

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

SKRIPSI

Oleh:

EVI ZULFIANA

NIM. 155080507111024



**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 HATI 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:

EVI ZULFIANA

NIM. 155080507111024



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

SKRIPSI

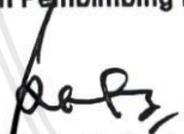
PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KULIT BUAH PETAI (*Parkia speciosa*) TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

Oleh :

EVI ZULFIANA
NIM. 155080507111024

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal 21 Mei 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Pembimbing I


(Prof. Dr. Ir. Maftuch, M.Si.)

NIP. 19660825 199203 1 001

Tanggal: 18 JUN 2019

Menyetujui,

Dosen Pembimbing II


(Ir. Heny Suprastyani, M.S.)

NIP. 19620904 198701 2 001

Tanggal: 18 JUN 2019

Mengetahui,

Ketua Jurusan Manajemen
Sumberdaya Perairan



(Dr. Ir. M. Firdaus, M.P.)

NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal: 18 JUN 2019



IDENTITAS TIM PENGUJI

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

Nama Mahasiswa : EVI ZULFIANA

NIM : 155080507111024

Program Studi : BUDIDAYA PERAIRAN

PENGUJI PEMBIMBING

Pembimbing 1 : PROF. DR. IR. MAFTUCH, M. SI.

Pembimbing 2 : IR. HENY SUPRASTYANI, M.S.

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Dosen Penguji 1 : PROF. DR. IR. SRI ANDAYANI, M.S.

Dosen Penguji 2 : DR. IR. ARNING W. EKAWATI, M.S.

Tanggal Ujian : 21 Mei 2019

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyadari bahwa penulisan laporan ini dapat terselesaikan karena ada dukungan dari beberapa pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa
2. Bapak Bambang Sudijanto dan Ibu Riati selaku orang tua yang telah memberikan doa, motivasi dan dukungan.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Maftuch, M.Si. dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, M.S. selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan, saran dan nasehat kepada penulis.
4. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, M.S. dan Ibu Dr. Ir. Arning W. Ekawati, M.S. selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan arahan, saran dan nasehat kepada penulis.
5. Ibu dan bapak laboran yang telah membimbing dan membantu selama jalannya penelitian.
6. Mbak Sira yang telah membantu selama penelitian
7. Farida Mauludia, Ulifatul Safitri dan dwi Ayuning Hafidhah selaku teman seperjuangan selama melakukan skripsi.
8. Sahabat ciwi-ciwi Maya, Devina, Dila, Farida, Dewindra, Tutut, Yashinta yang telah mendukung dalam penyelesaian skripsi.
9. Karawang Asyique yang telah memberi semangat selama mengerjakan skripsi.
10. Nanda Aria yang telah memberi semangat selama mengerjakan skripsi.
11. Cak Uut yang telah membantu selama jalannya penelitian.
12. Teman-teman BP 2015 "Aqualatte" yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi.

RINGKASAN

Evi Zulfiana. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (*Parkia speciosa*) terhadap Histopatologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, (di bawah Bimbingan Prof. Dr. Ir. Maftuch, M.Si. dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, M.S.)

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu komoditas perikanan yang digemari masyarakat. Ikan nila memiliki beberapa kelebihan seperti mampu mencerna makanan secara efisien, memiliki pertumbuhan yang cepat, serta lebih resisten terhadap penyakit, daya adaptasi luas dan toleransinya yang tinggi terhadap berbagai kondisi lingkungan. Penyakit yang biasa menyerang pada ikan nila adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *P. aeruginosa* tersebar luas di sumber air alami dan terkait dengan septikemia pada hewan akuatik. Bakteri ini dianggap sebagai patogen oportunistik, yang menyebabkan penyakit ketika ikan mengalami stres. Upaya untuk mencegah dan menanggulangi serangan bakteri *P. aeruginosa* pada kegiatan budidaya ikan nila diantaranya adalah dengan penggunaan antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik sebagai pengendalian infeksi berbagai bakteri ini tidak cukup efektif. Maka dilakukan suatu pencegahan dengan bahan-bahan alami yang aman dan ramah lingkungan. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan untuk mencegah adanya bakteri *P. aeruginosa* adalah kulit buah petai.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit buah petai (*Parkia speciosa*) sebagai pengobatan terhadap histopatologi (hati) ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember – Februari 2019 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Laboratorium Reproduksi Ikan, Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perairan Divisi Keamanan Hasil Perikanan, Laboratorium Eksploitasi Sumberdaya Perikanan dan Kelautan dan Laboratorium Hidrobiologi Divisi Sumberdaya Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental sedangkan rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri dari 4 perlakuan dan 2 kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif dengan 3 kali ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan dosis ekstrak kasar kulit petai terhadap ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi *P. aeruginosa* dengan dosis 10 ppm, 25 ppm, 40 ppm dan 55 ppm. Pengambilan jaringan hati dilakukan pada hari ke 14 setelah perlakuan. Analisa data menggunakan skoring.

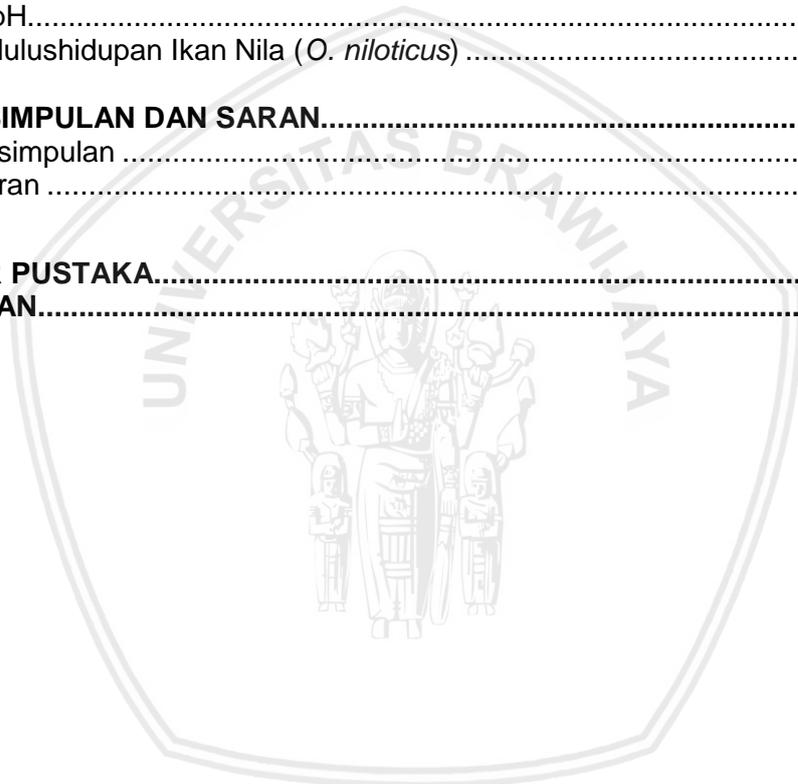
Hasil perlakuan pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) memberikan pengaruh terhadap jaringan hati ikan nila (*O. niloticus*). Kelainan jaringan hati yang terjadi pada saat penelitian adalah Hemoragi dan Nekrosis. Hasil pengamatan menunjukkan kerusakan jaringan hati yang terendah adalah perlakuan D dengan dosis 55 ppm.

Perlakuan yang terbaik pada penelitian ini adalah perlakuan D dengan dosis 55 ppm. Namun 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 hati yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dengan waktu pemeliharaan yang lebih lama.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Kegunaan	4
1.5 Hipotesa	4
1.6 Tempat dan Waktu	4
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Kulit Petai (<i>Parkia speciosa</i>).....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	6
2.1.3 Kandungan Senyawa Aktif	6
2.2 Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	7
2.2.2 Habitat dan Penyebaran	8
2.2.3 Makan dan Kebiasaan Makan.....	9
2.3 Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	10
2.3.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan	11
2.3.3 Infeksi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan Gejala Klinis.....	11
2.4 Histopatologi	12
2.5 Organ Hati Ikan	13
2.5.1 Pengertian dan Fungsi Hati.....	13
2.5.2 Kerusakan pada Hati Ikan Nila.....	14
2.5.3 Pembuatan Preparat pada Histopatologi.....	15
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	17
3.1 Materi Penelitian	17
3.1.1 Alat Penelitian.....	17
3.1.2 Bahan Penelitian.....	18
3.2 Metode Penelitian.....	19
3.3 Rancangan Penelitian	20
3.4 Prosedur Penelitian	23
3.4.1 Persiapan Penelitian	23
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian	31
3.5 Uji Histopatologi Hati	34
3.5.1 Pengambilan Histopatologi Hati	34
3.5.2 Pembuatan Preparat Histopatologi	34
3.5.3 Skoring Histopatologi Hati.....	36
3.6 Parameter Uji	37
3.6.1 Parameter Utama	37

3.6.2 Parameter Penunjang	37
3.7 Analisis Data	38
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1 Histopatologi Hati	39
4.1.1 Gambaran Hati Ikan yang Terinfeksi Bakteri <i>P. aeruginosa</i> dan Normal.....	39
4.1.2 Gambaran Histopatologi Hati pada Sampel Perlakuan	39
a. Hemoragi.....	41
b. Nekrosis.....	46
4.2 Gejala Klinis pada Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	52
4.3 Parameter Kualitas Air	53
a. Suhu.....	54
b. DO.....	54
c. pH.....	55
4.4 Kelulushidupan Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	55
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	59
5.1 Kesimpulan	59
5.2 Saran	59
DAFTAR PUSTAKA.....	60
LAMPIRAN.....	65



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat Penelitian.....	17
2. Bahan Penelitian.....	18
3. Hail Pengamatan Uji MiC	21
4. Hasil Uji Kertas Cakram.....	21
5. Rerata Nilai Skoring Hemoragi.....	42
6. Sumber Keragaman Skoring Hemoragi Jaringan Hati.....	42
7. Uji BNT Skoring Hemoragi Jaringan Hati	43
8. Rerata Nilai Skoring Nekrosis	47
9. Sumber Keragaman Skoring Nekrosis Jaringan Hati	47
10. Uji BNT Hasil Penelitian Nekrosis Hati.....	47
11. Rerata Nilai Uji Kertas Cakram	50
12. Sumber Keragaman Uji Kertas Cakram	50
13. Uji BNT Hasil Uji Kertas Cakram.....	51
14. Kisaran Parameter Kualitas Air	54
15. Kelulushidupan Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	56
16. Sumber Keragaman Kelulushidupan	56
17. Uji BNT Kelulushidupan Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Petai (<i>Parkia speciosa</i>)	5
2. Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	8
3. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
4. Anatomi Ikan Nila.....	13
5. Bagian-bagian Hati Normal Ikan	14
6. Jaringan Hati Rusak.....	15
7. Denah Rancangan Penelitian	22
8. Grafik Hasil Uji LD ₅₀	31
9. Alur Perhitungan Skoring	36
10. Gambar Histopatolgi Hati Sehat dan Rusak.....	39
11. Gambar Histopatologi Hati Rusak Perlakuan	40
12. Grafik Hubungan antar Dosis Nilai Skoring Sel Hati yang Mengalami Hemoragi.....	44
13. Grafik Hubungan antar Dosis Nilai Skoring Sel Hati yang Mengalami Nekrosis	48
14. Grafik Hubungan antar Dosis dan Nilai Uji Kertas Cakram.....	52
15. Gambar Gejala Klinis Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	53
16. Grafik Hubungan antar Dosis dengan Nilai Kelulushidupan Ikan Nila	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian.....	65
2. Bahan Penelitian.....	70
3. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	73
4. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Petai (<i>P. speciosa</i>).....	74
5. Perhitungan Dosis Ekstrak pada Uji MIC	75
6. Skema Uji MIC.....	76
7. Skema Uji In Vitro (Kertas Cakram)	77
8. Perhitungan Kadar Air dan Rendemen	78
9. Perhitungan Kepadatan Bakteri dengan Mc. Farland.....	79
10. Perhitungan Dosis Uji In Vivo.....	82
11. Hasil Uji MIC Pendahuluan	83
12. Uji Kertas Cakram.....	84
13. Hasil Skoring Kerusakan Jaringan Hati Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	89
14. Perhitungan Kerusakan Jaringan Hati Ikan Nila	90
15. Parameter Kualitas Air	100
16. Hasil Uji Normalitas Kelulushidupan Menggunakan SPSS.....	108
17. Hasil Perhitunga Kelulushidupan Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	103
18. Hasil Gambar Histopatologi Hati Seluruh Perlakuan	108

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu komoditas perikanan yang digemari masyarakat dalam memenuhi kebutuhan protein hewani karena memiliki daging yang tebal serta rasa yang enak. Ikan nila juga merupakan ikan yang potensial untuk dibudidayakan karena mampu beradaptasi pada kondisi lingkungan dengan salinitas yang luas (Mulyani *et al.*, 2014). Ikan nila memiliki beberapa kelebihan seperti mampu mencerna makanan secara efisien, memiliki pertumbuhan yang cepat, serta lebih resisten terhadap penyakit, daya adaptasi luas dan toleransinya yang tinggi terhadap berbagai kondisi lingkungan, sehingga ikan nila selain di air tawar juga dapat dikembangkan di air payau, asin dengan kisaran salinitas 0-40 ppt (Djunaedi *et al.*, 2016). Penyakit yang biasa menyerang pada ikan nila adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

P. aeruginosa tersebar luas di sumber air alami dan terkait dengan septikemia pada hewan akuatik. Bakteri ini dianggap sebagai patogen oportunistik, yang menyebabkan penyakit ketika ikan mengalami stres. Sejumlah hewan air termasuk ikan rentan terhadap bakteri *P. aeruginosa* dengan kerugian sedang sampai tinggi. Agen etiologi yang umum ditemukan adalah *P. diminuta*, *P. fluorescens*, *P. putida* dan *P. aeruginosa* dengan derajat virulensi yang berbeda. Gejala khas dari penyakit yang dihasilkan oleh bakteri *P. aeruginosa* adalah pendarahan yang luar biasa di kulit daerah mulut, operkula dan sisi perut tubuh (Hanna *et al.*, 2014).

Upaya untuk mencegah dan menanggulangi serangan bakteri *P. aeruginosa* pada kegiatan budidaya ikan nila diantaranya adalah dengan penggunaan antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik sebagai pengendalian

infeksi berbagai bakteri ini tidak cukup efektif, karena antibiotik dapat menyebabkan bakteri patogen tersebut bersifat resisten. Maka dilakukan suatu pencegahan dengan bahan-bahan alami yang aman dan ramah lingkungan. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan untuk mencegah adanya bakteri *P. aeruginosa* adalah kulit buah petai.

Indonesia, sebagai salah satu negara agraris yang kaya akan sumber daya alam, memiliki beragam tumbuhan yang berpotensi besar untuk dimanfaatkan salah satunya sebagai sumber antioksidan alami. Dari studi literatur menunjukkan bahwa tanaman petai mengandung senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan. Antioksidan pada kulit petai 2 kali lipat dibandingkan dengan buahnya (Ramadani, 2012). Pada penelitian ini ekstrak kulit buah petai digunakan untuk pengobatan pada histopatologi hati ikan nila.

Hati merupakan organ penting yang mensekresikan bahan untuk proses pencernaan. Organ ini umumnya merupakan satu kelenjar yang kompak, berwarna merah kecoklatan. Biasanya hati merupakan organ yang rentan terhadap penyakit yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa*. Bakteri bergerak sangat cepat di dalam pembuluh darah, dan dengan mudah mencapai organ-organ penting dari ikan seperti pada sinusoid hati dan ginjal. Lokasi tersebut akan dimanfaatkan oleh bakteri sebagai media tempat hidup dan memperbanyak diri, serta menggunakan nutrisi yang ada di sekitarnya untuk proses metabolisme (Mangunwardoyo *et al.*,2010).

1.2 Rumusan Masalah

Bakteri *P. aeruginosa* adalah jenis bakteri yang bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit sistemik serta mengakibatkan kematian secara masal. 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 4⁰C atau dibawah 43⁰C. *P. aeruginosa* banyak ditemukan pada tanah, tanaman dan air (Suyono dan Farid, 2011).

Pengendalian yang umum dilakukan untuk pencegahan dan pengobatan terhadap bakteri masih menggunakan bahan-bahan kimia ataupun antibiotik. Sementara penggunaan antibiotik memiliki kekurangan yang dapat menyebabkan residu di dalam tubuh ikan dan bakteri patogen menjadi resisten. Salah satu alternatif untuk mengatasi masalah ini adalah dengan memanfaatkan bahan alami seperti ekstrak kulit buah petai. Tanaman petai (*P. speciosa*) memiliki antioksidan berupa polifenol dan flavonoid yang bisa menangkal radikal bebas dan mampu mencegah bahkan mengatasi beberapa macam penyakit serta dapat berfungsi sebagai penangkap anion superoksida dan lipid superoksida radikal, serta mengurangi aktivitas radikal bebas superoksida.

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan permasalahan:

1. Apakah pemberian ekstrak kulit buah petai (*P. speciosa*) sebagai pengobatan berpengaruh terhadap histopatologi hati ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* ?
2. Berapa dosis ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) yang dapat memberikan efek penurunan tingkat gejala klinis dan tingkat kerusakan histopatologi pada hati ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) sebagai pengobatan terhadap histopatologi hati ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*.

2. Mendapatkan dosis ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) yang dapat memberikan efek penurunan gejala klinis dan tingkat kerusakan histopatologi hati ikan nila (*O. niloticus*).

1.4 Kegunaan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai penggunaan ekstrak kulit petai (*P. speciosa*) terhadap gambaran histopatologi hati ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Selain itu, diharapkan hasil penelitian ini juga dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang penyakit dan kesehatan ikan.

1.5 Hipotesa

Adapun hipotesa dari penelitian adalah sebagai berikut:

H0: Diduga tidak ada pengaruh pemberian ekstrak kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap histopatologi hati ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* ditinjau dari histopatologi.

H1: Diduga ada pengaruh pemberian ekstrak kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap histopatologi hati ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* ditinjau dari histopatologi.

1.6 Tempat dan Waktu

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

2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit Petai (*Parkia speciosa*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klsifikasi dari tanaman petai (*Parkia speciosa*) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnolophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Sub Famili	: Mimosoideae
Genus	: Parkia
Spesies	: <i>Parkia speciosa</i>

Secara karakteristik dari tumbuhan petai (*P. speciosa*) adalah tanaman berbentuk pohon dengan tinggi 5-14 meter. Batang berkayu, bulat, bercabang, warna coklat kemerahan. Daun majemuk, ujung runcing, pangkal membulat, panjang 4-20 mm, lebar 2-3 cm, warna hijau. Bunga majemuk, jumlah benang sari. Kelopak bertajuk, bagian ujung berkelamin ganda. Tangkai sari panjang. Buah berbentuk polong, pipih, warna hijau. Biji berbentuk pipih, tebal, warna hijau. Akar tunggang, warna coklat (Adi, 2008). Adapun morfologi dari tanaman petai (*P. speciosa*) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman Petai (*Parkia speciosa*) (Sunanto, 1992)

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Tanaman petai (*P. speciosa*) merupakan sayuran yang umum dikonsumsi di Asia Tenggara, khususnya Indonesia, Malaysia, Thailand dan Filipina. Di Indonesia, masyarakat mengonsumsi petai hanya bagian bijinya saja, sedangkan bagian kulitnya dibuang dan tidak dimanfaatkan. Bagian kulit buah petai yang tidak dimanfaatkan biasanya dibuang sehingga menjadi limbah. Padahal, banyak sekali keuntungan yang dapat diperoleh dengan memanfaatkan limbah kulit buah petai. Kulit buah petai ini diketahui memiliki kandungan antioksidan yang cukup tinggi. Pada bagian kulit buah petai yang diekstraksi dengan metode *alcohol insoluble polysaccharides* (AIPS) (Rianti *et al.*, 2018).

