

**PENGARUH PEMBERIAN BUBUK EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo* sp.)
PADA PAKAN TERHADAP HISTOPATOLOGI USUS IKAN NILA (*Oreochromis
niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

SKRIPSI

Oleh :

**INDANA LA ZULFA
NIM. 155080500111064**



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

**PENGARUH PEMBERIAN BUBUK EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo sp.*)
PADA PAKAN TERHADAP HISTOPATOLOGI USUS IKAN NILA (*Oreochromis
niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

SKRIPSI

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

Oleh :

**INDANA LA ZULFA
NIM.155080500111064**



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

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN BUBUK EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo sp.*)
PADA PAKAN TERHADAP HISTOPATOLOGI USUS IKAN NILA (*Oreochromis
niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Oleh :

INDANA LA ZULFA
NIM.155080500111064

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 26 Juni 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

| | |
|--|--|
|  <p>Mengetahui Ketua Jurusan MSP</p> <p>(Dr. Ir. M. Firdaus, MP.) NIP. 19680919 200501 1 001 Tanggal : 01 AUG 2019</p> | <p>Menyetujui Dosen Pembimbing</p> <p></p> <p>(Dr. Ir. Mohammad Fajar, M. Sc) NIP. 19621014 198701 1 001 Tanggal : 01 AUG 2019</p> |
|--|--|

LEMBAR IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **PENGARUH PEMBERIAN BUBUK EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo sp.*) PADA PAKAN TERHADAP HISTOPATOLOGI USUS IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

Nama Mahasiswa : INDANA LA ZULFA

NIM : 155080500111064

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING :

Pembimbing 1 : Dr. I.r M. Fadjar, M. Sc

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Agoes Soeprijanto, MS

Dosen Penguji 2 : Rani Yuwanita, S.PI, MP

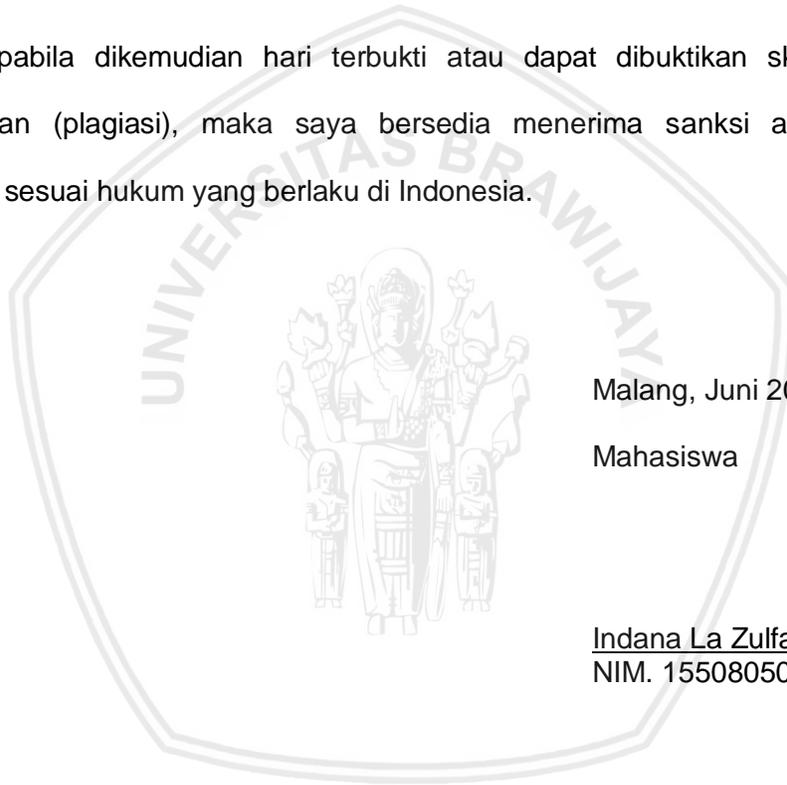
Tanggal Ujian : Rabu, 26 Juni 2019



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri di bawah payung penelitian Dr. Ir. Mohamad Fadjar, M.Sc yang dibiayai oleh Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi, Sesuai dengan Kontrak Penelitian Nomor : 054/SP2H/LT/DRPM/2018, tanggal 12 Maret 2018.

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



Malang, Juni 2019

Mahasiswa

Indana La Zulfa
NIM. 155080500111064

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyadari bahwa penulisan laporan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan moril dan materil dari semua pihak. Melalui kesempatan ini, dengan kerendahan hati perkenankan penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT karena atas berkah dan limpahan rahmat-Nya laporan ini dapat terselesaikan dengan tepat waktu.
2. Orang Tua dan Adik yang senantiasa selalu memberikan doa, motivasi dan dukungannya selama ini.
3. Bapak Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc selaku dosen pembimbing dan Bapak Dr. Ir. Agoes Soeprijanto MS dan Ibu Rani Yuanita, S, Pi. MP selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan dan nasehat bagi penulis sehingga dapat menyelesaikan laporan skripsi ini dengan baik.
4. Ibu Titin Yuniastutik, S.TP, Ibu Rozika Hawa Ekayanti, S.P dan Ibu Henny Purwitasari, S selaku laboran Laboratorium yang digunakan selama penelitian yang telah banyak membantu selama penelitian.
5. Jefri Anjaini, S.Pi yang telah banyak membantu selama penelitian.
6. Tim penelitian yang telah bekerja sama dengan baik dalam melakukan penelitian dan penyusunan laporan.
7. Anis, Indah, Dewindra, Eka, Maul dan Widi yang senantiasa mendukung , memberikan motivasi dalam segala situasi hingga terselesaikannya skripsi ini.
8. Teman-teman Budidaya Perairan 2015 yang selalu memberi semangat dan segala hal yang telah terlalui mulai awal menuntut ilmu di FPIK UB hingga penyusunan laporan ini selesai.

9. Semua pihak yang telah memberi dorongan dan membantu dalam menyelesaikan laporan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Malang, Juni 2019

Penulis



RINGKASAN

Indana La Zulfa. Pengaruh Pemberian Bubuk Tinta Cumi-Cumi (*Loligo* sp) pada Pakan terhadap Histopatologi Usus Ikan Nila (*O. niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Dibawah bimbingan **Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc.**

Ikan nila merupakan salah satu ikan air tawar yang banyak dibudidayakan di Indonesia karena ikan nila memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Permintaan ikan nila dari tahun ke tahun mengalami peningkatan. Tingginya peningkatan akan ikan nila maka para pembudidaya dituntut untuk meningkatkan produksi. Hambatan yang sering ditemui pada produksi ikan nila yaitu serangan penyakit. Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan nila yaitu MAS. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Pengendalian penyakit menggunakan antibiotik kini sudah dibatasi karena menyebabkan bakteri menjadi resisten dan menimbulkan residu pada ikan. Oleh karena itu perlu digunakan bahan alami yang berfungsi sebagai antibakteri. Yaitu bubuk tinta cumi-cumi (*Loligo* sp).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian bubuk tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) terhadap histopatologi usus ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perairan Devisi Keamanan Hasil Perikanan dan Laboratorium Hidrobiologi Divisi Sumberdaya Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, dan Laboratorium Patologidan Anatomi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang pada bulan Januari – Maret 2019. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan pemberian ekstrak tinta cumi-cumi dengan dosis 52,5 ppm (A,) 62,5 ppm (B), 72,5 ppm (C), kontrol positif dan Kontrol negatif. Parameter utama dalam penelitian adalah mengetahui histopatologi usus ikan nila, sedangkan parameter penunjang dalam penelitian ini adalah gejala klinis, kualitas air (pH, suhu, dan DO) dan kelulushidupan ikan nila.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi berpengaruh terhadap histopatologi usus ikan nila. Adapun rerata kerusakan nekrosis ikan nila untuk perlakuan A (52,5 ppm) yaitu 2,4 %, B (62,5 ppm) 2,1 % dan C (72,5 ppm) 2,2%. Hal tersebut dibuktikan dengan bentuk grafik kudratik dengan persamaan $y = 2,6054 - 0,025x + 0,0003x^2$ dengan koefisien nilai determinasi R^2 sebesar 0,74. Pemberian bubuk tinta cumi-cumi berpengaruh terhadap kerusakan kongesti usus ikan nila dengan nilai rata-rata berturut turut 2,33%; 1,93% dan 2,07%. Hal tersebut dibuktikan dengan bentuk grafik kuadratik dengan persamaan $y = 2,4582 - 0,0215x + 0,0002x^2$ dengan koefisien nilai determinasi R^2 sebesar 0,77

Hasil pengamatan gejala klinis ikan nila yang terinfeksi memiliki tingkah laku berenang yang melemah dan ciri-ciri morfologi yang ditimbulkan berupa tubuh terdapat bercak merah dan ekor yang geripis. Hasil pengamatan parameter kualitas air yang terdiri dari suhu, oksigen terlarut dan derajat keasaman menunjukkan hasil yang normal. Nilai rata-rata kelulushidupan ikan nila untuk perlakuan A (52,5 ppm) 79,43%, perlakuan B (62,5 ppm) yaitu 89,49%, perlakuan C yaitu 81,95%. Hal tersebut dibuktikan dengan bentuk grafik kuadratik yaitu nilai persamaan $y = 58,285 + 1,5357x - 0,0173x^2$ dengan nilai determinasi R^2 sebesar 0,80. Sehingga perbedaan hasil histopatologi usus ikan nila selama penelitian berlangsung

disebabkan oleh perlakuan dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dan antibiotik oxytetracycline yang diberikan.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat-Nya sehingga laporan skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (*Loligo* sp.) Pada Pakan Terhadap Histopatologi Usus Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*” dapat tersusun hingga selesai. Tidak lupa penulis juga mengucapkan banyak terima kasih atas bantuan dari pihak yang telah berkontribusi dengan memberi materi atau pemikirannya.

Harapan penulis semoga laporan skripsi ini dapat menambah pengetahuan dan pengalaman bagi para pembaca, untuk kedepannya dapat memperbaiki bentuk maupun menambah isi laporan agar lebih baik lagi. Karena keterbatasan pengetahuan dan pengalaman penulis, penulis yakin masih banyak kekurangan dalam laporan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari pembaca demi kesempurnaan laporan skripsi ini.

