pucat, sirip geripis dan ditemukan luka pada daerah yang terinfeksi. Selain itu, gejala yang ditimbulkan akibat *P. aeruginosa* yaitu ikan berenang didasar kolam dan lambat.

2.6 Histopatologi

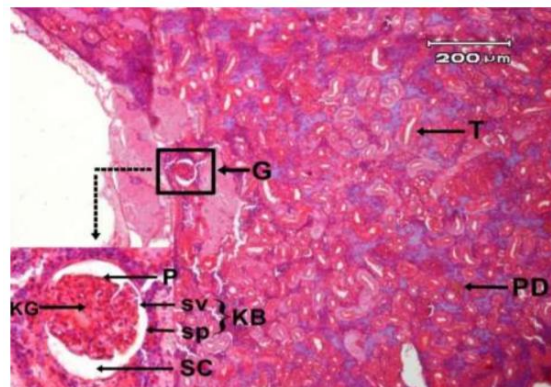
Histologi adalah ilmu yang mempelajari suatu organ atau bagian tubuh hewan atau tumbuhan secara cermat dan rinci. Histologi digunakan untuk mengamati, mempelajari dan meneliti jaringan-jaringan tertentu dari suatu organisme. Ilmu yang mempelajari kelainan patologi (abnormal) suatu jaringan disebut histopatologi (Pratiwi dan Manan, 2015).

Menurut Sukarni, Maftuch dan Nursyam (2012), analisa histopatologi dapat digunakan sebagai biomarker untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ-organ yang menjadi sasaran utama dari penyakit infeksius dan pengobatan dengan antibiotik seperti insang, hati, ginjal dan sebagainya. Selain itu, penggunaan biomarker histopatologi dapat digunakan dalam memonitoring perubahan pada jaringan organ dengan mengamati organ-organ tersebut yang memiliki fungsi penting dalam metabolisme tubuh sehingga dapat digunakan sebagai diagnosis awal terjadinya gangguan kesehatan pada suatu organisme.

2.7 Organ Ginjal Nila

2.7.1 Pengertian dan fungsi organ ginjal ikan

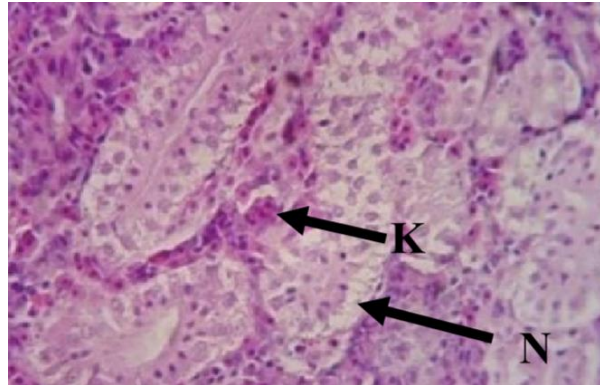
Ginjal merupakan salah satu organ yang sangat berperan penting pada ikan. Salah satu fungsi ginjal yaitu sebagai pengatur imun pada ikan. Pada seluruh bagian organ ini mengandung sel-sel imun (Suryadi, Sukenda dan Nuryati, 2017). Menurut Mandia, Marusin dan Santoso (2013), penurunan kualitas perairan yang terjadi akibat pencemaran dapat memicu kerusakan secara struktural dan fungsional pada berbagai organ ikan. Salah satu organ yang sensitif terhadap pencemaran adalah ginjal. Ginjal melakukan fungsi penting yang berkaitan dengan elektrolit dan keseimbangan air serta mempertahankan lingkungan internal yang stabil (osmoregulasi). Organ ginjal dapat di jadikan indikator adanya pencemaran perairan. Ginjal merupakan organ ekskresi dengan fungsi menyaring sisa-sisa metabolisme untuk dibuang dalam entuk urin. Gambar ginjal sehat dapat dilihat pada (Gambar 5).



Gambar 5. Struktur histologi ginjal ikan. Glomerulus (G), Tubulus (T) dan Pembuluh Darah (PD), Kapsula Bowman (KB), stratum visceral (sv), stratum parietal (sp), *Spatium capsulare* (SC), Kapiler Glomerulus (KG) dan Podosit (P). Potongan melintang, pewarnaan HE dan pembesaran 100x (Azani, Zainuddin dan Rahmi, 2017).

2.7.2 Kerusakan pada Organ Ginjal

Ginjal ikan yang terserang infeksi *P. aeruginosa* terlihat terjadi degenerasi dan nekrosis. Kerusakan yang terjadi pada struktur ginjal merupakan akibat dari enzim eksotoksin yang diproduksi *P. aeruginosa* sehingga menyebabkan disfungsi ginjal pada glomerulus. Glomerulus dapat ditembus oleh protein sehingga menyebabkan terjadinya degenerasi protein. Disfungsi pada glomerulus adalah terjadinya infiltrasi sehingga menyebabkan kerusakan pada tubulus ginjal (Hardi, Pebrianto dan Saptiani, 2014). Hal ini sesuai dengan pendapat Hardi, Sukenda dan Lusiastuti (2011), ginjal ikan yang terinfeksi bakteri menunjukkan adanya kerusakan struktural, yaitu hipertropi, kongesti dan nekrosis. Hipertropi disebabkan adanya bakteri masuk ke dalam ginjal melalui aliran darah dan menginfeksi tubulus ginjal. Infeksi bakteri mempengaruhi metabolisme yang dapat menyebabkan terjadinya degenerasi dan nekrosis pada tubulus ginjal. Kondisi ini merusak struktur dan fungsi ginjal, yang menyebabkan terganggunya proses metabolisme pada ginjal bahkan dapat menyebabkan kematian.



Gambar 6. Perubahan pada ginjal ikan. K: kongesti, N: nekrosis Menggunakan Perbesaran 400x dengan Pewarnaan HE (Sari, Risjani dan Mahendra, 2014).

2.7.3 Pembuatan preparat dalam Histopatologi

Pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan cara organ ginjal difiksasi dengan menggunakan larutan Netral Buffer Formalin 10% kemudian wajan specimen yang terbuat dari plastik. Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi pada alkohol konsentrasi bertingkat yaitu alkohol 70%, 80%, 90% alkohol absolutel, absolute II masing-masing 2 jam. Lalu dilakukan penjernihan dengan xylol kemudian dicetak menggunakan paraffin sehingga sediaan tercetak di dalam blok-blok paraffin dan disimpan dalam lemari es. Blok-blok paraffin tersebut kemudian dipotong tipis setebal 5-6 μ menggunakan mikrotom. Hasil potongan diapungkan dalam air hangat bersuhu 60°C selama 24 jam untuk meregangkan agar jaringan tidak berlipat. Kemudian diangkat dan diletakkan dalam gelas objek untuk dilakukan pewarnaan. Hematoxylin dan Eosin (HE). Selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop (Suhita, Sudira dan Winaya, 2013).

Tahap pembuatan sediaan histopatologi dilakukan sesuai metode Kiernan. Fiksasi jaringan dengan cara merendam dalam formalin buffer fosfat 10% selama 24 jam, kemudian diiris (*trimming*) agar dapat dimasukkan dalam kotak untuk diproses dalam tissue processor. Tahap berikutnya, jaringan tersebut dimasukkan ke dalam alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 96%, toluene 1 dan

toluene 2 masing-masing selama 2 jam. Selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam paraffin cair dengan suhu 56°C selama 2 jam sebanyak 2 kali. Jaringan kemudian diambil dengan pinset, dilanjutkan dengan pemblokkan menggunakan parafin blok. Pemotongan (*cutting*) dilakukan dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 μm . Jaringan yang terpotong dikembangkan di atas air dalam waterbath, kemudian ditangkap dengan gelas objek. Kemudian dikeringkan dalam suhu kamar dan preparat siap diwarnai dengan Hematoxylin Eosin (HE). Tahapan pewarnaan HE metode Harris adalah sebagai berikut: preparat di atas gelas objek direndam dalam xylol I 5 menit, dilanjutkan xylol II, III masing-masing 5 menit. Kemudian preparat direndam dalam alkohol 100% I dan II masing-masing 5 menit, selanjutnya ke dalam aquades dan kemudian direndam dalam Harris Hematoxylin selama 15 menit. Celupkan ke dalam aquades dengan cara mengangkat dan menurunkannya. Preparat kemudian dicelupkan ke dalam acid alkohol 1% selama 7-10 celupan, direndam dalam aquades 15 menit, dan dalam eosin selama 2 menit. Selanjutnya preparat direndam dalam alkohol 96% I dan II masing-masing 3 menit, alkohol 100 % I dan II masing-masing 3 menit, dan dalam xylol IV dan V masing-masing 5 menit. Preparat dikeringkan dan dilakukan mounting dengan menggunakan entelan. Preparat diperiksa di bawah mikroskop untuk pemeriksaan terhadap perubahan histopatologi (Swarayana, Sudira dan Berata, 2012).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3. Metode Penelitian

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian disajikan pada tabel 3 dan disajikan pada Lampiran 1.

Tabel 3. Alat Penelitian

No.	Alat	Kegunaan
1.	Toples plastik 16L	Untuk wadah pemeliharaan ikan nila (<i>O. niloticus</i>)
2.	Toples kaca 5L	Untuk wadah bahan pada saat maserasi kulit buah petai (<i>P. speciosa</i>)
3.	Akuarium 80x40x40cm	Untuk wadah aklimatisasi nila (<i>O. niloticus</i>)
4.	Timbangan digital	Untuk menimbang bahan yang digunakan dengan ketelitian 10^{-2}
5.	Batu aerator	Untuk menyalurkan suplai oksigen pada nila (<i>O. niloticus</i>)
6.	Blower	Untuk penyuplai oksigen pada nila (<i>O. niloticus</i>)
7.	Selang air	Untuk membantu mengisi air pada toples
8.	Nampan	Untuk wadah alat dan bahan yang digunakan
9.	Oven	Untuk memanaskan sampel
10.	Blender	Untuk menghaluskan kulit buah petai yang telah dikeringkan
11.	Jarum ose	Untuk mengambil bakteri dari media pada saat penanaman bakteri.
12.	Bunsen	Untuk pengondisian aseptis di dalam LAF
13.	Tabung reaksi	Untuk wadah media bakteri <i>P. aeruginosa</i>
14.	Lemari pendingin	Untuk menyimpan ekstrak kasar kulit buah petai
15.	Botol film	Untuk wadah ekstrak kasar kulit buah petai dan ginjal nila
16.	Gelas ukur	Untuk wadah mengukur larutan
17.	Sprayer	Untuk wadah alkohol 70%
18.	Mikroskop	Untuk mengamati jaringan pada ginjal nila (<i>O. niloticus</i>)
19.	Spektrofotometer	Untuk mengukur panjang gelombang bahan pada saat uji MIC
20.	Rotary Evaporator	Untuk memisahkan ekstrak kasar dengan etanol
21.	Inkubator	Sebagai tempat inkubasi <i>P. aeruginosa</i>
22.	Vortex mixer	Untuk menghomogenkan larutan
23.	Object glass	Untuk tempat sampel yang akan diamati

No.	Alat	Kegunaan
24.	Cover glass	Untuk penutup sampel yang akan diamati
25.	Seser ikan	Untuk membantu mengambil ikan
26.	Erlenmeyer	Untuk wadah pengenceran ekstrak
27.	Hotplate	Untuk memanaskan media
28.	pH meter	Untuk mengukur parameter kualitas air pH
29.	DO meter	Untuk mengukur parameter kualitas air DO dan Suhu
30.	Tabung reaksi	Untuk wadah peremajaan bakteri <i>P. aeruginosa</i>
31.	Rak tabung reaksi	Untuk wadah tabung reaksi
32.	Penggaris	Untuk mengukur panjang ikan
33.	Spatula	Untuk menghomogenkan larutan
34.	Autoklaf	Untuk mensterilkan alat bahan yang akan digunakan
35.	Laminary Air Flow (LAF)	Untuk preparasi bahan-bahan mikrobiologi dan sebagai tempat penanaman bakteri agar tidak terkontaminasi dengan udara luar
36.	Beaker glass	Untuk wadah tabung reaksi pada saat sterilisasi
38.	Jangka Sorong	Untuk membantu mengukur zona bening pada Uji In Vitro
39.	Sectio set	Untuk membantu pada saat pengambilan organ ginjal nila (<i>O. niloticus</i>)
40.	Cawan Petri	Untuk uji cakram
41.	Cotton Swap	Untuk alat pada uji cakram

3.1.2 Bahan

Bahan beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 4 dan disajikan pada Lampiran 2.

Tabel 4. Bahan Penelitian

No.	Bahan	Kegunaan
1.	Nila (<i>O. niloticus</i>) ukuran 8-10 cm	Sebagai ikan yang diuji
2.	Kulit buah petai (<i>P. speciosa</i>)	Sebagai bahan untuk pembuatan ekstrak kasar
3.	Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	Sebagai bakteri yang digunakan pada saat penginfeksian
4.	Alumunium foil	Sebagai penutup seluruh bagian <i>beaker glass</i> dan <i>erlenmeyer</i> pada saat disterilkan
5.	Alkohol 70%	Sebagai bahan pengkondisian aseptis
6.	Etanol 96%	Sebagai bahan pelarut kulit buah petai pada saat maserasi
7.	Akuades	Sebagai bahan pelarut dalam pengenceran media dan bakteri
8.	Sarung tangan	Sebagai bahan pengondisian aseptis pada tangan

No.	Bahan	Kegunaan
9.	Kertas saring	Sebagai penyaring bahan setelah
10.	Kertas bekas	Sebagai pembungkus peralatan yang akan disterilisasi
11.	Masker	Sebagai pengondisian aseptis
12.	Tisu	Sebagai pembersih alat yang sudah digunakan
13.	Kapas	Sebagai penutup alat pada saat sterilisasi
14.	Kertas label	Sebagai penanda
15.	<i>Pseudomonas Selective Agar (PSA)</i>	Sebagai media peremajaan bakteri dalam bentuk agar
17.	<i>Tryptic Soy Broth (TSB)</i>	Sebagai media tumbuh bakteri dalam MIC
18.	Air media	Sebagai media hidup ikan uji
19.	BaCl	Sebagai bahan pada saat McFarland
20.	H ₂ SO ₄	Sebagai bahan pada saat McFarland
22.	Blankdisk	Sebagai bahan pada saat Uji Cakram
23.	DMSO 10%	Sebagai bahan pelarut dalam pengenceran ekstrak

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental, metode ini merupakan metode penelitian yang memungkinkan peneliti memanipulasi variabel dan meneliti akibatnya. Menurut Riani, Rostika dan Lili (2012), metode eksperimental adalah metode yang digunakan dalam penelitian dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Metode eksperimental memungkinkan sebab akibat dengan mengenakan satu atau lebih kondisi perlakuan. Selain itu, untuk mengidentifikasi variabel-variabel dan menentukan sebab akibat suatu kejadian.

Metode penelitian dalam menganalisa gejala klinis menggunakan metode deskriptif. Menurut Firmansyah, Lubis dan Zulkifli (2016), metode deskriptif atau penguraian empiris adalah metode yang paling sering digunakan. Metode deskriptif digunakan untuk memberikan gambaran data yang dikumpulkan pada saat penelitian, sedangkan penelitian empiris berarti penelitian yang berdasarkan pengalaman, apakah pengalaman sendiri atau pengalaman orang lain. Metode ini bertujuan menggambarkan data berdasarkan fakta dan karakteristik objek yang

diteliti secara tepat. Penggunaan metode deskriptif memungkinkan melakukan hubungan sebab akibat antar variabel, menguji hipotesis dan mengembangkan generalisasi. Selain itu, pengumpulan data untuk melihat hipotesis yang berkaitan dengan keadaan sekarang.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL merupakan rancangan yang paling sederhana diantara rancangan-rancangan percobaan yang lain. Dalam rancangan ini perlakuan dikenakan sepenuhnya secara acak terhadap satuan-satuan percobaan atau sebaliknya. Pola ini dikenal sebagai pengacakan lengkap atau pengacakan tanpa pembatasan. Penerapan percobaan satu faktor dalam RAL biasanya digunakan jika kondisi satuan-satuan percobaan relatif homogen (Muhammad, Rusgiyono dan Mukid, 2014).

Penentuan dosis perlakuan berdasarkan hasil MIC (penelitian pendahuluan). Dosis yang digunakan yaitu 1.000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, 10 ppm, 1 ppm, Kontrol positif dan Kontrol negatif tersebut dilihat tabung yang bening dan mendekati kontrol positif untuk dilakukan uji MIC. Adapun hasil dari uji MIC disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Pengamatan (Pendahuluan)

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Warna
1	1000	0,058	Bening
2	500	0,105	Bening
3	100	0,157	Bening
4	10	0,188	Bening
5	1	0,204	Keruh
6	K+	0,188	Bening
7	K-	0,518	Keruh

Hasil diatas menunjukkan bahwa dosis 10 ppm dapat menghambat bakteri *P. aeruginosa*. Hal ini dikarenakan absorbansi sama dengan nilai kontrol positif, dan dipilihnya dosis tersebut karena merupakan dosis efektif karena bakteri *P.*

aeruginosa merupakan bakteri yang sensitif yang termasuk dalam bakteri HPIK (Hama dan Penyakit Ikan Karantina).

Penelitian ini terdiri dari satu faktor dengan 4 perlakuan dan 1 kontrol positif dan 1 kontrol negatif dengan 3 kali ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan dosis larutan kulit buah petai terhadap ikan nila (*O. niloticus*) ukuran 8-10 cm yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*.