Tanaman petai dapat tumbuh di daerah dataran rendah sampai di daerah pegunungan dengan ketinggian 1.500 m di atas permukaan laut. Namun tanaman ini akan tumbuh baik dan berproduksi tinggi jika ditanam di daerah yang berketinggian antara 500 sampai 1.000 m di atas permukaan laut. Tanaman petai dapat tumbuh dengan baik di daerah-daerah yang tanahnya bertekstur halus dengan pH antara 5,5 sampai 6,5. Tanaman petai kurang cocok dengan daerah-daerah yang mengalami musim kemarau yang sangat kering (Sunanto, 1992).

2.1.3 Kandungan Senyawa Aktif Kulit Petai (*Parkia speciosa*)

Tanaman petai (*P. speciosa*) memiliki antioksidan berupa polifenol dan flavonoid yang bisa menangkal radikal bebas dan mampu mencegah bahkan mengatasi beberapa macam penyakit serta dapat berfungsi sebagai penangkap anion superoksida dan lipid superoksida radikal, serta mengurangi aktivitas radikal bebas superoksida. Antioksidan dalam kulit petai dapat diperoleh dengan proses ekstraksi. Proses ekstraksi secara umum dapat dilaksanakan dengan cara maserasi, perkolasi, refluks, ekstraksi dengan alat Soxhlet, digesti dan infusa (Agnes *et al.*, 2013).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa antibakteri yang mempunyai kemampuan 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 senyawa 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 atau denaturasi protein dan asam nukleat. Denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein serta mengganggu metabolisme dan fungsi fisiologis bakteri (Zaharah *et al.*, 2015). Saponin bekerja sebagai anti mikroba karena senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel bakteri dan menimbulkan kematian sel bakteri. Saponin mengandung zat yang mampu menghemolisis darah. Diketahui bahwa membran sel darah menyerupai membran sel pada bakteri sehingga proses yang terjadi pada sel bakteri oleh saponin sama seperti yang terjadi pada sel darah merah. Saponin memberikan efek anti mikroba dengan membentuk kompleks polisakarida pada dinding sel. Interaksi saponin dengan dinding sel akan menyebabkan rusaknya dinding dan membran sel sehingga akhirnya bakterilisis (Sari dan Ernawati, 2015). Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Kartika *et al.*, 2016).

2.2 Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Ikan nila merupakan jenis Tilapia yang berasal dari perairan di lembah sungai Nil Afrika, dan pertama kali di datangkan ke Indonesia pada tahun 1969, 1990, dan 1994 yang masing - masing berasal dari Taiwan, Thailand, dan Filiphina.

Menurut Arifin (2016), klasifikasi dari ikan nila (*O. niloticus*) adalah sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Kelas	: Pisces
Sub Kelas	: Teleostei
Ordo	: Percomorphi
Sub Ordo	: Percoidea
Famili	: Cichlidae
Genus	: Oreochromis
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>

Secara umum karakteristik ikan nila adalah bentuk tubuh agak memanjang dan pipih, memiliki garis vertical berwarna gelap sebanyak 6 buah pada sirip ekor, pada bagian tubuh memiliki garis vertical yang berjumlah 10 buah, dan pada ekor terdapat 8 buah garis melintang yang ujungnya berwarna kehitam-hitaman. Mata agak menonjol dan pinggirannya berwarna hijau kebiru-biruan, letak mulut terminal, posisi sirip perut terhadap sirip dada adalah *thoric*, sedangkan *linealateralis* terputus menjadi 2 bagian, letaknya memanjang diatas sirip dada, jumlah sisik pada garis rusuk berjumlah 34 buah, memiliki D XVII, V 6, P 15, A III dan A X dan bentuk ekornya berpinggiran tegak (Arifin, 2016). Adapun morfologi dari ikan nila dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Ikan Nila (Rukmana, 1997)

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Habitat ikan nila adalah air tawar, seperti sungai, danau, waduk dan rawa-rawa tetapi karena toleransinya yang luas terhadap salinitas (*euryhaline*) sehingga dapat pula hidup dengan baik di air payau dan laut. Salinitas yang cocok untuk ikan nila adalah 0-35 ppt, namun salinitas yang memungkinkan ikan nila tumbuh optimal adalah 0-30 ppt. Ikan nila masih dapat hidup pada salinitas 31-35 ppt, tetapi pertumbuhannya lambat. Ikan nila juga dapat hidup pada perairan dengan kandungan oksigen minim, kurang dari 3 ppm. Oleh karena itu, ikan ini dapat dipelihara di kolam tadah hujan dan air tergenang lain yang minim oksigen, termasuk di kolam terpal. Ikan nila juga dapat hidup di sungai yang tidak terlalu deras alirannya, di waduk, danau, rawa-rawa, sawah, tambak air payau, dan keramba jaring apung (KJA) di laut (Ghufran dan Kordi, 2010).

Secara alami, ikan nila melakukan migrasi dari habitat aslinya yakni bagian hulu Sungai Nil yang melewati Uganda ke arah selatan melewati Danau Raft dan Tanganyika. Selain itu, ikan nila juga terdapat di Afrika bagian tengah dan barat. Populasi terbanyak ditemukan di kolam-kolam ikan di Chad dan Nigeria. Dengan campur tangan manusia, saat ini ikan nila telah menyebar ke

seluruh dunia, dan Benua Afrika, Amerika, Eropa, Asia sampai Australia (Amri dan Khairuman, 2003).

2.2.3 Makan dan Kebiasaan Makan

Makanan ikan nila berupa plankton, perifiton, serta tumbuh-tumbuhan lunak, seperti hydrilla, ganggang sutera dan klekap. Oleh karena itu, ikan nila digolongkan ke dalam omnivora (pemakan segala/hewan atau tumbuhan). Untuk pemeliharaannya, ikan nila diberikan pakan buatan (pelet) yang mengandung protein antara 20-25%. Menurut penelitian, ikan nila yang diberikan pelet yang mengandung protein 25% akan tumbuh optimal. Ikan peliharaan yang diberikan makanan berupa dedak halus, tepung bungkil kacang, ampas kelapa dan sebagainya juga dapat tumbuh dengan baik. Untuk memacu pertumbuhan ikan nila, pakan yang diberikan hendaknya mengandung protein 25-35% (Ghufran dan Kordi, 2010).

Pemeriksaan labolatoris, pada perut nila ditemukan berbagai macam jasad, seperti *Soelastrum*, *Scenedesmus*, *Dictiota*, *Oligochaeta*, larva *Chironomus*, dan sebagainya. Ternyata kebiasaan makan nila berbeda sesuai dengan tingkatan umurnya. Benih ikan lebih suka memakan zooplankton, seperti Rototaria, Copepoda, dan Clodocera. Ikan dewasa memiliki kemampuan mengumpulkan makanan di perairan dengan bantuan mucus (lendir) dalam mulutnya. Makanan tersebut membentuk gumpalan partikel sehingga tidak mudah keluar. Ikan – ikan kecil diperairan alami mencari makanan di bagian perairan yang dangkal, sedangkan ikan-ikan yang berukuran lebih besar mencari makan di perairan yang dalam.

2.3 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

P. aeruginosa adalah bakteri berbentuk batang gram negatif dari keluarga *Pseudomonadaceae*. Spesies ini merupakan patogen oportunistik yang sangat mampu beradaptasi, mampu bertahan hidup di berbagai lingkungan, termasuk lingkungan budidaya. *P. aeruginosa* mampu mengembangkan resistensi terhadap berbagai agen antimikroba, termasuk beberapa kelas agen antimikroba. Karena itu, spesies ini dianggap sebagai patogen bermasalah dan kemampuannya untuk mengembangkan resistensi mutasi membuat sulit untuk mengobati infeksi. *P. aeruginosa* dicirikan oleh mode pertumbuhan biofilm, yang melindungi bakteri terhadap antibiotik dan mekanisme pertahanan bawaan dan adopsi (Abdullah *et al.*, 2013).

Menurut Schroter (1872), klasifikasi dari *P. aeruginosa* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gammaproteobacteria
Order : Pseudomonadales
Family : Pseudomonadaceae
Genus : Pseudomonas
Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri *P. aeruginosa* merupakan kelompok bakteri gram negatif yang bersifat hidrokarbonoklastik dikarenakan mampu mendegradasi berbagai jenis hidrokarbon. Morfologi dari bakteri *P. aeruginosa* adalah berbentuk batang lonjong dengan ukuran 0,5-1,0 μm , berwarna *fluorescent*, bersifat aerob obligat yang berarti hanya dapat hidup pada kondisi lingkungan yang kaya akan oksigen. *P. aeruginosa* tidak dapat membentuk spora, uji oksidase positif, dan

memiliki satu atau lebih flagel yang berfungsi sebagai motilitas atau alat pergerakan (Listyawati, 2010). Adapaun morfologi dari bakteri *P. aeruginosa* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Bakteri *P. aeruginosa*. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokuler, perbesaran 100x (Sulistyaningsih, 2010).

2.3.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

P. aeruginosa adalah aerob obligat yang tumbuh dengan mudah pada banyak jenis media pembiakan, karena memiliki kebutuhan nutrisi yang sangat sederhana. Di laboratorium, medium paling sederhana untuk pertumbuhannya terdiri dari asetat (untuk karbon) dan amonium sulfat (untuk nitrogen). Metabolisme bersifat respiratorik tetapi dapat tumbuh tanpa O_2 bila tersedia NO_3 sebagai akseptor elektro. Kadang-kadang berbau manis atau menyerupai anggur yang dihasilkan aminoasetofenon. Beberapa strain menghemolisis darah. *P. aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu $37-42^{\circ}C$. Pertumbuhannya pada suhu $42^{\circ}C$ membantu membedakannya dari spesies pseudomonas lain dalam kelompok Fluoresen. Bakteri ini oksidase positif, nonfermenter, tetapi banyak strain mengoksidasi glukosa (Mayasari, 2005).

2.3.3 Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dan Gejala Klinis

Penyakit ikan yang disebabkan oleh bakteri sangat mempengaruhi hasil budidaya karena penyakit tersebut dapat menurunkan hasil ikan budidaya. Penyebaran penyakit yang disebabkan oleh bakteri salah satunya adalah melalui luka ikan. Salah satu bakteri yang diduga hidup pada ikan nila adalah bakteri *P.*

aeruginosa. Bakteri ini dapat langsung menyerang dan menginfeksi bagian tubuh ikan yang terlihat mengalami bercak merah. *P. aeruginosa* merupakan bakteri yang memproduksi sejumlah endotoksin dan produk ekstraseluler yang menunjang invasi lokal dan penyebaran mikroorganisme. Selain itu bakteri yang mempunyai sifat zoonosis yaitu bakteri yang mempunyai sifat dapat menularkan penyakit dari hewan/ikan kepada manusia dan sebaliknya (Rahmaningsih *et al.*, 2012).

Penyakit yang disebabkan oleh *P. aeruginosa* memperlihatkan gejala-gejala pada organ hati dan ginjal berwarna pucat serta merah kehitaman, mata menonjol (*exophthalmia*), produksi lendir berlebih, luka di permukaan tubuh sirip geripis, insang luka, kepala terdapat bintik putih, dan sisik mudah lepas. Selain itu ikan yang terserang oleh bakteri *P. aeruginosa* terdapat borok pada tubuh ikan, warna tubuh pucat, *hemoragik*, sisik mudah lepas dan kasar serta pendarahn pada organ dalam (Nurjanah *et al.*, 2014).

2.4 Histopatologi

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 (Sukrani *et al.*, 2012).

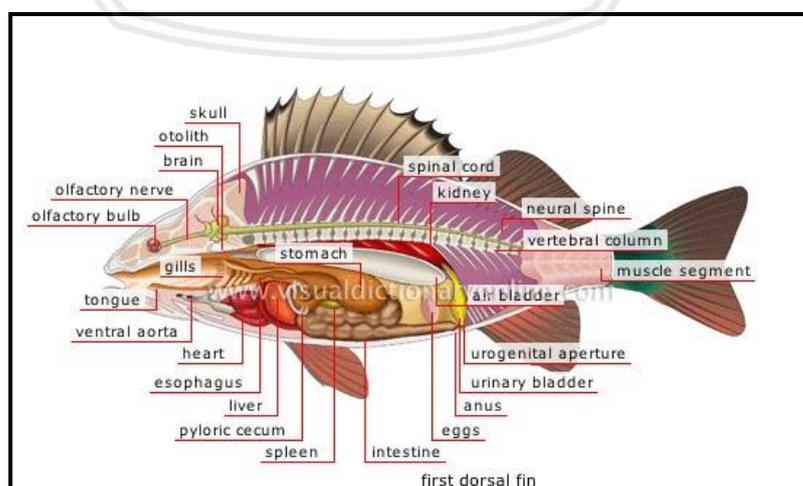
Histopatologi merupakan cabang ilmu biologi yang mempelajari tentang kelainan kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Analisis histopatologi pada ikan dapat digunakan sebagai biomarker untuk

memonitor lingkungan perairan melalui pengamatan terhadap kondisi kesehatan ikan. Pengamatan tersebut dapat dilakukan terhadap organ-organ yang berfungsi penting dalam metabolisme seperti hati, lambung, ginjal dan insang. Histopatologi dapat digunakan sebagai diagnosis awal terjadinya gangguan kesehatan pada ikan (Rahayu, *et al.*, 2013).

2.5 Organ Hati Ikan

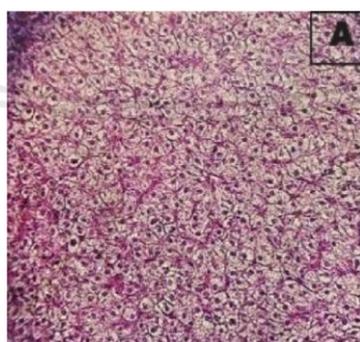
2.5.1 Pengertian dan Fungsi Hati

Hati adalah organ kelenjar yang terletak di abdomen kuadrat kanan atas menyatu dengan saluran bilier dan kandungan empedu. Hati menerima pendarahan dari sirkulasi sistematik melalui arteri hepatica dan menampung aliran darah dari sistem porta yang mengandung zat makanan yang diabsorpsi usus. Secara mikroskopis hati tersusun oleh banyak lobulus dengan struktur serupa yang terdiri dari hepatosit, saluran sinusoid yang dikelilingi oleh endotel vaskuler dan sel kupffer yang merupakan bagian dari sistem retikuloendotelial. Hati memiliki peran sangat penting dalam metabolisme glukosa dan lipid, membantu proses pencernaan, absorpsi lemak dan vitamin yang larut dalam lemak, serta detoksifikasi tubuh terhadap zat toksik (Rosida, 2016). Anatomi hati ikan nila dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Anatomi Ikan Nila

Hati terletak di bagian depan rongga badan dan meluas mengelilingi usus, bentuknya tidak tegas. Hati termasuk kelenjar yang besar pada ikan. Hati biasanya terletak di muka lambung atau sebagian mengelilingi lambung. Pada hati terdapat kantong empedu yang mengeluarkan cairan empedu (Burhanuddin, 2014). Hati terdiri dari beberapa bagian diantaranya vena sentral, hepatosit dan sinusoid. Hepatosit (sel parenkim hati) bertanggung jawab terhadap peran sentral hati dalam metabolisme. Hepatosit normal mempunyai ciri-ciri sel tersusun secara *radier*, bentuk sel bulat, oval dan terdapat lempeng-lempeng hepatosit. Sel terlihat memiliki satu nukleus, namun ada juga yang memiliki lebih dari satu nukleus (binukleat) yang terdapat di tengah sel. Sinusoid hati adalah celah diantara barisan hepatosit yang mengandung sinusoid kapiler. Pada kondisi normal sinusoid dikelilingi dan disokong oleh selubung serabut retikulin halus yang penting untuk mempertahankan bentuknya. Darah mengalir melalui sinusoid akan diproses dan diolah oleh hepatosit sebelum akhirnya bermuara keluar melalui vena sentralis. Vena sentralis berfungsi untuk membawa darah vena dari hati ke vena inferior. Vena sentralis merupakan pusat lobulus (Laily, *et al.*, 2018). Gambar bagian-bagian hati ikan normal disajikan pada Gambar 5.

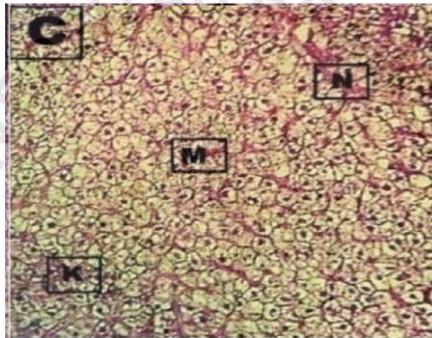


Gambar 5. (A) Jaringan hati normal tanpa pengobatan. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokuler, perbesaran 400x.

2.5.2 Kerusakan pada Hati Ikan Nila

Infeksi dari bakteri *P. aeruginosa* menyebabkan terjadinya perubahan pada organ dalam ikan nila dan tidak tampak secara makroskopis pada organ

luar. Perubahan yang terjadi seperti organ dalam berair dan terjadi perubahan warna pada hati dan ginjal menjadi pucat. Hati ikan adalah organ yang paling rentan terhadap penyakit infeksi, karena hepar berfungsi untuk detoksifikasi. Bakteri *P. aeruginosa* termasuk dalam bakteri gram negatif yang memiliki kisaran inang yang luas. Infeksi *P. aeruginosa* tidak banyak menyebabkan perubahan pada anatomi organ luar ikan nila, namun perubahan terjadi pada organ dalam yang tampak berair dan terjadi penurunan konsistensi pada organ hati, ginjal dan saluran pencernaan (Hardi dan Catur, 2012). Kerusakan hati ikan nila dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Jaringan hati diinfeksi bakteri *P. aeruginosa*, (K) Kongesti; (M) Melanomacrophag; (N) Nekrosis. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokuler, perbesaran 400x.

2.5.3 Pembuatan Preparat dalam Histopatologi

Tahap pertama pembuatan preparat histologi adalah organ target dengan ukuran 0,5 x 0,5 cm. Jaringan tersebut kemudian direndam dalam larutan fiksasi yaitu larutan formalin 20% selama 24 jam. Jaringan direndam dalam alkohol 70% selama 24 jam, kemudian jaringan direndam dalam alkohol 80%, 95%, 100%, larutan campuran alkohol xylol dan alkohol (3:1), larutan xylol dan alkohol (1:1), serta xylol masing-masing 30 menit. Selanjutnya tahap parafinasi, pada tahap ini jaringan direndam dengan parafin xylol, parafin I, parafin II, parafin III dalam oven bersuhu 50-60°C selama 30 menit. Selanjutnya jaringan tersebut dilakukan *embedding* atau pengeblokan dengan cara memasukkan jaringan dalam cetakan

berisi parafin cair. Jaringan kemudian didinginkan hingga mengeras dalam suhu kamar selama minimal 24 jam. Tahap selanjutnya adalah deparafinasi. Pada tahap ini blok parafin berisi jaringan dipotong dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 mikron. Jaringan yang di potong diletakkan di air hangat untuk mencegah hasil pemotongan melengkung, selanjutnya diletakkan di dalam kaca benda dan dikeringkan sampai jaringan menempel sempurna pada permukaan kaca benda tersebut. Preparat jaringan dicelupkan secara berturut-turut pada larutan xylol, alkohol 100%, 95%, 80%, 70% masing-masing selama 3-5 menit. Preparat jaringan dicelupkan didalam akuades selama 5 menit. Preparat potongan jaringan dicelupkan kedalam pewarna hematoksilin selama 5-10 menit kemudian dibilas dengan air mengalir. Preparat potongan jaringan kemudian dicelupkan kedalam eosin selama 5-10 menit lalu dibilas dengan air mengalir. Preparat potongan jaringan dicelupkan kembali secara berturut-turut pada larutan etanol 70%, 80%, 95%, 100% selama 3-5 menit dilanjutkan dengan alkohol absolut selama 3 menit. Preparat potongan jaringan selanjutnya dicelupkan dalam xylol selama 5 menit. Preparat diletakkan dengan menggunakan *DPX mounting medium* atau entelan, kemudian ditutup dengan kaca penutup, dan dijaga jangan sampai terjadi gelembung. Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai perekat mengering kemudian diamati dengan mikroskop *compound* dengan pembesaran 400-1000 kali. Indikator pewarnaan hematoksilin dan eosin adalah inti sel berwarna ungu tua sedangkan sitoplasma berwarna merah (Sukarti *et al.*,2012).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, inkubator, lemari pendingin, *rotary evaporator*, timbangan analitik, *hot plate*, *stirrer*, *vortex*, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *Laminar Air Flow* (LAF), Bunsen, Erlenmeyer, kawat inokulasi, pipet volume, mikropipet, *blue tip*, gelas ukur, beaker glass 1.000 ml, bola hisap, spatula, *sectio set*, corong, mikro tube, spuit, nampan, lap, akuarium, termometer, seser, botol film, aerator set, kabel rol, heater, selang sifon, pH meter, DO meter, objek glass, mikroskop dan kamera digital.