Malang, Juni 2019

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|-------------|
| LEMBAR PENGESAHAN | iii |
| LEMBAR IDENTITAS TIM PENGUJI | iv |
| PERNYATAAN ORISINALITAS | v |
| UCAPAN TERIMAKASIH..... | vi |
| RINGKASAN | viii |
| KATA PENGANTAR | ix |
| DAFTAR ISI | x |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR TABEL | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| 1.PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 4 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.4 Hipotesis | 5 |
| 1.5 Kegunaan Penelitian | 5 |
| 1.6 Tempat dan Waktu..... | 5 |
| 2. TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| 2.1 Biologi Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) | 6 |
| 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi..... | 6 |
| 2.1.2 Habitat dan Penyebaran..... | 7 |
| 2.1.3 Kebiasaan Makan | 8 |
| 2.1.4 Ikan Nila Yang Terinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 8 |
| 2.2 Biologi Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 10 |
| 2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi | 10 |
| 2.2.2 Habitat Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 11 |
| 2.2.3 Pertumbuhan dan Perkembangan Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 11 |
| 2.2.4. Patogenitas Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 12 |
| 2.3 Bubuk Ekstrak Tinta Cumi (<i>Loligo</i> sp.) | 13 |
| 2.4 Kandungan Tinta Cumi (<i>Loligo</i> sp)..... | 14 |
| 2.4 Antimikroba | 14 |
| 2.5 Histopatologi | 15 |
| 2.5.1 Pengertian Histopatologi | 14 |
| 2.5.2 Usus | 15 |
| 2.5.3 Kerusakan Jaringan Usus | 15 |
| 3. METODE PENELITIAN | 18 |

| | |
|--|-----------|
| 3.1 Materi Penelitian | 18 |
| 3.1.1 Alat Penelitian | 18 |
| 3.1.2 Bahan Penelitian | 19 |
| 3.2 Metode Penelitian | 20 |
| 3.3 Pengambilan Data | 21 |
| 3.4 Rancangan Penelitian | 22 |
| 3.5 Prosedur Penelitian | 24 |
| 3.5.1 Persiapan Penelitian | 24 |
| 3.5.2 Penyediaan Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 25 |
| 3.5.3 Penginfeksian Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 28 |
| 3.5.4 Pemberian Bubuk | 28 |
| 3.5.5 Pengambilan Sampel Usus Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) | 29 |
| 3.5.6 Penentuan Dosis | 30 |
| 3.6 Parameter Uji | 31 |
| 3.6.1 Parameter Utama | 31 |
| 3.6.2 Parameter Penunjang | 32 |
| 3.7 Analisa Data | 34 |
| 4. HASIL DAN PEMBAHASAN | 35 |
| 4.1 Gambaran Histopatologi Usus | 35 |
| 4.1.1 Gambaran histopatologi Usus Ikan Nila Normal dan Terinfeksi | 35 |
| 4.1.2 Gambaran Histopatologi Usus Ikan Nila dengan Perlakuan | 36 |
| 4.2 Parameter Utama | 44 |
| 4.3. Parameter Pendukung | 44 |
| 4.3.1 Gejala Klinis | 44 |
| 4.3.2 Kualitas Air | 45 |
| 5. KESIMPULAN DAN SARAN | 51 |
| 5.1 Kesimpulan | 51 |
| 5.2 Saran | 51 |
| DAFTAR PUSTAKA | 52 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 1. Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)..... | 7 |
| 2. Gejala Klinis Ikan Nila Pasca Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 9 |
| 3. Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 10 |
| 4. Denah Penelitian..... | 24 |
| 5. Alur Skoring | 32 |
| 6. Jaringan Usus Ikan Nila Normal dan Jaringan Usus yang Terinfeksi | 35 |
| 7. Histopatologi Usus Ikan Nila dengan Perlakuan | 36 |
| 8. Grafik Polinomial Orthogonal Kerusakan Nekrosis | 39 |
| 9. Grafik Polinomial Orthogonal Kerusakan Kongesti..... | 43 |
| 10. Gejala Klinis Ikan Nila yang Terinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> | 45 |
| 11. Grafik Polinomial Orthogonal Kelulushidupan Ikan Nila..... | 49 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|---------|
| 1. Alat Penelitian..... | 19 |
| 2. Bahan Penelitian | 20 |
| 3. Rerata Skoring Kerusakan Nekrosis | 37 |
| 4. Data Hasil Sidik Ragam Skoring Nekrosis | 37 |
| 5. Uji BNT Skoring Nekrosis Jaringan Usus | 37 |
| 6. Rerata Kerusakan Kongesti Usus Ikan Nila | 41 |
| 7. Data Sidik Ragam Skoring Kongesti | 42 |
| 8. Uji BNT Kongesti Usus Ikan Nila | 42 |
| 9. Rerata Kelulushidupan Ikan Nila | 47 |
| 10. Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Nila | 47 |
| 11. Hasil Uji BNT Kelulushidupan ikan Nila | 48 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|---|---------|
| 1. Alat dan Bahan Penelitian..... | 59 |
| 2. Perhitungan Pembuatan Media TSB (<i>Tryptic Soy Broth</i>) dan Pengenceran Bakteri | 64 |
| 3. Analisa Data Histologi Kerusakan Usus Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)..... | 65 |
| 4. Data Kualitas Air | 81 |
| 5. Analisa Data Kelulushidupan Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)..... | 85 |



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan nila merupakan salah satu ikan air tawar yang memiliki pertumbuhan cepat, mudah dibudidayakan, serta memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Ikan nila dijadikan sebagai sumber protein untuk memenuhi kebutuhan gizi. Upaya untuk memenuhi permintaan pasar ikan nila di Indonesia dilakukan dengan peningkatan dan pengembangan usaha budidaya. Produksi ikan nila pada tahun 2010 sebesar 491.800 ton dan pada tahun 2012 meningkat sebesar 850.000 ton. Kenaikan rata-rata produksi ikan nila selama tahun 2010-2014 sebesar 26,36%. Target produksi ikan nila pada tahun 2013 ditingkatkan menjadi 1,1 juta ton (KKP, 2013).

Upaya untuk mencapai target produksi sesuai dengan yang diharapkan berbagai permasalahan menghambat upaya peningkatan produksi tersebut, antara lain kegagalan produksi akibat serangan wabah penyakit ikan yang bersifat pathogen baik dari golongan parasit, jamur, bakteri, dan virus. Permasalahan lainnya yaitu degradasi mutu lingkungan budidaya yang semakin buruk, yang disebabkan oleh kegiatan budidaya itu sendiri maupun dari lingkungan budidaya. Timbulnya serangan wabah penyakit tersebut pada dasarnya sebagai akibat terjadinya gangguan keseimbangan dan interaksi antara ikan, lingkungan yang tidak menguntungkan ikan dan berkembangnya patogen penyebab penyakit (Kordi, 2004).

Penyakit infeksi pada ikan dapat disebabkan oleh bakteri, parasit, jamur dan virus. Salah satu bakteri pathogen pada ikan adalah *Aeromonas hydrophila*, penyakit yang ditimbulkannya dikenal dengan MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) (Aisiah, 2012). Ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* memiliki luka pada tubuhnya, bola mata menonjol (*Exophthalmia*), terjadi pendarahan pada beberapa bagian tubuh dan

perut membuncit. Ikan yang terinfeksi dengan luka terbuka dapat menyebarkan penyakit MAS kepada ikan lain. Serangan penyakit MAS dapat menyebabkan kematian ikan yang tinggi dan mengakibatkan turunnya pendapatan para pembudidaya ikan (Rosmawaty *et al.*, 2016). Lukistyowati dan Kurniasih (2012) menyatakan bahwa bakteri *A. hydrophila* sangat mempengaruhi usaha budidaya ikan air tawar dan seringkali menimbulkan wabah penyakit dengan tingkat kematian yang tinggi (80-100%) dalam kurun waktu yang singkat (1-2 minggu). Yin *et al.*, (2010) juga menambahkan bahwa infeksi bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan kematian hingga 80%. Dengan adanya tingkat kematian yang tinggi maka perlu dilakukan pencegahan maupun pengobatan yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*.

Pencegahan dan pemberantasan *A. hydrophila* selama ini masih banyak menggunakan antibiotik oleh pembudidaya. Dimana pemakaian antibiotik untuk jangka panjang dan tidak terkontrol dapat menimbulkan dampak negatif (Saragih *et al.*, 2016). Dampak negatif yang di timbulkan yaitu menjadikan bakteri *A. hydrophila* dan bakteri-bakteri di lingkungan menjadi resisten terhadap antibiotik, serta musnahnya bakteri menguntungkan yang sensitif. Selain itu, antibiotik dapat menimbulkan residu pada ikan dan akan membahayakan kesehatan konsumen apabila dikonsumsi. (Wahyuningrum, 2010). Untuk menghindari serangan bakteri tersebut, salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah penggunaan anti bakterial lain yang bersifat alami dan efektif untuk membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri, ramah lingkungan dan mudah terurai di perairan (Mulyani *et al.*, 2013).

Terdapat salah satu pengobatan alternatif yang digunakan untuk penyakit ikan adalah tinta dari cumi cumi (*Loligo sp.*) yang ada dilaut. Selama ini banyak

masyarakat yang menganggap tinta cumi-cumi tidak bermanfaat sehingga jika mengolah cumi-cumi, cangkang dan kantong tintanya dibuang. Padahal tinta cumi memiliki banyak manfaat dan khasiat salah satunya untuk kesehatan (Sasaki *et al.*, 1997). Nair *et al.* (2011) menyatakan bahwa tinta cumi-cumi memiliki kemampuan antibakteri. Menurut Kurniawan *et al.* (2012), tinta cumi-cumi (*Loligo sp*) mengandung protein dan asam amino. Kandungan protein protein tinta cumi sebesar 10, 88% yang terdiri dari asam amino esensial dan asam amino non esensial. Menurut Girija *et al.* (014), ekstrak tinta cumi memiliki aktivitas antimikroba pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antimikroba disebabkan karena adanya kandungan melaninnya.

Menurut Fadjar *et al.* (2015), salah satu bahan alami yang memiliki kemampuan antibakteri yaitu tinta cumi-cumi (*Loligo sp*) yang mampu merusak komunikasi bakteri dengan inangnya. Pada penelitian sebelumnya terbukti bahwa ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp*) berperan sebagai antibakteri pada gram positif dan gram negatif Menurut Wardhani *et al.* (2017), histopatologi merupakan penelusuran penyakit secara mikroskopik dimana dalam pengamatan histopatologi informasi yang diperoleh dalam bentuk gambaran perubahan organ atau jaringan. Informasi yang diperoleh juga dapat digunakan sebagai data untuk mengetahui ada atau tidak infeksi penyakit serta untuk meramalkan proses kejadian penyakit dan tingkat epidemik suatu penyakit .

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji histopatologi organ insang ikan nila (*O. niloticus*) menggunakan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp*) dengan metode perendaman sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) terhadap histopatologi usus ikan nila menggunakan metode pencampuran dengan pakan.

1.2 Rumusan Masalah

Penggunaan obat-obatan dan antibiotik terhadap ikan dapat menyebabkan bakteri di lingkungan menjadi resisten terhadap bahan kimia yang digunakan. Maka diperlukan suatu alternatif pencegahan dan pengobatan yaitu dengan penggunaan antibakteri yang bersifat alami yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Selain itu diharapkan dengan penggunaan bubuk tinta cumi-cumi dapat membunuh bakteri. Salah satu bahan alami yang digunakan yaitu bubuk ekstrak tinta cumi-cumi. Bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligi sp.*) mengandung senyawa antibakteri berupa protein, melanin dan asam oleat. Tinta cumi memiliki kemampuan sebagai antimikrobal karena kandungan melaninnya (Derby, 2014). Menurut Fadjar *et al.* (2016) berdasarkan hasil uji GC-MS diketahui bahwa tinta cumi-cumi mengandung asam oleat. Asam oleat yang ada di dalam tinta cumi-cumi dapat membunuh bakteri secara langsung. Asam oleat dalam tinta cumi dapat menempel pada membran bakteri yang kemudian merusak struktur dinding sel bakteri. Kemudian bakteri akan mati. Bakteri memiliki bahan aktif yang dapat merusak jaringan usus. Usus pada ikan merupakan salah satu organ pencernaan yang berfungsi sebagai penyerap sari-sari makanan. Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah yang diperoleh yaitu bagaimana pengaruh pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) pada pakan dapat mempengaruhi histopatologi usus ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh pemberian bubuk ekstrak tinta Cumi-cumi (*Loligo sp.*) pada pakan terhadap histopatologi usus ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang digunakan pada penelitian ini yaitu:

H_0 : Pemberian bubuk ekstrak tinta Cumi-Cumi (*Loligo* sp.) pada pakan tidak berpengaruh terhadap histopatologi usus ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

H_1 : Pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) pada pakan berpengaruh terhadap histopatologi usus ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.5 Kegunaan

Kegunaan penelitian ini yaitu untuk memberikan informasi kepada para pembudidaya untuk menggunakan bahan alternatif berupa bubuk ekstrak tinta cumi guna menanggulangi dan mengobati ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* serta memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) pada pakan terhadap histopatologi usus ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perairan Devisi Keamanan Hasil Perikanan, Laboratorium Budidaya Ikan Devisi Penyakit dan Kesehatan Ikan, Laboratorium Hidrobiologi Divisi Sumberdaya Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, serta Laboratorium Patologi dan Anatomi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang pada bulan Januari – Maret 2019.