Dosis ekstrak kulit buah petai yang digunakan adalah :

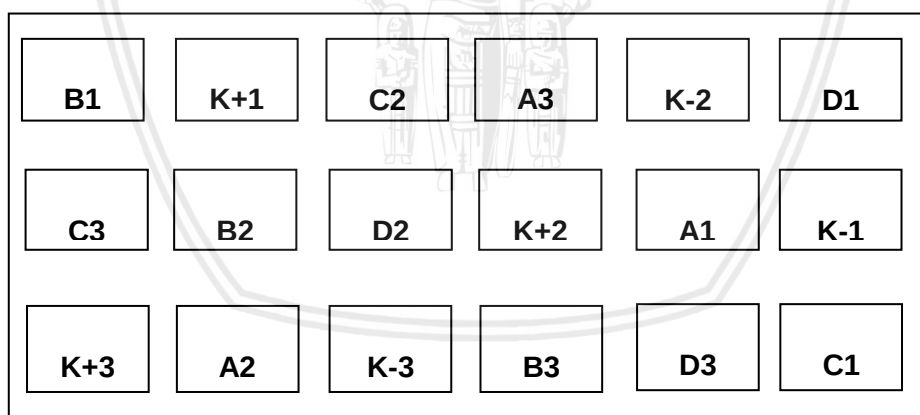
A : Dosis kulit buah petai 10 ppm

B : Dosis kulit buah petai 25 ppm

C : Dosis kulit buah petai 40 ppm

D : Dosis kulit buah petai 55 ppm

Ulangan yang digunakan sebanyak 3 kali untuk setiap perlakuan. Penempatan perlakuan dilakukan secara acak dengan denah perlakuan dapat dilihat pada (Gambar 7).



Gambar 7. Denah Rancangan Percobaan

K+ : Toples dengan perlakuan ikan yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dengan pemberian antibiotik tetrasiklin 30 ppm

K- : Toples dengan perlakuan ikan yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan tanpa pemberian ekstrak kulit buah petai

A : Toples dengan perlakuan ikan yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dengan pemberian ekstrak kulit buah petai 10 ppm

B : Toples dengan perlakuan ikan yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dengan pemberian ekstrak kulit buah petai 25 ppm

C : Toples dengan perlakuan ikan yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dengan pemberian ekstrak kulit buah petai 40 ppm

D : Toples dengan perlakuan ikan yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dengan pemberian ekstrak kulit buah petai 55 ppm

1,2,3 ulangan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan penelitian

Persiapan penelitian meliputi beberapa aspek, yaitu sterilisasi alat dan bahan, sterilisasi wadah perlakuan, pembuatan ekstrak kulit buah petai (*P. speciosa*), pembuatan media PSA, TSB, dan peremajaan maupun pembiakkan bakteri *P. aeruginosa*. Selain itu, aspek dari persiapan penelitian yaitu cara menghitung kepadatan dari bakteri *P. aeruginosa* serta cara memperoleh kepadatan bakteri *P. aeruginosa* 10^7 sel/ml yang dijelaskan sebagai berikut:

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi dilakukan sebelum alat dan bahan akan digunakan. Tujuan sterilisasi yaitu membunuh mikroorganisme yang menempel pada alat dan bahan. Proses sterilisasi meliputi sebagai berikut:

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan sabun, kemudian dikeringkan dan ditutup dengan kapas lalu dibungkus dengan *plastic wrap*.
- Masukkan alat-alat yang akan di sterilisasi kedalam gelas ukur, sedangkan bahan yang akan digunakan letakkan pada Erlenmeyer lalu tutup dengan kapas dan dibungkus dengan *plastic wrap*.
- Akuades dituang ke dalam autoklaf secukupnya.

- Alat yang telah dibungkus dimasukkan ke dalam autoklaf, kemudian tutup autoklaf dengan cara mengencangkan baut secara simetris.
- Letakkan autoklaf diatas kompor dan nyalakan api.
- Tunggu sampai autoklaf mencapai suhu 121°C dan tekanan menunjukkan 2 atm, lalu klep uap air dibuka.
- Kemudian api dikecilkan selama 15 menit.
- Matikan kompor dan autoklaf ditunggu sampai tidak berbunyi, kemudian autoklaf dibuka.
- Alat yang sudah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

b. Sterilisasi Tempat Perlakuan

Sterilisasi tempat sangat diperlakukan dalam penelitian ini guna menghindari kontaminasi. Area sekitar tempat perlakuan diusahakan aseptis dengan cara menyemprotkan alkohol 70% ke meja maupun tempat lainnya. Selain itu, cara menjaga area penelitian tetap steril dapat dilakukan dengan menyalakan bunsen, serta dapat dengan cara penyinaran sinar UV yang terdapat pada ruangan *Laminary Air Flow* (LAF).

c. Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Petai (*P. speciosa*)

Kulit buah petai (*P. speciosa*) diperoleh dari Sambel Cak Uut yang berlokasi di Jalan Raya Langsep No. 41 Malang, Jawa Timur sebanyak 8 kg dengan Uji Fitokimia pada Lampiran 3. Kulit buah petai dibersihkan dan dicuci dengan air terlebih dahulu, kemudian ditiriskan dan dikeringkan menggunakan oven selama kurang lebih 1 minggu. Setelah kering di blender hingga menjadi bubuk. Setelah menjadi bubuk kulit buah petai beratnya menjadi 5 kg.

Serbuk kulit buah petai direndam (maserasi) dengan cara melarutkan serbuk simplisia sebanyak 500 gram kedalam 2.500 ml etanol teknis lalu ditutup dengan

menggunakan plastik wrap dan plastik/kresek hitam dan dibiarkan selama 72 jam (3 hari). Setelah 72 jam, sampel yang direndam disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrate dan ampas. Filtrat di evaporasi dengan *Rotary Evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental kulit buah petai. Pemekatan ekstrak kulit buah petai menggunakan *water bath* dengan suhu 40°C sampai berbentuk pasta. Ekstrak yang didapatkan sebanyak 34 g dan didapatkan hasil perhitungan rendemen sebesar 6,8%. Ekstrak hasil evaporasi diletakkan dalam botol film dan dibungkus dengan *aluminium foil*, selanjutnya disimpan pada lemari pendingin. Adapun perhitungan rendemen disajikan pada Lampiran 4.

d. Pembuatan Media

Media yang dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri tersebut yaitu media PSA dan media TSB. Mekanisme pembuatan media diantaranya adalah sebagai berikut:

1. Media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*)

Media PSA merupakan media padat yang digunakan untuk kultur bakteri *P. aeruginosa*. Dosis 24,2/500ml. Adapun proses pembuatan media PSA sebagai berikut:

- Media PSA ditimbang sebanyak 0,484 g menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 10 ml aquades.
- Larutan dihomogenkan hingga larut sempurna yang dicirikan dengan warna larutan berwarna kuning.
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan *plastic wrap* kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama ± 30 menit.
- Media yang akan digunakan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu $\pm 30^\circ\text{C}$ karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.

2. *Tryptic Soy Broth (TSB)*

Media TSB digunakan sebagai media untuk peremajaan bakteri *P. aeruginosa*. Dosis yang digunakan dalam pembuatan TSB sebesar 30 g/L. Adapun proses pembuatan media TSB adalah sebagai berikut:

- Media TSB ditimbang sebanyak 0,6 g dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 20 ml aquades.
- Dihomogenkan sampai larut kemudian ditutup dengan kapas dan dibungkus *plastic wrap*, selanjutnya direbus selama ± 15 menit.
- Erlenmeyer kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama ± 30 menit.
- Media TSB yang akan digunakan ditunggu hingga hangat kemudian dituang pada tabung reaksi, kemudian tutup tabung reaksi dengan kapas.
- Apabila hendak digunakan dan dapat disimpan pada lemari pendingin dengan diberi label jika hendak digunakan keesokan harinya.

e. **Persiapan Bakteri *P. aeruginosa***

Bakteri *P. aeruginosa* diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya dengan hasil Uji Biokimia pada Lampiran 5. Isolat murni yang kemudian diremajakan pada media agar miring dan media cair yaitu dengan menggunakan media PSA (*Pseudomonas Soy Agar*) dan TSB (*Tryptic Soy Broth*). Bakteri yang diperoleh dengan kepadatan $<3 \times 10^8$ sel/ml hasil pengukuran pada media TSB (*Tryptic Soy Broth*) yang sudah dicocokkan dengan metode McFarland. Adapun perhitungan kepadatan bakteri dengan McFarland disajikan pada Lampiran 6. Langkah-langkah dalam penentuan tersebut adalah sebagai berikut :

- Pembuatan media bakteri
- Perhitungan kepadatan bakteri

Perhitungan kepadatan bakteri yang ada pada media TSB dapat dilakukan dengan metode Mc. Farland dengan cara :

- Menyediakan 10 tabung reaksi yang bersih.
- Membuat larutan H_2SO_4 murni dalam 1% dan membuat larutan BaCl dalam 1%.
- Campurkan kedua jenis larutan tersebut dalam tabung berdasarkan perbandingan yang ada pada tabel. Sehingga isi dari satu tabung tersebut menjadi 10 ml larutan. Kemudian tutuplah tabung-tabung tersebut.
- Suspensi larutan yang terdapat dalam tabung tersebut sama dengan jumlah suspensi bakteri *P. aeruginosa* per ml.

Untuk mendapatkan bakteri *P. aeruginosa* dalam bentuk media padat, maka bakteri dibiakan pada media PSA. Adapun prosedur yang dilakukan dalam pembiakan bakteri *P. aeruginosa* adalah sebagai berikut:

- Peralatan yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu, kemudian disiapkan media PSA
- Panaskan jarum ose di atas bunsen hingga berwarna merah menyala kemudian didinginkan jarum ose disentuhkan ke biakan murni *P. aeruginosa* kemudian digoreskan ke dalam cawan petri yang telah berisi media PSA.
- Media PSA dibiarkan 24 jam dalam inkubator pada suhu 30°C.
- Setelah 24 jam dan media telah tampak keruh, selanjutnya simpan media kedalam kulkas.

Untuk mendapatkan bakteri dalam bentuk cair, maka bakteri diremajakan menggunakan media cair yaitu TSB. Adapun langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:

- Siapkan media TSB yang sudah steril.

- Panaskan jarum ose yang akan digunakan hingga berwarna merah menyala kemudian dinginkan jarum ose pada ujung media agar TSB.
- Membuka penutup kapas pada tabung reaksi yang telah berisi bakteri kemudian panaskan ujung tabung terlebih dahulu di atas bunsen.
- Mengambil satu inokulan bakteri dengan jarum ose dari hasil peremajaan sebelumnya kemudian celupkan pada media agar yang masih steril di dekat bunsen yang menyala.
- Setelah itu, media diinkubasi di inkubator selama 24 jam dengan suhu 30°C untuk melihat pertumbuhan bakteri.
- Setelah bakteri pada media agar tumbuh, media disimpan dalam kulkas.

f. Penentuan *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC)

MIC adalah konsentrasi terendah bahan antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Metode pengujian MIC dilakukan dengan metode dilusi cair hal ini sesuai dengan penelitian (Aristyawan, Sugiyanto dan Suciati, 2017). MIC dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi terkecil bahan obat-obatan (ekstrak kulit buah petai) sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme (bakteri *P. aeruginosa*) secara makroskopis. Perhitungan dosis ekstrak kulit buah petai (*P. speciosa*) disajikan pada Lampiran 7. Adapun prosedur yang dilakukan untuk melakukan uji MIC adalah sebagai berikut:

- Siapkan TSB steril yang dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml.
- Ekstrak kasar kulit buah petai diberikan pada tabung reaksi yang berisi TSB dengan dosis yang berbeda pada setiap tabungnya sebanyak 1 ml. Dosis yang digunakan pada uji MIC ini adalah 1000, 500, 100, 10, 1. Dalam uji MIC ini menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif.
- Setiap tabung reaksi diberi isolat bakteri 1 ml.
- Inkubasi dengan suhu 30°C selama 24 jam.

- Media dicek kekeruhannya dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer *UV 1700 Pharma Spec UV-Vis spectro photometry Simadzu* dengan panjang gelombang 600 nm.
- Dicatat nilai absorbansi yang tertera pada monitor spektrofotometer.

g. Uji Cakram

Untuk mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) maka diperlukan uji daya hambat dengan menggunakan kertas cakram. Menurut Karta dan Burhannuddin (2017), uji cakram merupakan cara yang sering dipakai untuk menentukan kepekaan bakteri/jamur terhadap berbagai macam obat-obatan. Kertas cakram yang mengandung suatu obat dengan konsentrasi tertentu diletakkan pada lempeng agar yang berisi bakteri. Prinsip dari kertas cakram adalah menghambat pertumbuhan mikroorganisme, yaitu zona hambatan akan terlihat di sekitar daerah blank disk yaitu berwarna bening. Uji cakram dilakukan dengan menggunakan perlakuan dosis 10ppm; 25ppm; 40ppm dan 55ppm serta kontrol positif dan negatif. Hasil yang didapatkan hasil uji ektivitas dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Efektivitas Antimikroba

Ulangan	Perlakuan	Nilai Cakram
D1	A (10 ppm)	6,80
	B (25 ppm)	6,75
	C (40 ppm)	8,55
	D (55 ppm)	9,80
D2	A (10 ppm)	7,40
	B (25 ppm)	8,40
	C (40 ppm)	9,30
	D (55 ppm)	10,25

Adapaun prosedur untuk melakukan uji cakram adalah sebagai berikut:

1. Cawan petri yang telah terdapat media PSA sebanyak 25 ml disiapkan terlebih dahulu
2. Siapkan bakteri yang telah diinokulasi pada media TSB

3. Penanaman bakteri pada media PSA dilakukan dengan cara mencelupkan cotton swap pada bakteri
4. Bakteri digoreskan pada media PSA dengan metode sebar. Penanaman dilakukan pada *Laminary Air Flow* agar kondisi tetap steril dan tidak terkontaminasi
5. Rendam kertas kertas cakram pada masing-masing konsentrasi yang telah ditentukan selama 15 menit
6. Kertas cakram ditiriskan dan diletakkan pada lempeng agar yang telah ditanami bakteri
7. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu ruang 30°C
8. Diukur diameter zona bening yang berada pada sekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong untuk menentukan konsentrasi optimum yang dapat menghambat bakteri.

h. Persiapan Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan adalah nila (*O. niloticus*) yang didapatkan dari UPR Sumber Mina Lestari Desa Sumber Sekar Dusun Banjar Tengah Kecamatan Dau Kabupaten Malang. Ikan yang digunakan dalam penelitian berukuran 8–10 cm dan bobot ikan 15-20 g. Ikan dipelihara di bak portable yang berukuran 200 cm x 75 cm untuk pengadaptasian. Mengacu pada penelitian Siantara, Limantara, Dewi dan Widawati (2017), bahwa padat tebar ikan uji yang digunakan pada toples sebanyak 10 ekor/m³. Masing–masing toples yang akan digunakan diisi 10 L air dan ikan uji sebanyak 10 ekor. Selanjutnya ikan diaklimatisasi selama 3 hari pada toples. Selama aklimatisasi ikan nila diberi pakan pelet secara adlibitum sebanyak 3 kali sehari, dan dilakukan penyifonan pagi hari.

i. Uji LD₅₀

Pada uji LD₅₀ dosis yang digunakan berdasarkan dosis uji MIC yang sudah dilakukan. Hasil yang diperoleh pada Uji MIC pada konsentrasi 10 ppm sudah

dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Uji LD₅₀ mempunyai tujuan untuk mengetahui kematian 50% hewan percobaan sehingga perlu adanya dosis pembanding. Dosis yang digunakan untuk LD₅₀ yaitu 10 ppm, 25 ppm, 40 ppm, dan 55 ppm. Ikan yang digunakan pada uji LD₅₀ yaitu nila (*O. niloticus*) dengan ukuran 8-10 cm dengan jumlah 40 ekor yang dibagi menjadi 4 perlakuan sehingga setiap perlakuan terdapat 10 ekor nila. Sebelum dilakukan pemberian perlakuan, ikan diadaptasikan selama 1 minggu dan diberi pakan 3 kali sehari yaitu pukul 08.00, 13.00 dan 16.00 WIB. Setelah itu ikan diletakkan ke dalam toples perlakuan yang berukuran 16 L dan diberi ekstrak kulit buah petai (*P. aeruginosa*) sesuai dengan dosis yang telah ditentukan. Kemudian amati ikan selama 48 jam. Hasil uji LD₅₀ sehingga dapat disimpulkan bahwa kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan dosis 10-55 ppm tidak bersifat toksik bagi nila (*O. niloticus*), sehingga ekstrak kulit buah petai (*P. speciosa*) dapat diaplikasikan pada nila (*O. niloticus*) dengan dosis 10-55 ppm.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian dibagi dalam beberapa tahap, yaitu sebagai berikut:

a. Penginfeksian Ikan Uji dengan Bakteri *P. aeruginosa*

Penginfeksian dilakukan maksimal 24 jam sebelum perendaman ekstrak. Penginfeksian menggunakan bakteri *P. aeruginosa* dengan metode perendaman pada toples yang berbeda selama 24 jam dengan kepadatan bakteri 10⁷ sel/ml. Dari hasil perhitungan pengenceran bakteri, dapat diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan untuk penginfeksian sebanyak 333 ml dan air tawar sebanyak 9,667 liter. Selanjutnya, 10 ekor ikan nila dimasukkan kedalam toples berisi bakteri *P. aeruginosa* dan direndam selama 24 jam sampai ikan menunjukkan gejala klinis (sisik mengelupas dan ekor geripis). Kemudian setelah diinfeksi, ikan dipindahkan

ke toples yang berisi air tanpa ekstrak kulit buah petai (*P. speciosa*) maupun bakteri *P. aeruginosa*.