Alat beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian disajikan pada Tabel 1 dan dapat dilihat pada Lampiran 1.

Tabel 1. 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.	Bak fiber	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.	<i>Blower</i>	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

No.	Alat	Kegunaan
		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
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.	<i>Rotary Evaporator</i>	Untuk memisahkan ekstrak kasar dengan etanol
21.	Inkubator	Sebagai tempat inkubasi <i>P. Aeruginosa</i>
22.	<i>Vortex mixer</i>	Untuk menghomogenkan larutan
23.	<i>Object glass</i>	Untuk tempat sampel yang akan diamati
24.	<i>Cover glass</i>	Untuk penutup sampel yang akan diamati
25.	Seser ikan	Untuk membantu mengambil ikan
26.	Erlenmeyer	Untuk wadah pengenceran ekstrak
27.	<i>Hotplate</i>	Untuk memanaskan media
28.	<i>Thermometer</i>	Untuk pengukuran parameter kualitas air suhu

No.	Alat	Kegunaan
29.	pH meter	Untuk mengukur parameter kualitas air pH
30.	DO meter	Untuk mengukur parameter kualitas air DO
31.	Tabung reaksi	Untuk wadah peremajaan bakteri <i>P. Aeruginosa</i>
32.	Rak tabung reaksi	Untuk wadah tabung reaksi
33.	Penggaris	Untuk mengukur panjang ikan
34.	Spatula	Untuk menghomogenkan larutan
35.	Autoklaf	Untuk mensterilkan alat bahan yang akan digunakan
36.	Laminary Air Flow (LAF)	Untuk preparasi bahan-bahan mikrobiologi dan sebagai tempat penanaman bakteri agar tidak terkontaminasi dengan udara luar
37.	Beaker glass	Untuk wadah tabung reaksi pada saat sterilisasi
38.	Blank disk	Untuk membantu mengukur zona bening pada Uji In Vitro
39.	Sectio set	Untuk membantu pada saat pengambilan organ ginjal nila (<i>O. niloticus</i>)

3.1.2 Bahan Penelitian

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

Tabel 2. 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

No.	Bahan	Kegunaan
4.	<i>Aluminium foil</i>	Sebagai penutup seluruh bagian <i>beaker glass</i> dan erlenmeyer 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
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 Soytip Agar (PSA)</i>	Sebagai media peremajaan bakteri dalam bentuk agar
16.	<i>Nutrient Broth (NB)</i>	Sebagai media peremajaan bakteri dalam bentuk cair.
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.	NaCl	Sebagai bahan NaFis untuk pengenceran bakteri

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental, metode ini merupakan metode penelitian yang memungkinkan

peneliti memanipulasi variable dan meneliti akibatnya. Metode eksperimental adalah sebagai suatu penelitian ilmiah dimana peneliti memanipulasi dan mengontrol satu atau lebih variabel bebas dan melakukan pengamatan terhadap variabel-variabel terikat untuk menemukan variasi yang muncul bersamaan dengan manipulasi terhadap variabel bebas tersebut. penelitian eksperimen bertujuan untuk meneliti kemungkinan sebab akibat dengan mengenakan satu atau lebih kondisi perlakuan pada satu atau lebih kelompok eksperimen dan membandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan (Setyanto, 2005).

Metode penelitian dalam menganalisa gejala klinis menggunakan metode deskriptif, yaitu metode deskriptif adalah metode yang dirancang untuk memperoleh informasi tentang status suatu gejala saat penelitian dilakukan. Lebih lanjut dijelaskan, dalam metode deskriptif tidak ada perlakuan yang diberikan atau dikendalikan serta tidak ada uji hipotesis sebagaimana yang terdapat pada metode eksperimen. Metode deskriptif merupakan pencarian fakta dengan interpretasi yang tepat (Linarwati *et al.*, 2016).

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap (RAL) didefinisikan sebagai suatu eksperimen dimana kita hanya mempunyai sebuah faktor yang nilainya berubah-ubah. Pengacakan mengenai eksperimen tidak ada pembatasan, dan dalam hal demikian kita peroleh desain yang diacak secara lengkap atau sempurna yang bisa kita sebut dengan rancangan acak lengkap (RAL). Jadi rancangan acak lengkap adalah desain dimana perlakuan dikenakan sepenuhnya secara acak kepada unit-unit eksperimen, atau sebaliknya. (Sisa dan Rudy, 2012).

Penelitian ini terdiri dari 4 perlakuan dan 2 kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif dengan 3 kali ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan dosis ekstrak kasar kulit petai terhadap ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi *P. aeruginosa*. Sebagai perlakuan 8-10 cm yang sudah terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*.

Penentuan dosis perlakuan berdasarkan uji log (penelitian pendahuluan), dimana menggunakan dosis 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, 10 ppm dan 1 ppm dari dosis tersebut dilihat tabung yang jernih dan mendekati kontrol positif untuk dilakukan uji MIC. Adapun hasil dari uji MIC disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengamatan Uji MIC (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

Selain dilakukan uji MIC juga dilakukan Uji Kertas Cakram. Uji cakram ini digunakan untuk mengetahui zona hambat atau zona bening yang ada pada cawan petri yang telah di beri kertas cakram. Adapun hasil dari Uji Kertas Cakram disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Kertas Cakram

	Perlakuan	Nilai Cakram
D1	A (10 ppm)	6,8
	B (25 ppm)	6,75
	C (40 ppm)	8,55
	D (55 ppm)	9,8
D2	A (10 ppm)	7,4
	B (25 ppm)	8,4
	C (40 ppm)	9,3
	D (55 ppm)	10,25

Hasil diatas menunjukkan bahwa dosis 10 ppm dapat menghambat bakteri *P. aeruginosa*, dikarenakan dosis tersebut sama dengan nilai kontrol positif dan dipilihnya dosis tersebut karena merupakan dosis yang efektif dikarenakan bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri yang sensitif dan termasuk dalam bakteri HPIK (Hama dan Penyakit Ikan Karantina). Sehingga dari hasil uji MIC tersebut digunakan untuk acuan dosis perlakuan yang digunakan sebagai uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*). Setelah didapat hasil dari uji MIC kemudian didapatkan dosis untuk setiap perlakuan yaitu 10 ppm, 25 ppm, 40 ppm dan 55 ppm.

Dosis ekstrak kulit petai yang digunakan adalah :

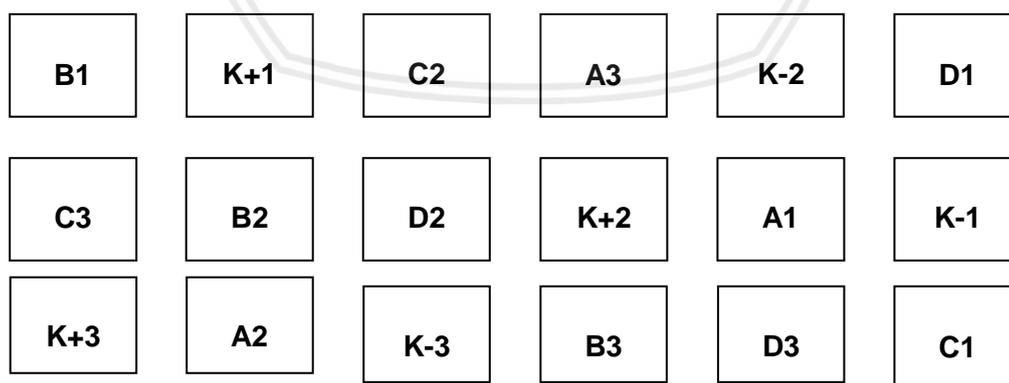
A : Dosis kulit petai 10 ppm

B : Dosis kulit petai 25 ppm

C : Dosis kulit petai 40 ppm

D : Dosis kulit 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 Penelitian

Keterangan:

K+ : Akuarium dengan perlakuan ikan yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pemberian antibiotik tetracycline 30 ppm tanpa pemberian ekstrak kulit petai

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

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

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

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

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

1,2,3 ulangan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan penelitian

Persiapan penelitian terdiri dari sterilisasi alat dan bahan, sterilisasi tempat perlakuan, pembuatan ekstrak kasar kulit petai (*P. Speciosa*), pembuatan media PSA dan TSB, pembiakan dan peremajaan bakteri *P. aeruginosa*, cara menghitung kepadatan bakteri *P. aeruginosa* dan cara memperoleh bakteri *P. aeruginosa* dengan kepadatan 10^8 sel/ml yang dijelaskan sebagai berikut:

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi dilakukan sebelum alat dan bahan digunakan saat penelitian. Tujuan sterilisasi adalah untuk membunuh semua mikroorganisme yang tidak diinginkan yang menempel pada alat dan bahan yang akan digunakan. Proses sterilisasi adalah sebagai berikut:

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan sabun cuci, kemudian dikeringkan lalu ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan *plastic wrap*.
- Bahan-bahan yang akan disterilisasi dimasukkan kedalam erlenmeyer, kemudian ditutup kapas dan dibungkus dengan *plastic wrap*.

- Akuades dituang ke dalam autoklaf secukupnya.
- Alat yang telah dibungkus dimasukkan ke dalam autoklaf, kemudian ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris.
- Letakkan autoklaf diatas kompr dan nyalakan api.
- Ditunggu sampai autoklaf mencapai suhu 121°C dan tekanan menunjukkan 2 atm, lalu klep uap air dibuka.
- Kemudian api dkecilkan 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 perlakuan juga diperlukan untuk menghindari kontaminasi. Laboran yang bersinggungan dengan meja dan barang di sekitar tempat perlakuan harus selalu dalam kondisi aseptis. Sterilisasi tempat perlakuan dapat dilakukan secara kimia menggunakan alkohol 70% yang disemprotkan ke area sekitar perlakuan, dapat juga dilakukan dengan cara fisika yaitu dengan menyalakan bunsen area sekitar perlakuan, serta dapat dengan cara penyinaran sinar UV yang terdapat pada ruangan *Laminary Air Flow* (LAF).

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

Kulit buah petai (*Parkia speciosa*) diperoleh dari Rumah Makan Cak Uut, Malang, Jawa Timur sebanyak 8 kg. Kulit 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 petai beratnya menjadi 5 kg.

Serbuk kulit petai direndam (maserasi) dengan cara melarutkan serbuk simplisia sebanyak 500 gram kedalam 2500 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 filtrat dan ampas. Filtrat di evaporasi dengan *Rotary Evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental kulit petai. Pemekatan ekstrak kulit 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.

d. Pembuatan Media

Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri yaitu media PSA, TSB. Proses pembuatan media adalah sebagai berikut:

1) Media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*)

Media PSA digunakan sebagai media untuk peremajaan bakteri *P. aeruginosa*. Dosis yang digunakan dalam pembuatan PSA sebesar 0,44 g. Adapun proses pembuatan media PSA adalah sebagai berikut:

- Media PSA ditimbang sebanyak 0,44 g dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 9 ml aquades.
- Dihomogenkan sampai larut kemudian ditutup dengan kapas dan dibungkus *plastic wrap*.
- Erlenmeyer kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama \pm 30 menit.
- Media PSA yang akan digunakan ditunggu hingga hangat kemudian dituang pada tabung reaksi, tabung reaksi ditutup kapas dan dimiringkan kemudian ditunggu hingga dingin dan berbentuk agar.

- Apabila hendak digunakan dan dapat disimpan pada lemari pendingin dengan diberi label jika hendak digunakan keesokan harinya.

2) Media TSB (*Tryptic Soy Broth*)

Media TSB merupakan media cair yang digunakan untuk kultur bakteri *P. aeruginosa*. Dosis yang digunakan dalam pembuatan TSB sebesar 0,27 g. Adapun proses pembuatan media TSB adalah sebagai berikut:

- Media TSB ditimbang sebanyak 0,27 g dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 9 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 \pm 30 menit.
- Media yang akan digunakan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu \pm 30°C karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.
- Media yang telah dingin kemudian dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam.

e. Pemiakan Bakteri *P. aeruginosa*

Bakteri *P. aeruginosa* diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur. Isolat murni yang kemudian diremajakan pada media agar miring dan media cair yaitu dengan menggunakan media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) dan TSB (*Tryptic Soy Broth*). Bakteri yang diperoleh dengan kepadatan 10^7 sel/ml hasil pengukuran pada media TSB (*Tryptic Soy Broth*) yang sudah dicocokkan dengan metode Mc. Farland. 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 cair, maka bakteri dibiakan pada media TSB. Adapun prosedur yang dilakukan dalam pembiakan bakteri *P. aeruginosa* adalah sebagai berikut:

- Peralatan yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu, kemudian disiapkan media TSB.
- Jarum ose dipanaskan di atas bunsen hingga berwarna merah menyala kemudian didinginkan jarum ose disentuh ke biakan murni *P. aeruginosa* kemudian dicelupkan ke TSB dan di *vortex mixer*.
- Media TSB dibiarkan 24 jam dalam inkubator pada suhu 30°C.
- Setelah 24 jam dan media telah tampak keruh, media disimpan dalam kulkas.

f. Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) adalah konsentrasi minimum sebagai antimikroba yang dapat menghambat mikroorganismesudah 18 samapi dengan 24 jam setelah masa inkubasi (Soelama *et al.*, 2015). MIC dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi terkecil bahan obat–obatan (ekstrak

kasar kulit petai) sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme (bakteri *P. aeruginosa*) secara makroskopis. Adapun prosedur yang dilakukan untuk melakukan uji MIC adalah sebagai berikut:

- 1) Siapkan TSB steril yang dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml.
- 2) Ekstrak kasar kulit 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 ppm, 500 ppm, 100 ppm, 10 ppm, 1 ppm. Dalam uji MIC ini menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif.
- 3) Setiap tabung reaksi diberi isolat bakteri 1 ml. Untuk kontrol positif tidak diberi ekstrak tetapi di beri antibiotik sedangkan untuk kontrol negatif hanya di beri TSB dan bakteri.
- 4) Inkubasi dengan suhu 30°C selama 24 jam.
- 5) Media dicek kekeruhannya dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer *UV 1700 PharmaSpec UV-Vis spectrophotometry Simadzu* dengan panjang gelombang 600 nm.
- 6) Dicatat nilai absorbansi yang tertera pada monitor spektrofotometer.

g. Uji Kertas Cakram

Uji cakram dilakukan untuk mengetahui daya hambat dari pemberian ekstrak *P. speciosa* yang dilihat dari zona bening yang berada disekeliling kertas cakram. Adapaun prosedur untuk melakukan uji cakram adalah sebagai berikut:

1. Cawan petri yang telah terdapat media PSA sebanyak 25 mldisiapkan 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 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 Tempat Pemeliharaan Ikan Nila

Akuarium yang berukuran 16 L dicuci menggunakan sabun dan spons. Kemudian bilas menggunakan air bersih dan setelah kering di semprot menggunakan alkohol 96% untuk membunuh bakteri yang masih ada pada akuarium. Setelah itu, siapkan peralatan pendukung lainnya yaitu aerasi, termometer akuarium, timbangan, seser dan lain-lain. Lalu diisi air hingga 80% dan diberi aerasi.

i. Persiapan Ikan Nila

Ukuran benih yang digunakan dalam kegiatan pembesaran ini adalah 8-10 cm, atau pada pasar ikan dengan ukuran 1 kilogram berisi 40 ekor ikan. Benih ukuran tersebut dapat dihasilkan dari pendederan larva selama 80-90 hari yang dihitung sejak telur menetas. Benih tersebut dirasa efektif karena berdasarkan data dari Balai Benih Ikan Subang dikatakan bahwa dari ukuran tersebut untuk mencapai bobot panen hanya memerlukan waktu 2,5 bulan. Dengan

menggunakan kolam ukuran adalah 7,5 m x 4 m pada kolam tanah sehingga padat tebar digunakan adalah 10 ekor/m² (Siantara *et al.*,2017).

Ikan uji yang digunakan yaitu ikan nila yang berasal dari Dau, Malang – Jawa Timur. Ikan yang digunakan sebanyak 200 ekor yang setiap akuariumnya berjumlah 10 ekor dengan ukuran 8-10 cm yang telah berumur 60 hari. Ikan dipelihara dengan suhu normal kolam.

j. Uji Lethal Dose 50% (LD₅₀)

Uji LD₅₀ adalah suatu pengujian untuk menetapkan potensi toksisitas akut LD₅₀, menilai berbagai gejala toksik, spektrum efek toksis, dan mekanisme kematian. Tujuan uji LD₅₀ adalah untuk mendeteksi adanya toksisitas suatu zat, menentukan organ sasaran dan kepekaannya, memperoleh data bahayanya setelah pemberian suatu senyawa secara akut dan untuk memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis yang diperlukan (Ibrahim *et al.*, 2012).

Ekstrak kasar kulit petai yang didapat setelah dilakukan uji MIC adalah dosis 10, 25, 40 dan 55 ppm. Setelah didapatkan dosisnya kemudian masing-masing ekstrak ditimbang dan ditambahkan 2 ml DMSO. Setelah itu ekstrak dan DMSO di homogenkan dan masing-masing bahan ekstrak dilarutkan kedalam 10 liter air. Ikan nila (*O. niloticus*) sebanyak 10 ekor, dimasukkan kedalam akuarium dengan dosis yang berbeda. Perendaman dilakukan sampai kematian ikan 50% dalam range waktu 48 jam. Perendaman ikan uji dilakukan dengan cara merendam ikan pada akuarium yang berisis larutan sesuai dengan dosis.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian dibagi menjadi beberapa tahapan yang dijelaskan sebagai berikut:

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

Penginfeksian dilakukan maksimal 24 jam setelah perendaman ekstrak yang kedua. Penginfeksian menggunakan bakteri *P. aeruginosa* dengan metode perendaman pada akuarium yang berbeda selama 24 jam dengan kepadatan bakteri 10^7 sel/ml. Dari hasil perhitungan pengenceran bakteri, dapat diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan untuk penginfeksian sebanyak 333,33 ml dan air tawar sebanyak 9666,67 ml. Selanjutnya, 10 ekor ikan nila dimasukkan kedalam akuarium berisi bakteri *P. aeruginosa* dan direndam selama 24 jam sampai ikan menunjukkan gejala klinis (terdapat borok pada tubuh ikan, warna tubuh pucat, *hemoragik*, sisik mudah lepas dan kasar serta pendarahan pada organ dalam). Kemudian setelah diinfeksi, ikan dipindahkan ke akuarium tanpa ekstrak kulit petai (*P. speciosa*) maupun bakteri *P. aeruginosa* dan dilakukan pemeliharaan selama 14 hari.

Perendaman bakteri *P. aeruginosa* dilakukan di dalam toples ukuran 16 L yang sudah dilengkapi aerasi. Perendaman dilakukan menggunakan kapasitas air 10.000 ml. Sehingga dapat digunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

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

Keterangan :

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

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

V1 : Volume suspensi bakteri dalam TSB yang dibutuhkan

V2 : Volume yang diinginkan

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

$$V_1 \times 3.10^8 = 10.000 \times 10^7$$

$$V1 = \frac{1 \times 10^{14}}{3 \times 10^8}$$

$$V1 = \frac{1 \times 10^6}{3}$$

$$V1 = \frac{1000}{3}$$

$$V1 = 333,33 \text{ ml}$$

Berdasarkan perhitungan diatas diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan adalah sebanyak 333,33 ml, sedangkan air tawar yang digunakan adalah sebesar 9666,67 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 akuarium pengobatan dengan perlakuan yang berbeda.