2. TINJAUAN PUSTAKA

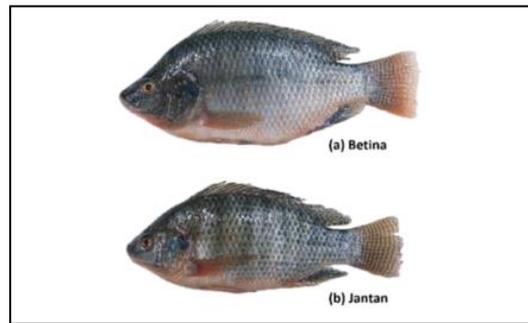
2.1 Biologi Ikan Nila (*O. niloticus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Rukmana (1997), kedudukan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dalam sistematika (taksonomi) diklasifikasikan sebagai berikut:

Filum : Chordata
Subfilum : Vertebrata
Kelas : Osteichthyes
Subkelas : Acanthopterigii
Ordo : Percomorphi
Subordo : Percoidae
Famili : Cichlidae
Genus : *Oreochromis*
Spesies : *Oreochromis niloticus*

Ikan nila memiliki bentuk tubuh yang panjang dan ramping dengan sisik berukuran besar. Matanya besar, menonjol, dan bagian tepinya berwarna putih. Gurat sisi (*linea lateralis*) terputus di bagian tengah badan kemudian berlanjut, tetapi letaknya lebih ke bawah daripada garis yang memanjang di atas sirip dada. Jumlah sisik pada gurat sisi jumlahnya 34 buah. Sirip punggung, sirip perut, dan sirip dubur mempunyai jari-jari lemah tetapi keras dan tajam seperti duri. Sirip punggung dan dadanya berwarna hitam. Begitu juga dengan bagian pinggir sirip punggung berwarna anu-abu atau hitam (Amri dan Khairuman, 2003). Ikan Nila (*O. niloticus*) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) (Andriani, 2018)

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Ikan nila (*O. niloticus*) terkenal sebagai ikan yang tahan terhadap perubahan lingkungan hidup. Ikan nila dapat hidup di lingkungan air tawar, air payau, dan air asin (Suyanto, 2005). Pada mulanya, ikan nila berasal dari perairan tawar di Afrika. Perkembangan selanjutnya, ikan nila meluas dan dibudidayakan di berbagai negara, antara lain Taiwan, Thailand, Vietnam, Bangladesh, dan Indonesia. Di kawasan Asia, daerah penyebaran ikan nila pada mulanya terpusat di beberapa negara, seperti Philipina dan Cina (Rukmana, 1997).

Ikan nila merupakan ikan yang terkenal dengan kemampuannya untuk bertahan hidup terhadap perubahan lingkungan. Ikan nila dapat hidup di air tawar, air payau, dan air laut. Kadar garam air yang disukai antara 0-3 per mil. Ikan nila air tawar dapat dipindahkan ke air asin dengan proses adaptasi yang bertahap. Kadar garam air dinaikkan sedikit demi sedikit. Pemindahan ikan nila secara mendadak ke dalam air yang kadar garamnya sangat berbeda dapat mengakibatkan stress dan kematian ikan. Ikan nila dapat hidup di perairan yang dalam dan luas maupun kolam yang sempit dan dangkal. Nila juga dapat hidup di sungai, waduk, danau (dijaring apung), rawa, sawah, kolam air deras, tambak air payau, atau di dalam jarring apung di laut. Ikan nila cocok dipelihara didataran rendah sampai agak tinggi (500 m dpl) (Suyanto, 2010).

2.1.3 Kebiasaan Makan

Ikan nila tergolong ikan omnivora atau pemakan segala sehingga dapat memakan makanan berupa tumbuhan ataupun hewan. Oleh karena itu, ikan nila ini dapat dengan mudah untuk dibudidayakan. Ketika masih benih, ikan ini mengkonsumsi alga atau lumut yang menempel di dinding atau benda tempat habitat hidupnya. Selain itu ikan ini juga memakan tanaman air yang tumbuh di kolam budidaya. Ikan ini juga sangat suka memakan *zooplankton* seperti *Moina* sp, *Rotifer* sp, dan *Daphnia* sp. Ketika mencapai ukuran dewasa, ikan ini bias diberi pakan tambahan yaitu berupa pelet (Amri dan Khairuman, 2003)

Pakan ikan nila dapat berupa fitoplankton, zooplankton, serta binatang yang hidup didasar, seperti cacing, siput, jentik-jentik nyamuk dan chironomus. Ikan nila juga memerlukan pakan tambahan berupa pellet yang mengandung protein 30-40% dengan kandungan lemak tidak lebih dari 3%. Pakan merupakan salah satu faktor penting produksi dalam suatu kegiatan budidaya ikan, terutama pada sistem intensif. Secara fisiologis, pakan akan berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan ikan, juga sebagai sumber energi, gerak dan reproduksi (Isnawati *et al*, 2015).

2.1.4 Ikan Nila yang Terinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* memiliki gejala klinis yaitu warna tubuh menjadi gelap, kulit kesat dan timbul pendarahan. Ikan bernapas megap-megap di permukaan. Gejala klinis yang timbul pada ikan yang terserang infeksi *A. hydrophila* adalah pergerakan tingkah laku ikan tidak normal yang ditandai dengan gerakan ikan menjadi lamban, ikan cenderung diam di dasar akuarium, luka pada daerah yang terinfeksi, pendarahan pada bagian pangkal sirip ekor dan sirip punggung, dan pada perut bagian bawah terlihat buncit dan terjadi pembengkakan.

warna tubuh menjadi lebih gelap. Ikan sebelum mati naik ke permukaan air dengan sikap berenang yang labil (Rahmaningsih, 2012). Infeksi bakteri *A. hydrophila* dapat menimbulkan penyakit dengan gejala diantaranya kulit mudah terkelupas, bercak merah pada seluruh tubuh, insang berwarna kebiruan atau pucat, *exophthalmia* (bola mata menonjol keluar), terjadinya pendarahan pada anus, dan hilang nafsu makan. Selain itu gejala klinis yang ditimbulkan yaitu pada bagian sirip punggung, sirip dada, sirip perut, dan sirip ekor terlepas, (Mulia, 2003)

Perkembangan gejala ikan yang terserang penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* yang terlihat secara eksternal, yaitu mula-mula kulit tampak pucat, dan beberapa jam kemudian terjadi pembengkakan dan luka pada bekas injeksi di bagian dorsal tubuh ikan. Hari berikutnya, sirip patah-patah (geripis) dan berwarna pucat, serta keseimbangan tubuh ikan terganggu, sehingga ikan sering berenang lemah ke permukaan air dan cenderung menyendiri. Lebih lanjut pada ikan yang mati gejala internal yang teramati, yaitu empedu lembek dan mudah pecah, saluran pencernaan kosong berisi cairan, hati merah kecoklatan, ginjal merah dengan tepi kehitaman, selain itu terdektesi ginjal merah pucat pada ikan gabus mati lainnya (Olga, 2012). Gejala klinis ikan nila (*O. niloticus*) dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Gejala Klinis Ikan Nila (*O. niloticus*) Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila* (a) Pendarahan pada bekas infeksi *A. hydrophila* (b) Pendarahan pada sirip punggung (c) Mata membesar (*exophthalmia*) (Indriani *et al.*, 2014).

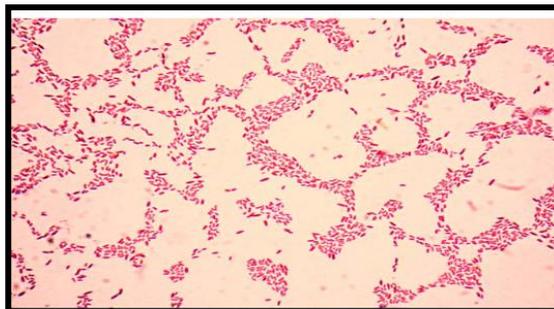
2.2 Biologi Bakteri *A. hydrophila*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *A. hydrophila* menurut Holt *et al.* (1998) adalah sebagai berikut:

| | |
|---------|-------------------------------|
| Phylum | : Protophyta |
| Class | : Schizomycetes |
| Ordo | : Pseudononadeles |
| Family | : Vibrionaceae |
| Genus | : Aeromonas |
| Species | : <i>Aeromonas hydrophila</i> |

A. hydrophila merupakan bakteri heterotrofik uniseluler, tergolong protista prokariotik yang dicirikan dengan tidak adanya membran yang memisahkan inti dengan sitoplasma (Kabata, 1985). *A. hydrophila* bersifat gram negatif (-), mempunyai morfologi batang pendek dengan ukuran bervariasi yaitu memiliki lebar sebesar 0,8-1,0 mikron dan panjang 1,0-3,5 mikron. Selain itu bakteri *A. hydrophila* memiliki ciri-ciri yaitu tidak memiliki spora, bakteri bersifat motil dikarenakan mempunyai satu flagel (*monotrichous flagela*) yang keluar dari salah satu kutubnya. Bakteri ini bersifat variable terhadap fermentasi laktosa, sitrat, dan mempunyai sifat positif pada uji katalase dan oksidase (Austin and Austin, 1987). Bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. *A. hydrophila* (Perbesaran 100x) (Samsundari, 2006)

2.2.2 Habitat Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* mempunyai habitat didaerah estuaria dan air tawar, keberadaannya berhubungan dengan kandungan bahan organik atau sedimen dasar perairan. Bakteri *A. hydrophila* banyak terdapat didaerah tropis dan subtropis dibandingkan di daerah dingin. Serangan bakteri *A. hydrophila* biasanya muncul pada musim kemarau karena pada saat tersebut kandungan bahan organik di perairan relatif tinggi (Bullock *et al.*, 1971)

Bakteri *A. hydrophyla* dapat bertahan dalam lingkungan aerob maupun anaerob. Bakteri *A. hydrophyla* resisten terhadap suhu yang dingin (faktanya bakteri *A. hydrophila* dapat bertahan dalam temperatur rendah kurang lebih 4°C), tetapi setidaknya hanya dalam waktu 1 bulan (Krieg dan Holt, 1984). Sebagian besar isolate *A. hydrophila* mampu tumbuh dan berkembang biak pada suhu 37°C dan tetap mortal pada suhu tersebut. Disamping itu, bakteri *A. hydrophila* mampu tumbuh pada kisaran pH 4, 7 – 11 (Hariyani *et al.*, 2012).

2.2.3 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan Bakteri *A. hydrophila*

Salah satu penentu tingkat keberhasilan suatu budidaya ikan adalah kemampuan petani dalam mengendalikan penyakit. Penyakit pada hewan akuatik akan datang jika pengontrolan kualitas air yang kurang dijaga. Perkembangbiakan bakteri *A. hydrophila* secara aseksual dengan pemanjangan sel yang diikuti pembelahan inti yang disebut pembelahan biner. Waktu yang diperlukan untuk pembelahan satu sel menjadi dua sel lebih kurang 10 menit (Volk dan Wheeler, 1988).

Rerata bakteri mencapai pertumbuhan optimal pada fase eksponensial, yaitu pada jam ke 4-12. Bakteri selanjutnya akan mengalami fase stasioner pada masa inkubasi sampai dengan 48 jam. Pada fase tersebut persentase antara bakteri yang

hidup dan yang mati adalah sama. Bakteri akan mengalami fase kematian setelah melewati fase 24 jam. Kondisi tersebut terkait dengan ketersediaan nutrisi dan lingkungan yang tepat untuk kehidupan bakteri tersebut (Mangunwardoyo *et al.*, 2010).