Bakteri yang akan digunakan dalam penelitian ini sebaiknya memiliki kepadatan 10^7 sehingga dilakukan perhitungan pengenceran menurut Liliandari dan Aunorohim (2013) menggunakan rumus :

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

Keterangan :

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

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

V_1 : Volume suspensi bakteri dalam TSB yang dibutuhkan

V_2 : Volume media air dalam wadah pemeliharaan ikan

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

$$V_1 \times 3 \times 10^8 = 10.000 \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{1 \times 10^{11}}{3 \times 10^8}$$

$$V_1 = \frac{1 \times 10^3}{3}$$

$$V_1 = 333 \text{ ml}$$

Berdasarkan perhitungan diatas diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan adalah sebanyak 333 ml, sedangkan air tawar yang digunakan adalah sebesar 9.667 ml. kemudian bakteri direndam di dalam media yang telah dicampur dengan bakteri dan diamati gejala klinis ikan yang telah direndam. Sampel uji diinfeksi dengan cara perendaman di dalam bakteri selama 24 jam. Setelah itu ikan nila (*O. niloticus*) yang telah dipelihara dipindahkan ke dalam toples pengobatan dengan perlakuan yang berbeda.

b. Pemberian Ekstrak Kulit Buah Petai (*P. speciosa*) pada Nila (*O. niloticus*)

Ikan nila (*O. niloticus*) diadaptasikan (aklimatisasi) selama 1 minggu di dalam akuarium. Kemudian, media (air) yang belum diendapkan selama 24 jam

dalam akuarium. Setelah 24 jam air siap untuk digunakan. Pemeliharaan dilakukan di toples plastik yang sebelumnya dibersihkan menggunakan air bersih dan diberi sabun agar bakteri dan kotoran yang masih menempel hilang. Lalu, toples tersebut dikeringkan dibawah sinar matahari dan disemprot menggunakan alkohol 96% agar bakteri yang masih tersisa mati. Setelah itu toples siap untuk digunakan. Tahap selanjutnya adalah masing-masing toples diisi air sebanyak 10 liter (2/3 volume air) dan diberi aerasi. Kemudian, diberi perlakuan ekstrak kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 10 ppm, 25 ppm, 40 ppm dan 55 ppm selama 48 jam. Setelah direndam selama 48 jam, ikan dipindahkan ke toples yang berisi air tanpa ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*). Adapun perhitungan dosis ekstrak disajikan pada Lampiran 8.

3.5 Uji Histopatologi Ginjal

3.5.1 Pengambilan Jaringan

Pengambilan jaringan ginjal nila dilakukan sebanyak 3 kali yaitu pada ikan normal yang tidak diinfeksi, pada ikan yang sudah diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pada ikan yang sudah diberi perlakuan pemberian ekstrak kulit buah petai (*P. speciosa*). Setiap perlakuan diambil satu sampel ginjal ikan. Cara pengambilan ginjal pertama ikan dibedah dengan menggunakan *sectio set*. Kemudian ambil organ dalam dan letakkan pada alas kaca, kemudian ginjal diambil dan dipisahkan dari organ lainnya. Setelah itu ginjal dimasukkan ke dalam botol film dan diberi larutan formalin 10% sebagai pengawet, kemudian dilakukan pembuatan preparat untuk histopatologi.

3.5.2 Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal

Setelah diadaptasi, ikan diambil sampel ginjal untuk diamati histopatologinya. Sampel ginjal dimasukkan ke dalam botol film dan diberi bahan

pengawet yaitu formalin 10%, dilanjutkan dengan pembuatan dan pengamatan preparat hasil histopatologi. Tahapan-tahapannya yaitu:

- Tahap Fiksasi

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

- Tahap Dehidrasi

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

- Tahap Clearing

Tahap clearing untuk mentransparankan dan mengganti larutan alkohol dari jaringan. Cara melakukan yaitu dicelupkan ke dalam larutan xylol 1 selama 1 jam, xylol 2 selama 2 jam dan xylol 3 selama 2 jam.

- Tahap Impregnasi

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

- Tahap *Embedding* (pengeblokan)

Tahapan ini bertujuan untuk memudahkan penyayatan dengan mikrotom. Setelah penyayatan bahan yang sudah diblok selesai, langkah selanjutnya memasukkan hasil sayatan ke dalam *waterbath* (suhu 40°C), kemudian pilih hasil sayatan yang terbaik dan siapkan obyek glass (untuk pewarnaan HE), sebelumnya obyek glass digunakan diolesi dengan perekat polysilin. Kemudian keringkan pada oven dengan suhu 50-60°C selama 30 menit

- Teknik pewarnaan jaringan menggunakan HE

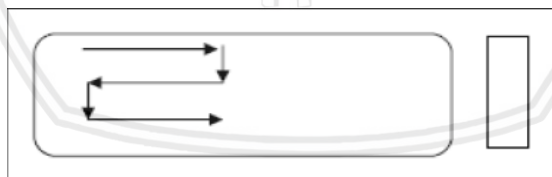
Pewarnaan dengan menggunakan HE dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu deparafinisasi, hidrasi, cat utama, dehidrasi dan clearing.

- Tahap Mounting

Preparat dilem dengan menggunakan DPX mounting medium, kemudian ditutup dengan cover glass jangan sampai terjadi gelembung. Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai lem mengering kemudian diamati dibawah mikroskop. Pewarnaan HE, inti yang bersifat asam akan bewarna ungu tua oleh Haematoksilin yang bersifat basa, sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan berwarna merah oleh eosin yang bersifat asam.

3.5.3 Skoring Histopatologi Ginjal Nila (*O. niloticus*)

Tujuan dari skoring histopatologi untuk mengetahui kerusakan pada jaringan ginjal. Menurut Menurut Siswandari (2005), pembacaan dimulai dari tepi kiri (sesuai dengan posisi preparat) ke arah kepala. Kemudian diturunkan ke bawah, kemudian digeser ke arah ekor kembali (Gerak zig zag) seperti disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Alur Perhitungan Skoring (Gerak zig zag) (Siswandari, 2005)

Persentase kerusakan setiap bidang pandang dihitung berdasarkan sel yang mengalami kerusakan. Menurut Raza'i (2008), perhitungan kerusakan dihitung dengan rumus:

$$\text{Persentase Kerusakan} = \frac{\text{Jumlah Sel yang Rusak}}{\text{Jumlah Sel Analisis}} \times 100\%$$

Hal ini sesuai dengan pendapat Anggarani, Mahasri dan Suwanti (2015), setelah itu, untuk menentukan tingkat kerusakan maka diberi nilai 0,1,2,3 dan 4. Dasar skoring 0 yaitu preparat yang belum terjadi kerusakan pada satu lapang pandang(tidak ada perubahan patologi). Nilai 1 diberikan pada preparat yang mengalami kerusakan kurang dari satau sama dengan 25% pada satu lapang pandang. Nilai 2 diberikan pada preparat yang mengalami kerusakan sebesar 26-50% pada satu lapang pandang (tingkat kerusakan sedang). Nilai 3 diberikan pada preparat yang mengalami kerusakan sebesar 51-75% pada satu lapang pandang (tingkat kerusakan berat). Nilai 4 diberikan pada preparat yang mengalami kerusakan lebih dari 75% pada satu lapang pandang (tingkat kerusakan sangat berat).

3.6 Parameter Uji

3.6.1 Parameter Utama

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

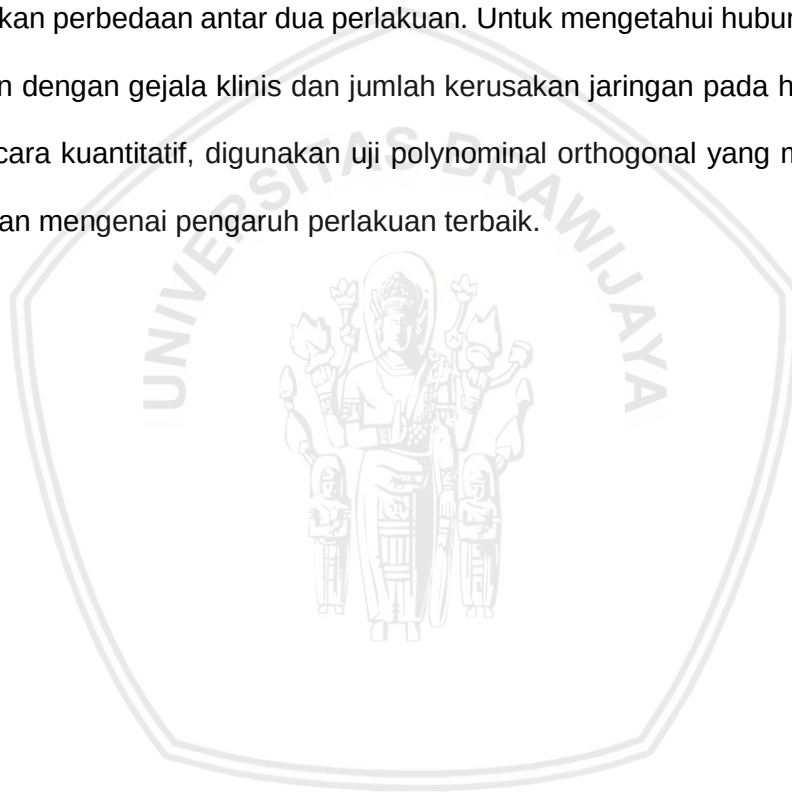
3.6.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah gejala klinis dan kualitas air. Parameter pengukuran kualitas air meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut, dimana :

- Suhu yang diukur menggunakan DO meter
- pH air yang diukur menggunakan pH meter
- Oksigen terlarut yang diukur menggunakan DO meter
- Uji cakram untuk mengukur zona hambat
- Gejala klinis nila yang telah terinfeksi *P. aeruginosa*
- *Survival rate* selama pemeliharaan

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan mempergunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perbedaan antar dua perlakuan. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan gejala klinis dan jumlah kerusakan jaringan pada histopatologi ginjal secara kuantitatif, digunakan uji polynominal orthogonal yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan terbaik.

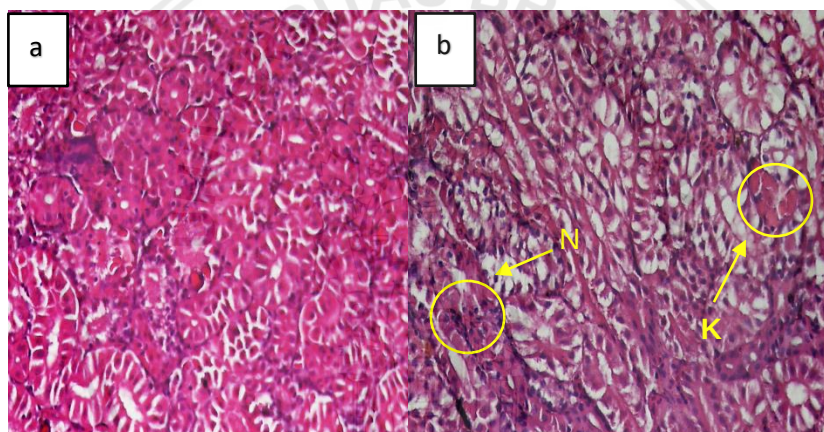


4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Gambaran Histopatologi Ginjal

4.1.1 Histopatologi Ginjal Ikan Normal yang Diinfeksi Bakteri *P. aeruginosa*

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, gambaran ginjal ikan nila (*O. niloticus*) normal (tanpa infeksi *P. aeruginosa* dan tanpa perendaman ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) sebagai kontrol positif dan ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* sebagai kontrol negatif dapat dilihat pada Gambar 9 dan skoring kelainan histopatologi ginjal disajikan pada Lampiran 9.



Gambar 9. Struktur ginjal ikan nila. (a) ginjal nila sehat; (b) ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. (K) Kongesti (N) Nekrosis menggunakan Perbesaran 400x dengan Pewarnaan HE.

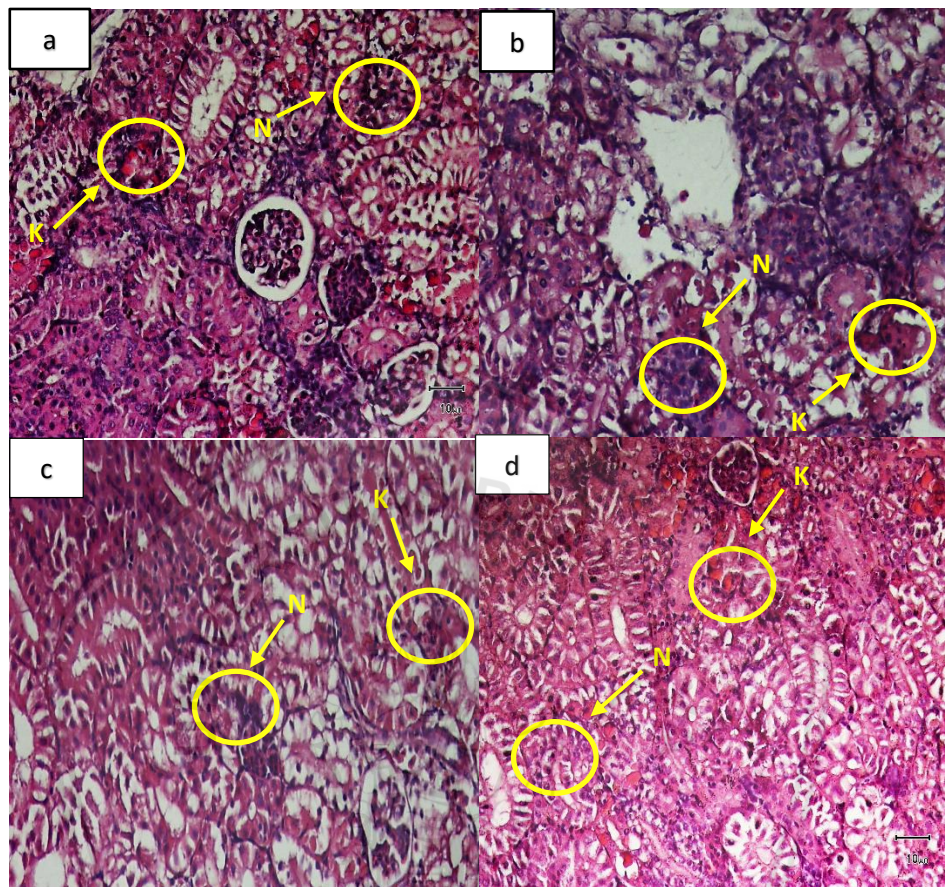
Berdasarkan hasil penelitian, kondisi ginjal nila nila sehat (Gambar 9a) memperlihatkan kondisi yang normal. Ginjal ikan normal ditunjukkan dengan penampakan struktur otot yang rapat dan teratur. Sedangkan ikan nila yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* (Gambar 9b) terlihat sangat berbeda jika dibandingkan dengan ginjal ikan nila yang sehat. Ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* terdapat beberapa kerusakan jaringan berupa kongesti dan nekrosis. Kongesti merupakan kerusakan jaringan yang disebabkan peningkatan dalam jumlah darah sehingga pembuluh darah tampak melebar. Nekrosis ditandai dengan inti sel yang mengecil atau menghilang.

Kondisi histopatologi ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri mengalami beberapa kerusakan yaitu Kongesti dan Nekrosis. Hal ini dikarenakan adanya penginfeksi dari bakteri bergram negatif yaitu *P. aeruginosa*. Pada penelitian yang dilakukan Hardi, Pebrianto dan Saptiani (2014), menyatakan bahwa enzim dari *P. aeruginosa* seperti protease diduga dapat menyebabkan kerusakan pada tubuh ikan yang terinfeksi. Hal ini dikarenakan pada saluran darah terdapat banyak protein. Eksotoksin bakteri *P. aeruginosa* diduga menyebar pada bagian mata dan ginjal sehingga dapat menyebabkan berbagai penyakit pada ginjal ikan, yaitu kongesti dan nekrosis. Pada penelitian yang dilakukan Hardi, *et al.* (2014), menunjukkan adanya kerusakan nekrosis. Hal ini dikarenakan bakteri masuk ke tubuh ikan bersama dengan aliran darah dan menuju ke tubulus ginjal. Kerusakan nekrosis pada tubulus ginjal akan berpengaruh pada struktur dan fungsi ginjal, sehingga menyebabkan kematian pada ikan. Sedangkan kongesti pada ginjal nila ditemukan pada penelitian yang dilakukan oleh Latifah, Sarijto dan Prayitno (2014), kerusakan jaringan kongesti disebabkan oleh peningkatan dalam jumlah darah sehingga pembuluh darah tampak melebar. Kerusakan jaringan pada ginjal disebabkan bakteri masuk ke dalam ginjal melalui aliran darah. Dosis pemberian pengobatan yang optimal akan mencegah terjadinya pembengkakan sel yang terinfeksi bakteri.

4.1.2 Gambaran Histopatologi Perlakuan pada Ginjal

Pengamatan histopatologi digunakan untuk melihat perubahan patologi pada ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan direndam dengan ekstrak kasar kulit buah petai dengan dosis ekstrak yang berbeda. Dosis ekstrak kasar kulit buah petai yang digunakan saat penelitian yaitu perlakuan A (10 ppm), B (25 ppm), C (40 ppm) dan D (55 ppm). Gambaran jaringan ginjal ikan

nila yang dipelihara selama 14 hari setelah pengobatan dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Struktur Jaringan Histopatologi Ginjal Ikan Nila (*O. niloticus*) yang telah diberi perlakuan (a) Dosis 10 ppm, (b) Dosis 25 ppm, (c) Dosis 40 ppm dan (d) Dosis 55 ppm. (K) Kongesti, (N) Nekrosis Menggunakan Perbesaran 400x dengan Pewarnaan HE.

Pada Gambar 10 hasil penelitian diatas terlihat pada perlakuan dengan pemberian dosis ekstrak kasar kulit petai (*P. speciosa*) yaitu dosis 10 ppm (A), 25 ppm (B), 40 ppm (C) dan 55 ppm (D). Gambar 10 diatas menunjukkan bahwa jaringan histopatologi ginjal ikan nila (*O. niloticus*) mengalami kerusakan berupa kongesti dan nekrosis.

1. Kongesti

Kongesti merupakan salah satu jenis kerusakan jaringan yang sering ditemukan pada ginjal ikan yang terinfeksi *P. aeruginosa*. Kongesti merupakan pembendungan darah pada ginjal yang disebabkan adanya gangguan sirkulasi

yang dapat mengakibatkan kekurangan oksigen dan zat gizi, sehingga pembuluh darah pecah atau melebar (Parameswari, Sasanti dan Muslim, 2013). Adapun hasil penelitian dengan pemberian dosis ekstrak kasar kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) untuk perlakuan yang berbeda pada ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* memberikan hasil rerata yang berbeda terhadap histopatologi ginjal ikan nila yang disajikan pada Tabel 7 dan data lengkap perhitungan disajikan pada Lampiran 10.