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

Ikan nila (*O. niloticus*) diadaptasikan (aklimatisasi) selama 1 minggu. Kemudian media (air) sebelum digunakan di treatment terlebih dahulu dengan pemberian garam perikanan secukupnya dalam masing-masing akuarium (volume air 10 liter), sebagai disinfektan dan membersihkan akuarium dari bakteri dan kotoran yang menempel dan di diamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam air siap untuk digunakan. Kemudian akuarium dibersihkan menggunakan air bersih dan diberi sabun agar bakteri dan kotoran yang masih menempel hilang. Setelah dicuci akuarium di keringkan dibawah sinar matahari dan setelah kering akuarium di semprot menggunakan alkoho 96% agar bakteri yang masih tersisa mati, setelah itu akuarium siap untuk digunakan. Setelah dilakukan treatment, masing-masing akuarium diisi air sebanyak 10 liter (2/3 volume akuarium) dan diberi aerasi. Setelah itu, diberi perlakuan ekstrak kulit petai (*P. speciosa*) dengan cara

perendaman dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 10 ppm, 25 ppm, 40 ppm dan 55 ppm selama 48 jam. Setelah direndam selama 48 jam, ikan uji dipindahkan ke akuarium yang berisi air tanpa ekstrak kasar kulit petai (*P. speciosa*).

3.5 Uji Histopatologi Hati

3.5.1 Pengambilan Hisopatologi Hati

Pengambilan jaringan hati dilakukan sebanyak 3 bagian yaitu pada ikan normal yang tidak diinfeksi, pada ikan yang sudah diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan pada ikan yang sudah diberi perlakuan pemberian ekstrak kasar kulit petai (*P. speciosa*). Dimana pada setiap perlakuan hanya diambil satu sampel ikan saja. Cara pengambilan hati pertama ikan dibedah dengan menggunakan *sectio set*. Kemudian diambil organ dalam dan diletakkan pada alas kaca, kemudian hati diambil dan dipisahkan dari organ lainnya. Setelah itu sampel organ hati dibersihkan dari kotoran menggunakan aquades, setelah itu hati dimasukkan ke dalam botol film dan diberi larutan formalin 10% sebagai pengawet, kemudian dilakukan pembuatan preparat untuk histopatologi.

3.5.2 Pembuatan Preparat Histopatologi

Ikan yang telah diadaptasikan, kemudian diambil sampel hati untuk diamati histopatologinya. Sampel hati 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 hati 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

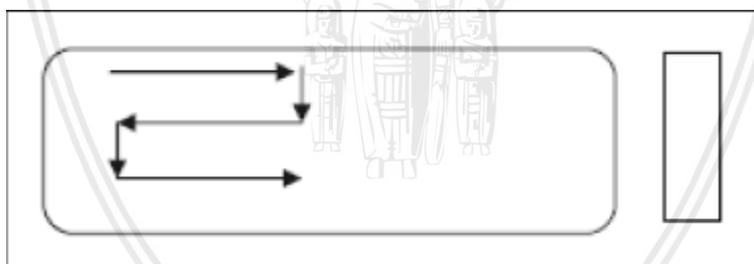
Pewarnaan dengan menggunakan HE dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu deparafinisasi, hidrasi, cat utama, dehidrasi dan clearing.

- 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 bewarna merah oleh eosin yang bersifat asam.

3.5.3 Skoring Histopatologi Hati Ikan Nila (*O. niloticus*)

Skoring histopatologi dilakukan bertujuan untuk mengetahui kerusakan jaringan hati. Pada metode skoring preparat dibagi menjadi 5 bidang pandang pada sampel yang kita amati dengan gerakan zig zag. 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 9**.



Gambar 9. Alur Perhitungan Skoring (Gerak zig zag) (Siswandari, 2005)

Kemudian setiap lapang pandang diamati tingkat kerusakan dan dipersentase dengan pemberian skor 1 sampai dengan 4. Persentase kerusakan setiap bidang pandang dihitung berdasarkan sel yang mengalami kerusakan. Menurut Raza'i (2008), perhitungan kerusakan dihitung dengan rumus:

$$\text{Presentase kerusakan} = \frac{\text{Jumlah Sel yang Rusak}}{\text{Jumlah Sel Analisis}} \times 100\%$$

Setelah itu, persentase yang telah didapat diberi skoring dari 1 sampai 4. Pada angka 1 (ringan) memiliki tingkat persentase kerusakan jaringan dari 0-5%,

angka 2 (sedang) memiliki tingkat persentase kerusakan jaringan dari 6-25%, angka 3 (berat) memiliki tingkat persentase kerusakan jaringan dari 26-50% dan angka 4 (sangat berat) memiliki tingkat persentase kerusakan jaringan lebih dari 50%.

3.6 Parameter Uji

3.6.1 Parameter Utama

Parameter utama dalam penelitian ini yaitu histopatologi hati ikan nila (*O. niloticus*). Pengamatan histopatologi dilakukan bertujuan untuk melihat gambaran jaringan hati pada ikan yang diinfeksi yang diobati dengan ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dan ikan tanpa perlakuan yang diinfeksi.

3.6.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang diamati dalam penelitian ini adalah:

- Gejala klinis pada ikan nila (*O. niloticus*)
- Parameter kualitas air yang meliputi:
 - Suhu yang diukur menggunakan thermometer
 - pH air yang diukur menggunakan pH meter
 - Oksigen terlarut yang diukur menggunakan DO meter
- Perhitungan Kelulushidupan (*Survival Rate*)

Kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) digunakan untuk mengetahui tingkat kelulushidupan ikan yang diuji dengan membandingkan antara jumlah ikan yang diuji pada awal dengan ikan uji yang masih hidup pada akhir penelitian. Kelulushidupan dapat dihitung dengan rumus Prasetio, *et al.* (2015) sebagai berikut :

$$SR = \frac{Nt}{N0} \times 100\%$$

Keterangan:

SR = Kelulushidupan (%)

Nt = Jumlah ikan hidup pada akhir penelitian (akhir)
N0 = Jumlah ikan hidup pada awal penelitian (ekor)

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 otot secara kuantitatif, digunakan uji polynomial orthogonal yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan terbaik.

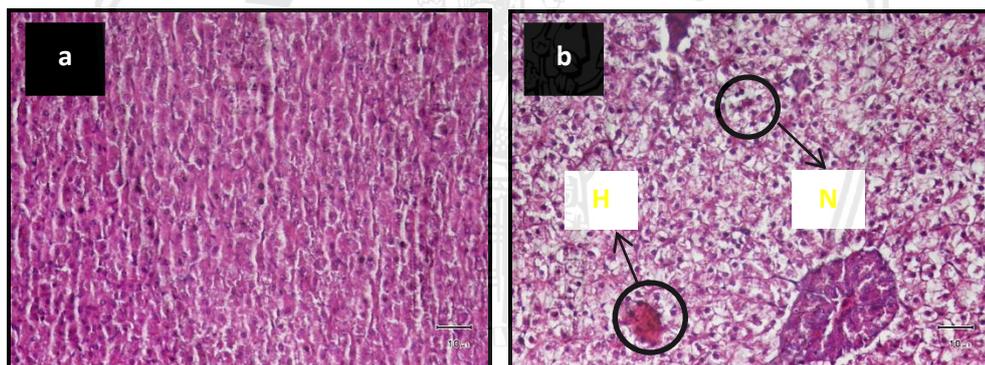


4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Histopatologi Hati

4.1.1 Gambaran Hati Ikan yang Terinfeksi Bakteri *P.aeruginosa* dan Normal

Pada Gambar 9 (A) dapat dilihat jaringan hati yang ikan yang sehat menunjukkan tidak adanya kerusakan. Sedangkan pada Gambar 10 (B) yaitu jaringan hati yang terinfeksi bakteri dan tanpa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terlihat banyak terjadi kerusakan. Kerusakan yang terjadi diantaranya Hemoragi dan Nekrosis. Gambar jaringan hati yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan Normal disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Gambar Histopatologi Hati, (a) Histopatologi Hati Ikan Sehat, (b) Histopatologi Hati yang Terinfeksi Bakteri *P. aeruginosa*, (H) Hemoragi (N) Nekrosis. Pengamatan dengan Menggunakan Mikroskop Binokuler Perbesaran 400x dengan Pewarnaan HE.

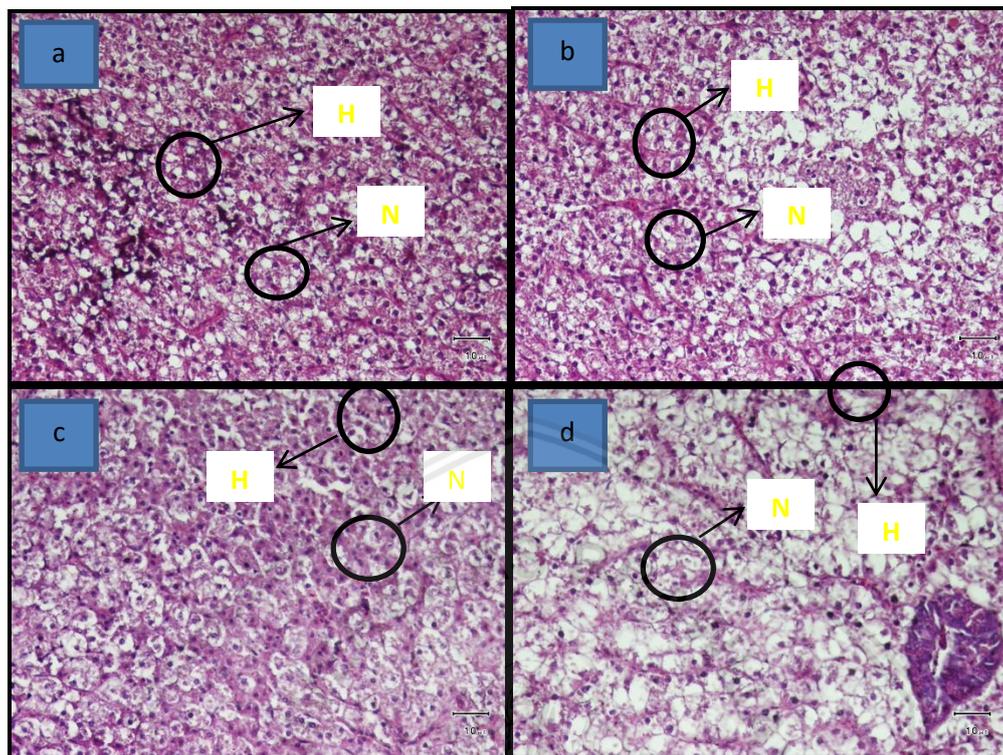
Kondisi hati ikan nila (*O. niloticus*) normal memperlihatkan bagian-bagian struktur hati yang masih normal tidak terdapat adanya kerusakan seperti hemoragi dan nekrosis. Pada hati normal tidak terjadi pendaharan ataupun kematian pada sel dikarenakan pada hati normal tidak diberi perlakuan apapun. Pada hati normal ikan nila berwarna merah kecoklatan tanpa ada kerusakan,

sedangkan hati ikan yang terinfeksi bakteri berwarna merah pudar dan merah pekat serta terdapat kerusakan nekrosis berwarna putih.

P. aeruginosa merupakan bakteri gram negatif dan bersifat aerob, berbentuk batang pendek, katalase positif, oksidase positif, dapat mengoksidasi glukosa/karbohidrat lain. Bakteri ini termasuk dalam keluarga *Pseudomonadaceae* yang menjadi penyebab pada ikan. Bakteri *P. aeruginosa* merupakan patogen oportunistik yang menyerang ikan air tawar dan digolongkan ke dalam kelompok bakteri perusak sirip. Gejala ikan yang terinfeksi bakteri ini adalah terdapat benjolan merah pada pangkal sirip dada, perut membengkak, tubuh penuh borok dan pendarahan pada organ internal, sekitar mulut, opercula dan daerah, terjadi nekrosis pada jaringan limpa dan ginjal (Susantie dan Usy, 2017). Jaringan hati yang mengalami nekrosis terlihat nukleus mengekstrut dan berwarna gelap (piknosis), nukleus pecah menjadi fragmen-fragmen (karioreksis), nukleus lisis (kariolisis) dan membran sel hati mengalami lisis sehingga batas sel tidak nampak jelas (Sunarti *et al.*,2016).

4.1.2 Gambaran Histopatologi Hati pada Sampel Perlakuan

Pengamatan Histopatologi digunakan untuk melihat perubahan patologi pada perendaman ikan nila (*O. niloticus*) dengan ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dengan perlakuan dosis yang berbeda. Dimana perlakuan yang digunakan pada saat penelitian terdiri dari 4 perlakuan yaitu perlakuan A dengan dosis 10 ppm, perlakuan B dengan dosis 25 pp, perlakuan C dengan dosis 40 ppm dan perlakuan D dengan dosis 55 ppm. Dimana pemeliharaan dilakukan selama 14 hari. Gambar jaringan hati pada sampel perlakuan disajikan pada Gambar 10.



Gambar 10. Gambar Histopatologi Hati, (a) Dosis 10 ppm, (b) Dosis 25 ppm, (c) Dosis 40 ppm, (d) Dosis 55 ppm, (H) Hemoragi (N) Nekrosis. Pengamatan dengan Menggunakan Perbesaran 400x dengan Pewarnaan HE.

Berdasarkan Gambar 10 perlakuan A, B, C dan D rata-rata mengalami kerusakan hati dengan penambahan dosis ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dapat ditunjukkan melalui nilai skoring kerusakan pada jaringan hati yang disajikan pada Lampiran 13. Kemudian dilakukan Uji RAL (Rancangan Acak Lengkap) yang disajikan pada Lampiran 14. Adapun Gambar Hasil Uji Histopatologi Hati Ikan Nila (*O. niloticus*) semua perlakuan disajikan pada Lampiran 17.

Adapun analisis data kerusakan pada histopatologi jaringan hati yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* yang direndam dalam ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) adalah sebagai berikut:

a. Hemoragi

Hemoragi (pendarahan) adalah kondisi yang ditandai dengan keluarnya darah dari dalam vaskula akibat dari kerusakan dinding vaskula. Kebocoran dinding ada dua macam melalui kerobekan (per reksis) dan melalui perenggangan jarak antar sel-sel endotel dinding vaskula (per diapedisis). Hemoragi dapat disebabkan oleh: (1) trauma yaitu kerusakan dalam bentuk fisik yang merusak sistem vaskula jaringan di daerah benturan/kontak, (2) infeksi agen infeksius terutama mengakibatkan septisemia, (3) bahan toksis yang merusak endotel kapiler (Asri, 2015). Pada Gambar 10 dapat dilihat pada perlakuan A terjadi hemoragi terlihat banyak darah yang keluar dari pembuluh darah, sedangkan perlakuan B darah yang keluar dari pembuluh darah lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan A, sedangkan darah yang keluar dari pembuluh pada perlakuan C juga lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan A dan B. Kemudian pada perlakuan D terlihat pembuluh darah yang keluar dari pembuluh darah lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan A, B dan C. Dosis yang diberikan semakin besar terlihat darah yang keluar dari pembuluh darah semakin sedikit. Sehingga dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi ekstrak yang diberikan maka semakin rendah kerusakan hemoragi. Hal tersebut dikarenakan semakin tinggi ekstrak maka bahan aktif yang terkandung semakin tinggi pula sehingga lebih baik dalam mengatasi penyerangan bakteri *P. aeruginosa*.

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi oleh bakteri *P. aeruginosa* dan diberikan ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) memperoleh hasil rata-rata yang berbeda terhadap kerusakan akibat Hemoragi yang terjadi pada hati ikan nila (*O. niloticus*). Data diperoleh dari skoring. Adapun hasil skoring hemoragi disajikan pada Lampiran 13. Setelah dilakukan skoring maka data diolah dengan menggunakan rancangan Acak

Lengkap (RAL). Adapun perhitungan hemoragi disajikan pada Lampiran 14. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan data rerata nilai skoring Hemoragi pada jaringan hati ikan nila (*O. niloticus*) yang disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Rerata Nilai Skoring Hemoragi

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	2,4	2,6	3,4	8,4	2,8	±0,5292
B (25 ppm)	2,4	2,8	2,4	7,6	2,53	±0,2309
C (40 ppm)	2,4	1,8	2,4	6,6	2,2	±0,3464
D (55 ppm)	1,8	1,4	1,2	4,4	1,47	±0,3055
27						

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap Hemoragi pada hati ikan nila (*O. niloticus*) dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Sumber Keragaman Skoring Hemoragi Jaringan Hati

Sumber Keragaman	DB	JK	Kt	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2,99	0,9966	7,248*	4,07	7,59
Acak	8	1,1	0,1375			
Total	11					

Keterangan = (*) Berbeda Nyata

Pada Tabel 6 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh hasil nilai F hitung > F 5% dan F hitung < F 1%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh nyata terhadap hemoragi pada histopatologi hati ikan nila (*O.*

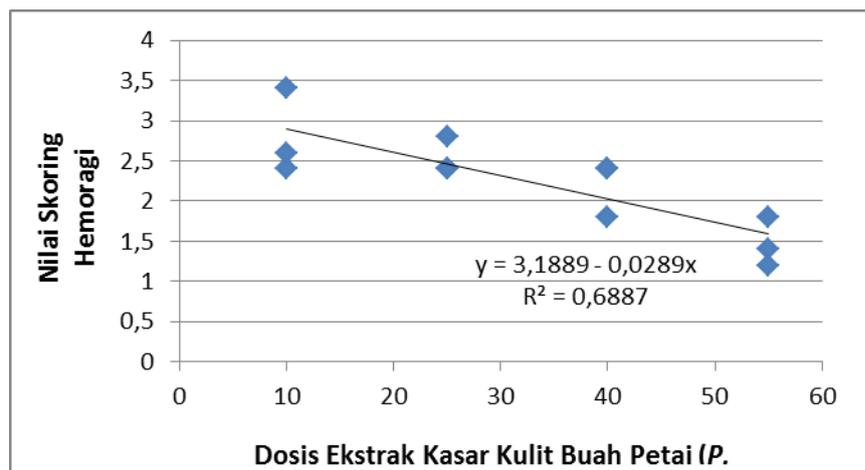
niloticus) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Untuk mengetahui perbedaan pada setiap perlakuan maka perlu dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) seperti yang disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Uji BNT Hasil Penelitian Hemoragi Hati

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		2,80	2,53	2,20	1,47	
A	2,80	-	-	-	-	a
B	2,53	0,27 ^{ns}	-	-	-	a
C	2,20	0,60 ^{ns}	0,33 ^{ns}	-	-	a
D	1,47	1,33 ^{**}	1,07 ^{**}	0,73 [*]	-	b

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

Berdasarkan Tabel 7, dapat diketahui hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) antara pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap nilai skoring sel hati ikan nila (*O. niloticus*) yang mengalami hemoragi didapatkan hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B dan C, tetapi perlakuan A berbeda sangat 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 b 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 ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan nilai skoring disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Nilai Skoring Sel Hati yang Mengalami Hemoragi

Pada Gambar 11 didapatkan persamaan $y = 3,1889 - 0,0289x$ dan memiliki nilai koefisien determinasi yakni 0,6887 menunjukkan bahwa dosis yang digunakan berpengaruh terhadap presentase sel hati yang mengalami hemoragi sebesar 68,87%. Selain itu, juga dapat diketahui hubungan antar dosis ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan sel hati yang mengalami hemoragi berbanding terbalik, dimana apabila semakin tinggi dosis maka nilai skoring hemoragi semakin rendah. Hal ini sesuai dengan pendapat Roslizawaty *et al.*,(2013), bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat pula. Efektivitas suatu zat antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat tersebut. Meningkatnya konsentrasi zat menyebabkan meningkatnya kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam membunuh suatu bakteri juga semakin besar.