2.2.4 Patogenitas Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* adalah jenis bakteri yang bersifat pathogen dan dapat menyebabkan penyakit sistemik serta mengakibatkan kematian secara masal. Bakteri *A. hydrophila* ini seringkali mewabah di Asia Tenggara sampai sekarang. Salah satu penyakit yang dapat menyerang ikan air tawar baik ikan hias ataupun ikan konsumsi dan dapat mematikan sampai 100% ikan adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *A. hydrophila*. Gejala klinis yang ditimbulkan akibat serangan bakteri *A. hydrophila* ini yaitu berupa luka dibagian tubuh ikan. Bakteri *A. hydrophila* dapat menyerang semua umur ikan. Selain itu bakteri *A. hydrophila* bahkan menjadi wabah mematikan pada ikan air tawar dan menyebabkan kerugian yang sangat besar (Haryani *et al.*, 2012)

Bakteri *A. hydrophila* menyebar secara cepat pada ikan dengan padat penebaran tinggi dan bisa mengakibatkan kematian benih hingga 90%. Penularan penyakit dapat melalui air, kontak badan dan kontak dengan peralatan yang tercemar. Selain itu penularan penyakit ini dapat terjadi melalui pemindahan ikan yang telah terserang *A. hydrophila* dari satu tempat ke tempat lain. Penyakit yang disebabkan oleh *A. hydrophila* bersifat "opportunist" yaitu mampu berkembang menjadi lebih ganas pada keadaan optimum. Infeksi bakteri *A. hydrophila* bersifat sekunder artinya bakteri ini akan menimbulkan penyakit apabila keadaan ikan lemah karena stres (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

2.3 Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi

Bubuk ekstrak tinta cumi-cumi merupakan salah satu produk baru yang berasal dari ekstrak tinta cumi-cumi yang terkenal dengan kandungan zat antibakterinya. Tinta cumi-cumi memiliki kandungan gizi yang cukup baik terutama kandungan protein dan asam amino. Ekstraksi cairan dari tinta cumi-cumi memiliki fungsi sebagai penghambat pertumbuhan aktivitas bakteri. Dalam *paper disk test*, efek penghambat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar lubang yang menenggelamkan media kultur bakteri dan ternyata berada diluar diameter dari kertas cakram. Diameter pada zona penghambatan menggambarkan kemampuan zat antibakteri dalam konsentrasi yang berbeda (Fadjar *et al.*, 2016).

Menurut Agusandi *et al.* (2013), cara untuk mengambil tinta cumi-cumi pertama harus disiapkan cumi-cumi utuh yang masih segar. Lalu dibedah bagian tubuhnya hingga kepala, setelah itu diambil kantong tintanya. Saat pengambilan kantong tintanya harus berhati-hati supaya tidak pecah, setelah dapat kantong tintanya, lalu dipisahkan pada wadah yang bersih. Setelah kantong tinta cumi-cumi terkumpul, langkah selanjutnya yaitu diambil tintanya yang berada dalam kantong tinta cumi dengan cara dipencet secara perlahan. Ekstraksi digunakan untuk mengambil kantong tinta dan memasukkan tintanya kedalam wadah. Ningsih dan Hastuti (2012), ekstraksi tersebut dimasukkan ke dalam *erlenmeyer*, langkah selanjutnya yaitu tinta cumi diaduk dengan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 250 rpm selama satu jam. Kemudian didiamkan selama kurang lebih 24 jam. Ekstraksi dilakukan menggunakan gelas beker yang bagian luarnya sudah dilapisi dengan *aluminium foil*. Kemudian larutan ekstrak tinta cumi-cumi disaring. Setelah ekstrak tinta cumi disaring kemudian dipindahkan ke botol berwarna gelap supaya terhindar dari sinar matahari.

2.4 Kandungan Senyawa Aktif Tinta Cumi-Cumi (*Loligo sp*)

Tinta cumi bersifat alkaloid, alkaloid merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder yang beratom nitrogen dan bersifat basa, beberapa alkaloid memiliki manfaat dalam proses pengobatan. Tinta cumi mengandung butir-butir melanin atau pigmen hitam yang secara alami terdapat dalam bentuk melanoprotein (Agusandi, *et al.*, 2013). Melanoprotein dari tinta cumi-cumi mengandung asam amino esensial dan asam amino non esensial. Selain itu tinta cumi mengandung pula lemak dan glikosaminoglikan. Melanin dari tinta cumi-cumi mempunyai aktivitas anti-tumor dan aktivitas antibakteri (Fitrial dan Khotimah, 2017).

Kandungan melanin sebesar 15% dari berat total tinta dan protein berkisar 5-8%. Melanin merupakan pigmen alami yang umumnya terdapat pada hampir semua organisme dengan berbagai macam fungsi. Produksi melanin pada kantung tinta memiliki sejumlah bahan kimia penting termasuk tirosi, dopamine, dan enzim seperti tirosinase, peroksidase, peptidoglikan. Tinta cumi memiliki kemampuan sebagai *antimicrobial* karena kandungan melaninnya (Derby, 2014). Kandungan asam oleat dalam tinta cumi-cumi dapat menempel di membran bakteri serta dapat merusak dinding sel dari bakteri. Aktivitas ini dapat menghancurkan dinding sel dan membran sel dari bakteri tersebut yang dapat menyebabkan kematian dari bakteri dan mengurangi resiko kematian bagi ikan yang dibudidayakan (Fadjar *et al.*, 2016).

2.5 Antimikroba

Antibakteri adalah substansi yang menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri atau mikroorganisme lain (organisme mikroskopik termasuk bakteri, virus, jamur, protozoa dan riketsia). Secara teknik istilah antibiotik mengacu

pada zat kimia yang dihasilkan oleh satu macam mikroorganisme yang menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme yang lain (Kee dan Hayes, 1996).

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja sebagai bakteristatik, bakterisidal, dan bakteriolitik (Kusmiyati dan Agustini, 2007).

2.6 Histopatologi

2.6.1 Pengertian Histopatologi

Infeksi suatu penyakit baik yang infeksius maupun yang non-infeksius dapat didiagnosa dengan beberapa cara, diantaranya dengan diagnosa secara histopatologi yang bertujuan untuk mendapatkan berbagai informasi tentang penyakit. Histopatologi merupakan penelusuran penyakit secara mikroskopik dimana dalam pengamatan histopatologi informasi yang diperoleh dalam bentuk gambaran perubahan organ atau jaringan. Informasi yang diperoleh juga dapat digunakan sebagai data untuk mengetahui ada atau tidak infeksi penyakit serta untuk meramalkan proses kejadian penyakit dan tingkat epidemik suatu penyakit (Wardhani *et al*, 2017).

Histopatologi merupakan suatu teknik atau ilmu yang mempelajari perubahan abnormal dari salah sel atau jaringan yang digunakan untuk mendiagnosa penyakit. Pemeriksaan secara histopatologi merupakan pendukung dari suatu diagnose dan dapat menjadi pemeriksaan diagnose utama dari suatu penyakit dengan ditemukan perubahan sel atau jaringan yang spesifik pada penyakit tertentu (Hossain *et al*, 2007).

2.6.2 Usus

Usus merupakan saluran pencernaan yang berfungsi untuk menyerap sari-sari makanan (Trisna *et al*, 2013). Pada umumnya usus ikan berbentuk tabung sederhana yang tidak dapat bertambah diameternya dan memiliki panjang berbeda-beda sesuai dengan makanannya, Bentuk usus sesuai dengan bentuk rongga perut ikan, yaitu lurus, melengkung atau bergulung-gulung. Usus memiliki sel epitel silindris sederhana yang menutupi sub mukosa (mengandung eosinophil). Antara sel epitel dan sub mukosa dibatasi oleh muskularis mukosa yang bersifat rapat. (Camargo *et al.*, 2007).

Struktur histologi usus ikan secara umum tersusun atas empat lapisan utama yaitu mukosa, submukosa, muskularis, dan serosa (Tambayong, 1995). Lapisan mukosa terdiri dari lamina epitelia, lamina propria, dan muskularis mukosa. Lapisan submukosa terdiri dari jaringan ikat padat tidak teratur, pembuluh darah, limfe dan saraf. Lapisan muskularis tersusun atas otot memanjang (longitudinal) dan melingkar (sirkuler). Lapisan serosa terdiri dari jaringan ikat longgar, pembuluh darah dan sel adiposa (Junquiera dan Carneiro, 2007).

2.6.3 Kerusakan Jaringan Usus

Menurut Pratiwi dan Manan (2015), usus adalah organ yang sering terpapar oleh agen-agen patogen dan parasit. Agen-agen tersebut masuk ke dalam usus

melalui makanan yang masuk ke dalam saluran pencernaan. Kerusakan yang banyak ditemukan pada usus ikan adalah nekrosis dan atropi pada lapisan epitel, kongesti dan hemoragi. Hal tersebut diketahui diakibatkan oleh paparan toksin yang akut, adanya bakteri, virus dan parasit.

Nekrosis yang terjadi pada jaringan usus ikan sampel ditandai dengan terlihatnya jaringan yang rusak (Juanda dan Edo, 2018). Kongesti adalah pelebaran pembuluh darah dan di dalam pembuluh tersebut penuh berisi darah (melebihi kapasitas normal). Kongesti merupakan pelebaran pembuluh darah dan di dalam pembuluh tersebut penuh berisi darah. Kongesti yang berlebihan dapat menimbulkan hemoragi. Perubahan histopatologi berupa kongesti mengindikasikan adanya kenaikan jumlah darah di dalam pembuluh darah, kapiler darah tampak melebar penuh terisi eritrosit (Wagiman *et al.*, 2014).

2.6.4 Pengamatan Histopatologi

Pemeriksaan ini dilakukan melalui pemeriksaan terhadap perubahan-perubahan abnormal pada tingkat jaringan. Pemeriksaan ini hendaknya disertai dengan pengetahuan tentang gambaran histologi normal jaringan, respon jaringan terhadap etiologi dan patologi komparatif terhadap hewan-hewan kelas tinggi. Kepentingan pemeriksaan histopatologi dalam diagnosa penyakit infeksi selain diketahui kemungkinan penyebab infeksi, juga dapat dilakukan klasifikasi penyakit berdasarkan waktu dan distribusi penyakit. Dalam penentuan penyebaran infeksi dan tingkat keberlangsungan infeksi dapat dilihat dari peradangan dan infiltrasi sel radang yang ada (Pratiwi dan Manan, 2017).