Tabel 7. Rerata Hasil Penelitian Skoring Kerusakan Kongesti Histopatologi Ginjal Ikan Nila

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata $\pm$ STD
	1	2	3		
A (10 ppm)	3	3,4	2,2	8,6	2,87 $\pm$ 0,61
B (25 ppm)	2,6	2	2,6	7,2	2,40 $\pm$ 0,35
C (40 ppm)	2,2	1,8	2	6	2 $\pm$ 0,20
D (55 ppm)	1,2	1,6	1,2	4	1,33 $\pm$ 0,23

Berdasarkan Tabel 7 diatas diduga bahwa dosis ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dapat mengobati ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*, untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap kongesti histopatologi ginjal ikan nila maka dilakukan uji sidik ragam yang ditunjukkan pada Tabel 8.

Tabel 8. Sidik Ragam Kerusakan Kongesti Histopatologi Ginjal Nila

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%	F1%
Perlakuan	3	3,80	1,27	8,63**	4,07	7,59
Acak	8	1,17	0,15	-	-	-
Total	11	4,97	-	-	-	-

Keterangan **: Berbeda Sangat Nyata

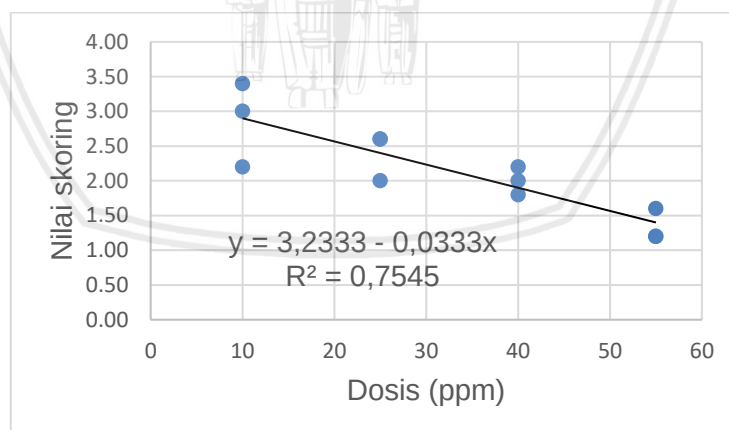
Pada Tabel 8 menunjukkan bahwa hasil F hitung $<$ F tabel 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan kongesti histopatologi ginjal ikan nila yang diinfeksi *P. aeruginosa*. Untuk mengetahui perbedaan tiap perlakuan maka perlu dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang ditunjukkan pada Tabel 9.

Tabel 9. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Kongesti Ginjal

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		2,87	2,40	2,00	1,33	
A	2,87	-	-	-	-	a
B	2,40	0,47 ^{ns}	-	-	-	a
C	2,00	0,87*	0,40 ^{ns}	-	-	ab
D	1,33	1,53**	1,07**	0,67*	-	bc

Keterangan: (ns) = tidak berbeda nyata; (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil Uji BNT Tabel 9 diatas menunjukkan bahwa kerusakan jaringan yang mengalami kongesti didapatkan notasi a, a, ab dan bc. Dimana pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) pada perlakuan A (10 ppm), perlakuan B (25 ppm) tidak berbeda nyata ditandai dengan notasi a, sedangkan untuk perlakuan C (40 ppm) berbeda nyata ditandai dengan ab, dan untuk perlakuan terbaik adalah perlakuan D (55 ppm) dengan notasi bc. Untuk mengetahui regresi atau bentuk hubungan ekstrak kasar kulit petai (*P. speciosa*) terhadap kerusakan kongesti dan untuk mendapatkan kurva regresi, maka dilakukan perhitungan polynomial orthogonal yang ditunjukkan dengan grafik pada Gambar 11.



Gambar 11. Hubungan antara Dosis Ekstrak dengan Nilai Skoring Ginjal yang Mengalami Kerusakan Kongesti.

Berdasarkan grafik diatas (Gambar 11) dapat diketahui bahwa dosis ekstrak berbanding terbalik dengan kerusakan jaringan, dimana apabila semakin tinggi dosis ekstrak maka nilai skoring kerusakan semakin rendah. Didapatkan persamaan $y = 3,2333 - 0.0333x$ yang memiliki nilai koefisien determinasi yakni

0,75 menunjukkan bahwa dosis ekstrak kasar kulit buah petai berpengaruh terhadap presentase kerusakan karena sumbu y dipengaruhi oleh sumbu x sebesar 75%. Menurut Setiawan, Susilaningih dan Saktini (2018), semakin besar dosis pemberian ekstrak maka semakin kecil tingkat kerusakan jaringan. Sehingga kemampuan suatu bahan aktif untuk membunuh bakteri semakin besar. Kongesti dapat disebabkan oleh rusaknya endotel kapiler akibat infeksi bakteri yang beredar pada pembuluh darah. Sehingga menyebabkan pendarahan pada jaringan ikan (Susanti, Indrawati dan Pasaribu, 2016).

Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid dan saponin. Menurut Ernawati dan Sari (2015), mekanisme flavonoid dapat menghambat fungsi membran sel dengan membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler sehingga merusak membran sel bakteri. Sementara itu, alkaloid dapat mengganggu penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Sedangkan saponin dapat menjadi anti bakteri karena zat aktif pada permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Menurut Torokano, Khumaidi dan Nugrahani (2018), mekanisme kerja terpenoid yaitu bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri membentuk ikatan polimer yang kuat, sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa

akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.

2. Nekrosis

Nekrosis merupakan salah satu jenis kerusakan ginjal yang sering ditemukan pada ikan yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Nekrosis merupakan kematian sel jaringan. Nekrosis dapat terjadi akibat bahan beracun, aktivitas mikroorganisme, defisiensi pakan dan juga gangguan metabolisme. Umumnya sel yang mengalami nekrosis menunjukkan perubahan pada inti dan sitoplasma. Nekrosis ditandai dengan inti sel yang mengecil atau menghilang (Wagiman, Yusfiati dan Elvyra, 2014). Adapun hasil penelitian dengan pemberian dosis ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) untuk perlakuan yang berbeda pada ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* memberikan hasil rerata yang berbeda terhadap histopatologi ginjal ikan nila yang disajikan pada Tabel 10 dan data lengkap perhitungan disajikan pada Lampiran 10.

Tabel 10. Rerata Hasil Penelitian Skoring Kerusakan Nekrosis Histopatologi Ginjal Ikan Nila

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata $\pm$ STD
	1	2	3		
A (10 ppm)	3,4	3,2	2,4	9	3 $\pm$ 0,53
B (25 ppm)	2,4	2,2	2,4	6,8	2,27 $\pm$ 0,12
C (40 ppm)	2,4	2,2	1,8	6,4	2,13 $\pm$ 0,31
D (55 ppm)	1,4	1,4	1,8	4,6	1,53 $\pm$ 0,23

Berdasarkan Tabel 10 diatas diduga bahwa dosis ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dapat mengobati ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*, untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap nekrosis histopatologi ginjal ikan nila maka dilakukan uji sidik ragam yang ditunjukkan pada Tabel 11.

Tabel 11. Sidik Ragam Kerusakan Nekrosis Histopatologi Ginjal Nila

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%	F1%
Perlakuan	3	3,27	1,0889	9,90**	4,07	7,59
Acak	8	0,88	0,1100	-	-	-
Total	11	3,2667	-	-	-	-

Keterangan **: Berbeda Sangat Nyata

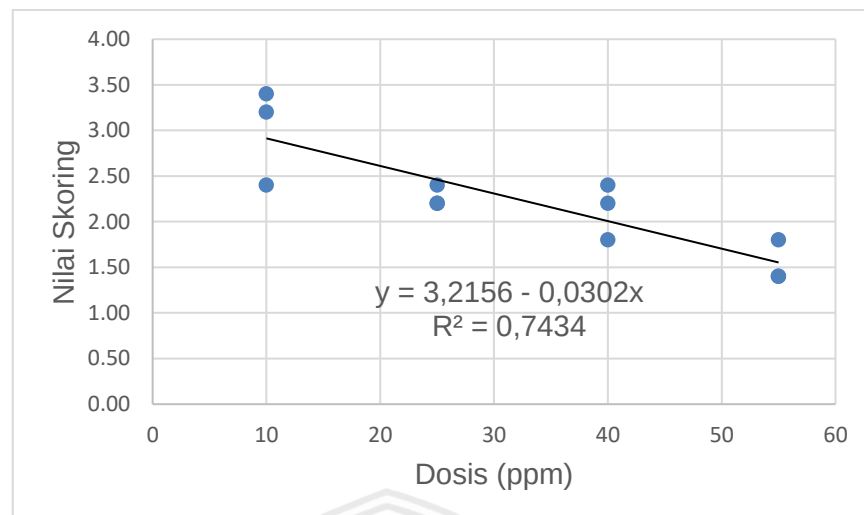
Pada Tabel 11 menunjukkan bahwa hasil F hitung < F tabel 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan nekrosis histopatologi ginjal ikan nila yang diinfeksi *P. aeruginosa*. Untuk mengetahui perbedaan tiap perlakuan maka perlu dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang ditunjukkan pada Tabel 12.

Tabel 12. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Nekrosis Ginjal

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		3,00	2,27	2,13	1,53	
A	3,00	-	-	-	-	a
B	2,27	0,73*	-	-	-	b
C	2,13	0,87*	0,13 ^{ns}	-	-	bc
D	1,53	1,47**	0,73*	0,60 ^{ns}	-	cd

Keterangan: (ns) = tidak berbeda nyata; (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil Uji BNT Tabel 12 diatas menunjukkan bahwa kerusakan jaringan yang mengalami lisis didapatkan notasi a, b, bc dan cd. Dimana pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) pada perlakuan A (10 ppm) tidak berbeda nyata sehingga ditandai dengan notasi a sedangkan perlakuan B (25 ppm) berbeda nyata sehingga diberi notasi b, sedangkan pada perlakuan C (40 ppm) berbeda sangat nyata sehingga diberi notasi bc, Sedangkan untuk perlakuan terbaik adalah perlakuan D (55 ppm) dengan notasi cd. Untuk mengetahui regresi atau bentuk hubungan ekstrak kasar kulit petai (*P. speciosa*) terhadap kerusakan nekrosis dan untuk mendapatkan kurva regresi, maka dilakukan perhitungan polynomial orthogonal yang ditunjukkan dengan grafik pada Gambar 12.



Gambar 12. Hubungan antara Dosis Ekstrak dengan Nilai Skoring Ginjal yang Mengalami Kerusakan Nekrosis

Berdasarkan grafik diatas (Gambar 12) dapat diketahui bahwa dosis ekstrak berbanding terbalik dengan kerusakan jaringan, dimana apabila semakin tinggi dosis ekstrak maka nilai skoring kerusakan semakin rendah. Didapatkan persamaan $y = 3,2156 - 0,0302x$ yang memiliki nilai koefisien determinasi yakni 0,74 menunjukkan bahwa dosis ekstrak kasar kulit buah petai berpengaruh terhadap presentase kerusakan karena sumbu y dipengaruhi oleh sumbu x sebesar 74%. Hal ini dikarenakan, semakin meningkat pemberian dosis maka semakin tingkat kerusakan jaringan semakin rendah (Herdiani dan Putri, 2018). Menurut Sari, Risjani dan Marhendra (2014), struktur organ ginjal juga terlihat adanya kelainan berupa nekrosis. Sel yang mengalami nekrosis dapat dikenali dari bentuk intinya yang mengecil (piknotik), membesar, kabur atau hilang. Hal ini sesuai dengan pendapat Rennika, Annurohi dan Abdulgani (2013), nekrosis ditandai dengan cairan di dalam ginjal meningkat akan mengakibatkan permeabilitas sel menurun dan perlahan akan hilang sehingga sel akan membengkak. Sel yang membengkak terus-menerus akan mengalami lisis pada dinding sel sehingga inti sel keluar atau hilang.

Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid dan saponin. Menurut Sapara,

Waworuntu dan Juliatri (2016), flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Energi dibutuhkan bakteri untuk biosintesis makromolekul, sehingga jika metabolismenya terhambat maka molekul bakteri tersebut tidak dapat berkembang menjadi molekul yang kompleks. Selain itu, di dalam flavonoid juga terdapat senyawa fenol yang dapat mengganggu pertumbuhan bakteri. Fenol merupakan suatu alkohol yang bersifat asam sehingga memiliki kemampuan mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri. Saponin merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis pada sel. Apabila saponin berinteraksi dengan sel bakteri, sel bakteri tersebut akan pecah atau lisis. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menyebabkan sel bakteri menjadi lisis. Hal ini terjadi karena tanin memiliki target pada dinding polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna dan kemudian sel bakteri akan mati. Tanin juga memiliki kemampuan untuk menginaktifkan enzim bakteri serta mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel. Menurut Bontjura, Waworuntu dan Siagian (2015), mekanisme terpenoid yaitu mengganggu proses transportasi ion penting ke dalam sel bakteri. Selain itu, terpenoid mampu berikatan dengan lemak dan karbohidrat yang akan menyebabkan permeabilitas dinding sel bakteri terganggu.

4.2 Uji Cakram

Untuk mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) maka diperlukan uji daya hambat dengan menggunakan kertas cakram. Menurut Karta dan Burhannuddin (2017), uji cakram merupakan cara yang sering dipakai untuk menentukan kepekaan bakteri/jamur terhadap berbagai macam obat-obatan. Kertas cakram yang mengandung suatu obat dengan konsentrasi tertentu diletakkan pada lempeng agar yang berisi bakteri. Prinsip dari

kertas cakram adalah menghambat pertumbuhan mikroorganisme, yaitu zona hambatan akan terlihat di sekitar daerah blank disk yaitu berwarna bening. Uji cakram dilakukan dengan menggunakan perlakuan dosis 10ppm; 25ppm; 40ppm dan 55ppm serta kontrol positif dan negatif.

Pada hasil penelitian diperoleh hasil Uji Cakram. Adapun hasil Uji Cakram disajikan pada Tabel 13 dan perhitungan Uji Cakram disajikan pada Lampiran 11.

Tabel 13. Uji Cakram

Perlakuan	Ulangan		Total	Rerata $\pm$ STD
	D1	D2		
A (10 ppm)	6,8	7,4	14,2	7,10 $\pm$ 0,42
B (25 ppm)	6,75	8,4	15,15	7,58 $\pm$ 1,17
C (40 ppm)	8,55	9,3	17,85	8,93 $\pm$ 0,53
D (55 ppm)	9,8	10,25	20,05	10,03 $\pm$ 0,32

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap daya hambat pada uji cakram dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada Tabel 14.

Tabel 14. Sumber Keragaman Uji Cakram

Sumber Keragaman	Db	Jk	Kt	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	10,57	3,52	7,33*	6,59	16,69
Acak	4	1,92	0,48			
Total	7	12,49				

Keterangan: (*) Berbeda Nyata

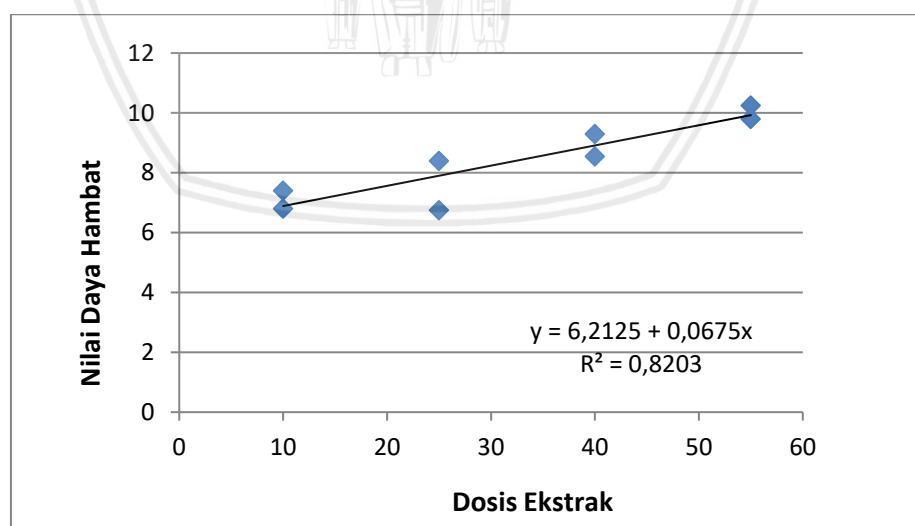
Pada Tabel 14 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh nilai F hitung lebih < F tabel 1%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh nyata terhadap daya hambat pada Uji Cakram. Untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan maka perlu dilakuakn uji Beda Nyata Terkecil (BNT) seperti yang disajikan pada Tabel 15.

Tabel 15. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Uji Cakram

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		7,10	7,58	8,93	10,03	
A	7,10	-	-	-	-	a
B	7,58	0,48 ^{ns}	-	-	-	a
C	8,93	1,83 ^{ns}	1,35 ^{ns}	-	-	a
D	10,03	2,93*	2,45*	1,10 ^{ns}	-	ab

Keterangan: (ns) = Tidak Berbeda Nyata; (*) = Berbeda Nyata

Berdasarkan Tabel 13, dapat diketahui hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) antara pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap daya hambat Uji Kertas Cakram didapatkan hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B dan C, tetapi perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan D. Berdasarkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dapat diketahui perlakuan terbaik dari 4 perlakuan tersebut. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan D dengan dosis 55 ppm dengan notasi ab adalah perlakuan terbaik diikuti dengan perlakuan c dengan dosis 40 ppm dengan notasi a diikuti perlakuan B dengan dosis 25 ppm dengan notasi a diikuti oleh perlakuan A dengan dosis 10 ppm dengan notasi a. Adapun grafik hubungan dosis estrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan daya hambat Uji Cakram pada Gambar 13.