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Dalam penghambatan sintesis asam nukleat, cincin A dan B senyawa flavonoid berperan penting dalam proses interkalisasi atau ikatan hydrogen, dengan menumpuk basa asam nukleat sehingga menghambat

pembentukan DNA dan RNA. Sedangkan kerja flavonoid yang menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom, merupakan hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Aktivitas senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel bakteri yang terdiri dari lipid dan asam amino. Lipid dan asam amino tersebut akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid masuk kedalam inti sel bakteri (Sari dan Ernawati, 2015). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif 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 sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida (Kartika *et al.*, 2016). Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Pada umumnya alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Alkaloid seringkali beracun dan sering digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Mekanisme kerja antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri. Mekanisme penghambatan antimikroba alkaloid dan berberine bekerja dengan cara menghambat enzim yang berperan dalam proses replikasi DNA. Inhibisi replikasi DNA akan menyebabkan bakteri tidak dapat melakukan pembelahan sehingga menghambat pertumbuhan bakteri (Sari dan Ernawati, 2015).

b. Nekrosis

Nekrosis menggambarkan keadaan terjadinya penurunan aktivitas jaringan yang ditandai dengan hilangnya beberapa bagian sel satu demi satu dari satu jaringan sehingga dalam waktu yang tidak lama akan mengalami kematian. Kematian sel-sel atau jaringan yang menyertai degenerasi sel pada setiap kehidupan hewan merupakan tahap akhir degenerasi yang irreversibel (Mandia *et al.*, 2013). Pada Gambar 10 dapat dilihat pada perlakuan A terjadi nekrosis terlihat banyak sel yang mengalami kematian sel atau sel menjadi mengecil, sedangkan perlakuan B kematian selnya atau sel yang mengecil lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan A, sedangkan pada perlakuan C sel yang mati atau mengecil juga lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan A dan B. Kemudian pada perlakuan D terlihat sel yang mengalami kematian lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan A, B dan C. Dosis yang diberikan semakin besar terlihat darah yang keluar dari pembuluh darah semakin sedikit. Sehingga dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi ekstrak yang diberikan maka semakin rendah kerusakan hemoragi. Hal tersebut dikarenakan semakin tinggi ekstrak maka bahan aktif yang terkandung semakin tinggi pula sehingga lebih baik dalam mengatasi penyerangan bakteri *P. aeruginosa*.

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dan diberikan ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) memperoleh hasil rata-rata yang berbeda terhadap kerusakan akibat nekrosis yang terjadi pada hati ikan nila (*O. niloticus*). Data diperoleh dari skoring. Adapun hasil skoring nekrosis disajikan pada Lampiran 13. Setelah dilakukan skoring maka data diolah dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Adapun perhitungan nekrosis disajikan pada Lampiran 14. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan data rerata nilai skoring nekrosis yang disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Rerata Nilai Skroing Nekrosis

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	3	2,8	3	8,8	2,933333	±0,1155
B (25 ppm)	2,8	3	2,8	8,6	2,866667	±0,1155
C (40 ppm)	2,8	2,6	1,6	7	2,333333	±0,6429
D (55 ppm)	1,2	1,4	1,2	3,8	1,266667	±0,1155
				28,2		

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap nekrosis ikan nila (*O. niloticus*) dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Sumber Keragaman Skoring Nekrosis Jaringan Hati

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	5,34	1,78	15,648**	4,07	7,59
Acak	8	0,91	0,11375			
Total	11	6,25				

Keterangan = (**) Berbeda Sangat Nyata

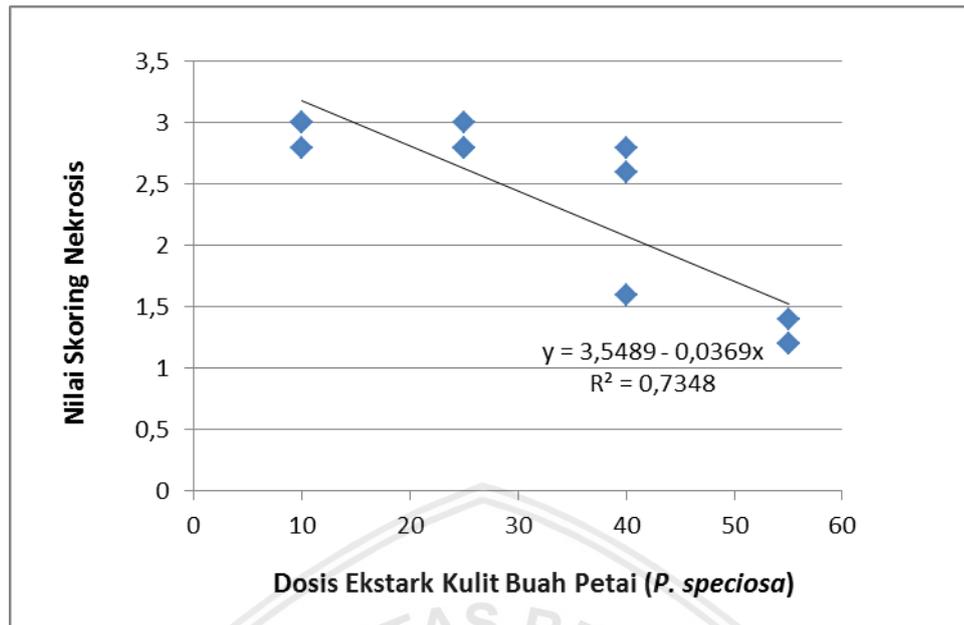
Pada Tabel 9 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh nilai F hitung > F 5% dan F 1%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh sangat nyata terhadap nekrosis pada histopatologi hati ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan maka perlu dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) seperti yang disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Uji BNT Skoring Nekrosis Jaringan Hati

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		2,93	2,87	2,33	1,27	
A	2,93	-	-	-	-	a
B	2,87	0,07 ^{ns}	-	-	-	a
C	2,33	0,60 ^{ns}	0,53 ^{ns}	-	-	a
D	1,27	1,67 ^{**}	1,60 ^{**}	1,07 ^{**}	-	b

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

Berdasarkan Tabel 10, dapat diketahui hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) antara pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap nilai skoring sel hati ikan nila (*O. niloticus*) yang mengalami nekrosis didapatkan hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B dan C, tetapi perlakuan A berbeda sangat 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 b 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 ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan nilai skoring disajikan pada Gambar 12.



Gambar 12. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Nilai Skoring Sel Hati yang Mengalami Nekrosis

Pada Gambar 12 didapatkan persamaan $y = 3,5489 - 0,0369x$ dan memiliki nilai koefisien determinasi yakni 0,7348 menunjukkan bahwa dosis yang digunakan berpengaruh terhadap presentase sel hati yang mengalami nekrosis sebesar 73,48%. Selain itu, juga dapat diketahui hubungan antar dosis ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan sel hati yang mengalami nekrosis berbanding terbalik, dimana apabila semakin tinggi dosis maka nilai skoring nekrosis semakin rendah. Hal ini sesuai dengan pendapat Roslizawaty *et al.*(2013), bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat pula. Efektivitas suatu zat antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat tersebut. Meningkatnya konsentrasi zat menyebabkan meningkatnya kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam membunuh suatu bakteri juga semakin besar.

4.2 Uji Kertas Cakram

Pada hasil penelitian diperoleh hasil Uji Kertas Cakram. Adapun perhitungan Uji Kertas Cakram disajikan pada Lampiran 12. Adapun hasil Uji Kertas Cakram disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Uji Kertas Cakram

Perlakuan	Ulangan		Total	Rerata	STD
	D1	D2			
A (10 ppm)	6,8	7,4	14,2	7,10	±0,42
B (25 ppm)	6,75	8,4	15,15	7,58	±1,17
C (40 ppm)	8,55	9,3	17,85	8,93	±0,53
D (55 ppm)	9,8	10,25	20,05	10,03	±0,32
			67,25		

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) terhadap daya hambat pada uji kertas cakram dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Sumber Keragaman Uji Kertas 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 12 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh nilai F hitung > F 5% dan F hitung lebih < F 1%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) berpengaruh nyata terhadap daya hambat pada Uji Kertas Cakram. Untuk

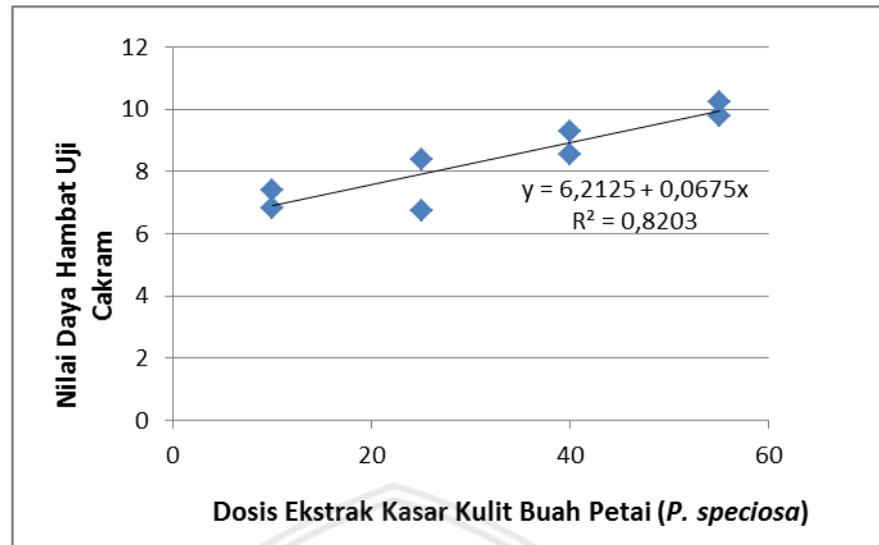
mengetahui perbedaan setiap perlakuan maka perlu dilakuakn uji Beda Nyata Terkecil (BNT) seperti yang disajikan pada Tabel 13.

Tabel 13. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Uji Kertas 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}	-	-	ab
D	10,03	2,93*	2,45*	1,10 ^{ns}	-	b

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 b adalah perlakuan terbaik diikuti dengan perlakuan c dengan dosis 40 ppm dengan notasi ab 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 ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan daya hambat Uji Kertas Cakram pada Gambar 13.



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

Pada grafik diatas didapatkan persamaan $y = 6,2125 + 0,0675x$ dan memiliki nilai koefisien determinasi yakni 0,8203 menunjukkan bahwa dosis yang digunakan berpengaruh terhadap presentase daya hambat Uji Kertas Cakram. Semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan maka semakin tinggi daya hambat.

4.3 Gejala Klinis pada Ikan Nila (*O. niloticus*)

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan hasil bahwa pada saat ikan dilakukan perendaman ke dalam toples yang berisi bakteri dan ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) ikan terlihat megap-megap dan berenang di permukaan air. Selain itu, ikan juga berenang tidak beraturan. Terlihat kerusakan pada sirip ekor dan juga sisik yang terkelupas seperti yang disajikan pada Gambar 14.



Gambar 14. Ikan Nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi Bakteri *P. aeruginosa*, (A) Sisik Mengelupas (B) Ekor Geripis

Pada ikan nila (*O. niloticus*) sehat tidak ada gejala klinis ikan memiliki warna kulit normal, tidak ada luka, borok dan berenang aktif. Gejala klinis ikan yang terserang bakteri *P. aeruginosa* antara lain terdapat luka pada permukaan tubuh dan sisik yang berlepasan serta hati ikan terlihat pucat. Selain itu, terdapat benjolan merah pada pangkal sirip dada, perut membesar, tubuh penuh borok, pendarahan pada organ internal, sekitar mulut, opercula dan daerah, terjadi nekrosis pada jaringan limpa dan ginjal (Manurung dan Darna, 2017).

Gejala klinis ikan yang terserang penyakit *P. aeruginosa* yaitu borok/luka pada tubuh ikan, kembung, mata menonjol, warna tubuh menjadi gelap, timbul pendarahan, gerak lamban, sirip geripis, warna tubuh pucat, insang dan permukaan tubuh luka, *hemoragik*, produksi lendir berlebih dan sisik lepas dan kasar serta diikuti *hemoragik* yang membentuk spot putih dikelilingi zona merah, dan pendarahan pada organ dalam (Nurjanah *et al.*, 2014).

4.4 Parameter Kualitas Air

Air merupakan media tempat hidup ikan selama pemeliharaan. Ikan sangat mudah terserang penyakit pada lingkungan yang kurang baik. Dalam hal ini yang sangat mempengaruhi adalah kualitas air. Kualitas air merupakan faktor

yang diperhatikan dalam pemeliharaan ikan. Ikan akan tumbuh optimal apabila parameter kualitas air di tempat hidupnya sesuai dengan kisaran toleransi yang dapat diterima oleh ikan tersebut. Pada saat penelitian, dilakukan pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, oksigen terlarut (DO) dan pH. Adapun hasil pengukuran kualitas air pada saat penelitian selama 14 hari disajikan pada Lampiran 9. Sedangkan hasil kisaran pengukuran kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Kisaran Parameter Kualitas Air

No.	Parameter Kualitas Air	Pengukuran	Referensi
1	Suhu	25,2-26,8	25-30 (Aliyas <i>et al.</i> , 2016)
2	Oksigen Terlarut (DO)	5,5-8,4 ppm	> 3 ppm (Salsabila dan Hari, 2018)
3	pH	7,11-8,14	6,5-8,5 (SNI 7550:2009)

a. Suhu

Hasil penelitian kualitas air pada suhu yang dilakukan selama 14 hari pemeliharaan, didapatkan hasil nilai tertinggi yaitu 26,8°C sedangkan hasil nilai terkecil yaitu 25,2°C. Kisaran suhu untuk produksi ikan nila kelas pembesaran di kolam air tenang adalah 25-32°C suhu optimal untuk pertumbuhan ikan nila yaitu 25-30°C. Suhu air berpengaruh terhadap nafsu makan dan proses metabolisme ikan. Pada suhu rendah proses pencernaan makanan pada ikan berlangsung lambat, sedangkan pada suhu hangat proses pencernaan berlangsung lebih cepat (Aliyas *et al.*, 2016).

b. Oksigen Terlarut (DO)

Hasil penelitian kualitas air pada oksigen terlarut (DO) yang dilakukan selama 14 hari pemeliharaan, didapatkan hasil nilai tertinggi yaitu 8,4 ppm

sedangkan hasil nilai trekecil yaitu 5,5 ppm. Kadar oksigen terlarut (DO) yang optimal untuk pembesaran ikan nila adalah lebih dari 3 mg/L. Faktor yang mempengaruhi perbedaan oksigen terlarut adalah pengaruh dari aktivitas pada kolam sehingga mudah terjadi difusi oksigen dari udara ke air. Selain itu, oksigen terlarut juga dipengaruhi oleh kelimpahan fitoplankton (Salsabila dan Hari, 2018).

c. pH

Hasil penelitian kualitas air pada pH yang dilakukan selama 14 hari pemeliharaan, didapatkan hasil nilai tertinggi yaitu 8,14 sedangkan hasil nilai trekecil yaitu 7,11. Nilai pH dapat digunakan sebagai gambaran tentang kemampuan suatu perairan dalam memproduksi garam mineral, yang mana bila pH tidak sesuai dengan kebutuhan organisme yang dipelihara, akan menghambat pertumbuhan ikan. Secara umum angka pH yang ideal adalah antara 4-9, namun untuk pertumbuhan yang optimal untuk ikan nila, pH yang ideal adalah berkisar antara 6,5-8,5. Dampak perubahan pH secara ekstrem dan melebihi standar acuan, dapat menyebabkan terganggunya metabolisme, pertumbuhan menurun, dan ikan mudah terserang penyakit dan stress (SNI 7550 : 2009).

4.5 Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

Pada hasil penelitian diperoleh hasil kisaran kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) yaitu 60% sampai dengan 90%. Setelah didapatkan data kelulushidupan maka dilakukan uji normalitas yang disajikan pada Lampiran 16. Adapun perhitungan kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Lampiran 17. Terjadinya kematian pada ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* disebabkan karena bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri patogen dan dapat menyebabkan kematian pada ikan. Tingkat kelulushidupan ikan lebih dari 50% tergolong baik, kelulushidupan ikan 30-50%

sedang dan kurang dari 30% tidak baik. Kelulushidupan ikan sangat bergantung pada daya adaptasi ikan terhadap makanan dan lingkungan, status kesehatan ikan, padat tebar dan kualitas air yang cukup mendukung pertumbuhan (Mulyani *et al.*, 2014). Adapun kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 15.

Tabel 15. Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	60	70	60	190	63,33	±5,77
B (25 ppm)	70	80	60	210	70,00	± 10
C (40 ppm)	80	90	80	250	83,33	±5,77
D (55 ppm)	90	90	80	260	86,67	±5,77
				910		

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 16.

Tabel 16. 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 16 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh nilai F hitung > F 5% dan F hitung lebih < F 1%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*)

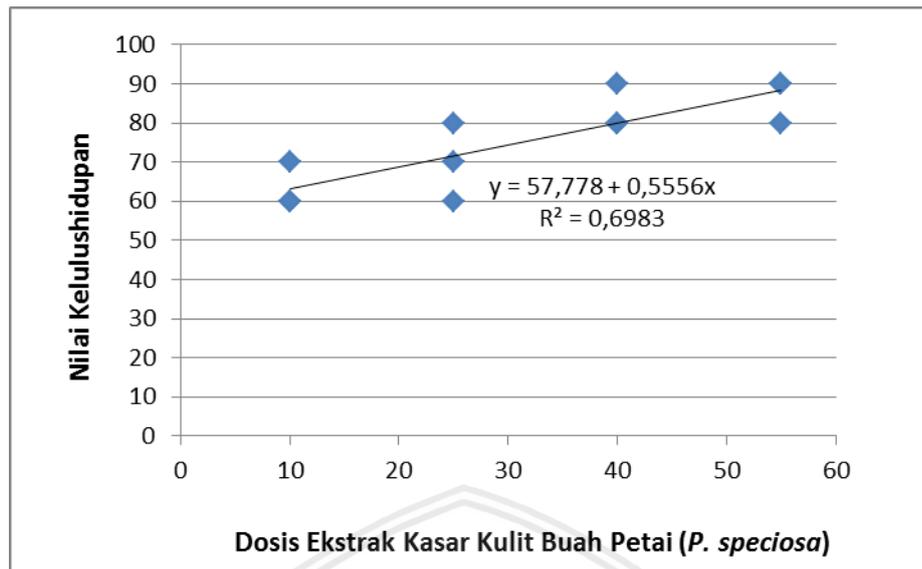
berpengaruh nyata terhadap kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*). Untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan maka perlu dilakuakn uji Beda Nyata Terkecil (BNT) seperti yang disajikan pada Tabel 17.

Tabel 17. 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 [*]	-	-	bc
D	86,67	23,33 ^{**}	16,67 [*]	3,33 ^{ns}	-	c

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

Berdasarkan Tabel 17 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 bc adalah perlakuan terbaik diikuti dengan perlakuan d dengan dosis 55 ppm dengan notasi c 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.