Salah satu indikator yang dapat digunakan untuk melihat adanya gangguan pada ikan adalah dengan pengamatan terhadap perubahan histologi. Histologi merupakan hasil dari adanya perubahan secara biokimia dan fisiologis pada jaringan

organisme. Dengan indicator histologik, dapat diketahui perubahan yang terjadi pada ikan sebagai akibat dari perubahan kualitas air, penanganan ataupun karena infeksi pathogen. (Parameswari *et al.*, 2013).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Alat-alat Penelitian

| No. | Alat | Kegunaan |
|-----|------------------------|---|
| 1 | Kulkas | Untuk menyimpan bahan pada suhu dingin |
| 2 | Kabel <i>roll</i> | Untuk menghubungkan arus listrik |
| 3 | Gelas ukur 100 ml | Sebagai alat mengukur larutan |
| 4 | Timbangan analitik | Sebagai alat penimbang bahan dengan ketelitian 10^{-4} |
| 5 | Nampan | Sebagai tempat menyimpan alat |
| 6 | <i>Washing bottle</i> | Sebagai tempat menyimpan akuades dan tempat menyimpan alkohol untuk sterilisasi |
| 7 | Botol <i>sprayer</i> | Untuk wadah klorin |
| 8 | Akuarium | Sebagai wadah pemeliharaan ikan nila |
| 9 | <i>Sectio set</i> | Untuk membedah ikan nila |
| 10 | Selang aerasi | Untuk menyalurkan O_2 dari aerator ke media |
| 11 | Batu aerasi | Untuk memecah O_2 yang dihasilkan oleh aerator ke air |
| 12 | Selang air | Untuk penyifonan |
| 13 | <i>Heater</i> akuarium | Untuk memberikan suhu panas yang sesuai |
| 14 | Seser | Untuk mempermudah dalam memindahkan ikan |
| 15 | pH meter | Untuk mengukur besarnya pH dalam media pemeliharaan |
| 16 | <i>Thermometer</i> | Untuk mengetahui suhu air sampel |
| 17 | DO meter | Untuk mengukur kandungan DO dalam media pemeliharaan |
| 18 | Mikroskop | Untuk membantu pengamatan histopatologi usus ikan nila |
| 19 | Pipet tetes | Untuk membantu mengambil air |
| 20 | <i>Blower</i> | Untuk sumber oksigen utama |
| 21 | Erlenmeyer | Untuk wadah menghomogenkan larutan |
| 22 | Pipet volume | Untuk membantu mengambil larutan |

| No. | Alat | Kegunaan |
|-----|--------------|-----------------------------------|
| 23 | Bola hisap | Untuk membantu pipet volume |
| 24 | Botol Sampel | Untuk wadah sampel usus ikan nila |

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Bahan-Bahan Penelitian

| No. | Bahan | Kegunaan |
|-----|--|---|
| 1 | Bubuk tinta cumi-cumi (<i>Loligo</i> sp.) | Sebagai bahan yang akan diuji pengaruhnya |
| 2 | Ikan nila (<i>O. niloticus</i>) | Sebagai objek yang diuji |
| 3 | Alumunium foil | Sebagai bahan yang digunakan untuk menutup <i>beaker glass</i> saat pembuatan media |
| 4 | Alkohol 70% | Sebagai pengondisian aseptis |
| 5 | Kertas label | Sebagai penanda |
| 6 | Tisu | Sebagai bahan pembersih |
| 7 | Air tawar | Sebagai media hidup ikan nila |
| 8 | Formalin 10% | Sebagai larutan preservasi usus ikan nila |
| 9 | Pakan | Sebagai makanan ikan nila selama pemeliharaan |
| 10 | Air sampel | Sebagai air yang diukur kualitas airnya |
| 11 | Trashbag | Sebagai penutup akuarium |
| 12 | Masker | Sebagai pelindung mulut bagi peneliti |
| 13 | Sarung tangan | Sebagai alat mencegah kontaminasi. |
| 14 | Klorin 30 ppm | Sebagain bahan untuk sterilisasi wadah pemeliharaan |
| 15 | Na Thiosulfat | Sebagain bahan untuk sterilisasi wadah pemeliharaan. |
| 16 | <i>Pellet</i> | Sebagai pakan ikan nila |

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Penelitian Eksperimental merupakan penelitian laboratorium, walaupun bias juga dilakukan di luar laboratorium, tetapi pelaksanaannya menerapkan prinsip-prinsip penelitian laboratorium, terutama dalam pengontrolam terhadap hal – hal

yang mempengaruhi jalannya eksperimen. Metode ini bersifat *validation* atau menuji pengaruh satu variabel atau lebih terhadap variabel lain. Variabel yang mempengaruhi dikelompokkan sebagai variabel bebas dan variabel yang dipengaruhi dikelompokkan variabel terikat (Hamdi dan Bahrudin, 2014).

Menurut Sujana dan Rahmawati (2018), metode eksperimental merupakan salah satu dari jenis jenis metode penelitian. Metode eksperimental merupakan metode penelitian yang memungkinkan peneliti memanipulasi *variable* dan meneliti akibat-akibatnya. Pada metode ini variabel dikontrol sedemikian rupa, sehingga variabel luar yang mungkin mempengaruhi dapat dihilangkan. Metode eksperimental bertujuan untuk mencari hubungan sebab akibat dengan memanipulasikan satu atau lebih *variable*, pada satu atau lebih kelompok eksperimental dan membandingkan hasilnya dengan kelompok kontrol yang tidak mengalami manipulasi.

3.3 Pengambilan Data

Proses pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung. Menurut Khoifah dan Pasa (2016), teknik pengumpulan data dengan observasi merupakan cara yang dilakukan peneliti untuk mendapatkan data atau informasi dalam penelitiannya dengan pengamatan dan pencatatan secara sistematis terhadap gejala yang tampak pada objek penelitian. Pengumpulan data dalam penelitian ini yaitu dengan observasi terus terang atau tersamar. Dalam hal ini, peneliti dalam melakukan pengumpulan data menyatakan terus terang kepada sumber data, bahwa sedang melakukan penelitian. Jadi mereka yang diteliti mengetahui sejak awal sampai akhir tentang aktifitas peneliti.

Menurut (Ardianto, 2011), observasi dibagi menjadi dua bagian, yaitu observasi langsung (*direct observations*) dan tidak langsung (*indirect observations*).

Pada kegiatan obeservasi langsung. Peneliti langsung terjun ke lapangan sebagai sasaran penelitian untuk melihat keadaan atau fenomena yang terjadi disana. Dengan begitu, peneliti dapat lebih mengenal karakteristik lokasi, fenomena, dan juga subjek penelitian, dalam hal ini adalah masyarakat yang hendak diteliti. Observasi tidak langsung merupakan kegiatan pengamatan yang tidak dilakukan pada tempat atau lokasi yang telah ditentukan oleh peneliti. Peneliti dapat menggunakan media, seperti internet, media cetak, rekaman audio visual, dan hasil-hasil penelitian sebelumnya yang memiliki latar permasalahan yang sama dengan yang akan diteliti.

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), Menurut Persulesy *et al.* (2016), RAL adalah jenis rancangan percobaan yang paling sederhana dan paling mudah jika di bandingkan dengan jenis rancangan percobaan yang lain. RAL hanya bisa digunakan pada percobaan dengan jumlah perlakuan yang terbatas dan satuan percobaan harus homogen atau faktor luar yang dapat mempengaruhi percobaan harus dapat di kontrol.

RAL atau *Completely Randomized Design* merupakan salah satu model rancangan dalam rancangan percobaan. RAL digunakan bila unit percobaan homogen. RAL digunakan bila faktor yang akan diteliti satu faktor atau lebih dari satu faktor. Menurut Sunandi *et al.* (2017), Rancangan Acak Lengkap dikatakan acak karena setiap satuan percobaan mempunyai peluang yang sama untuk mendapatkan perlakuan sedangkan dikatakan lengkap karena seluruh perlakuan yang dirancang dalam percobaan. Analisis dalam Rancangan Acak Lengkap ini dapat dilakukan dengan mudah dan langsung.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}; i$$

Keterangan =

Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j.

μ = nilai tengah umum

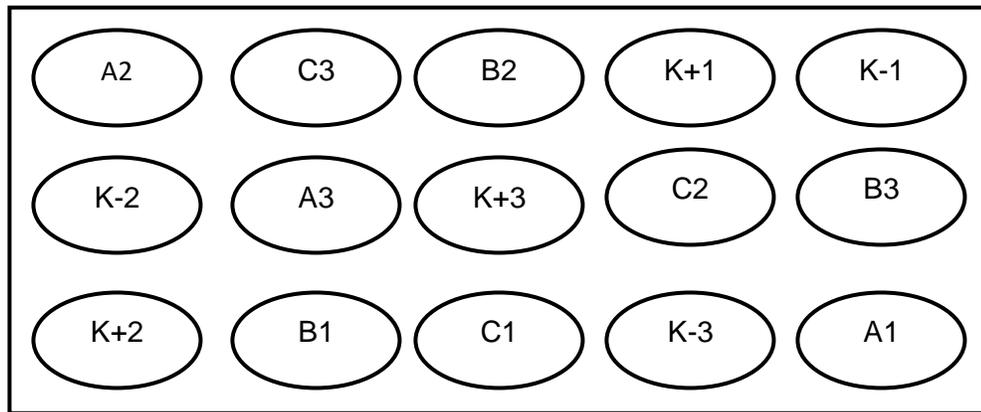
T_i = pengaruh perlakuan ke-i

ϵ_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Penelitian ini dilakukan menggunakan variable bebas berupa perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi dengan penggunaan dosis 52, 5 ppm, 62,5 ppm dan 72,5 ppm. Penelitian ini juga menggunakan dua kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yaitu penginfeksian bakteri dan tanpa pemberian bubuk tinta cumi tetapi menggunakan antibiotik *oxytetracycline* dan kontrol negatif yaitu perlakuan penginfeksian bakteri dan tanpa pemberian bubuk ekstrak tinta cumi. Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Dari perlakuan tersebut diperoleh total sampel yaitu sebanyak 15 sampel. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- A : Perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang dicampur pakan dengan dosis 52, 5 ppm terhadap ikan nila yang terinfeksi *A. hydrophila*
- B : Perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang dicampur pakan dengan dosis 62, 5 ppm terhadap ikan nila yang diinfeksi *A. hydrophila*.
- C : Perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang dicampur pakan dengan dosis 72, 5 ppm terhadap ikan nila yang diinfeksi *A. hydrophila*.
- K+ : Perlakuan ikan nila yang terinfeksi *A. hydrophila* dan pemberian *Oxytetracycline* 20 ppm yang dicampur pakan.
- K- : Perlakuan ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan tanpa pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang dicampur pakan.

Denah penelitian disajikan pada Gambar 4. Dibawah ini:



Gambar 4. Denah Penelitian

Keterangan:

A, B, C : Perlakuan
 K+, K- : Kontrol
 1, 2, 3 : Ulangan

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian.

3.5.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi merupakan upaya pemusnahan bakteri-bakteri yang tidak diinginkan. Hal ini sesuai dengan pendapat Soflana dan Wahyuni (2015) yang menyatakan bahwa sterilisasi adalah proses pengolahan suatu alat atau bahan dengan tujuan mematikan semua mikroorganisme termasuk endospore pada suatu alat dan bahan. Semua alat dan bahan yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu. Proses sterilisasi dilakukan dengan metode sebagai berikut:

- Alat-alat yang akan disterilisasi dibungkus dengan menggunakan kertas koran, kemudian diikat dengan menggunakan benang (untuk tabung reaksi dan erlenmeyer bagian atas diberi kapas).
- Akuades dituang secukupnya dalam autoklaf.
- Alat yang telah dibungkus kertas koran dimasukkan ke dalam keranjang autoklaf dan dimasukkan.

- Autoklaf ditutup rapat secara diagonal.
- Saklar dinyalakan dan ditekan tombol “on”. Tombol suhu diputar pada posisi maksimal hingga lampu *heating* menyala hijau.
- Ditunggu hingga uap air keluar dari klep. Kemudian klep ditutup kearah samping.
- Ditunggu suhu mencapai 121°C kemudian suhu diturunkan hingga lampu *sterilizing* menyala kuning dan tekanan menunjukkan 1 atm. Putar pengaturan alarm hingga 15 menit.
- Ketika alarm berbunyi tombol power di “off” kan.
- Klep dibuka secara perlahan-lahan hingga jarum menunjukkan angka 0.
- Autoklaf dibuka secara diagonal.
- Alat dan bahan yang sudah disterilisasi diambil. Apabila alat dan bahan tidak langsung dipakai disimpan dalam kotak penyimpanan. Sedangkan bahan disimpan dalam lemari pendingin.