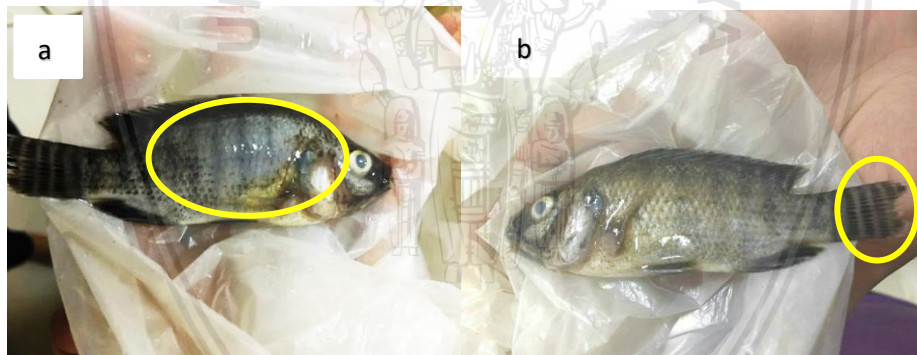
Gambar 13. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Daya Hambat Uji Cakram

Pada grafik diatas didapatkan persamaan $y = 6,2125 + 0,0675x$ dan memiliki nilai koefisien determinasi yakni 0,8203 menunjukkan bahwa dosis yang

yang digunakan berpengaruh terhadap presentase daya hambat Uji Kertas Cakram. Semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan maka semakin tinggi daya hambat. Hal ini sesuai dengan pendapat Purnamasari, Vifta dan Susilo (2018), bahwa semakin tinggi dosis ekstrak yang digunakan maka aktifitas daya hambat semakin meningkat. Hal ini dikarenakan semakin banyak senyawa aktif didalam ekstrak.

4.3 Gejala Klinis

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan hasil bahwa pada saat dilakukan perendaman bakteri, reaksi ikan nila (*O. niloticus*) yaitu ikan gelisah dan berenang tidak beraturan, sedangkan setelah direndam dengan ekstrak kasar kulit buah petai ikan terlihat normal. Terlihat sisik mengelupas dan ekor geripis seperti yang disajikan pada Gambar 14.



Gambar 14. Gejala klinis ikan yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. (a) sisik mengelupas (b) ekor geripis.

Ada beberapa tanda ikan yang terserang penyakit. Menurut Putri, Haditomo dan Desrina (2016), gejala klinis yang ditunjukkan oleh ikan yang terinfeksi bakteri adalah nafsu makan berkurang, ikan cenderung tidak aktif, berenang tidak wajar, berwarna pucat dan geripis. Sedangkan menurut Hardi, Pebrianto dan Saptiani (2014), gejala klinis ikan nila yang terinfeksi *P. aeruginosa* adalah kekuatan ikan berenang lemah, ikan sering berada didasar akuarium. Gejala eksternal yang ditunjukkan yaitu warna tubuh menjadi pucat dan sirip gripis.

4.4 Pengamatan Kualitas Air

Kualitas air merupakan aspek yang sangat penting yang harus diperhatikan dalam pemeliharaan ikan. Kualitas air berkaitan langsung dengan kelangsungan hidup ikan selama pemeliharaan sehingga perlu dikontrol agar sesuai dengan kebutuhan ikan yang dipelihara. Selama penelitian berlangsung, dilakukan pengukuran kualitas air meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Adapun hasil pemeriksaan kualitas air disajikan pada Tabel 16 dan data kualitas air selama pemeliharaan disajikan pada Lampiran 12.

Tabel 16. Pemeriksaan Kualitas Air

No.	Parameter	Nilai Pengukuran	Referensi
1.	Suhu	25,2°C – 26,8°C	25-30°C (Yanuar, 2017)
2.	pH	7,11–8,4	7,0-8,5 Papilon dan Efendi (2017)
3.	DO	5,5-8,8 mg/l	>5 mg/l (Muhaemi, Tuhumury dan Siegers, 2015)

4.4.1 Suhu

Pengukuran suhu selama penelitian dilakukan 2 kali sehari, yaitu pagi pada pukul 08.00 WIB dan pada sore hari pada pukul 16.00 WIB. Hasil pengukuran suhu air pada media penelitian berkisar antara 25,2°C – 26,8°C, data lengkapnya dapat dilihat pada lampiran 15. Hasil pengukuran suhu tersebut masih dalam kisaran suhu optimal untuk kehidupan ikan nila (*O. niloticus*). Menurut Yanuar (2017), suhu optimum untuk kelangsungan hidup ikan berkisar antara 25-30°C.

4.4.2 Derajat Keasaman (pH)

Hasil pengukuran pH yang dilakukan selama penelitian yaitu memiliki kisaran 7,11–8,4, data lengkapnya dapat dilihat pada lampiran 15. Hasil pengukuran pH tersebut masih dikatakan dalam kisaran normal bagi kehidupan ikan nila (*O. niloticus*). Menurut Papilon dan Efendi (2017), kondisi ideal bagi

kelangsungan hidup ikan nila (*O. niloticus*) adalah yang memiliki pH 6,5 – 8,0, tetapi bisa bertahan pada air yang memiliki nilai pH 7,0 – 8,5.

4.4.3 Oksigen Terlarut / *Dissolved Oxygen* (DO)

Hasil pengukuran DO selama penelitian berkisar antara 5,5-8,8 mg/l, data lengkapnya dapat dilihat pada lampiran 15. Nilai DO yang didapat selama penelitian masih dalam keadaan normal bagi kehidupan ikan nila (*O. niloticus*). Hal ini sesuai dengan pendapat Muhaemi, Tuhumury dan Siegers (2015), yang menyatakan bahwa nilai optimal di dalam perairan lebih dari 5 mg/l.

4.5 Kelulushidupan Ikan (*Survival Rate*)

Kelulushidupan ikan dalam budidaya untuk mengetahui dalam proses budidaya dari awal ikan ditebar hingga akhir penelitian. Pada penelitian yang dilakukan kisaran kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) yang rendah mencapai 60% disebabkan oleh patogenitas bakteri *P. aeruginosa*. Terjadinya kematian pada ikan nila yang terinfeksi *P. aeruginosa* membuktikan bahwa bakteri tersebut bersifat pathogen dan sangat virulen pada ikan. Menurut Suyono dan Salahudin (2011), bakteri *P. aeruginosa* sendiri memiliki karakteristik seperti, gram negatif, berbentuk batang (rods) atau kokus (coccus), aerob obligat, motil mempunyai flagel polar. Bakteri ini, oksidase positif, katalase positif, nonfermenter dan tumbuh dengan baik pada suhu 4°C atau dibawah 43°C. Bakteri *P. aeruginosa* mampu hidup pada air tawar maupun tanah. *P. aeruginosa* merupakan patogen oportunistik yang sering kali menimbulkan penyakit apabila ikan dalam kondisi stress maupun kurang sehat. Adapun kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 17 dan perhitungan kelulushidupan disajikan pada Lampiran 13. Uji normalitas kelulushidupan ikan nila menggunakan SPSS disajikan pada Lampiran 14.

Tabel 17. Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata $\pm$ STD
	1	2	3		
A (10 ppm)	60	70	60	190	63,33 $\pm$ 5,77
B (25 ppm)	70	80	60	210	70,00 $\pm$ 10
C (40 ppm)	80	90	80	250	83,33 $\pm$ 5,77
D (55 ppm)	90	90	80	260	86,67 $\pm$ 5,77

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada Tabel 18.

Tabel 18. Sumber Keragaman Kelulushidupan

Sumber Keragaman	Db	Jk	Kt	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1091,67	363,89	7,2778*	4,07	7,59
Acak	8	400	50,00			
Total	11	1491,67				

Keterangan: (*) = Berbeda Nyata

Pada Tabel 18 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh nilai F hitung lebih < F tabel 1%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh nyata terhadap kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*). Untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan maka perlu dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) seperti yang disajikan pada Tabel 19.

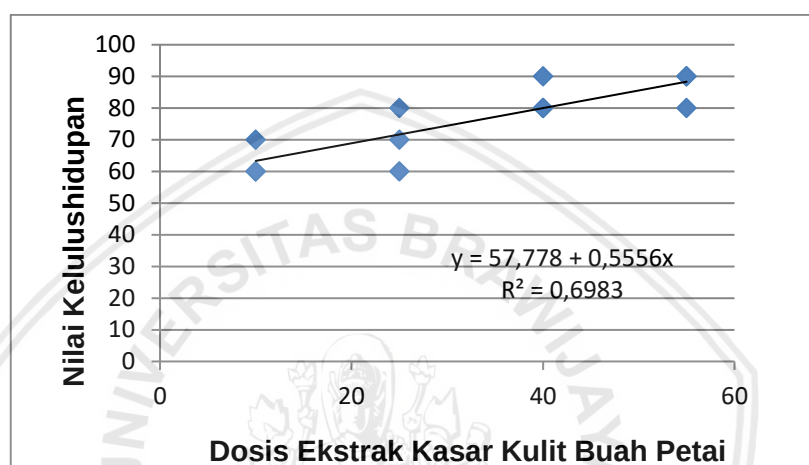
Tabel 19. Uji (BNT) Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		63,33	70,00	83,33	86,67	
A	63,33	-	-	-	-	a
B	70,00	6,67 ^{ns}	-	-	-	a
C	83,33	20,00**	13,33*	-	-	b
D	86,67	23,33**	16,67*	3,33 ^{ns}	-	bcc

Keterangan: ns = Tidak Berbeda Nyata; (*) = Berbeda Nyata; (**) = Berbeda Sangat Nyata

Berdasarkan Tabel 19 didapatkan hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, tetapi perlakuan A berbeda sangat nyata dengan perlakuan C dan D. Berdasarkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dapat diketahui perlakuan

terbaik dari 4 perlakuan tersebut. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan C dengan dosis 40 ppm dengan notasi b adalah perlakuan terbaik diikuti dengan perlakuan d dengan dosis 55 ppm dengan notasi bcc diikuti perlakuan B dengan dosis 25 ppm dengan notasi a diikuti oleh perlakuan A dengan dosis 10 ppm dengan notasi a. Adapun hubungan antara dosis ekstrak dan nilai kelulushidupan disajikan pada Gambar 15.



Gambar 15. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Nilai Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

Pada grafik diatas didapatkan persamaan $y = 57,778 + 0,5556x$ dan memiliki nilai koefisien determinasi yakni 0,6983 menunjukkan bahwa dosis yang digunakan berpengaruh terhadap presentase kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*). Semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan maka semakin tinggi nilai kelulushidupan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi ekstrak yang diberikan dapat mengurangi kematian ikan nila (*O. niloticus*). Hal tersebut dikarenakan ekstrak kulit buah petai (*P. speciosa*) mengandung bahan antibakteri.

Hubungan antara kelulushidupan dengan histopatologi yaitu semakin tinggi ekstrak yang diberikan maka semakin rendah nilai skoring histopatologi dan semakin tinggi pula nilai kelulushidupan. Hal ini dikarenakan bahan aktif yang terdapat pada ekstrak. Hal ini sesuai dengan pendapat Rahman, Maftuch dan Sanoesi (2018), semakin tinggi konsentrasi dosis ekstrak maka semakin tinggi

pula bahan aktif yang terkandung sebagai antibakteri sehingga meningkatkan kemampuan daya hambat terhadap mikroba.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan dosis yang berbeda memberikan berpengaruh terhadap histopatologi ginjal ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *P. aeruginosa*.
2. Pemberian ekstrak melalui perendaman didapatkan hasil terbaik pada perlakuan D yaitu ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan dosis 55 ppm.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan hasil pada dosis 55 ppm adalah hasil terbaik dibanding dosis 10 ppm, 25 ppm dan 40 ppm. Namun belum didapatkan dosis yang optimal untuk pemberian ekstrak. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui dosis optimal dari pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) untuk pengobatan ikan nila (*O. niloticus*) tentang histopatologi ginjal yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dengan waktu pemeliharaan yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, M., Uyub, Ikenna, Nwachukwu, A. A. Azlan and S. S. Fariza. 2010. In-vitro antibacterial activity and cytotoxicity of selected medicinal plant extracts from Penang Island Malaysia on metronidazole-resistant-Helicobacter pylori and some pathogenic bacteria. *Ethnobotany Research & Applications*. **8**:96-105.
- Abdulla, M. H. R.O., P. E. Ch'ng and T. H. Lim. Some Physical Properties of *Parkia speciosa* seeds. *IPCBEE*. **9**: 43-48.
- Anggarani, R. W., G. Mahasri dan L. T. Suwanti. 2015. Efektivitas vaksinasi crude dan soluble protein spora myxobolus koi terhadap tingkat kerusakan usus ikan koi (*Cyprinus carpio* Koi). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **7**(1):55-60.
- Arifin, M. Y. 2016. Pertumbuhan dan survival rate ikan nila (*Oreochromis*. sp) strain merah dan strain hitam yang dipelihara pada media bersalinitas. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*. **16**(1): 159-166.
- Aristyawan, A. D., N. E. Sugijanto dan Suciati. 2017. Potensi antibakteri dari ekstrak etanol spons *Agelas cavernosa*. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. **4**(1): 39-43.
- Ashari, C., R. A. Tumbol, dan M. E. F. Kolopita. 2014. Diagnosa penyakit bakterial pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang di budidaya pada jaring tancap di Danau Tondano. *Budidaya Perairan*. **2**(3):24-30.
- Azani, W., Zainuddin dan E. Rahmi. 2017. Gambaran histologis sistem urinaria ikan gabus (*Channa striata*). *JIMVET*. **1**(4): 709-714.
- Bontjura, S., O. A. Waworuntu dan K. V. Siagian. 2015. Uji efek antibakteri ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **4**(4):96-101.
- Deviana, A. 2018. Pengaruh pemberian ekstrak biji petai (*Parkia speciosa*) terhadap gambaran histopatologi ginjal bagian tubulus proksimal pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang diinduksi parasetamol. *Hang Tuah Medical Journal*. **15**(2):233-25.
- Dwijayanti, S. I. P dan G. S. Pamungkas. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharantus roseus* (L.) G. Don.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *BIOMEDIKA*. **9**(2): 11-20.
- Ekawati, E. R., S. N. Husnul dan D. Herawati. 2018. Identifikasi kuman pada pusar dari luka infeksi kulit. *Jurnal Sain Health*. **2**(1):31-35.
- Elidar, Y. 2017. Budidaya tanaman petai di lahan pekarangan dan manfaatnya untuk kesehatan. *Jurnal Abdimas Mahakam*. **1**(2):102-11.

- Ernawati dan K. Sari. 2015. Kandungan senyawa kimia dan aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah alpukat (*Persea americana* P.Mill) terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Kajian Veteriner*. **3**(2):203-211.
- Fatimah, I. 2016. Green synthesis of silver nanoparticles using extract of *Parkia speciosa* Hassk pods assisted by microwave irradiation. *Journal of Advanced Research*. **7**:961-969.
- Fauzy, A., Tarsim dan A. Setyawan. 2014. Histopatologi organ kakap putih (*Lates calcarifer*) dengan infeksi *Vibrio alginolyticus* dan jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai imunostimulan. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. **3**(1):329-339.
- Firmansyah., T. A. Lubis dan Zulkifli. 2016. Model pengembangan perilaku pengelolaan keuangan nelayan di Provinsi Jambi. *Jurnal Penelitian Universitas Jambi Seri Humaniora*. **18**(2):79-88.
- Hardi, E. H., C. A. Pebrianto dan G. Saptiani. 2014. Toksisitas Produk Ekstraseluler dan Intraseluler Bakteri *Pseudomonas* sp. pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Veteriner*. **15**(3): 312-322.
- Hardi, E. H., C. A. Pebrianto, dan G. Saptiani. 2014. Toksisitas produk ekstraseluler dan intraseluler bakteri *Pseudomonas* sp. pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Veteriner*. **15**(3):312-322.
- Hardi, E. H., Sukenda, E. Harris dan A. M. Lusiastuti. 2011. Karakteristik dan Patogenisitas *Streptococcus Agalactiae* Tipe β -hemolitik dan Non-hemolitik pada Ikan Nila. **12**(2): 152-164.
- Haryani, A., R. Grandiosa, I. D. Buwono dan A. Santika. 2012. Uji efektivitas daun pepaya (*Carica papaya*) untuk pengobatan infeksi bakteri *hydrophila* pada ikan mas koki (*Carassius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3**(3):213-220.
- Henri., S. Areneuz dan T. A. Zaharah. 2015. Efektivitas antibakteri ekstrak kulit batang belimbing hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JKK*. **4**(1):84-90.
- Herdiani, N dan E. B. P. Putri. 2018. Gambaran histopatologi paru tikus wistar setelah diberi paparan asap rokok. *Medical and Health Science Journal*. **2**(2): 7-14.
- Heriyanto, B dan Ristiyanto. 2017. Binatang Penular Penyakit di Sekitar Lingkungan Rumah. *Yayasan Pustaka Obor Indonesia*. 185 hlm.
- Iskandar, R dan Elrifadah. 2015. Pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi pakan buatan berbasis kiambang. *ZIRA'AH*. **40**(1):18-24.
- Jakfar, Agustono dan A. Manan. 2014. Deteksi logam timbal (Pb) pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di sepanjang sungai kalimas Surabaya. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **6**(1):43-48.

- Jamin dan Erlangga. 2016. Pengaruh insektisida golongan organofosfat terhadap benih ikan nila gift (*Oreochromis niloticus*, Bleeker): analisis histologi hati dan insang. *Acta Aquatica*. **3**(2):46-53.
- Karta, I. W dan Burhannuddin. 2017. Uji aktivitas antijamur ekstrak akar tanaman bama (*Plumbago zeylanica*) terhadap pertumbuhan jamur *Trichophyton mentagrophytes* penyebab kurap pada kulit. *Jurnal Media Sains*. **1**(1):23-31.
- Kumala, S dan D. Indriani. 2008. Efek antibakteri ekstrak etanol daun cengkeh (*Eugenia aromatic* L.). *Jurnal Farmasi Indonesia*. **4**(2):82-87.
- Kusmarwati, A dan N. Indriati. 2008. Daya hambat ekstrak bahan aktif Biji Picung (*Pangium edule* Reinw.) terhadap pertumbuhan bakteri penghasil histamin. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. **3**(1): 29-36.
- Latifah, A.D., Sarjito dan S. B. Prayitno. 2014. Karakterisasi bakteri dan gambaran histopatologi pada ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) yang terserang penyakit "MATA BELO". *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3**(4):93-100.
- Lengka, K., H. Manopo dan E. F. Kolopita. 2013. Peningkatan respon imun non spesik ikan mas (*Cyprinus carpio* L) melalui pemberian bawang putih (*Allium Sativum*). *Budidaya Perairan*. **1**(2):21-28.
- Liliandari, P dan Aunurohim. 2013. Kecepatan filtrasi kerang hijau *Perna viridis* terhadap *chaetoceros* sp dalam media logam tercemar kadmium. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. **2**(2):149-155.
- Lumentut, H. B dan S. Hartati. 2015. Sistem pendukung keputusan untuk memilih budidaya ikan air tawar menggunakan AF-TOPSIS. *IJCCS*. **9**(2):197-206
- Mandia, S., N. Marusin dan P. Santoso. 2013. Analisis Histologis Ginjal Ikan Asang (*Osteochilus hasseltii*) di Danau Maninjau dan Singkarak, Sumatera Barat. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. **2**(3):194-200.
- Manoppo, H dan M. E. Kolopita. 2015. Pengimbuhan ragi roti dalam pakan meningkatkan respons imun nonspesifik dan pertumbuhan ikan nila. *Jurnal Veteriner*. **16**(2):204-211.
- Muhaemi., R. Tuhumury dan W. Siegers. 2015. Kesesuaian kualitas air keramba ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di danau Sentani Distrik Sentani Timur Kabupaten Jayapura Provinsi Papua. *The Journal of Fisheries Development*. **1**(2):45-48.
- Muhaemi., R. Tuhumury dan W. Siegers. 2015. Kesesuaian kualitas air keramba ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di danau Sentani Distrik Sentani Timur Kabupaten Jayapura Provinsi Papua. *The Journal of Fisheries Development*. **1**(2):45-58.
- Muhammad, I., A. Rusgiyono dan M. A. Mukid. 2014. Penilaian cara mengajar menggunakan rancangan acaklengkap. *Jurnal Gaussian*. **3**(2):183-192.