Adapun hubungan antara kelulushidupan dengan histopatologi yaitu dimana semakin tinggi ekstrak yang diberikan maka semakin rendah nilai skoring hsitopatologi sehingga semakin tinggi pula nilai kelulushidupan. Ha tresebut dikarenakan pada dosis tinggi bahan aktif yang terkandung pada ekstrak juga tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Roslizawaty *et al.* (2013), bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat pula. Efektivitas suatu zat antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat

tersebut. Meningkatnya konsentrasi zat menyebabkan meningkatnya kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam membunuh suatu bakteri juga semakin besar.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

- Pemberian ekstrak kasar kulit buah petai (*P. speciosa*) dengan konsentrasi berbeda berpengaruh terhadap histopatologi hati ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*
- Pada penelitian menghasilkan dosis terbaik pada penelitian yaitu pada perlakuan D dengan dosis 55 ppm.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan hasil pada dosis 55 ppm adalah hasil terbaik dibandingkan dengan 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 hati yang diinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dengan waktu pemeliharaan yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullahi, R., Lihan S., Carlos B. S., Bilung M. L., Mikal M. K. and Collick F. 2013. Detection of oprL gene and antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* from aquaculture environment. *Pelagia Research Library*.3(6):148-152.
- Adi, L.T. 2008. Tanaman Obat dan Jus untuk Mengatasi Penyakit Jantung, Hipertensi, Kolesterol dan Stroke. PT Agromedia Pustaka. Jakarta Selatan. 260 hlm.
- Afrianto, E., E. Liviawaty, Z. Jamaris dan Hendi.2015. Penyakit Ikan. Penebar Swadaya: Jakarta Timur. 218 hlm.
- Agnes, L. O. Widjaja, A. Ayucitra dan N. Indraswati. 2013. Ekstraksi Kulit Petai sebagai Antioksidan Alami dengan Metode Domestic Microwave Maceration. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*. 11(5):237-242 hlm.
- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulan pada Hewan Akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*.1(2):87-92 hlm.
- Amanu, S., T. Untari, M.H. Wibowo dan S. Artanto. 2015. Pengembangan Deteksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Metode Aga Gel Presipitasi di Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*.33(2):1-6 hlm.
- Alyas, S. Ndobe dan Z. R. Ya'la. 2016. Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Ikan Nila (*Oreochromis sp.*) yang Dipelihara pada Media Bersalinitas. *Jurnal Sains dan Teknologi Tadulako*.5(1):19-27 hlm.
- Amri, K., dan Khairuman, A, Md. 2003. Budidaya Ikan Nila secara Intensif.PT AgroMedia Pustaka: Jakarta Selatan.108 hlm.
- 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):1-8 hlm.
- Asniatih, M., Idris dan K. Saabiluh. 2013. Studi Histopatologi pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Mina Laut Indonesia*.3(2):13-21 hlm.
- Asri, A. 2015. Gambaran Histopatologi Usus Ikan Dui Dui (*Dermogenys megarrhamphus*) di danau Matano Luwu Timur Sulawesi selatan yang Tercemar Logam Berat Nikel (Ni) dan Besi (Fe). Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Hassanudin: Makassar.52 hlm.
- Badan Standardisasi Nasional, (2009).SNI 7550:2009. Produksi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus Bleeker*) kelas Pembesaran di Kolam Air Tenang. Author.
- Djunaedi, A., R. Hartati, R. Pribadi, S. Redjeki, R.W. Astuti dan B. Septiaran. 2016. Pertumbuhan Ikan Nila Larasati (*Oreochromis niloticus*) di Tambak

- dengan Pemberian Ransum pakan dan Padat Penebaran yang Berbeda. *Jurnal Kelautan Tropis*. 19(2):131-142 hlm.
- El-Deen, A.G.S. 2014. Role of *Nigella Sativa* in Decreasing Mortalities in Nile Tilapia Caused by *Pseudomonas septicemia*. *Assiut Vet. Meed. J.* 60(142):1-6 hlm.
- Ghufran, M., dan H.Kordi K.2010.Budidaya ikan Nila Di Kolam Terpal.Andi Publisher:Yogyakarta.112 hlm.
- Hanna, M. I., M. A. El-Hady, H. A. Ahmed, S. A. Elmeadawy and A. M. Kenwy. 2014. A contribution on *Pseudomonas aeruginosa* infection in African Catfish (*Clarias gariepinus*). *RJPBCS*.5(5):576 hlm.
- Hardi, E.H., dan C. B. Pebrianto. 2012. Isolasi dan Uji Postulat Koch *Aeromonas* Sp. dan *Pseudomonas* Sp. pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Sentra Budidaya Loa Kulu Kabuoaten Kutai Kartanegara. *Jurnal Ilmu Perikanan Tropis*.16(2):35-39 hlm.
- Haryani, A., R. Grandiosa, I. D, Buwono dan A. Santika. 2012. Uji Efektivitas daun Pepaya (*Craica papaya*) untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*.3(3):213-220 hlm.
- Haryani, a.,R. Grandiosa, I.D. Buwono dan A. Santika. 2012. Uji Efektivitas daun Pepaya (*Carica papaya*) untuk Pengobatan Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas (*Carrasius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*.3(3):213-220 hlm.
- Ibrahim, M., A. Anwar dan N. I. Yusuf. 2012. Uji Lethal Dose 50% (LD_{50}) Poliherbal (*Curcuma xanthorrhiza*, *Kleinhovia hospita*, *Nigella sativa*, *Arcangelisia flava* dan *Ophiocephalus striatus*) pada Heparmin terhadap Mencit (*Mus musculus*). Research & Development.PT Royal Medicalink Pharnalab. 21 hlm.
- Kartika, D., D. R. Ningsih dan Zufahair. 2016. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak sebagai Antibakteri. *Molekul*.11(1):101-111 hlm.
- Linarwati, M., A. Fathoni dan M. Minarsih. 2016. Studi Deskriptif Pelatihan dan Pengembangan Sumberdaya Manusia serta Penggunaan Metode Behavioral Event Interview dalam Merekrut Karyawan Baru di Bank Mega Cabang Kudus. *Journal of Management*.2(2).1-8 hlm.
- Listyawati, A.F. 2010. Pola Pertumbuhan *Pseudomonas* sp. dengan Menggunakan Variasi Konsentrasi D-glukosa dalam Media Pertumbuhan terhadap Waktu Inkubasi. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*.5(2):29-32 hlm.
- 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 hlm.

- Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari dan E. Riani. 2010. Uji Patogenisitas dan Virulensia *Aeromonas hydrophila* Stanier pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) melalui Postulat Koch. *Jurnal Riset Akuakultur*.5(2):245-255 hlm.
- Manurung, U., N. Dan D. Susantie. 2017. Identifikasi Bakteri Patogen pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Lokasi Budidaya Ikan Air Tawar Kabupaten Kepulauan Sangihe. *Budidaya Perairan*.5(3):11-17 hlm.
- Mayasari, E. 2005. *Pseudomonas aeruginosa*; Karakteristik, Infeksi dan Penanganan. *SKRIPSI*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatera Utara: Medan.
- Mulyani, Y., S. Yulisman dan M. Fitriani. 2014. Pertumbuhan dan Efisiensi Pakan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Dipuaskan secara Periodik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*.2(1):01-12 hlm.
- Mulyani, Y.S., Yulisman dan M. Fitriani. 2014. Pertumbuhan dan Efisiensi Pakan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Dipuaskan secara Periodik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*.2(1):01-12 hlm.
- Murwani, S., D.Qosimah dan I.A. Amri. 2017. Penyakit Bakterial Pada Ternak Hewan Besar dan Unggas. UB Press:Malang. 238 hlm.
- Muslikha, S. Pujiyanto, S. N. Jannah dan H. Novita. 2016. Isolasi, Karakterisasi *Aeromona hydrophila* dan Deteksi Gen Penyebab Penyakit *Motile Aeromona hydrphila* (MAS) dengan *16S rRNA* dan *Aerolysin* pada Ikan Lele (*Clarias* sp.). *Jurnal Biologi*.5(4):1-7 hlm.
- Nurjanah, S., S. B. Prayitno dan Sarjito. 2014. Sensitivitas Bakteri *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. yang diisolasi pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Sakit terhadap Berbagai Macam Obat Beredar. *Journal of Aquaculture Management and Technology*.3(4):308-316 hlm.
- Prasetio, E., M. Mursin, E. I. Raharjo dan Farida. 2015. Pengaruh serbuk lidah buaya (*Aloe vera*) sebagai immunostimulan terhadap tingkat kesembuhan dan histopatologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang di infeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Majalah Ilmiah Al Ribaath*. 12(2) : 58-67 hlm.
- Prasetio, E., M. Mursin, e. I. Raharjo dan Farida. 2015. Pengaruh Serbuk Lidah Buaya (*Aloe vera*) sebagai Immunostimula terhadap Tingkat Kesembuhan dan Histopatologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Majalah Ilmiah Al Ribaath*.12(2):58-67 hlm.
- Putri, F., M., Sarjito dan Suminto. 2013. Pengaruh Penambahan *Spirulina* sp. dalam Pakan Buatan Terhadap Jumlah Total Bakteri Hemosit dan Aktivitas Fagositosis Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*.29(1):102-112 hlm.
- Rahmaningsih, S., S. Wlis dan A. Mulyana. 2012. Bakteri Patogen dari Perairan Pantai dan Kawasan Tambak di Kecamatan Jenu Kabupaten Tuban. *Jurnal Ekologia*. 12(1):4-54 hlm.

- Rahmaningsih, S. 2018. Hama dan Penyakit. Deepublish: Yogyakarta. 352 hlm.
- Ramadani, G. 2012. Pengaruh Ekstrak Kulit Petai (*Parkia speciosa*) sebagai Antioksidan alami pada Pemakaian Minyak Goreng Deep Frying Terhadap Kadar MDA Hepar Mencit (*Mus musculus*).
- 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.
- Rianti, A., E. K. Parassih, A. E. Novenia, A. Christpoher, D. Lestari dan W. E. Kiyat. 2018. Potensi Ekstrak Kulit Petai (*Parkia speciosa*) sebagai Antioksidan. *Jurnal Dunia Gizi*.1(1):10-19 hlm.
- Rosida, A. 2016. Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati. *Berkala Kedokteran*.12(1):123-131 hlm.
- Roslizawaty, N. Y. Ramadani, Fakhurrrazi dan Herrialfian. 2013. Aktivitas Antibakterial Ekstrak Etanol dan Rebusan Sarang Semut (*Myrmecodia* sp.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Medika Veterinaria*.7(2):1-4 hlm.
- Rukmana, R. 1997. Ikan Nila, Budidaya dan Aspek Agribisnis. Kanisius: Yogyakarta. 87 hlm.
- Salsabila, M. dan H. Suprpto. 2018. Teknik Pembesaran Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Instalasi Budidaya Air Tawar Pandaan, Jawa Timur. *Journal of Aquaculture and Fish Health*.7(3):1-6 hlm.
- Sari, K., dan Ernawati. 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 hlm.
- 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 hlm.
- Siska, M. Dan R. Salam. 2012. Desain Eksperimen Pengaruh Zeolit terhadap Penurunan Limbah Kadmium (Cd). *Jurnal ilmiah Teknik Industri*.11(2):1-12 hlm.
- 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.
- Soelama, H. J. J., B. J. Kepel dan K. V. Siagian. 2015. Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) Ekstrak Rumput Laut (*Eucaema cottonii*) sebagai Antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*.3(2):1-6 hlm.
- Sukarni, Maftuch dan H.Nursyam. 2012. Kajian Penggunaan Ciprofloxacin terhadap Histologi Insang dan Hati Ikan Botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *J.Exp.Life Sci*.2(1):1-7 hlm.

- Sulistyaningsih. 2010. Uji Kepekaan Beberapa Sediaan Antiseptik terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Pseudomonas aeruginosa* Multi Resisten (PAMR). Penelitian. Fakultas Farmasi. Universitas Padjajaran: Jatinangor.
- Sunanto, H. 1992. Seri Budidaya Petai. Kanisius: Yogyakarta. 39 hlm.
- Sunarti, W. Sari, I. W. Oktavia dan R. Cerianna. 2016. Struktur Mikroskopis Hati Ikan Serukan (*Osteochilus vittatus*) dari Sungai Krueng Sabee Kabupaten Aceh Jaya yang Tercemar Limbah Penggilingan Biji Emas. *Jurnal Biotik*.4(1):33-40 hlm.
- Susantie, D., dan U. N. Manurung. 2017. Identifikasi Bakteri Patogen pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Lokasi Budidaya Ikan Air Tawar Kabupaten Kepulauan Sangihe. *Budidaya Perairan*.5(3):11-17 hlm.
- Suyono, Y. dan F. Salahudin. 2011. Identifikasi dan Karakteristik Bakteri *Pseudomonas* pada Tanah yang Terindikasi Terkontaminasi Logam. *Jurnal BIOPROPAL INDUSTRI*.2(1).1-6 hlm.
- Tantu, W., R. A. Tumbol dan S. N. J. Longdong. 2013. Deteksi Keberadaan Bakteri *Aeromonas* sp pada Ikan Nila yang Dibudidayakan di Karamba Jaring Apung Danau Tandano.
- Zahara, T. A., Heni dan S. Arreneuz. 2015. Efektivitas Antibakteri Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JKK*.4(1):84-90 hlm.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat Penelitian



Toples Plastik 16 L



Toples Kaca 5 L



Bak Fiber



Timbangan Digital



Batu Aerator



Blower



Selang Air



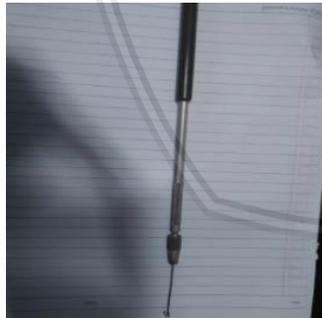
Nampan



Oven



Blender



Jarum Ose



Bunsen



Tabung Reaksi



Lemari Pendingin



Botol Filum



Gelas Ukur



Sprayer



Mikroskop



Spektrofotometer



Rotary Evaporator



Inkubator



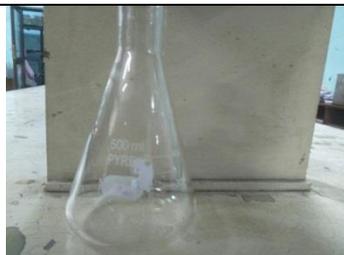
Vortex Mixer



Objek Glass



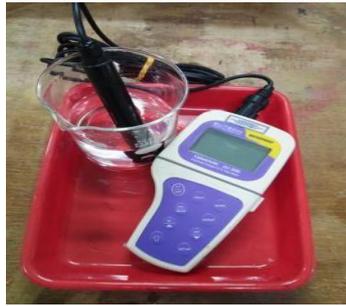
Seser Ikan



Erlenmeyer



Hot Plate



Thermometer



pH Meter



DO Meter



Rak Tabung Reaksi



Spatula



Autoklaf



Laminary Air Flow (LAF)



Beaker Glass



Blank Disk



Sectio Set



Lampiran 2. Bahan Penelitian



Ikan Nila



Kulit Buah Petai (*P. speciosa*)



Bakteri *P. aeruginosa*



Alumunium Foil



Alkohol 70%



Etanol Teknis



Akuades



Sarung Tangan



Kertas Saring



Kertas Bekas



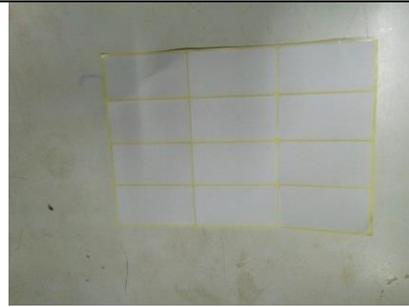
Masker



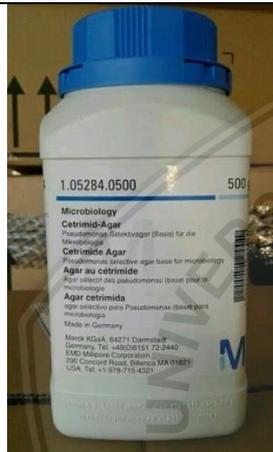
Tisu



Kapas



Kertas Label



PSA (*Pseudomonas Selective Agar*)



NB (*Nutrient Broth*)



TSB (*Tryptic Soy Broth*)



Air Media



BaCl



NaCl



Lampiran 3. Hasil Uji Biokimia Bakteri *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 4. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak 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
		Dragendrof	Endapan Jingga
		Bouchardat	Endapan Cokelat
3.	Tanin	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif
4.	Terpenoid	Steroid	Hijau Kebiruan
		Triterpenoid	Orange, Jingga Kecokelatan
		Saponin	Busa Permanen

4. Lampiran

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

Nama Sampel	Tanin	Terpenoid	Saponin
	Kulit Pete (<i>Parkia speciosa</i>)		

Lampiran 5. 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.

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

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

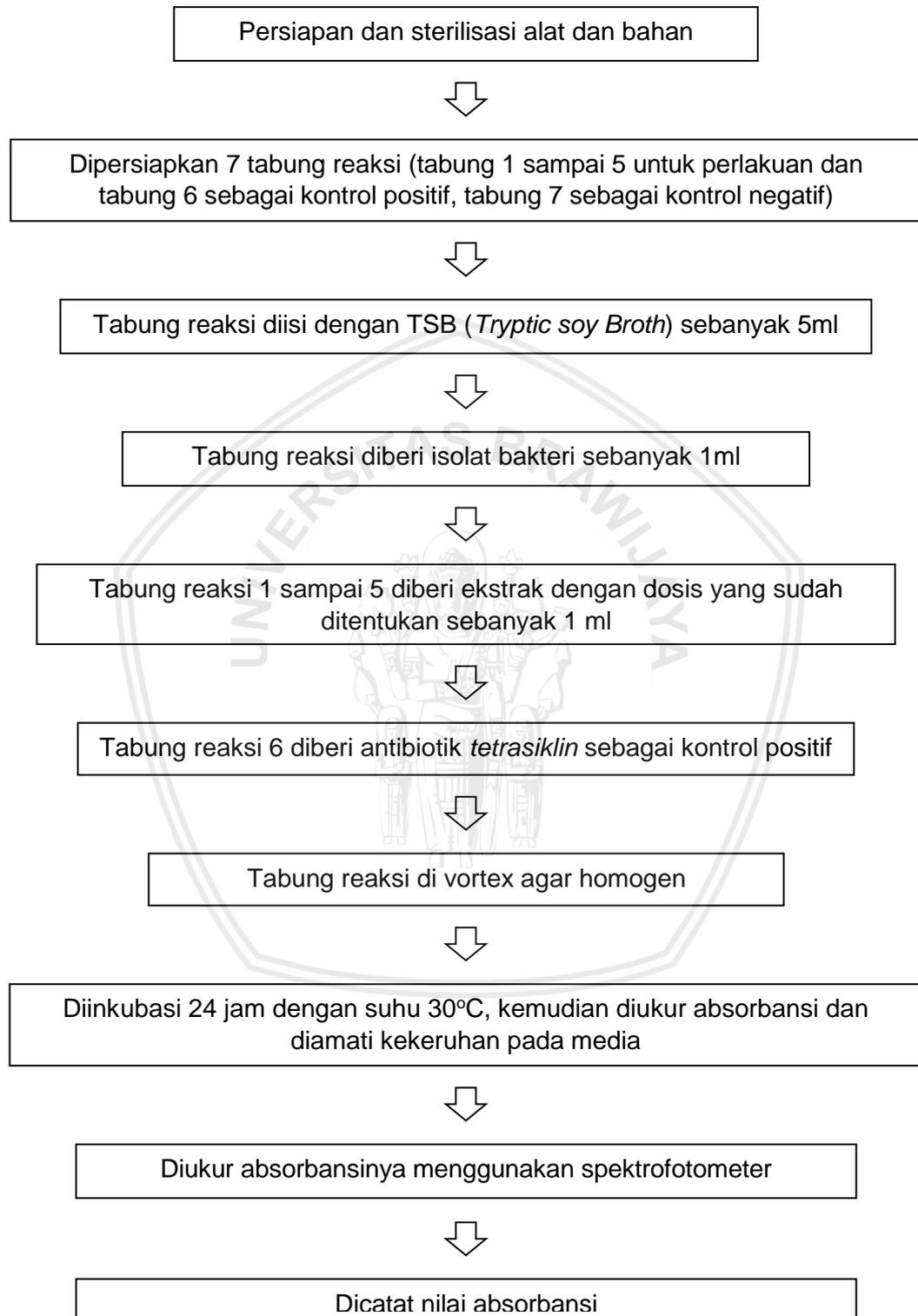
$$100 \text{ ppm} \rightarrow \frac{100}{1000} \times 3 \text{ ml} = 0,3 \text{ mg ekstrak} + 2,7 \text{ ml DMSO 10\%}$$

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

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

$$\begin{aligned} \text{Tetrasiklin (30 ppm)} &\rightarrow \frac{0,03 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} = \frac{x}{1.000 \text{ ml}} \\ &= 0,03 \text{ gr antibiotik} \times 1.000 \text{ ml} = 30 \text{ mg/l} \end{aligned}$$

Lampiran 6. Skema Uji MIC



Lampiran 7. Skema Uji In Vitro (Kertas Cakram)

Persiapan dan sterilisasi alat dan bahan



Dipersiapkan 3 cawan petri (cawan petri 1 dan 2 untuk perlakuan dan cawan petri ke 3 sebagai kontrol positif dan kontrol negatif)



Cawan petri diisi dengan PSA (*Pseudomonas Soy Agar*) sebanyak 25ml



Bakteri digoreskan pada media PSA dengan metode sebar



Rendam *blank disk* ke dalam dosis yang telah ditentukan selama 15 menit



Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu ruang 30°C



Ukur zona bening menggunakan jangka sorong



Catat zona bening pada sekitar cakram

Lampiran 8. Perhitungan kadar air dan rendemen Ekstrak Kasar Kulit Buah Petai (*P. speciosa*)

- Kadar air

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

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

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

- Rendemen

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

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

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

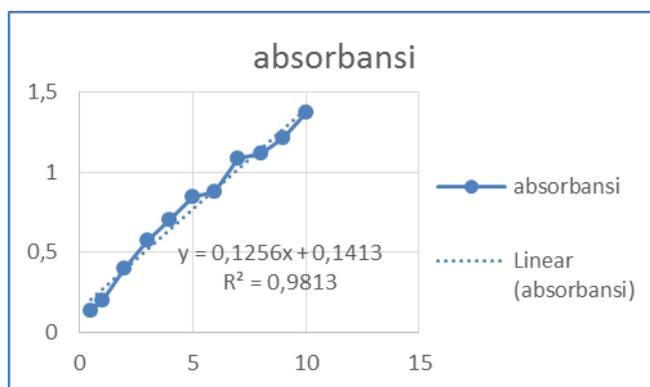


Lampiran 9. Perhitungan Kepadatan Bakteri dengan Mc Farland**a. Perhitungan kepadatan Bakteri Awal menggunakan metode Mc Farland**

- 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*.