3.5.1.2 Persiapan Alat dan Media Pemeliharaan

Persiapan alat yang diperlukan seperti akuarium berukuran 30 x 30 x 30 cm berjumlah 15 buah disterilisasi menggunakan klorin 10%. Larutan klorin dengan dimasukkan ke dalam sprayer. Wadah pemeliharaan dicuci bersih dengan air tawar yang mengalir, lalu disemprot dengan larutan klorin 10% secara merata, akuarium didiamkan selama 10 menit, akuarium kemudian dibilas kembali dengan air tawar hingga bersih dan bau klorin hilang lalu dibiarkan hingga kering Kemudian disiapkan juga alat-alat pendukung, seperti *aerator set*, *heater*, DO meter, pH meter, dan sebagainya. Media pemeliharaan untuk ikan nila (*O. niloticus*) diamati menggunakan air tawar diambil dari sumber air tanah dari Laboratorium Hidrobiologi divisi Lingkungan dan Bioteknologi Perairan. Media pemeliharaan dilengkapi dengan

aerasi untuk menyuplai oksigen dan heater untuk memberikan daya panas dan suhu yang sesuai dengan media hidup ikan nila (*O. niloticus*) dan bakteri *A. hydrophila*.

3.5.1.3 Persiapan Hewan Uji

Hewan Uji yang digunakan yaitu ikan nila (*O. niloticus*) yang didapatkan dari Dau, Malang, Jawa Timur sebanyak 225 ekor. Ikan nila yang digunakan untuk percobaan berukuran 8-15 cm dengan padat tebar akuarium sebanyak 13 ekor/akuarium. Sesuai pernyataan dari Siniwoko (2013), ikan nila yang digunakan sebagai hewan uji yaitu berukuran 10-12 cm dengan berat 10-15 gram dan berumur kurang lebih 30 hari. Sebelum dilakukan perlakuan, ikan nila diaklimatisasi terlebih dahulu di akuarium yang telah dilengkapi dengan aerator. Proses aklimatisasi ini bertujuan untuk mengetahui keadaan ikan yang digunakan dalam keadaan sehat dan telah beradaptasi dengan lingkungan barunya. Selama aklimatisasi ikan diberi pakan pellet secara *adlibitum*. Pemberian pakan dilakukan 2 kali sehari yaitu pukul 08.00 WIB dan 16.00 WIB. Selama pemeliharaan dilakukan penyifonan setiap pagi hari apabila air media kotor akibat pakan dan feses. Apabila ikan sampel sudah beradaptasi dengan lingkungan maka ikan nila sudah dapat digunakan.

3.5.2 Penyediaan Bakteri

a. *Triptic Soy Broth* (TSB)

Media TSB merupakan media cair yang digunakan untuk melakukan peremajaan bakteri *A. hydrophila*. Menurut Rahmaningsih (2016), media TSB mampu menyediakan materi nutrisi yang dibutuhkan bakteri aerobik dan bakteri anaerobik fakultatif. Proses pembuatan media TSB adalah sebagai berikut:

- Media TSB ditimbang sebanyak 7,98 gram. Ketentuan TSB yang digunakan yaitu 30 gram/l. Perhitungan media TSB dapat dilihat pada Lampiran 2.

- Media dimasukkan ke dalam erlenmayer 1.000 ml.
- Media dilarutkan dengan menggunakan akuades sebanyak 266 ml, kemudian dihomogenkan.
- Setelah homogen, mulut erlenmeyer di tutup menggunakan kapas yang dibungkus dengan kain kasa, lalu di tutup lagi menggunakan alumunium foil dan diikan menggunakan karet gelang.
- Media kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.
- Media siap untuk digunakan.

b. Kultur Bakteri *A. hydrophila*

Biakan murni bakteri *A. hydrophila* didapatkan dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara yang terdapat di media agar miring. Kultur bakteri *A. hydrophila* dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- Biakan pada media agar miring diambil dengan menggunakan jarum ose sebanyak 2 gores.
- Jarum ose yang sudah terdapat bakteri dicelupkan pada media TSB yang sudah disiapkan.
- Media disimpan pada *incubator* dengan suhu 33°C selama 2x24 jam.
- Semua kegiatan pengkulturan dilakukan secara steril.

c. Pengenceran Bakteri *A. hydrophila*

Tahapan awal pada proses pengenceran bakteri *A. hydrophila* diawali dengan mempersiapkan larutan TSB steril pada erlenmeyer dan gelas ukur. Kepadatan bakteri pada Erlenmeyer yaitu 10^{10} CFU/mL. Kepadatan yang diinginkan untuk bakteri *A. hydrophila* dalam proses penginfeksian yaitu 10^7 CFU/mL. Pengenceran

dilakukan dengan memindahkan larutan media TSB yang terdapat bakteri *A. hydrophila* sebanyak 20 ml ke dalam gelas ukur. Perhitungan pengenceran dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.5.3 Penginfeksian Bakteri *A hydrophila*

Sebelum penginfeksian, akuarium berukuran 30 x 30 x 30 cm³ diisi dengan air tawar sebanyak 20 liter yang dilengkapi dengan aerasi dan *heater*. Kemudian ikan nila (*O. niloticus*) dimasukkan ke dalam akuarium dengan kepadatan 13 ekor/akuarium dan dilakukan adaptasi selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan penginfeksian menggunakan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan sebesar 10⁷ CFU/mL dengan cara direndam. Menurut Kamiso *et al.* (1994), ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* direndam selama 30 menit lalu dipindahkan ke akuarium uji. Selama pengujian, ikan nila diberi pakan dan dilakukan pergantian air, lalu dibiarkan selama 24-48 jam hingga gejala klinis ikan nila akibat infeksi *A. hydrophila* terlihat, hal ini mengacu pada penelitian Mulia (2003), ikan nila yang telah diinfeksi dimasukkan ke dalam akuarium dan dibiarkan selama 24-48 jam, lalu dilakukan pengamatan perubahan klinis infeksi akibat bakteri. Ikan nila yang telah menunjukkan gejala klinis akibat infeksi kemudian diberi perlakuan pakan dengan menggunakan bubuk ekstrak tinta cumi pada pakan sesuai perlakuan.

3.5.4 Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi Pada Pakan

Pemberian bubuk ekstrak tinta cumi pada pakan yaitu dengan metode sprayer. Menurut Kaemudin *et al.* (2016), langkah-langkah yang harus dilakukan yaitu pertama bubuk ditimbang terlebih dahulu sesuai dengan perlakuan yang diamati. Kemudian ditambahkan pelarut berupa aquades sebanyak 10 ml pada masing-masing perlakuan, lalu di *vortex* yang bertujuan agar bubuk tercampur. Kemudian dimasukkan ke dalam *sprayer* dan disemprot ke pakan sesuai dengan

perlakuan. Setelah itu pakan ditutup dengan plastic wrap dan didiamkan selama 24 jam. Pemberian pakan yang telah dicampur dengan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dilakukan sebanyak tiga kali dalam sehari yaitu pukul 08.00, 12.00, 16.00. Pemberian pakan sesuai FR (*Feeding Rate*) yaitu 3-5% dari total biomassa/hari dan dipelihara selama tujuh hari.

3.5.5 Pengambilan Sampel Usus Ikan Nila (*O. niloticus*)

Pengambilan usus ikan nila dilakukan dengan cara mematikan ikan terlebih dahulu dengan menusuk bagian otak, kemudian ikan dibedah dan diambil bagian organ usus. Selanjutnya sampel usus ikan nila disimpan dalam botol sampel dan direndam dalam larutan formalin 10%, kemudian sampel usus ikan nila dibuat preparat histopatologinya. Menurut Setyowati *et al.*(2010), tahapan pembuatan preparat sebagai berikut:

- Tahap *Fiksasi*

Sampel usus yang akan diamati jaringannya diambil. Jaringan tersebut kemudian direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam.

- Tahap *Dehidrasi*

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

- Tahap *Clearing*

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

- Tahap *Impregnasi*

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

- Tahap *Embedding* (Pengeblokan)

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

- Teknik Pewarnaan Jaringan Menggunakan HE (*Hematoxylin Eosin*)

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

- Tahap *Mounting*

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

sitoplasma yang bersifat basa akan berwarna merah oleh eosin yang bersifat asam.

3.6 Penentuan Dosis

Penentuan dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) menggunakan metode MIC (Uji *Minimum Inhibiting Concentration*) dengan media steril dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian diamati kekeruhan awal dan nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer. Kemudian diberikan bakteri *A. hydrophila* dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu diamati kembali nilai kekeruhan dan nilai absorbansi lalu dihitung selisih antara keduanya.

3.7 Parameter Uji

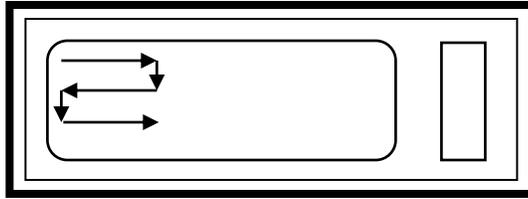
3.6.1 Parameter Utama

a. Histopatologi Usus

Parameter utama yang diuji pada penelitian ini adalah pengamatan histopatologi usus ikan nila (*O. niloticus*). Pengamatan ini dilakukan untuk melihat perbedaan usus ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* tanpa perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*), usus ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* tanpa perlakuan pemberian bubuk tinta cumi dengan usus ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian pengobatan menggunakan bubuk tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) melalui pakan, yaitu dengan mengamati histopatologi jaringan usus ikan nila.

Hasil uji histopatologi usus ikan nila menggunakan analisis secara deskriptif. Untuk mengetahui kerusakan jaringan usus ikan nila yang sudah diberi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi maka dilakukan analisis statistik pemberian skoring dengan

metode semi kuantitatif. Pada metode ini dilakukann pembacaan pada preparat dengan gerak zig zag seperti Gambar 5.



Gambar 5. Alur Skoring (Gerak Zig Zag) (Siswandari, 2005)

Metode semi kuantitatif dilihat dari lima luas bidang lapang pandang sehingga mendapatkan hasil yang maksimal pada tingkat kerusakan jaringan. Setiap bidang lapang pandang diamati tingkat kerusakan jaringannya dengan kriteria nekrosis dan kongesti. Persentase kerusakan setiap luas bidang pandang dihitung berdasarkan jumlah sel yang mengalami kerusakan menurut Lubis *et al.*, (2014), dengan rumus sebagai berikut:

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

Kemudian persentase yang telah didapatkan diberi *scoring* dari angka 1 sampai 4. Angka 1 mempunyai tingkat persentase kerusakan jaringan 0-5 %, angka 2 dengan tingkat persentase kerusakan jaringan 6-25 %, angka 3 dengan tingkat persentase kerusakan jaringan 26-50 % dan angka 4 dengan tingkat persentase kerusakan jaringan > 50 %. Sehingga dengan melakukan skoring akan didapatkan besarnya nilai kerusakan pada usus ikan nila

3.6.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah pengamatan gejala klinis, kualitas air (suhu, DO dan, pH) dan kelulushidupan ikan nila. Adapun parameter penunjangnya adalah sebagai berikut :

a. Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis ini dilakukan secara visual yaitu dengan mengamati perubahan morfologi uji. Pengamatan dilakukan setelah ikan nila diberi pakan yang telah dicampur dengan bubuk tinta cumi-cumi pada media pemeliharaan yang diamati setiap 24 jam selama 7 minggu.

b. Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur pada penelitian ini adalah tingkat oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen*), suhu air pada media pemeliharaan dan derajat keasaman (pH). Pengukuran kualitas air harian seperti DO, suhu, pH. Dilakukan dua kali dalam sehari yaitu pada pagi hari pukul 08.00 WIB dan sore hari yaitu pukul 16.00 WIB.

Pengukuran suhu menggunakan *thermometer* akuarium. Pengukuran DO menggunakan alat DO meter. Cara penggunaan alat DO meter ini yaitu menekan tombol "ON" setelah itu elektroda DO meter dikalibrasi terlebih dahulu kemudian dimasukkan ke dalam media pemeliharaan lalu ditunggu hingga menunjukkan angka yang stabil pada DO meter dan dicatat hasilnya.