- Mujalifah., H. Santoso dan S. Laili. 2018. Kajian morfologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dalam habitat air tawar dan air payau. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAIN TROPIS*. **3**(3):10-17.
- Mulyani, F. A. M., Widiyaningrum dan N. R. Utami. 2014. Uji toksisitas dan perubahan struktur mikroanatomi insang ikannya larasati (*Oreochromis niloticus*) yang dipapar timbal asetat. *Jurnal MIPA*. **37**(1):1-6.
- Muntha, M. 2001. Teknik pembuatan preparat histopatologi dari jaringan hewandengan pewarnaan hematoksilin dan eosin (h&e). *Temu Teknis Fungsional*. 156-173.
- Novita, W. 2016. Uji aktivitas antibakteri fraksi daun sirih (*piper betle* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* secara in vitro. *JMJ*. **4**(2):140-155.
- Nurjanah, S., S. B. Prayitno dan Sarjito. 2014. Sensitivitas bakteri sp. Dan *Pseudomonas* sp. yang diisolasi pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) sakit terhadap berbagai macam obat beredar. *Journal of Aquaculture Management and Technonology*. **3**(4):308-316.
- Nursucihta, S., H. A. Thai'in, D. M. Putri, D. N. Utami dan A. P. Ghani. 2014. Uji aktivitas antianemia ekstrak etanolik biji *Parkia speciosa* Hassk. *Traditional Medicine Journal*. **19**(2): 49-54.
- Parameswari, W., A. D. Sasanti dan Muslim. 2013. Populasi bakteri, histologi, kelangsungan hidup dan pertumbuhan benih ikan gabus (*Channa striata*) yang dipelihara dalam media dengan penambahan probiotik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. **1**(1): 76-89.
- Pratiwi, C. H dan A. Manan. 2015. Teknik dasar histologi pada ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) the basic histology technique of gouramy fish (*Osphronemus gourami*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **7**(2):153-158.
- Prayoga. 2018. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit dan biji petai (*Parkia speciosa* Hassk.) dengan Metode DPPH (1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl). *Jurnal Iptek Terapan*. **12**(2):150-154.
- Purnamasari, D. R. L. Vifta dan J. Susilo. 2018. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Kulit Buah Terong Ungu (*Solanum melongena* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Inovasi Teknik Kimia*. **3**(1):53-58.
- Putra, K. A., Saifullah dan A. N. Putra. 2016. Pengaruh prebiotik terhadap nilai amoniak pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **6**(1):61-66.
- Putra, E. M., G. Mahasri, dan L. A. Sari. 2017. Infestasi ektoparait pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dipelihara dengan menggunakan sistem akuaponik dan tanpa akuaponik. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. **7**(1): 42-48.

- Putri, S. M., A. H. C. Haditomo, dan Desrina. 2016. Infestasi *monogenea* pada ikan konsumsi air tawar di kolam budidaya desa Ngrajek Magelang. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **5**(1):162-170.
- Rahmadian, C. A., Ismail, M. Abrar, Erina, Rastina, dan Y. fahrimal. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri *Pseudomonas sp* pada ikanasin di tempat pelelangan ikan labuhanhaji acehselatan. *JIMVET*. **2**(4):493-502.
- Rahman, I. S., Maftuch dan E. Sanoesi. 2018. Efektifitas imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap histopatologi hati ikan patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Fisheries and Marine Science*. **2**(2):47-55.
- Raza'i, T. S. 2008. Analisis histopatologi organ insang dan usus ikan kerapu lumpur (*Epinephelus coloides*) yang diberi Khamir Laut (Marine Yeast) sebagai *Immunostimulan*. Tesis. Universitas Brawijaya. Malang.
- Retnowati, Y., N. Bialangi dan N.W. Posangi. 2011. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media yang diekspos dengan infus daun sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Saintek*. **2**:1-9.
- Rennika., Aunurohi, dan N. Abdulgani. 2013. Konsentrasi dan Lama Pemaparan Senyawa Organik dan Inorganik pada Jaringan Insang Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) pada kondisi sub lethal. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. **2**(2):132-137.
- Riani, H., R. Rostika dan W. Lili. 2012. Efek pengurangan pakan terhadap pertumbuhan udang vanname (*Litopenaues vanname*) PL-21 yang diberi bioflok. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3**(3):207-211.
- Rianti, A., E. K. Parassih, A. E. Novenia, A. Christpoher, D. Lestari dan W. E. Kiyat. 2018. Potensi ekstrak kulit petai (*Parkia speciosa*) sebagai sumber antioksidasi. *Jurnal Dunia Gizi*. **1**(1):10-19.
- Rohmah , S . N ., D . Z . Fuadah dan P .W .R .Girianto .2016 . Efektivitas daun petai cina (*Leucaena leucocephala*) dan daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) terhadap proses penyembuhan luka bakar grade iipada tikus putih (*Rattus norvegicus*) .*Jurnal Ilmu Keperawatan*. **4**(1):20-34.
- Rukmana , R . 1997 . Budidaya Ikan Nila dan Prospek Bisnis. *KANISIUS*. 58 hlm.
- Rustikawati, I. 2012. Efektivitas ekstrak *Sargassum sp.* terhadap diferensiasi leukosit ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi *Streptococcus iniae* . *Jurnal Akuatika*. **3**(2):125-134.
- Sansena, M. A., R. Oktorida dan I. Wahyuni. 2018. Ensiklopedia Tanaman Pangan dan Obat Berbasis Pemanfaatan Keanekaragaman Hayatidi Masyarakat Adat Baduy Dalam. *FKIP Untirta Publishing*. 122hlm.
- Sapara, T. U., O. Waworuntu dan Juliatri. 2016. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina L.*) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **5**(4):10-17.

- Sari, A. H. W., Y. Risjani dan A. P. W. Marhendra. 2012. Histologi organ hepatopankreas kepiting bakau (*Scylla serata*) pada konsentrasi sublethal fenol sebagai peringatan dini (Early warning) toksisitas fenol di estuaria . *J Exp Life Sci* .**2**(1):36-41.
- Sari, D. S., A. Pangastuti dan E. Herawati. 2013. Pencegahan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan pemberian ekstrak etil asetat rimpang temu ireng (*Curcuma aeruginosa*). *Biofarmasi*. **11**(2):31-35.
- Sari, D. R., S. B. Prayitno, dan Sarjito. 2014. pengaruh perendaman ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) terhadap kelulushidupan dan histologi ginjal ikan lele (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi bakteri "*Edwardsiella tarda*". *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3**(4): 126-133.
- Setiowati , T dan D . Furqonita .2007 . Biologi Interaktif. Azka Press .183 hlm.
- Setiawan, T., N. Susilaningsih, dan F. Saktini. 2018. Pengaruh pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dosis bertingkat terhadap gambaran mikroskopis gaster tikus wistar jantan yang diinduksi formalin. *Jurnal Kedokteran Dipenogoro*. **7**(2):1358-1368.
- Setyowati, E., S. B. Prayitno dan Sarjito. Pengaruh perendaman ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*. L) terhadap kelulushidupan dan histologi hati ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3**(4):174-182.
- Siantara, A. P., L. Limantara, L. Dewi dan E. Widawati. 2017. Analisis kelayakan budidaya ikan nila dengan sistem akuaponik dan pakan buatan di Dusun Ponggang, Jawa Barat. *Jurnal Metris*. **18**:29-36.
- Sirumapea, L dan Aswardi. 2016. Perbandingan daya antioksidan antara ekstrak total dan hasil fraksinasi petai dan kulit petai (*Parkia speciosa* Hassk) dengan metode penangkalan radikal bebas DPPH. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **1**(1):23-30.
- Siswandari, W. 2005. Nilai diagnostik pemeriksaan imunositokimia limfosit sediaan apus darah tepi dibandingkan analisis kromosom pada penderita dengan dugaan sindroma fragile x. Tesis. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Suhita , N . L .P .R ., I . W . Sudira dan I .B .O .Winaya .2013 . Histopatologi ginjal tikus putih akibat pemberian ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) peroral . *Buletin Veteriner Udayana* .**5**(1):63-69.
- Sukarni, Maftuch dan H .Nursyam. 2012. Kajian penggunaan ciprofloxacin terhadap histologi insang dan hati ikan botia (*Botia macracanthus*, *Bleeker*) yang diinfeksi bakteri *hydrophila* . *J Exp Life Sci* . **2**(1):6-12.
- Sumino., A. Supriyadi dan Wardiyanto. 2013. Efektivitas ekstrak daun ketapang (*Terminalia cattapa* L.) untuk pengobatan infeksi *Aeromonas salmonicida* pada Ikan Patin (*Pangasioniodon hypophthalmus*). *Jurnal Sain Veteriner*. **31**(1):79-88.

- Suryadi, I. B. B., sukenda dan S. Nuryati. 2017. Fraksinasi dan uji toksisitas ecp (*Extracellular Product*) *Streptococcus agalactiae* isolat nk1 pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **8**(1):122-129.
- Susanti, W., A. Indrawati, F. H. Pasaribu. 2016. Kajian patogenisitas bakteri *Edwardsiella ictaluri* pada ikan patin *Pangasionodon hypophthalmus*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **15**(2):99-107.
- Suwarsito dan H. Mustafidah. 2011. Diagnosa penyakit ikan menggunakan sistem pakar (diagnosing fish disease using expert syetem). *JUITA*. **1**(4):131-140.
- Suyono, Y dan F. Salahudin. 2011. Identifikasi dan karakterisasi bakteripseudomonas pada tanah yang terindikasiterkontaminasi logam. *Jurnal Biopropal Industri*. **2**(1):8-13.
- Swarayanan, I. M. I., I. W. Sudira dan I. K. Berata. 2012 perubahan histopatologi hati mencit (*Mus musculus*) yang diberikan ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei*). *Buletin Veteriner Udayana*. **4**(2):119-125.
- Tantu, W., R. A. Tumbol dan S. N. J. Longdong. 2013. Deteksi keberadaan bakteri sp pada ikan nila yang dibudidayakan di karamba jaring apung danau Tondano. *Budidaya Perairan*. **1**(3):74-80.
- Torokano, S., A. Khumaidi dan A. W. Nugrahani. 2018. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak merah (*Jatropha gossypifolia*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Journal of Science and Technology*. **7**(1):117-126.
- Utami, D. T., S. B. Prayitno, S. Hastuti dan A. Santika. 2013. Gambaran parameter hematologis pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi vaksin DNA *Streptococcus iniae* dengan dosis yang berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2**(4):7-20.
- Wagiman., Yusfiati dan R. Elvyra. 2014. Struktur ginjal ikan selais (*Ompokhypophthalmus Bleeker*, 1846) di Perairan Sungai Siak Kota Pekanbaru. *JOM FMIPA*. **1**(2):1-9.
- Yanuar, V. 2017. Pengaruh pemberian jenis pakan yang berbeda terhadap laju pertumbuhan benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dan kualitas air di akuarium pemeliharaan. *Ziraa'ah*. **42**(2):91-99.
- Zulhendra., Fitmawati dan N. Sofiyanti. 2016. Keanekaragaman infraspesifik petai (*Parkia speciosa Hassk.*) di Kabupaten Indragiri hulu dan Kabupaten Kuantan Singingi berdasarkan karakter morfologi. *Jurnal Riau Biologia*. **1**(2):102-106.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat Penelitian



Mikroskop



Evaporator



Spektrofotometer



Timbangan Digital



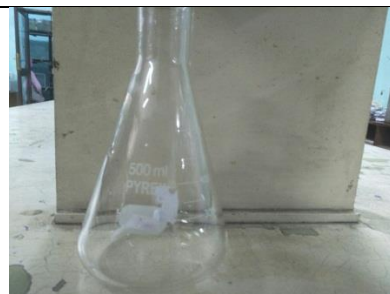
Vortex mixer



Hot Plate



Section Set



Erlenmeyer



Nampan



Mikroskop



Bunsen



Gelas Ukur



Pipet Sirelogis



Spatula



Sendok



Tabung Reaksi



Beaker Glass



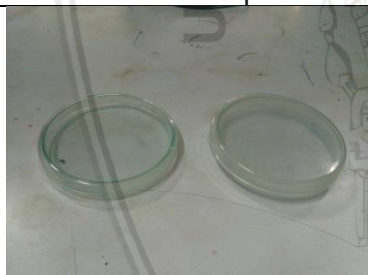
Corong



Bola Hisap



Rak Tabung Reaksi



Cawan Patri



Gunting



Inkubator



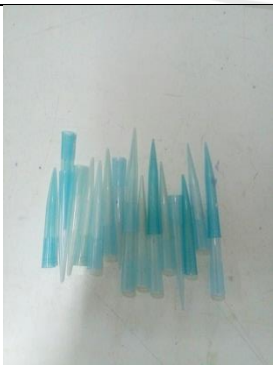
LAF



Lemari pendingin



Lampiran 2. Bahan Penelitian

 Etanol 96%	 Lateks
 Masker	 Kulit Buah Petai
 Tisu	 Bubuk Kulit Buah Petai
 Blue Tip	 Kapas

 Plastik Wrap	 Botol Filum
 Antibiotik Tetracyclin	 Alumunium Foil
 Kertas Label	 DMSO 10%
 Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (<i>P. speciosa</i>)	 Aquades



Spirtus



Kertas Cakram



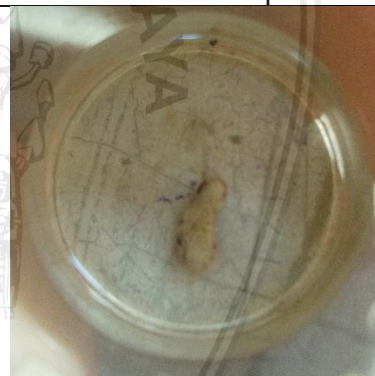
Sampel Uji Histopatologi



Cotton Swap



Formalin



Ginjal Nila

Lampiran 3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (*P. speciosa*)



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
 Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 138D / 102.7 / 2018
 Sifat : Biasa
 Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon

Nama	NIM	Fakultas
Ulifatul Safitri	155080507111044	Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
Farida Mauludia	155080501111024	
Dwi Ayuning	155080507111005	
Evi Zulfiana	155080507111024	

2. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Pete
 Nama latin : *Parkia speciosa*
 Bagian sampel : Kulit
 Bentuk sampel : Ekstrak
 Pelarut : Etanol 96%
 Asal sampel : -
 Tanggal penerimaan : 19 Desember 2018
 Tanggal pemeriksaan : 20 Desember 2018

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Positif
2.	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	Positif
	Dragendrof	Endapan Jingga	Positif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	Positif
3.	Tanin	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif
4.	Terpenoid		
	Steroid	Hijau Kebiruan	Negatif
	Triterpenoid	Orange, Jingga Kecokelatan	Positif
5.	Saponin	Busa Permanen	Positif

4. Lampiran

Nama Sampel	Flavonoid	Alkaloid		
		Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Kulit Pete (<i>Parkia speciosa</i>)				

Nama Sampel	Tanin	Terpenoid	Saponin

Lampiran 4. Perhitungan kadar air dan rendemen Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (*P. speciosa*)

- Kadar air

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Berat basah}}{\text{Berat kering}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = \frac{5}{8} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = 62,5 \%$$

- Rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Jumlah ekstrak yang diperoleh}}{\text{jumlah bahan yang digunakan}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{34}{500} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = 6,8 \%$$



Lampiran 5. Hasil Uji Biokimia *P. aeruginosa*



UNIT LAYANAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
 Kampus C Mulyorejo Surabaya (60115) Telephon 62 – 31 5936501, Faks 62 – 31 5926804, 5936502
 E-mail : unitlayanan.biologiua@gmail.com

LAPORAN HASIL PENGUJIAN

Pemesan Isolat : Dwi Ayuning H. FPK UB
 Tanggal Isolat : 10 Desember 2018
 Jenis Isolat : *Pseudomonas aeruginosa*
 Kemasan Isolat : Tabung Agar Miring
 Asal Isolat : Aquaculture

HASIL ANALISIS
 Hasil identifikasi berdasarkan sifat morfologis dan uji fisiologis sebagai berikut :

Uji Biokimia	Hasil Identifikasi
Sifat Gram	Negatif
Morfologi sel	Batang
Pigmentasi	Blue – Green
Arginin	+
Oksidase	+
Denitrifikasi	+
Gelatin	+
Strach	-
Glukosa	+
Trehalosa	-
Alfa-keto	+
Inositol	-
Valine	-
Alanin	+
Xylosa	-
Sukrosa	-
Malonat	-
Rhamosa	-
Ribosa	-

Mengetahui,
 Sekretaris

 Dr. Junairiah, M. Kes
 NIP. 197107142002122002

Surabaya, 10 Desember 2018
 Penyelia,

 Drs. Agus Supriyanto, M. Kes
 NIP. 196208241989031002

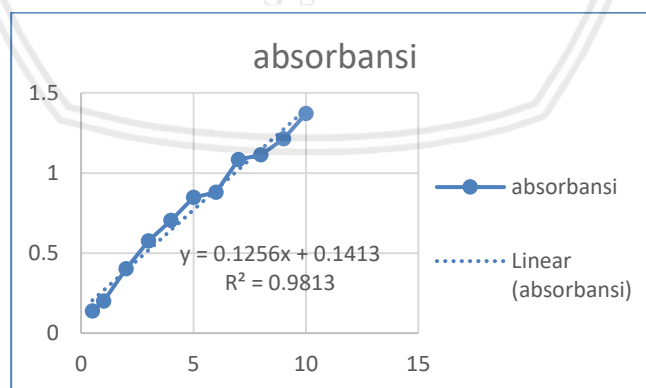
Lampiran 6. Perhitungan Kepadatan Bakteri dengan McFarland

a. Perhitungan kepadatan Bakteri Awal menggunakan metode Mc Farland

- Didapatkan nilai absorbansi dari larutan standar Mc Farland adalah sebagai berikut:

Mc Farland	
ppm	Absorbansi
0,5	0,138
1	0,2
2	0,401
3	0,576
4	0,704
5	0,848
6	0,880
7	1,083
8	1,114
9	1,212
10	1,370

- Kemudian data tersebut dimasukkan kedalam grafik regresi dan didapatkan rumus perhitungan yang digunakan untuk menghitung kepadatan awal bakteri *P. aeruginosa*.