Lampiran 9. Lanjutan

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

$$y=0,1526x-0,1413$$

$$x= \frac{y+0,1413}{0,1526}$$

(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 .

Lampiran 9. Lanjutan

- 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.
- Hasil absorbansi kemudian dimasukkan kedalam rumus perhitungan pada grafik untuk mendapatkan jumlah kepadatan bakteri induk.
- Didapatkan hasil kepadatan awal bakteri induk adalah 3×10^8 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 suspense bakteri dalam TSB yang dibutuhkan

V_2 : Volume yang diinginkan

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

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

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

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

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

$$- V_1 = 333,33 \text{ ml}$$

- Berdasarkan perhitungan diatas diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan adalah sebanyak 333,33 ml tiap toples perlakuan.

Lampiran 10. Perhitungan Dosis Uji In Vivo

$$10 \text{ ppm} \rightarrow \frac{10 \text{ mg}}{1000} \times 10 \text{ l} = 0,1 \text{ gr ekstrak} + 10 \text{ liter air}$$

$$25 \text{ ppm} \rightarrow \frac{25 \text{ mg}}{1000} \times 10 \text{ l} = 0,25 \text{ gr ekstrak} + 10 \text{ liter air}$$

$$40 \text{ ppm} \rightarrow \frac{40 \text{ mg}}{1000} \times 10 \text{ l} = 0,4 \text{ gr ekstrak} + 10 \text{ liter air}$$

$$55 \text{ ppm} \rightarrow \frac{55 \text{ mg}}{1000} \times 10 \text{ l} = 0,55 \text{ gr ekstrak} + 10 \text{ liter air}$$



Lampiran 11. Hasil Uji MIC 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 + (Antibiotik Tetracyclin)	0,188	Bening
7	K(-)	0,518	Keruh



Lampiran 12. Uji Kertas Cakram

Perlakuan	Ulangan		Total	Rerata	STD
	D1	D2			
A (10 ppm)	6,8	7,4	14,2	7,10	±0,42
B (25 ppm)	6,75	8,4	15,15	7,58	±1,17
C (40 ppm)	8,55	9,3	17,85	8,93	±0,53
D (55 ppm)	9,8	10,25	20,05	10,03	±0,32
			67,25		

- **Perhitungan Sidik ragam**

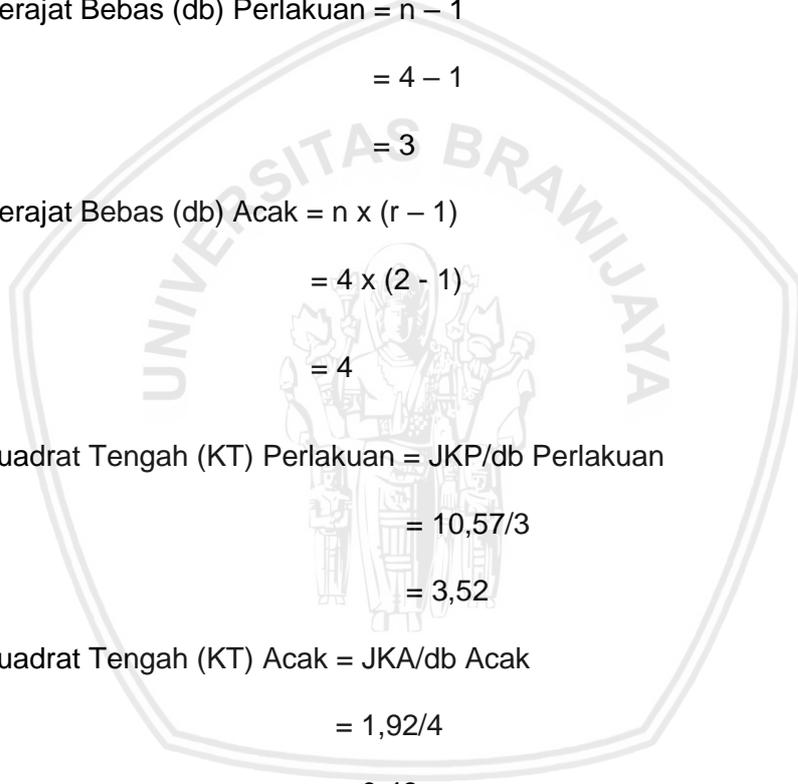
$$\begin{aligned}
 \text{- Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{G^2}{N} \\
 &= \frac{67,25^2}{8} \\
 &= 565,32
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{- JK Total} &= (A1^2 + A2^2 + \dots + D2^2) - FK \\
 &= (6,8^2 + 2,8^2 + \dots + 10,25^2) - 565,32 \\
 &= 577,81 - 565,32 \\
 &= 12,49
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{- JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum x_i)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2}{r} - FK \\
 &= \frac{14,2^2 + 15,15^2 + 17,85^2 + 20,05^2}{2} - 565,32 = \frac{1151,78}{2} - 565,32 \\
 &= 575,89 - 565,32 \\
 &= 10,57
 \end{aligned}$$

Lampiran 12. (Lanjutan)

- JK Acak = JK Total – JK Perlakuan
= 12,49 – 10,57
= 1,92
- Derajat Bebas (db) Total = $(n \times r) - 1$
= $(4 \times 2) - 1$
= 7
- Derajat Bebas (db) Perlakuan = $n - 1$
= $4 - 1$
= 3
- Derajat Bebas (db) Acak = $n \times (r - 1)$
= $4 \times (2 - 1)$
= 4
- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = JKP/db Perlakuan
= $10,57/3$
= 3,52
- Kuadrat Tengah (KT) Acak = JKA/db Acak
= $1,92/4$
= 0,48
- F Hitung = KTP/KTA
= $3,52/0,48$
= 7,33



Lampiran 12. (Lanjutan)

- Analisa Sidik Ragam

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

Karena nilai F hitung memiliki nilai yang lebih besar dari pada nilai F 5% dan lebih kecil dari F 1% maka perhitungan dilanjutkan dengan perhitungan Uji BNT.

- Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0,48}{2}} \\
 &= 0,69
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= T \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} \\
 &= 2,78 \times 0,69 \\
 &= 1,92
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= T \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} \\
 &= 4,60 \times 0,69 \\
 &= 3,18
 \end{aligned}$$

Lampiran 12. (Lanjutan)

• Tabel BNT

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}	-	-	ab
D	10,03	2,93*	2,45*	1,10 ^{ns}	-	b

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

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil terbaik adalah perlakuan D dan diikuti oleh perlakuan C, perlakuan B dan Perlakuan A.

• Tabel Polynomial 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= $\Sigma(ci*Ti)$		3,65	1,75
Hasil Kuadrat		2	6
Kr= $(\Sigma ci^2)*r$		4	12
JK=Q^2/Kr		3,331	0,26

- JK Regresi Total = JK Linier + JK Kuadratik

$$= 3,331 + 0,26$$

$$= 3,59$$

Lampiran 12. (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

Karena Regresi Linier berbeda nyata, maka dihitung R^2 masing-masing regresi tersebut:

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}}$$
$$= \frac{3,33}{3,33 + 1,92} = 0,63$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}}$$
$$= \frac{0,26}{0,26 + 1,92} = 0,12$$

Hasil perhitungan R^2 diatas menunjukkan bahwa nilai R^2 linier lebih besar dari nilai R^2 kuadratik . Berdasarkan hasil tersebut maka kurva yang digunakan adalah kurva linier. Selanjutnya dicari persamaan regresi linier. Dosis yang digunakan tiap perlakuan dijadikan sebagai sumbu x sedangkan nilai hasil uji

Lampiran 12. (Lanjutan)

kertas cakram dijadikan sebagai sumbu y, sehingga akan didapatkan garis linier pada grafik.

• Tabel Sumbu x dan y

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

Lampiran 13. Hasil Skoring Kerusakan Jaringan Hati Ikan Nila (*O. niloticus*)

Kelainan Patologi	Perlakuan	Ulangan	Nilai Skoring					Rerata	Rerata Sampel
			1	2	3	4	5		
Hemoragi	A (10 ppm)	1	2	2	3	2	3	2,4	2,8
		2	3	3	2	3	2	2,6	
		3	3	4	3	3	4	3,4	
	B (25 ppm)	1	2	3	2	2	3	2,4	2,53
		2	4	3	2	2	3	2,8	
		3	2	3	2	2	3	2,4	
	C (40 ppm)	1	2	2	3	3	2	2,4	2,2
		2	3	2	2	1	1	1,8	
		3	3	2	3	3	1	2,4	
	D (55 ppm)	1	1	2	3	1	2	1,8	1,47
		2	1	1	2	1	2	1,4	
		3	1	1	1	2	1	1,2	

Kelainan Patologi	Perlakuan	Ulangan	Nilai Skoring					Rerata	Rerata Sampel
			1	2	3	4	5		
Nekrosis	A (10 ppm)	1	4	3	3	3	2	3	2,93
		2	3	2	4	3	2	2,8	
		3	2	4	3	3	3	3	
	B (25 ppm)	1	4	3	3	2	2	2,8	2,87
		2	3	4	2	4	2	3	
		3	4	3	2	2	3	2,8	
	C (40 ppm)	1	4	2	2	3	3	2,8	2,33
		2	3	2	3	3	2	2,6	
		3	2	3	1	1	1	1,6	
	D (55 ppm)	1	2	1	1	1	1	1,2	1,27
		2	1	2	2	1	1	1,4	
		3	1	2	1	1	1	1,2	

Lampiran 14. Perhitungan Kerusakan Jaringan Hati Ikan Nila

a. Hemoragi

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	2,4	2,6	3,4	8,4	2,8	±0,5292
B (25 ppm)	2,4	2,8	2,4	7,6	2,53	±0,2309
C (40 ppm)	2,4	1,8	2,4	6,6	2,2	±0,3464
D (55 ppm)	1,8	1,4	1,2	4,4	1,47	±0,3055
				27		

• Perhitungan Sidik Ragam

- Faktor Koreksi (FK) = $\frac{G^2}{N}$

$$= \frac{27^2}{12}$$

$$= 60,75$$

- JK Total = $(A1^2 + A2^2 + \dots + D3^2) - FK$

$$= (2,4^2 + 2,6^2 + \dots + 1,2^2) - 60,75$$

$$= 64,84 - 60,75$$

$$= 4,09$$

- JK Perlakuan = $\frac{\sum(\sum x_i)^2}{r} - FK$

$$= \frac{TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2}{r} - FK$$

$$= \frac{8,4^2 + 7,6^2 + 6,6^2 + 4,4^2}{3} - 60,75 = \frac{191,24}{3} - 60,75$$

$$= 63,74 - 60,75$$

Lampiran 14. (Lanjutan)

$$= 2,99$$

- JK Acak = JK Total – JK Perlakuan

$$= 4,09 - 2,99$$

$$= 1,1$$

- Derajat Bebas (db) Total = $(n \times r) - 1$

$$= (4 \times 3) - 1$$

$$= 11$$

- Derajat Bebas (db) Perlakuan = $n - 1$

$$= 4 - 1$$

$$= 3$$

- Derajat Bebas (db) Acak = $n \times (r - 1)$

$$= 4 \times (3 - 1)$$

$$= 8$$

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = JKP/db Perlakuan

$$= 2,99/3$$

$$= 0,9966$$

- Kuadrat Tengah (KT) Acak = JKA/db Acak

$$= 1,1/8$$

$$= 0,1375$$

- F Hitung = KTP/KTA

$$= 0,9966/0,1375$$

$$= 7,248$$



Lampiran 14. (Lanjutan)

- **Analisa Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	DB	JK	Kt	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2,99	1,00	7,248*	4,07	7,59
Acak	8	1,1	0,14			
Total	11					

Keterangan: (*) Berbeda Nyata

Karena nilai F hitung lebih besar dari nilai F 5% dan lebih kecil dari nilai F 1% maka perhitungan dilanjutkan dengan perhitungan Uji BNT.

- **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

$$\begin{aligned}
 - \text{ SED} &= \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0,1375}{3}} \\
 &= 0,3027
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ BNT 5\%} &= T \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{ SED} \\
 &= 2,31 \times 0,3027 \\
 &= 0,70
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ BNT 1\%} &= T \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{ SED} \\
 &= 3,36 \times 0,3027 \\
 &= 1,02
 \end{aligned}$$

Lampiran 14. (Lanjutan)

• Tabel BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		2,80	2,53	2,20	1,47	
A	2,80	-	-	-	-	a
B	2,53	0,27 ^{ns}	-	-	-	a
C	2,20	0,60 ^{ns}	0,33 ^{ns}	-	-	a
D	1,47	1,33 ^{**}	1,07 ^{**}	0,73 [*]	-	b

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

(**) = Berbeda Sangat Nyata

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil terbaik adalah perlakuan D kemudian diikuti oleh perlakuan C, B dan A.

• Tabel Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	8,4	-3	1	-1
B	7,6	-1	-1	3
C	6,6	1	-1	-3
D	4,4	3	1	1
Q= Σ(ci*Ti)		-13	-1,4	-1
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= (Σci²)*r		60	12	60
JK=Q²/Kr		2,817	0,163	0,017

- JK Regresi Total = JK Linier + JK Kuadratik + JK Kubik

$$= 2,817 + 0,163 + 0,017 = 2,997$$



Lampiran 14. (Lanjutan)

• Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2,99	1,00	7,25*	4,07	7,59
Linier	1	2,82	2,82	20,48**		
Kuadratik	1	0,16	0,16	1,19 ^{ns}		
Kubik	1	0,017	0,02	0,12 ^{ns}		
Acak	8	1,10	0,14			
Total	11	4,09				

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

Karena Regresi Linier sangat berbeda nyata, maka dihitung R² masing-masing regresi tersebut:

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{2,82}{2,82 + 1,10} = 0,72$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,16}{0,16 + 0,91} = 0,13$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,017}{0,017 + 0,91} = 0,01$$



Lampiran 14. (Lanjutan)

Hasil perhitungan R^2 diatas menunjukkan bahwa nilai R^2 linier lebih besar dari nilai R^2 kuadratik dan kubik. Berdasarkan hasil tersebut maka kurva yang digunakan adalah kurva linier. Selanjutnya dicari persamaan regresi linier. Dosis yang digunakan tiap perlakuan dijadikan sebagai sumbu x sedangkan nilai rerata skoring dijadikan sebagai sumbu y, sehingga akan didapatkan garis linier pada grafik.

- **Tabel Sumbu x dan y**

Perlakuan	X	y	xy	x ²
A1	10	2,4	24	100
A2	10	2,6	26	100
A3	10	3,4	34	100
B1	25	2,4	60	625
B2	25	2,8	70	625
B3	25	2,4	60	625
C1	40	2,4	96	1600
C2	40	1,8	72	1600
C3	40	2,4	96	1600
D1	55	1,8	99	3025
D2	55	1,4	77	3025
D3	55	1,2	66	3025
Total	390	27	10530	152100

Lampiran 14. (Lanjutan)

b. Nekrosis

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	3	2,8	3	8,8	2,93333	±0,1155
B (25 ppm)	2,8	3	2,8	8,6	2,86667	±0,1155
C (40 ppm)	2,8	2,6	1,6	7	2,33333	±0,6429
D (55 ppm)	1,2	1,4	1,2	3,8	1,26667	±0,1155
				28,2		

• Perhitungan Sidik ragam

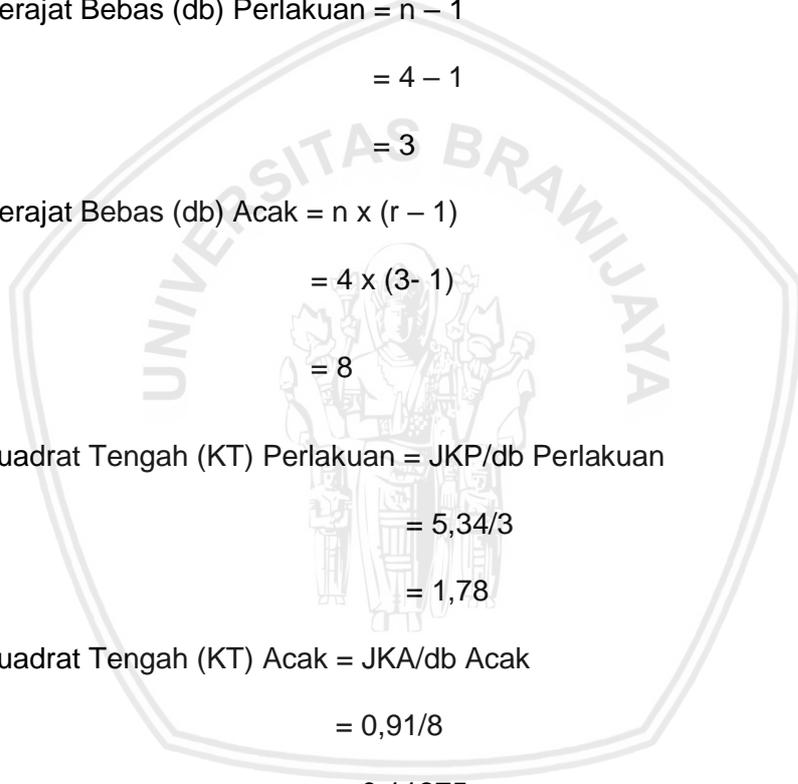
$$\begin{aligned}
 \text{- Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{G^2}{N} \\
 &= \frac{28,2^2}{12} \\
 &= 66,27
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{- JK Total} &= (A1^2 + A2^2 + \dots + D3^2) - FK \\
 &= (3^2 + 2,8^2 + \dots + 1,2^2) - 66,27 \\
 &= 72,52 - 66,27 \\
 &= 6,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{- JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum x_i)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2}{r} - FK \\
 &= \frac{8,8^2 + 8,6^2 + 7^2 + 3,8^2}{3} - 66,27 = \frac{214,84}{3} - 66,27 \\
 &= 71,61 - 66,27 \\
 &= 5,34
 \end{aligned}$$

Lampiran 14. (Lanjutan)

- JK Acak = JK Total – JK Perlakuan
= 6,25 – 5,34
= 0,91
- Derajat Bebas (db) Total = $(n \times r) - 1$
= $(4 \times 3) - 1$
= 11
- Derajat Bebas (db) Perlakuan = $n - 1$
= $4 - 1$
= 3
- Derajat Bebas (db) Acak = $n \times (r - 1)$
= $4 \times (3 - 1)$
= 8
- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = JKP/db Perlakuan
= $5,34/3$
= 1,78
- Kuadrat Tengah (KT) Acak = JKA/db Acak
= $0,91/8$
= 0,11375
- F Hitung = KTP/KTA
= $1,78/0,11375$
= 15,648



Lampiran 14. (Lanjutan)

- **Analisa Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	5,34	1,78	15,648**	4,07	7,59
Acak	8	0,91	0,11375			
Total	11	6,25				

Keterangan: (**) Berbeda Sangat Nyata

Karena nilai F hitung memiliki nilai yang lebih besar dari pada nilai F 5% dan F 1% maka perhitungan dilanjutkan dengan perhitungan Uji BNT.