Pengukuran pH menggunakan alat pH meter. Cara menggunakan pH meter ini yaitu yang pertama tekan tombol "ON", sebelum electrode dimasukkan ke air sampel wadah pemeliharaan, electrode di kalibrasi terlebih dahulu. Setelah itu elektroda dimasukkan ke dalam media pemeliharaan lalu ditunggu hingga menunjukkan angka yang stabil dan dicatat hasilnya.

c. SR (*Survival Rate*)

Kelulushidupan ikan digunakan untuk mengetahui tingkat kelulushidupan ikan uji dengan membandingkan antara jumlah ikan uji pada awal penelitian dan ikan uji yang masih hidup pada akhir penelitian oksigen terlarut dan pH. Menurut Maftuch

et al., (2014), nilai tingkat kelulushidupan dapat dihitung dengan rumus 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

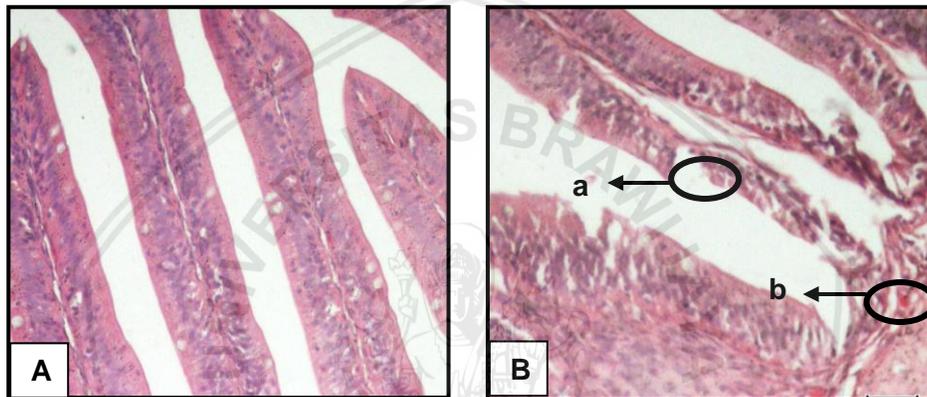
Data yang diperoleh akan dilakukan analisa secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan hasil terbaik dan dilanjutkan dengan polynomial orthogonal untuk mengetahui uji responnya. Data yang diperoleh pada penelitian ini merupakan hasil pengamatan mikroskop. Untuk hasil uji histopatologi usus ikan nila menggunakan analisis deskriptif. Untuk mengetahui tingkat kerusakan jaringan usus ikan Nila (*O. niloticus*) maka dilakukan analisis statistik pemberian *scoring*.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Gambaran Histopatologi Usus Ikan Nila (*O. niloticus*)

4.1.1 Gambaran Histopatologi Usus Ikan Nila (*O. niloticus*) Normal dan Terinfeksi Bakteri *Aeromona hydrophila*

Berdasarkan dari hasil pengamatan gambaran jaringan usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang normal dan gambaran jaringan ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 6.



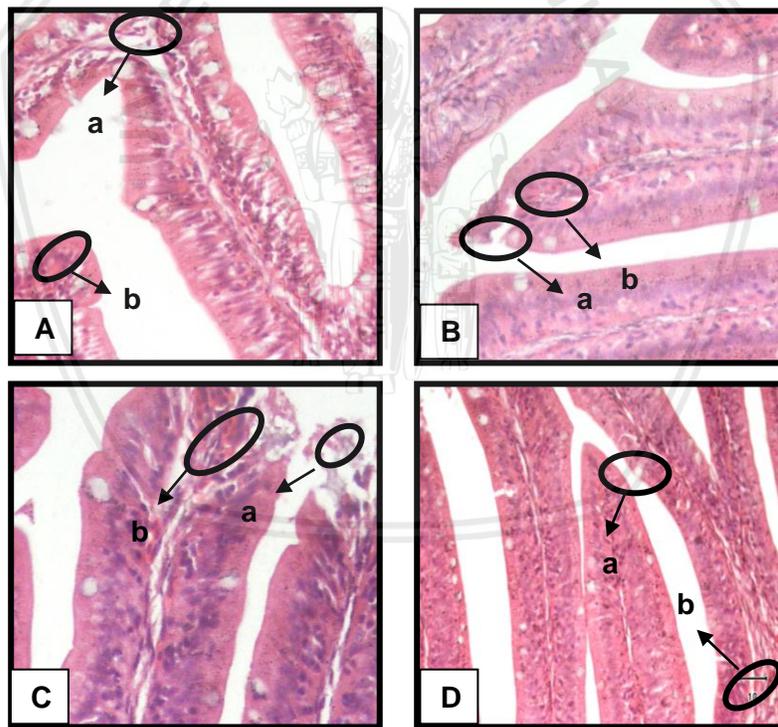
Gambar 6. Jaringan usus ikan Nila (*O. niloticus*) normal (A) dan Jaringan usus ikan Nila (*O. niloticus*) yang mengalami kerusakan (a) Nekrosis (b)Kongesti. (Perbesaran 400x dengan pewarnaan HE)

Gambar 6 diatas menunjukkan histopatologi usus ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Pengamatan menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x. Histopatologi usus ikan nila normal ditunjukkan pada gambar A dimana jaringan usus pada bagian mukosa tampak terlihat rapi, utuh dan tidak kerusakan. Pada gambar B adalah gambar jaringan usus ikan nila (*O. niloticus*) yang terpapar bakteri *A. hydrophila* dimana pada jaringan usus sudah mulai terjadi beberapa kerusakan pertama yaitu nekrosis yang ditandai dengan hilangnya bagian sel-sel pada jaringan usus yaitu pada bagian mukosa usus. Pada bagian mukosa Nampak

tidak beraturan. Kerusakan yang kedua yaitu kongesti. Pada gambar diatas dapat dilihat adanya pelebaran pembuluh darah yang terjadi di bagian submukosa usus.

4.1.2 Histopatologi Usus Ikan Nila (*O. niloticus*) yang Diberi Perlakuan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dalam pemberian dosis yang berbebeda-beda pada setiap perlakuan memberikan hasil yang berbeda pada gambaran jaringan usus ikan nila. Perlakuan yang diberikan adalah penambahan bubuk tinta cumi-cumi yang diicampurkan dengan pakan dengan dosis bubuk pada perlakuan A (52,5 ppm), perlakuan B (62,5 ppm) dan perlakuan C (72,5 ppm).dan perlakuan penambahan *oxytetracline* 20 ppm. Gambar jaringan usus dapat dilihat pada Gambar 7



Gambar 7. Gambar histopatologi usus ikan Nila (*O. niloticus*) (A) Dosis Bubuk Tinta Cumi 52,5 (B) Bubuk Tinta Cumi 62,5 ppm (C) Bubuk Tinta Cumi 72,5 ppm (D) *Oxytetracline* 20 ppm (a)Nekrosis. (b) Kongesti. Pengamatan menggunakan perbesaran 400x dengan pewarnaan HE

Dari ke 4 perlakuan tersebut rata-rata mengalami kerusakan yang sama yaitu nekrosis dan kongesti. Pada ke empat perlakuan tersebut nampak terjadi kerusakan nekrosis pada bagian mukosa yang ditandai dengan hilangnya beberapa jaringan pada vili usus. Kerusakan yang kedua yaitu kongesti yang terjadi bagian mukosa dan submukosa usus yang ditandai dengan adanya pembendungan pada pembuluh darah. Besarnya kerusakan pada masing-masing perlakuan dapat dilihat melalui skoring. Nilai rata-rata skoringnya kerusakan nekrosis dan kongesti dapat dilihat pada Lampiran 3. Analisis data kerusakan pada jaringan usus yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan diberi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi adalah sebagai berikut:

a. 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 pada setiap kehidupan hewan merupakan tahap akhir degenerasi yang irreversibel. (Mandia *et al.*, 2013). Nekrosis merupakan kematian lokal jaringan didalam tubuh individu yang masih hidup. Hal ini perlu diamati karena kerusakannya terjadi pada saat hewan tersebut masih hidup, dengan demikian dapat menjadi bahan pemeriksaan dalam menentukan penyebab kematian hewan tersebut. (Oktafitria dan Nova, 2016). Perlakuan yang dilakukan pada ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* yang ditambahkan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) pada pakan memberikan hasil yang berbeda terhadap kerusakan yang lainnya yang terjadi pada usus ikan nila. Data skoring kerusakan berupa nekrosis dapat pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 3. Berdasarkan hasil penelitian data rerata skoring nekrosis jaringan usus ikan nila dapat dilihat pada Tabel 3

Tabel 3. Rerata Hasil Skoring Kerusakan Nekrosis

| Perlakuan | Ulangan | | | Total | Rerata | STDV |
|--------------|---------|-----|-----|-------------|--------|------|
| | 1 | 2 | 3 | | | |
| A (52,5 ppm) | 2,2 | 2,4 | 2,6 | 7,2 | 2,4 | 0,2 |
| B (62,5ppm) | 2,2 | 2,0 | 2,2 | 6,4 | 2,1 | 0,1 |
| C (72,5 ppm) | 2,0 | 2,2 | 2,4 | 6,6 | 2,2 | 0,2 |
| K+ | 2 | 1,8 | 2,0 | 5,8 | 1,93 | 0,1 |
| K- | 2,8 | 2,6 | 2,8 | 8,2 | 2,7 | 0,1 |
| Total | | | | 34,2 | | |

Untuk mengetahui pengaruh pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) pada pakan terhadap kerusakan berupa nekrosis pada jaringan usus dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 4

Tabel 4. Data Hasil Sidik Ragam Skoring Kerusakan Nekrosis

| Sumber Keragaman | db | JK | KT | F Hit | F 5% | F1% |
|------------------|-----------|-------------|-------|--------|------|------|
| Perlakuan | 4 | 1,10 | 0,276 | 11,5** | 3,48 | 5,99 |
| Acak | 10 | 0,24 | 0,024 | | | |
| Total | 14 | 1,34 | | | | |

*) berbeda sangat nyata

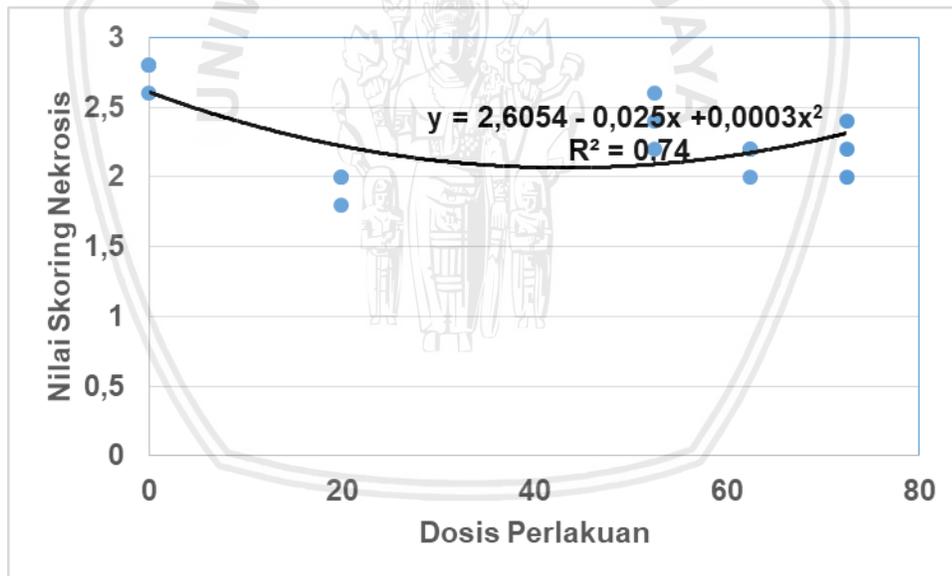
Berdasarkan table diatas bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh nilai F hitung lebih besar dari F 5% dan F 1% yang artinya pemberian ekstrak bubuk tinta cumi-cumi dengan dosis yang berbeda pada pakan berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan nekrosis pada jaringan usus ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan maka perlu dilakukan uji BNT seperti yang disajikan pada Tabel 5