- Dari rumus diatas, dapat dihitung kepadatan awal bakteri *P. aeruginosa*. Adapun perhitungannya adalah sebagai berikut:

$$y = 0,1413 + 0,1256x$$

Lampiran 6. lanjutan

$$\frac{y - 0,1413}{0,1256} = x$$

(ppm)	Absorbansi (y)	Mc Farland (x)	sel/ml
1000	0,058	0,5	$<3 \times 10^8$
500	0,105	0,5	$<3 \times 10^8$
100	0,157	0,5	$<3 \times 10^8$
10	0,188	0,5	$<3 \times 10^8$
1	0,204	0,5	$<3 \times 10^8$
+	0,188	0,5	$<3 \times 10^8$
-	0,518	1	3×10^8

- Setelah perhitungan nilai Mc Farland diketahui, dilakukan penyetaraan suspensi bakteri dengan larutan standar Mc Farland, didapatkan hasil jumlah kepadatan awal bakteri *P. aeruginosa* (sel/ml).
- Kepadatan bakteri awal yaitu disesuaikan dengan nilai dosis yang digunakan sebagai dosis minimum yang dapat menghambat bakteri, diperoleh nilai Uji log adalah 10 ppm, sehingga diketahui kepadatan awal bakteri *P. aeruginosa* adalah $<3 \times 10^8$ sel/ml.

b. Kepadatan Bakteri 10^7 sel/ml

- Kepadatan bakteri yang digunakan untuk penginfeksi adalah 10^7 .
- Untuk mendapatkan kepadatan 10^7 , dilakukan pembuatan bakteri induk dengan cara menanam bakteri pada media TSB dengan volume 6000 ml, yang diinkubasi pada inkubator selama 24 jam, kemudian bakteri induk dihitung nilai absorbansi dengan menggunakan *UV 1700 PharmaSpec UV-Vis spectrophotometry Simadzu* dengan panjang gelombang 600 nm.

Lampiran 6. lanjutan

- Hasil absorbansi kemudian dimasukkan kedalam rumus perhitungan pada grafik untuk mendapatkan jumlah kepadatan bakteri induk.
- Didapatkan hasil kepadatan awal bakteri induk adalah $>3 \times 10^8$ sel/ml, kemudian dilakukan pengenceran dengan rumus :

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

Keterangan :

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

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

V_1 : Volume suspensi bakteri dalam TSB yang dibutuhkan

V_2 : Volume yang diinginkan

- Perhitungan untuk mendapatkan kepadatan bakteri 10^7 adalah sebagai berikut:

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

$$V_1 \times 3 \times 10^8 = 10.000 \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{1 \times 10^{11}}{3 \times 10^8}$$

$$V_1 = \frac{1 \times 10^3}{3}$$

$$V_1 = 333 \text{ ml}$$

- Berdasarkan perhitungan diatas diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan adalah sebanyak 333 ml tiap toples perlakuan.

Lampiran 7. Perhitungan Dosis Ekstrak pada Uji MIC

Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak dosis uji yaitu Aquades steril dan DMSO sebanyak 10%, adapun dosis yang digunakan dan perhitungannya adalah sebagai berikut :

- Perhitungan DMSO 10%

$$\text{DMSO 10\%} = \frac{10}{100} \times 20 \text{ ml} = 2 \text{ ml DMSO} + 18 \text{ ml aquades steril}$$

Larutan stok DMSO 10 % terbuat dari 2 ml DMSO 100% yang dilarutkan 18 ml aquades steril. Kemudian dilakukan pengenceran untuk mendapatkan dosis ekstrak yang diinginkan.

$$1000 \text{ ppm (Larutan stok)} \rightarrow \frac{1000}{1000} \times 5 \text{ ml} = 5 \text{ mg ekstrak} + 5 \text{ ml DMSO 10\%}$$

$$500 \text{ ppm} \rightarrow \frac{500}{1000} \times 3 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml ekstrak} + 1,5 \text{ ml DMSO 10\%}$$

$$100 \text{ ppm} \rightarrow \frac{100}{1000} \times 3 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml ekstrak} + 2,7 \text{ ml DMSO 10\%}$$

$$10 \text{ ppm} \rightarrow \frac{10}{1000} \times 3 \text{ ml} = 0,03 \text{ ml ekstrak} + 2,97 \text{ ml DMSO 10\%}$$

$$1 \text{ ppm} \rightarrow \frac{1}{1000} \times 3 \text{ ml} = 0,003 \text{ ml ekstrak} + 2,997 \text{ ml DMSO 10\%}$$

$$\text{Tetrasiklin (30 ppm)} \rightarrow \frac{0,03 \text{ gr}}{1 \text{ L}} = \frac{x}{1.000 \text{ ml}}$$

$$= 0,03 \text{ gr antibiotik} \times 1.000 \text{ ml} = 30 \text{ mg/l}$$

$$\frac{30}{1000} \times 10 \text{ ml} = 0,3 \text{ mg ekstrak} + 10 \text{ ml aquades steril}$$

Lampiran 8. Perhitungan Dosis Uji In Vivo

Volume toples yang digunakan dalam penelitian yaitu 10.000 ml atau 10 L.

Adapun perhitungan dosis ekstrak adalah sebagai berikut :

a. 10 ppm

$$10 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mg}}{1\text{L}}$$

$$10 \text{ L} = 10 \text{ mg} \times 10 \text{ L}$$

$$= \frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ L}}$$

$$= \frac{0,1 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

d. 55 ppm

$$55 \text{ ppm} = \frac{55 \text{ mg}}{1\text{L}}$$

$$10 \text{ L} = 55 \text{ mg} \times 10 \text{ L}$$

$$= \frac{550 \text{ mg}}{10 \text{ L}}$$

$$= \frac{0,55 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

b. 25 ppm

$$25 \text{ ppm} = \frac{25 \text{ mg}}{1\text{L}}$$

$$10 \text{ L} = 25 \text{ mg} \times 10 \text{ L}$$

$$= \frac{250 \text{ mg}}{10 \text{ L}}$$

$$= \frac{0,25 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

e. Tetrasiklin 30 ppm

$$30 \text{ ppm} = \frac{30 \text{ mg}}{1\text{L}}$$

$$10 \text{ L} = 30 \text{ mg} \times 10 \text{ L}$$

$$= \frac{300 \text{ mg}}{10 \text{ L}}$$

$$= \frac{0,3 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

c. 40 ppm

$$40 \text{ ppm} = \frac{40 \text{ mg}}{1\text{L}}$$

$$10 \text{ L} = 40 \text{ mg} \times 10 \text{ L}$$

$$= \frac{400 \text{ mg}}{10 \text{ L}}$$

$$= \frac{0,4 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

Lampiran 9. Skoring Kelainan Patologi Ginjal Ikan Nila (*O. niloticus*)

Kelainan Patologi	Sampe l	Ulanga n	Area Lapang Pandang					Rerat a LP	Rerata Sampe l
			1	2	3	4	5		
Kongesti	A (10 ppm)	1	2	3	3	3	4	3	2,87
		2	4	3	3	4	3	3,4	
		3	2	3	2	1	3	2,2	
	B (25 ppm)	1	3	2	3	2	3	2,6	2,40
		2	1	2	2	3	2	2	
		3	1	3	3	4	2	2,6	
	C (40 ppm)	1	2	3	2	2	2	2,2	2,00
		2	1	1	2	3	2	1,8	
		3	1	2	1	3	3	2	
	D (55 ppm)	1	2	1	1	1	1	1,2	1,33
		2	1	2	1	2	2	1,6	
		3	1	1	1	1	2	1,2	
	K-	1	3	4	3	3	3	3,2	3,07
		2	3	3	3	3	4	3,2	
		3	3	3	4	2	2	2,8	
	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 (10 ppm)	1	3	4	3	3	4	3,4	3,00
		2	3	4	3	2	4	3,2	
		3	3	3	2	1	3	2,4	
	B (25 ppm)	1	2	3	3	1	2	2,2	2,27
		2	2	3	1	2	3	2,2	
		3	3	2	2	3	2	2,4	
	C (40 ppm)	1	2	2	3	3	2	2,4	2,13
		2	3	2	2	3	1	2,2	
		3	2	1	3	2	1	1,8	
	D (55 ppm)	1	1	2	1	2	1	1,4	1,53
		2	1	1	1	2	2	1,4	
		3	2	1	1	2	3	1,8	
	K-	1	3	4	3	3	3	3,2	3,13
		2	3	4	4	2	2	3	
		3	3	3	4	4	2	3,2	
	K+	1	1	1	1	1	1	1	1
		2	1	1	1	1	1	1	
		3	1	1	1	1	1	1	

Lampiran 10. Perhitungan Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Nila

a) Kongesti

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata±STD
	1	2	3		
A (10 ppm)	3	3,4	2,2	8,6	2,87±0,61
B (25 ppm)	2,6	2	2,6	7,2	2,40±0,35
C (40 ppm)	2,2	1,8	2	6	2±0,20
D (55 ppm)	1,2	1,6	1,2	4	1,33±0,23

$$\begin{aligned}\text{Faktor Koreksi} &= \text{Total}^2 / n.r \\ &= (25,8)^2 / 12 \\ &= 55,47\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat (JK) Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (D3)^2 - FK \\ &= (3)^2 + (3,4)^2 + (2,2)^2 + (2,6)^2 + \dots + (1,2)^2 - FK \\ &= 4,97\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Perlakuan} &= \frac{\Sigma A^2 + \Sigma B^2 + \Sigma C^2}{r} - FK \\ &= \frac{9^2 + 8,8^2 + 8^2}{3} - 55,47 \\ &= 3,80\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 4,97 - 3,80 \\ &= 1,17\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas (db) Total} &= (t) \cdot (r) - 1 \\ &= (4) \cdot (3) - 1 \\ &= 11\end{aligned}$$

$$\text{Db Perlakuan} = (t) - 1 = (4) - 1 = 3$$

$$\begin{aligned}\text{Db Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\ &= 11 - 3 = 8\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} \\ &= \frac{3,80}{3} = 1,27\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{KT Acak} &= \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} \\ &= \frac{1,17}{8} = 0,15\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{F Hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} \\ &= \frac{1,27}{0,15} = 8,63\end{aligned}$$

Lampiran 10. Lanjutan

Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F _{hit}	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3,80	1,27	8,63**	4,07	7,59
Acak	8	1,17	0,15	-	-	-
Total	11	4,97	-	-	-	-

Keterangan **: Berbeda Sangat Nyata

Karena didapatkan nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%, maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Menghitung Nilai BNT

$$\text{SED} = \sqrt{2 \text{ KT acak/r}} = \sqrt{2 \times 0,15 / 3} = 0,31$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} = 2,31 / 0,31 = 0,72$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} = 3,36 / 0,31 = 1,05$$

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		2,87	2,40	2,00	1,33	
A	2,87	-	-	-	-	a
B	2,40	0,47 ^{ns}	-	-	-	a
C	2,00	0,87*	0,40 ^{ns}	-	-	ab
D	1,33	1,53**	1,07**	0,67 ^{ns}	-	bc

Keterangan: (ns) = tidak berbeda nyata; (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata

Perhitungan Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	8,6	-3	1	-1
B	7,2	-1	-1	3
C	6	1	-1	-3
D	4	3	1	1
Q= $\sum (ci \cdot Ti)$		-15	-0,6	-1
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK= Q^2 / Kr		3,75	0,03	0,02

$$\begin{aligned} \text{JK Regresi Total} &= \text{JK Linear} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\ &= 3,75 + 0,03 + 0,02 \\ &= 3,80 \end{aligned}$$

Lampiran 10. lanjutan

Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3,80	1,27	8,63**	4,07	7,59
Linier	1	3,75	3,75	25,57**		
Kuadratik	1	0,03	0,03	0,20 ^{ns}		
Kubik	1	0,017	0,02	0,11 ^{ns}		
Acak	8	1,17	0,15			
Total	11					

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata; (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata

Menghitung R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linear} = \frac{JK \text{ Linear}}{JK \text{ Linear} + JK \text{ Acak}} = \frac{3,75}{3,75 + 1,17} = 0,76$$

Persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 3,2333 - 0,0333x$ dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	y	xy	x ²
A1	10	3,00	30	100
A2	10	3,40	34	100
A3	10	2,20	22	100
B1	25	2,60	65	625
B2	25	2,00	50	625
B3	25	2,60	65	625
C1	40	2,20	88	1600
C2	40	1,80	72	1600
C3	40	2,00	80	1600
D1	55	1,20	66	3025
D2	55	1,60	88	3025
D3	55	1,20	66	3025
Total	390	25,80	726	16050

Mencari b1

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = -0,0333$$

$$b_0 = \frac{\sum y}{n} - (b_1 \cdot \frac{\sum x}{n}) = 3,2333$$

Lampiran 10. lanjutan

Persamaan regresi linear adalah $y = b_0 + b_1.x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 3,2333 - 0,333x$

b) Nekrosis

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata $\pm$ STD
	1	2	3		
A (10 ppm)	3,4	3,2	2,4	9	3 $\pm$ 0,53
B (25 ppm)	2,4	2,2	2,4	6,8	2,27 $\pm$ 0,12
C (40 ppm)	2,4	2,2	1,8	6,4	2,13 $\pm$ 0,31
D (55 ppm)	1,4	1,4	1,8	4,6	1,53 $\pm$ 0,23

$$\begin{aligned}\text{Faktor Koreksi} &= \text{Total}^2 / n.r \\ &= (26,8)^2 / 12 \\ &= 59,85\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat (JK)Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (D3)^2 - FK \\ &= (3,4)^2 + (3,2)^2 + (2,4)^2 + (2,4)^2 + \dots + (1,8)^2 - FK \\ &= 4,15\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Perlakuan} &= \frac{\Sigma A^2 + \Sigma B^2 + \Sigma C^2}{r} - FK \\ &= \frac{9,4^2 + 9^2 + 8,4^2}{3} - 59,85 \\ &= 3,27\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 4,15 - 3,27 \\ &= 0,88\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas (db) Total} &= (t) \cdot (r) - 1 \\ &= (4) \cdot (3) - 1 \\ &= 11\end{aligned}$$

$$\text{Db Perlakuan} = (t) - 1 = (4) - 1 = 3$$

$$\begin{aligned}\text{Db Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\ &= 11 - 3 = 8\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} \\ &= \frac{3,27}{3} = 1,09\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{KT Acak} &= \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} \\ &= \frac{0,88}{8} = 0,11\end{aligned}$$

$$\text{F Hitung} = \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}}$$

Lampiran 10. Lanjutan

$$= \frac{1,09}{0,88} = 9,90$$

Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F _{hit}	F 5%	F1%
Perlakuan	3	3,27	1,09	9,90**	4,07	7,59
Acak	8	0,88	0,11	-	-	-
Total	11	3,2667	-	-	-	-

Keterangan **: Berbeda Sangat Nyata

Karena didapatkan nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%, maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Menghitung Nilai BNT

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{2 \text{ KT acak/r}} = \sqrt{2 \times 0,11 / 3} = 0,27 \\ \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} = 2,31 / 0,27 = 0,62 \\ \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} = 3,36 / 0,27 = 0,91 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		3,00	2,27	2,13	1,53	
A	3,00	-	-	-	-	a
B	2,27	0,73*	-	-	-	b
C	2,13	0,87*	0,13 ^{ns}	-	-	bc
D	1,53	1,47**	0,73*	0,60 ^{ns}	-	cd

Keterangan: (ns) = tidak berbeda nyata; (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata

Perhitungan Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	9	-3	1	-1
B	6,8	-1	-1	3
C	6,4	1	-1	-3
D	4,6	3	1	1
Q= Σ(ci*Ti)		-13,6	0,4	-3,2
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= (Σci^2)*r		60	12	60
JK=Q^2/Kr		3,083	0,013	0,171

$$\begin{aligned} \text{JK Regresi Total} &= \text{JK Linear} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\ &= 3,083 + 0,013 + 0,171 \\ &= 3,27 \end{aligned}$$

Lampiran 10. lanjutan

Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F _{hit}	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3,27	1,09	9,90**	4,07	7,59
Linier	1	3,08	3,08	28,02**		
Kuadratik	1	0,01	0,01	0,12 ^{ns}		
Kubik	1	0,171	0,17	1,55 ^{ns}		
Acak	8	0,88	0,11			
Total	11					

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata

Menghitung R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linear} = \frac{JK \text{ Linear}}{JK \text{ Linear} + JK \text{ Acak}} = \frac{3,08}{3,08 + 0,88} = 0,78$$

Persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 3,2156 - 0,0302x$ dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	Xy	x ²
A1	10	3,40	34	100
A2	10	3,20	32	100
A3	10	2,40	24	100
B1	25	2,20	55	625
B2	25	2,20	55	625
B3	25	2,40	60	625
C1	40	2,40	96	1600
C2	40	2,20	88	1600
C3	40	1,80	72	1600
D1	55	1,40	77	3025
D2	55	1,40	77	3025
D3	55	1,80	99	3025
Total	390	26,80	769	16050