- **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

$$\begin{aligned}
 - \text{ SED} &= \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0,11375}{3}} \\
 &= 0,2753
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ BNT 5\%} &= T \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{ SED} \\
 &= 2,31 \times 0,2735 \\
 &= 0,63
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ BNT 1\%} &= T \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{ SED} \\
 &= 3,36 \times 0,2735 \\
 &= 0,92
 \end{aligned}$$

Lampiran 14. (Lanjutan)

• Tabel BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		2,93	2,87	2,33	1,27	
A	2,93	-	-	-	-	a
B	2,87	0,07 ^{ns}	-	-	-	a
C	2,33	0,60 ^{ns}	0,53 ^{ns}	-	-	a
D	1,27	1,67 ^{**}	1,60 ^{**}	1,07 ^{**}	-	b

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

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil terbaik adalah perlakuan D dan diikuti oleh perlakuan C, perlakuan B dan Perlakuan A.

• Tabel Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	8,8	-3	1	-1
B	8,6	-1	-1	3
C	7	1	-1	-3
D	3,8	3	1	1
Q= Σ(ci*Ti)		-16,6	-3	-0,2
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= (Σci²)*r		60	12	60
JK=Q²/Kr		4,593	0,750	0,001

$$- \text{JK Regresi Total} = \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik}$$

$$= 4,593 + 0,750 + 0,001$$

$$= 5,34$$

Lampiran 14. (Lanjutan)

• Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	5,34	1,78	15,65**	4,07	7,59
Linier	1	4,59	4,59	40,38**		
Kuadratik	1	0,75	0,75	6,59*		
Kubik	1	0,001	0,00	0,01 ^{ns}		
Acak	8	0,91	0,11			
Total	11	6,25				

Keterangan: ns = Tidak Berbeda Nyata

(*) = Berbeda Nyata

(**) = Berbeda Sangat Nyata

Karena Regresi Linier sangat berbeda nyata, maka dihitung R² masing-masing regresi tersebut:

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{4,59}{4,59 + 0,91} = 0,83$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,75}{0,75 + 0,91} = 0,45$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,001}{0,001 + 0,91} = 0,00$$



Lampiran 14. (Lanjutan)

Hasil perhitungan R^2 diatas menunjukkan bahwa nilai R^2 linier lebih besar dari nilai R^2 kuadratik dan kubik. Berdasarkan hasil tersebut maka kurva yang digunakan adalah kurva linier. Selanjutnya dicari persamaan regresi linier. Dosis yang digunakan tiap perlakuan dijadikan sebagai sumbu x sedangkan nilai rerata skoring dijadikan sebagai sumbu y, sehingga akan didapatkan garis linier pada grafik.

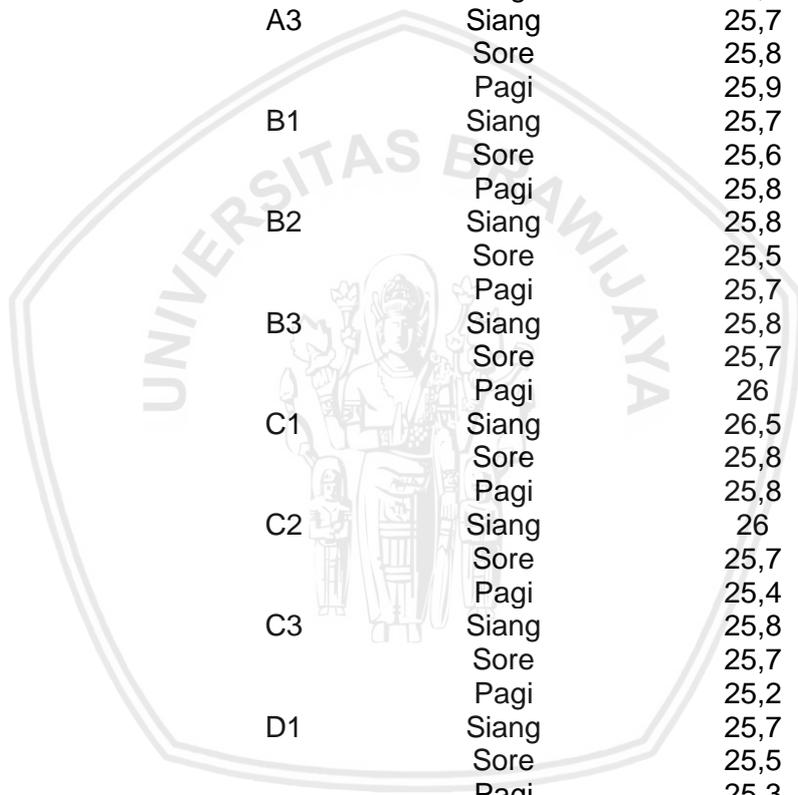
- **Tabel Sumbu x dan y**

Perlakuan	x	Y	xy	x ²
A1	10	3	30	100
A2	10	2,8	28	100
A3	10	3	30	100
B1	25	2,8	70	625
B2	25	3	75	625
B3	25	2,8	70	625
C1	40	2,8	112	1600
C2	40	2,6	104	1600
C3	40	1,6	64	1600
D1	55	1,2	66	3025
D2	55	1,4	77	3025
D3	55	1,2	66	3025
Total	390	28,2	10998	152100

Lampiran 15. Parameter Kualitas Air Selama Pemeliharaan

a. Rata-rata Suhu

Tanggal	Perlakuan	Waktu	Suhu
8 - 19 Februari	A1	Pagi	25,9
		Siang	25,8
		Sore	25,6
	A2	Pagi	25,7
		Siang	26,8
		Sore	25,5
	A3	Pagi	25,6
		Siang	25,7
		Sore	25,8
	B1	Pagi	25,9
		Siang	25,7
		Sore	25,6
	B2	Pagi	25,8
		Siang	25,8
		Sore	25,5
	B3	Pagi	25,7
		Siang	25,8
		Sore	25,7
	C1	Pagi	26
		Siang	26,5
		Sore	25,8
	C2	Pagi	25,8
		Siang	26
		Sore	25,7
C3	Pagi	25,4	
	Siang	25,8	
	Sore	25,7	
D1	Pagi	25,2	
	Siang	25,7	
	Sore	25,5	
D2	Pagi	25,3	
	Siang	25,8	
	Sore	25,4	
D3	Pagi	25,8	
	Siang	26,1	
	Sore	25,7	



Lampiran 15. (Lanjutan)

b. Rata-rata DO

Tanggal	Perlakuan	Waktu	DO
8 - 19 Februari	A1	Pagi	6,2
		Siang	5,8
		Sore	7
	A2	Pagi	5,5
		Siang	5,9
		Sore	6,8
	A3	Pagi	7,2
		Siang	5,6
		Sore	6,4
	B1	Pagi	6,9
		Siang	7,4
		Sore	8,1
	B2	Pagi	6,5
		Siang	8,4
		Sore	7,5
	B3	Pagi	5,8
		Siang	6,7
		Sore	7
	C1	Pagi	6
		Siang	5,5
		Sore	6,7
	C2	Pagi	8,3
		Siang	8,8
		Sore	7,2
	C3	Pagi	7,3
		Siang	7,8
		Sore	6,5
D1	Pagi	5,9	
	Siang	6,7	
	Sore	7,2	
D2	Pagi	6	
	Siang	6,8	
	Sore	7,8	
D3	Pagi	5,5	
	Siang	6,8	
	Sore	7,5	

Lampiran 15. (Lanjutan)

c. Rata-rata pH

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

Lampiran 16. Hasil Uji Normalitas Data 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 17. Hasil Perhitungan Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	60	70	60	190	63,33	±5,77
B (25 ppm)	70	80	60	210	70,00	± 10
C (40 ppm)	80	90	80	250	83,33	±5,77
D (55 ppm)	90	90	80	260	86,67	±5,77
				910		

• **Perhitungan Sidik Ragam**

- Faktor Koreksi (FK) = $\frac{G^2}{N}$

$$= \frac{910^2}{12}$$

$$= 69008,33$$

- JK Total = $(A1^2 + A2^2 + \dots + D3^2) - FK$

$$= (60^2 + 70^2 + \dots + 80^2) - 69008,33$$

$$= 70500 - 69008,33$$

$$= 1491,67$$

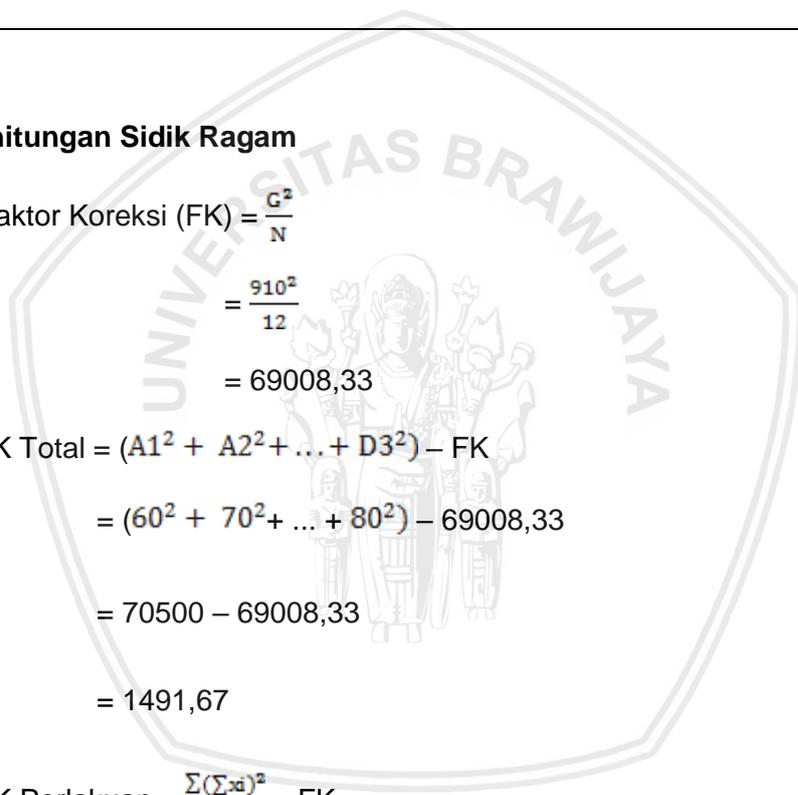
- JK Perlakuan = $\frac{\sum(\sum x_i)^2}{r} - FK$

$$= \frac{TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2}{r} - FK$$

$$= \frac{190^2 + 210^2 + 250^2 + 260^2}{3} - 69008,33 = \frac{210300}{3} - 69008,33$$

$$= 70100 - 69008,33$$

$$= 1091,67$$



Lampiran 17. (Lanjutan)

- JK Acak = JK Total – JK Perlakuan
= 1491,67 – 1091,67
= 400
- Derajat Bebas (db) Total = $(n \times r) - 1$
= $(4 \times 3) - 1$
= 11
- Derajat Bebas (db) Perlakuan = $n - 1$
= $4 - 1$
= 3
- Derajat Bebas (db) Acak = $n \times (r - 1)$
= $4 \times (3 - 1)$
= 8
- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = JKP/db Perlakuan
= $1091,67/3$
= 363,89
- Kuadrat Tengah (KT) Acak = JKA/db Acak
= $400/8$
= 50
- F Hitung = KTP/KTA
= $363,89/50$
= 7,2778



Lampiran 17. (Lanjutan)

- Analisa Sidik Ragam

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

Keterangan: (*) Berbeda Nyata

Karena nilai F hitung memiliki nilai yang lebih besar dari pada nilai F 5% dan lebih kecil dari F 1% maka perhitungan dilanjutkan dengan [erhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

- Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\begin{aligned}
 - \text{ SED} &= \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 50}{3}} \\
 &= 5,77
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ BNT 5\%} &= T \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{ SED} \\
 &= 2,31 \times 5,77 \\
 &= 13,33
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ BNT 1\%} &= T \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{ SED} \\
 &= 3,36 \times 5,77 \\
 &= 19,39
 \end{aligned}$$

Lampiran 17. (Lanjutan)

• Tabel BNT

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*	-	-	bc
D	86,67	23,33**	16,67*	3,33 ^{ns}	-	c

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

(**) = Berbeda Sangat Nyata

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil terbaik adalah perlakuan C diikuti oleh perlakuan A, B, dan D.

• Tabel Polynomial 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= Σ(ci*Ti)		250	-10	-50
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= (Σci²)*r		60	12	60
JK=Q²/Kr		1041,667	8,333	41,667

$$- \text{JK Regresi Total} = \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik}$$

$$= 1041,667 + 8,333 + 41,667$$

$$= 1091,67$$

Lampiran 17. (Lanjutan)

- Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	Jk	Kt	Fhit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1091,67	363,89	7,28*	4,07	7,59
Linier	1	1041,67	1041,67	20,83**		
Kuadratik	1	8,33	8,33	0,17 ^{ns}		
Kubik	1	41,667	41,67	0,83 ^{ns}		
Acak	8	400,00	50,00			
Total	11	1491,67				

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

Karena Regresi Linier sangat berbeda nyata, maka dihitung R² masing-masing regresi tersebut:

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{1041,67}{1041,67 + 400} = 0,72$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{8,33}{8,33 + 400} = 0,02$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{41,667}{41,667 + 400} = 0,09$$



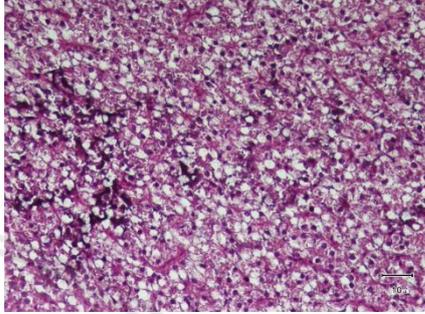
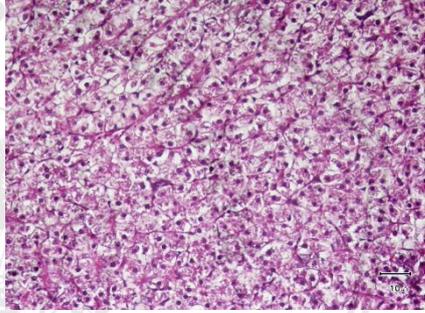
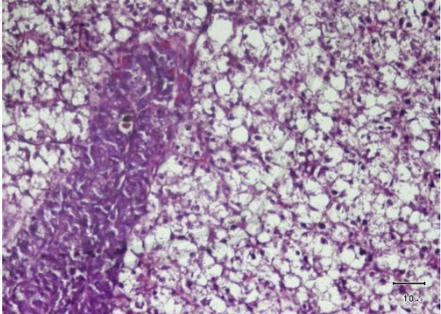
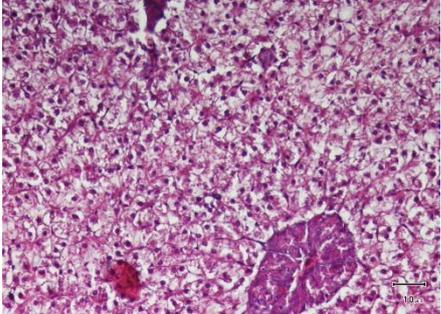
Lampiran 17. (Lanjutan)

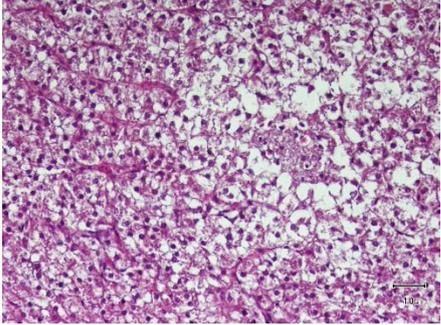
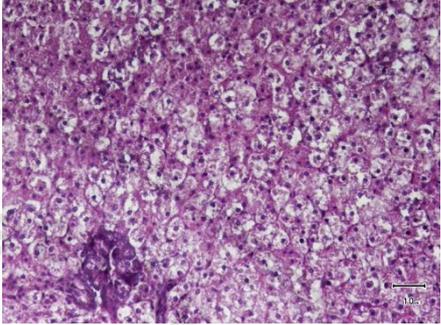
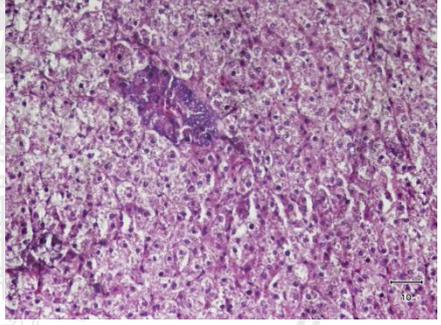
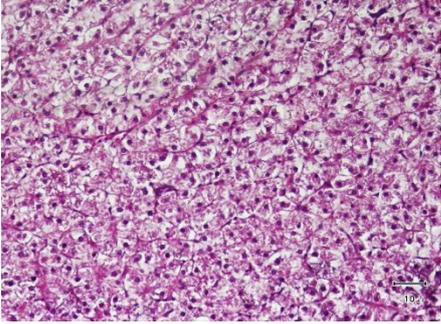
Hasil perhitungan R^2 diatas menunjukkan bahwa nilai R^2 linier lebih besar dari nilai R^2 kuadratik dan kubik. Berdasarkan hasil tersebut maka kurva yang digunakan adalah kurva linier. Selanjutnya dicari persamaan linier. Dosis yang digunakan tiap perlakuan dijadikan sebagai sumbu x sedangkan nilai kelulushidupan dijadikan sebagai sumbu y, sehingga akan didapatkan garis linier pada grafik.

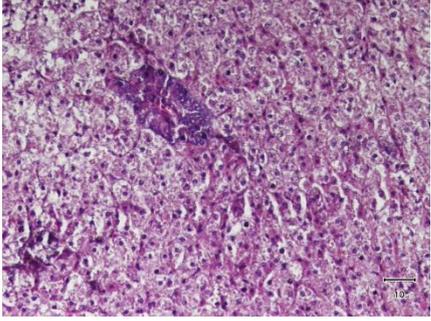
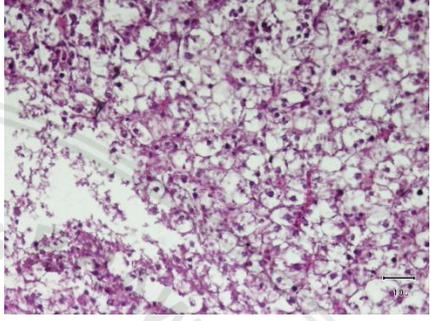
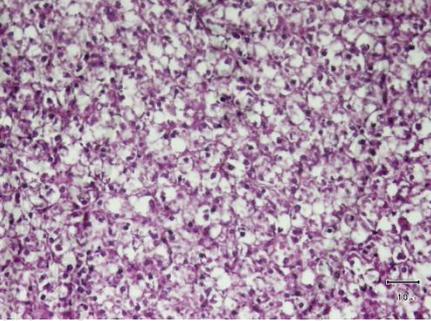
- **Tabel Sumbu x dan y**

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

Lampiran 18. Hasil Gambar Histopatologi Hati Ikan Nila (*O. niloticus*) Seluruh Perlakuan

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

B (25 ppm)	2	
	3	
	1	
C (40 ppm)	2	

	3	
	1	
D (55 ppm)	2	
	3	