Mencari b₁

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = -0,0302$$

$$b_0 = \frac{\sum y}{n} - (b_1 \cdot \frac{\sum x}{n}) = 3,2156$$

Persamaan regresi linear adalah $y = b_0 + b_1 \cdot x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 3,2156 - 0,0302x$

Lampiran 11. Uji Cakram

Perlakuan	Ulangan		Total	Rerata $\pm$ STD
	D1	D2		
A (10 ppm)	6,8	7,4	14,2	7,10 $\pm$ 0,42
B (25 ppm)	6,75	8,4	15,15	7,58 $\pm$ 1,17
C (40 ppm)	8,55	9,3	17,85	8,93 $\pm$ 0,53
D (55 ppm)	9,8	10,25	20,05	10,03 $\pm$ 0,32

$$\begin{aligned}\text{Faktor Koreksi} &= \text{Total}^2 / n.r \\ &= (67,25)^2 / 8 \\ &= 565,32\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat (JK) Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (B1)^2 + \dots + (D3)^2 - FK \\ &= (6,8)^2 + (7,4)^2 + (6,75)^2 + (1,6)^2 + \dots + (1)^2 - 25.23 \\ &= 12,49\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Perlakuan} &= \frac{\Sigma A^2 + \Sigma B^2 + \Sigma C^2 + \Sigma D^2}{r} - FK \\ &= \frac{14,2 + 15,15^2 + 17,85^2 + 20,05^2}{3} - 25.23 \\ &= 10,57\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 12,49 - 10,57 \\ &= 1,92\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas (db) Total} &= (t) \cdot (r) - 1 \\ &= (4) \cdot (2) - 1 \\ &= 7\end{aligned}$$

$$\text{Db Perlakuan} = (t) - 1 = (4) - 1 = 3$$

$$\text{Db Acak} = \text{db Total} - \text{db perlakuan} = 7 - 3 = 4$$

$$\begin{aligned}\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} \\ &= \frac{10,57}{3} = 3,52\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{KT Acak} &= \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} \\ &= \frac{1,92}{4} = 0,48\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{F Hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} \\ &= \frac{3,52}{0,48} = 7,33\end{aligned}$$

Lampiran 11. lanjutan

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	10,57	3,52	7,33*	6,54	16,69
Acak	4	1,92	0,48			
Total	7					

Keterangan * : Berbeda Nyata

Karena didapatkan nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%. maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Menghitung Nilai BNT

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \sqrt{2} \text{ KT acak/r} = \sqrt{2} \times 0,96 / 2 = 0,69 \\
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} = 2,78 / 0,69 = 1,92 \\
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} = 4,60 / 0,69 = 3,18
 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		7,10	7,58	8,93	10,03	
A	7,10	-	-	-	-	a
B	7,58	0,48 ^{ns}	-	-	-	a
C	8,93	1,83 ^{ns}	1,35 ^{ns}	-	-	a
D	10,03	2,93*	2,45*	1,10 ^{ns}	-	ab

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata; (*) = berbeda nyata

Perhitungan Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A	14,2	-1	1
B	15,15	0	-2
C	17,85	1	1
D	20,05	0	0
Q= $\sum (ci \cdot Ti)$		3,65	1,75
Hasil Kuadrat		2	6
Kr= $(\sum ci^2) \cdot r$		4	12
JK= Q^2 / Kr		3,33	0,26

$$\begin{aligned}
 \text{JK Regresi Total} &= \text{JK Linear} + \text{JK Kuadratik} \\
 &= 3,33 + 0,26 \\
 &= 3,59
 \end{aligned}$$

Lampiran 11. lanjutan

Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	Jk	Kt	Fhit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	10,57	3,52	7,34*	6,59	16,69
Linier	1	3,33	3,33	6,94*		
Kuadratik	1	0,26	0,26	0,53 ^{ns}		
Acak	4	1,92	0,48			
Total	7	12,49				

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata; (*) = berbeda nyata

$$R^2 \text{ Linear} = \frac{JK \text{ Linear}}{JK \text{ Linear} + JK \text{ Acak}} = \frac{3,33}{3,33 + 1,92} = 0.63$$

Persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 0,0675 + 6,2125x$ dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	xy	x ²
A1	10	6,8	68	100
A2	10	7,4	74	100
B1	25	6,75	168,75	625
B2	25	8,4	210	625
C1	40	8,55	342	1600
C2	40	9,3	372	1600
D1	55	9,8	539	3025
D2	55	10,25	563,75	3025
Total	260	67,25	17485	67600

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

$$= 6,2125$$

$$b_0 = \frac{\sum y}{n} - (b_1 \cdot \frac{\sum x}{n})$$

$$= 0,0675$$

Lampiran 12. Pengamatan Kualitas Air

Tanggal	Perlakuan	Waktu	Suhu	DO	pH
8 - 19 Februari	A1	Pagi	25,9	6,2	7,44
		Siang	25,8	5,8	7,53
		Sore	25,6	7	7,25
	A2	Pagi	25,7	5,5	7,72
		Siang	26,8	5,9	7,45
		Sore	25,5	6,8	7,63
	A3	Pagi	25,6	7,2	7,98
		Siang	25,7	5,6	7,82
		Sore	25,8	6,4	7,55
	B1	Pagi	25,9	6,9	7,11
		Siang	25,7	7,4	7,89
		Sore	25,6	8,1	7,46
	B2	Pagi	25,8	6,5	8,1
		Siang	25,8	8,4	8,11
		Sore	25,5	7,5	8,7
	B3	Pagi	25,7	5,8	8,3
		Siang	25,8	6,7	7,64
		Sore	25,7	7	7,43
	C1	Pagi	26	6	7,21
		Siang	26,5	5,5	8,09
		Sore	25,8	6,7	8,01
	C2	Pagi	25,8	8,3	7,13
		Siang	26	8,8	8,09
		Sore	25,7	7,2	7,86
	C3	Pagi	25,4	7,3	8,11
		Siang	25,8	7,8	8,7
		Sore	25,7	6,5	7,95
	D1	Pagi	25,2	5,9	7,34
		Siang	25,7	6,7	7,59
		Sore	25,5	7,2	7,24
	D2	Pagi	25,3	6	8,02
		Siang	25,8	6,8	8,07
		Sore	25,4	7,8	8,14
	D3	Pagi	25,8	5,5	7,65
		Siang	26,1	6,8	7,26
		Sore	25,7	7,5	7,84
Kisararan			25,2-26,8	5,5-8,4	7,11-8,14

Lampiran 13. Kelulushidupan Ikan Nila

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata $\pm$ STD
	1	2	3		
A (10 ppm)	60	70	60	190	63.33 $\pm$ 5.77
B (25 ppm)	70	80	60	210	70.00 $\pm$ 10
C (40 ppm)	80	90	80	250	83.33 $\pm$ 5.77
D (55 ppm)	90	90	80	260	86.67 $\pm$ 5.77

$$\begin{aligned}\text{Faktor Koreksi} &= \text{Total}^2 / n.r \\ &= (910)^2 / 12 \\ &= 69008,33\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat (JK) Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (D3)^2 - FK \\ &= (60)^2 + (70)^2 + (60)^2 + (70)^2 + \dots + (80)^2 - FK \\ &= 1491,67\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Perlakuan} &= \frac{\Sigma A^2 + \Sigma B^2 + \Sigma C^2}{r} - FK \\ &= \frac{190^2 + 210^2 + 250^2 + 260^2}{3} - 69008,33 \\ &= 1091,67\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 1491,67 - 1091,67 \\ &= 400\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas (db) Total} &= (t) \cdot (r) - 1 \\ &= (4) \cdot (3) - 1 \\ &= 11\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Db Perlakuan} &= (t) - 1 = (4) - 1 = 3 \\ \text{Db Acak} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} = 11 - 3 = 8\end{aligned}$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{1091,67}{3} = 363,89$$

$$\text{KT Acak} = \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{400}{8} = 50$$

$$\text{F Hitung} = \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{363,89}{50} = 7,2$$

Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	DB	JK	Kt	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1091.67	363.89	7.28*	4.07	7.59
Acak	8	400	50.00			
Total	11	1491.67				

Keterangan (*): Berbeda Nyata

Karena didapatkan nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5% dan lebih kecil dari F tabel 1%, maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Menghitung Nilai BNT

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{2} \text{ KT acak/r} = \sqrt{2} \times 50 / 3 = 5,77 \\ \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} = 2,31 / 5,77 = 13,33 \\ \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} = 3,36 / 5,77 = 19,39 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		63.33	70.00	83.33	86.67	
A	63.33	-	-	-	-	a
B	70.00	6.67 ^{ns}	-	-	-	a
C	83.33	20.00**	13.33*	-	-	b
D	86.67	23.33**	16.67*	3.33 ^{ns}	-	bcc

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata; (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata

Perhitungan Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	190	-3	1	-1
B	210	-1	-1	3
C	250	1	-1	-3
D	260	3	1	1
Q = $\sum (ci \cdot Ti)$		250	-10	-50
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK = Q^2 / Kr		1041.667	8.333	41.667

$$\begin{aligned} \text{JK Regresi Total} &= \text{JK Linear} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\ &= 1041.667 + 8.333 + 41.667 \\ &= 1091,67 \end{aligned}$$

Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F _{hit}	F _{5%}	F _{1%}
Perlakuan	3	1091.67	363.89	7.28 ^{ns}	4.07	7.59
Linier	1	1041.67	1041.67	20.83**		
Kuadratik	1	8.33	8.33	0.17*		
Kubik	1	41.667	41.67	0.83*		
Acak	8	400	50.00			
Total	11	1491.67				

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata; (*) = berbeda nyata; (**) = berbeda sangat nyata

Menghitung R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linear} = \frac{JK \text{ Linear}}{JK \text{ Linear} + JK \text{ Acak}} = \frac{1041,67}{1041,67 + 400} = 0.72$$

Persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 57,77 + 0,555x$

dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	xy	x ²
A1	10	60	600	100
A2	10	70	700	100
A3	10	60	600	100
B1	25	70	1750	625
B2	25	80	2000	625
B3	25	60	1500	625
C1	40	80	3200	1600
C2	40	90	3600	1600
C3	40	80	3200	1600
D1	55	90	4950	3025
D2	55	90	4950	3025
D3	55	80	4400	3025
Total	390	910	354900	152100

Mencari b₁

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = 0,555$$

$$b_0 = \frac{\sum y}{n} - (b_1 \cdot \frac{\sum x}{n}) = 57,77$$

Persamaan regresi linear adalah $y = b_0 + b_1 \cdot x$ sehingga didapatkan persamaan y

$$= 57,77 + 0.555x$$

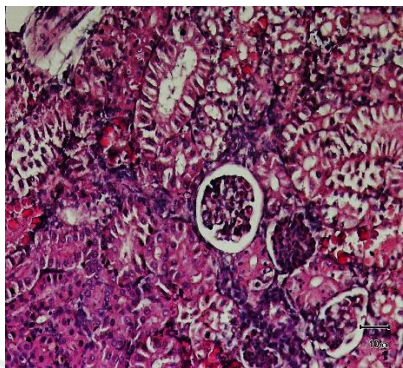
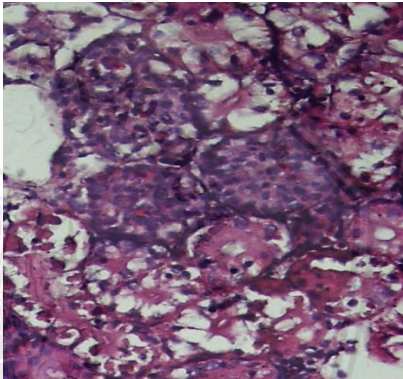
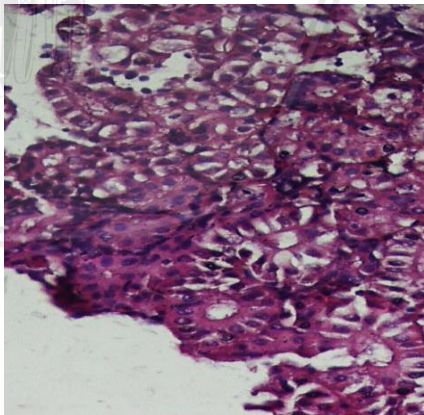
Lampiran 14. Uji Normalitas Kelulushidupan Menggunakan SPSS

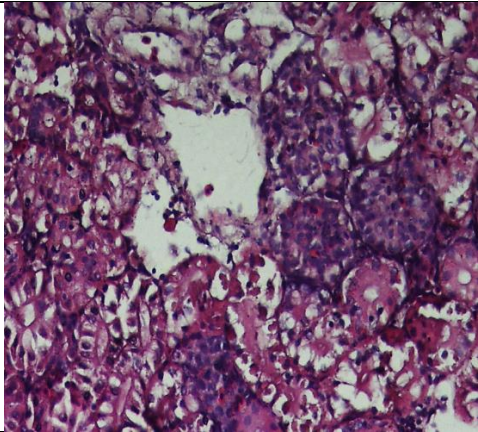
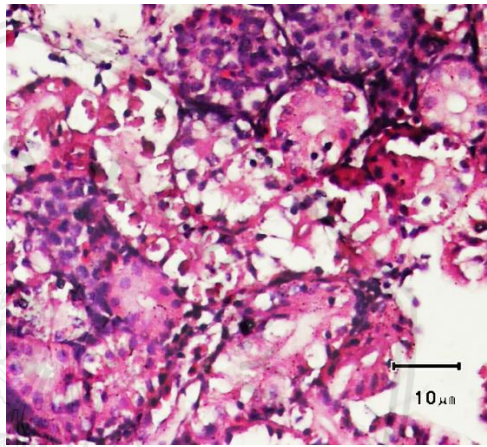
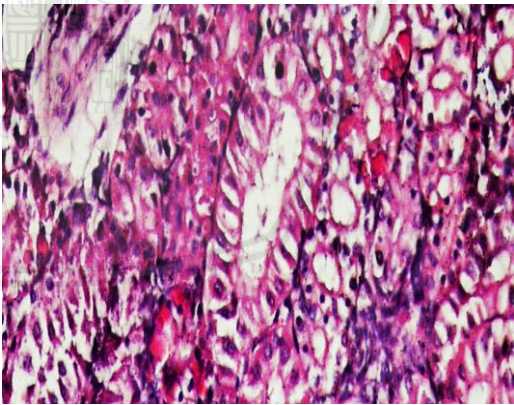
One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

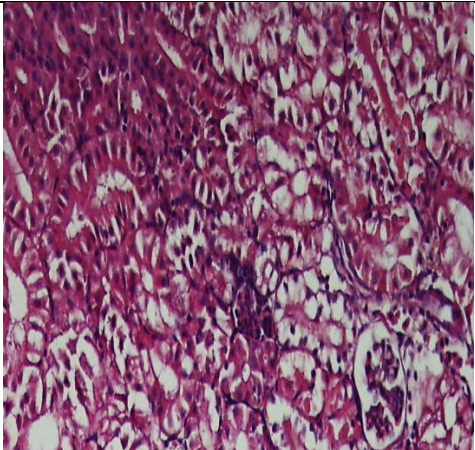
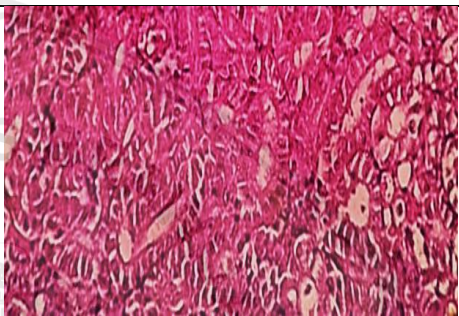
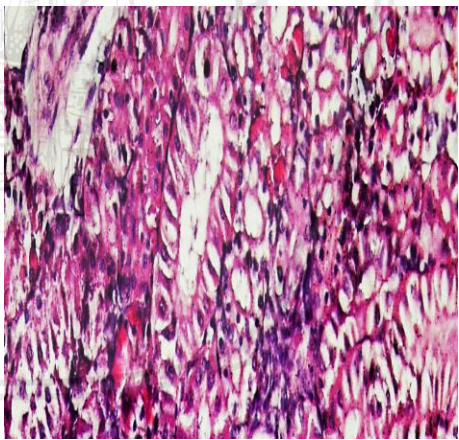
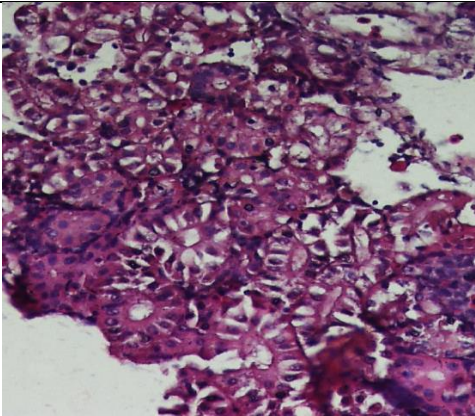
		Unstandardized Residual
N		12
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	6.39602149
Most Extreme Differences	Absolute	.147
	Positive	.147
	Negative	-.134
Kolmogorov-Smirnov Z		.510
Asymp. Sig. (2-tailed)		.957

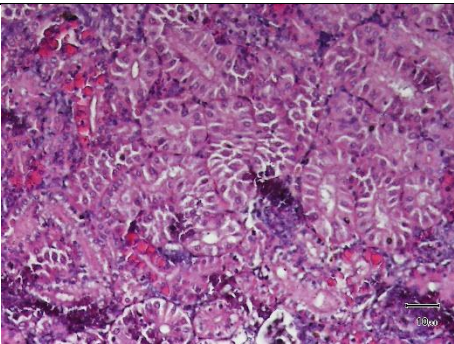
a. Test distribution is Normal.

Lampiran 15. Hasil Gambar Histopatologi Ginjal Ikan Nila (*O. niloticus*)

Dosis	Ulangan	Gambar Hasil Uji Histopatologi
A (10 ppm)	1	
	2	
	3	

B (25 ppm)	1	
	2	
	3	

	1	
C (40 ppm)	2	
	3	
D (55 ppm)	1	

	2	
	3	