Tabel 5. Uji BNT Skoring Nekrosis Jaringan Usus

| Perlakuan | Rerata | K+ | B | C | A | K- | Notasi |
|-----------|--------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|------|--------|
| | | 1,93 | 2,13 | 2,20 | 2,40 | 2,73 | |
| K+ | 1,93 | - | - | - | - | - | a |
| B | 2,13 | 0,20 ^{ns} | - | - | - | - | a |
| C | 2,20 | 0,27 ^{ns} | 0,20 ^{ns} | - | - | - | a |
| A | 2,40 | 0,47** | 0,27 ^{ns} | 0,20 ^{ns} | - | - | ab |
| K- | 2,73 | 0,80** | 0,60** | 0,53** | 0,33** | - | b |

Keterangan : **) Berbeda sangat nyata
 *) Berbeda nyata
 ns) Non significant

Berdasarkan Tabel diatas, perlakuan B (62,5 ppm) tidak berpengaruh nyata terdapat perlakuan K+. Perlakuan C (72,5 ppm) tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan K+ dan B (62,5 ppm). Perlakuan A (52,5 ppm) berpengaruh sangat nyata terhadap perlakuan K+ tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan B (62,5 ppm) dan C (72,5 ppm). Sedangkan perlakuan K- berpengaruh sangat nyata terhadap perlakuan K+, perlakuan B (62,5 ppm), perlakuan C (62,5 ppm) dan perlakuan A (52, 5 ppm) Untuk mengetahui pengaruh yang diberikan dalam penambahan bubuk tinta cumi-cumi pada pakan , maka diperlukan grafik regresi Grafik regresi disajikan pada Gambar 8



Gambar 8. Grafik Hubungan Antara Dosis Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi Pada Pakan Terhadap Kerusakan Nekrosis Usus Ikan Nila yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Grafik regresi diatas menjelaskan perbedaan hasil antar perlakuan dengan sederhana. Selain itu pada grafik regresi terdapat R^2 yang menunjukkan berapa

persen dampak yang diberikan terhadap hasil perhitungan nekrosis histopatologi usus ikan Nila (*O. niloticus*). Hubungan antara perbedaan dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) terhadap kerusakan nekrosis ikan nila menghasilkan grafik kuadratik yang menunjukkan bahwa pada dosis tertentu bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dapat bekerja sebagai antibakteri yang ditunjukkan dengan menurunnya tingkat kerusakan jaringan usus ikan nila pada perlakuan B (62,5 ppm), namun apabila dosis dinaikkan kerusakan jaringan usus ikan nila akan kembali naik. Hubungan atau grafik yang dihasilkan adalah kuadratik yang dibuktikan dengan persamaan $y = 2,6054 - 0,025x + 0,0003x^2$ dengan koefisien determinasi R^2 sebesar 0,74. Perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dengan hasil terbaik terdapat pada perlakuan B dengan dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi 62,5 ppm dengan nilai kerusakan nekrosis yaitu sebesar 2,13. Hal ini disebabkan adanya aktifitas antibakteri yang dihasilkan tinta cumi-cumi. Tinta cumi-cumi mengandung butir-butir melanin atau pigmen hitam yang secara alami terdapat dalam bentuk melanoprotein dengan kandungan melanin 90%, protein 5,8% dan karbohidrat 0,8% (Agusandi, *et al.*, 2013). Melanin dari tinta cumi-cumi mempunyai aktivitas anti-tumor dan aktivitas antibakteri (Fitrial dan Khotimah, 2017). Menurut Fadjar, *et al.* (2016), hasil uji GC-MS diketahui bahwa ekstrak tinta cumi-cumi juga mengandung senyawa asam oleat. Kandungan asam oleat dalam ekstrak tinta cumi-cumi ini dapat membunuh bakteri secara langsung dengan cara menempel pada membran bakteri (misalnya, ceragenin dan lipopeptida), yang kemudian merusak struktur dinding sel bakteri.

Menurut Radji dan Biomed (2011), nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme yaitu karbon, nitrogen, unsur non logam, unsur logam, vitamin dan air. Mikroorganisme seperti bakteri membutuhkan sumber-sumber makanan yang mengandung C, H, O dan N yang berguna untuk menyusun

protoplasma. Karbon merupakan unsur utama bagi metabolisme bakteri, sehingga dapat dijadikan sumber nutrisi bagi bakteri. Sumber karbon dapat diperoleh dari karbohidrat, protein dan lemak. Berdasarkan pendapat diatas, dimungkinkan bahwa kandungan protein yang terdapat pada bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada dosis yang tinggi dapat dimanfaatkan sebagai nutrisi oleh bakteri, sehingga menyebabkan pertumbuhannya semakin meningkat.

b. Kongesti

Kongesti merupakan peningkatan jumlah darah dalam jaringan atau terjadi pembendungan darah yang disebabkan karena gangguan sirkulasi yang dapat mengakibatkan kekurangan oksigen. Menurut Naeemi, *et al.* (2013), kongesti merupakan gangguan sirkulasi darah. Gangguan tersebut diakibatkan oleh peningkatan volume darah dalam pembuluh kapiler. Peningkatan volume darah ini diakibatkan oleh pembekakan sel yang menyebabkan sinusoid menyempit, sehingga aliran darah akan tersumbat atau terganggu. Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* yang diberi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada pakan memperoleh hasil rata-rata yang tidak jauh beda terhadap kerusakan kongesti yang terjadi pada usus ikan nila. Data diperoleh dari Skoring Setelah dilakukan skoring maka data diolah menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Berdasarkan rerata skoring kongesti dapat dilihat pada Tabel 6

Tabel 6. Rerata Kerusakan Kongesti Pada Jaringan Usus Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Perlakuan | Ulangan | | | Total | Rerata | STD |
|--------------|---------|-----|-----|-------------|--------|-----|
| | 1 | 2 | 3 | | | |
| A (52,5 ppm) | 2,4 | 2,4 | 2,2 | 7 | 2,33 | 0,1 |
| B (62,5ppm) | 1,8 | 1,8 | 2,2 | 5,8 | 1,93 | 0,2 |
| C (72,5 ppm) | 2,0 | 2,2 | 2,0 | 6,2 | 2,00 | 0,1 |
| K+ | 1,6 | 1,8 | 1,8 | 5,2 | 1,73 | 0,1 |
| K- | 2,8 | 2,4 | 2,6 | 7,8 | 2,60 | 0,2 |
| Total | | | | 32,2 | | |

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tinta cumi-cumi terhadap kerusakan berupa kongesti pada jaringan usus dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 7

Tabel 7.Data Sidik Ragam Skoring Kerusakan Kongesti

| Sumber Keragaman | db | JK | KT | F Hit | F 5% | F1% |
|------------------|----|------|------|-------|------|------|
| Perlakuan | 4 | 1,39 | 0,35 | 13** | 3,48 | 5,99 |
| Acak | 10 | 0,27 | 0,03 | | | |
| Total | 14 | 1,65 | | | | |

**)berbeda sangat nyata

Berdasarkan perhitungan sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak tinta cumi-cumi dengan dosis yang berbeda pada pakan memberikan pengaruh sangat nyata terhadap kerusakan berupa kongesti pada jaringan usus ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, hal ini dilihat dari nilai F hitung lebih besar dari pada F 5% dan 1%. Untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan maka perlu dilakukan uji BNT seperti yang disajikan pada Tabel 8

Tabel 8. Uji BNT Kongesti Usus Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Perlakuan | Rerata | K+ | B | C | A | K- | Notasi |
|-----------|--------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------|--------|
| | | 1,73 | 1,93 | 2,07 | 2,33 | 2,60 | |
| K+ | 1,73 | | | | | | a |
| B | 1,93 | 0,20 ^{ns} | | | | | a |
| C | 2,07 | 0,33 ^{ns} | 0,13 ^{ns} | | | | a |
| A | 2,33 | 0,60** | 0,40* | 0,27 ^{ns} | | | ab |
| K- | 2,60 | 0,87** | 0,67** | 0,53** | 0,27 ^{ns} | | b |

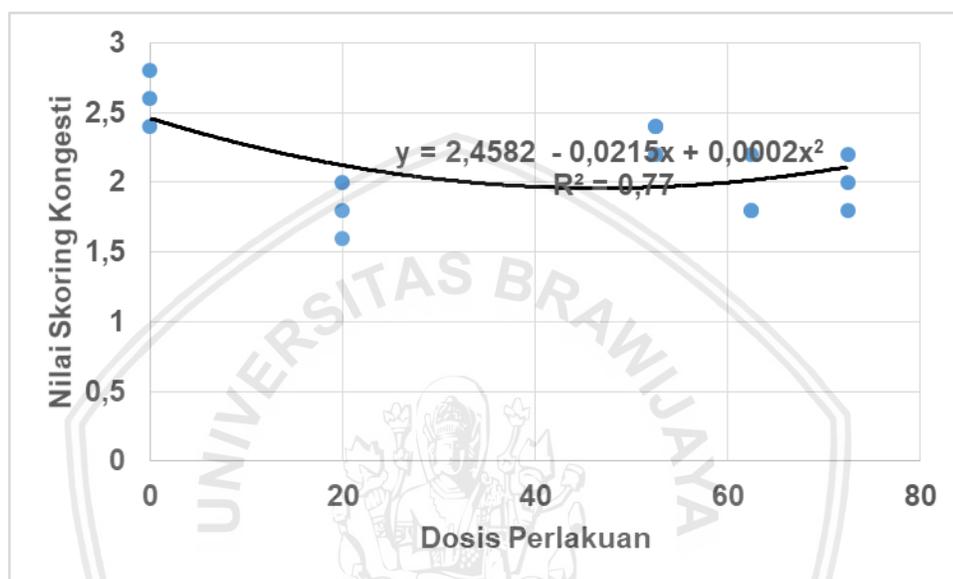
Keterangan : **) Berbeda sangat nyata

*) Berbeda nyata

ns) Non significant

Berdasarkan Tabel diatas, perlakuan B (62,5 ppm) tidak berpengaruh nyata terdapat perlakuan K+. Perlakuan C (72,5 ppm) tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan K+ dan B (62,5 ppm). Perlakuan A (52,5 ppm) berpengaruh sangat nyata terhadap perlakuan K+, berpengaruh nyata terhadap perlakuan B (62,5 ppm) tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap dan C (72,5 ppm). Sedangkan perlakuan K-

berpengaruh sangat nyata terhadap perlakuan K+,perlakuan B (62,5 ppm), perlakuan C (62,5 ppm) tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan A (52, 5 ppm) Untuk mengetahui pengaruh yang diberikan dalam penambahan bubuk tinta cumi-cumi pada pakan , maka diperlukan grafik regresi. Grafik regresi disajikan pada Gambar 9



Gambar 9. Grafik Hubungan Antara Dosis Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi Pada Pakan Terhadap Kerusakan Kongesti Usus Ikan Nila yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Grafik regresi diatas menjelaskan perbedaan hasil antar perlakuan dengan sederhana. Selain itu pada grafik regresi terdapat R^2 yang menunjukkan berapa persen dampak yang diberikan terhadap hasil perhitungan kongesti histopatologi usus ikan Nila (*O. niloticus*). Hubungan antara perbedaan dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) terhadap kerusakan kongesti ikan nila menghasilkan grafik kuadrat yang menunjukkan bahwa pada dosis tertentu bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dapat bekerja sebagai antibakteri yang ditunjukkan dengan menurunnya tingkat kerusakan jaringan usus ikan nila pada perlakuan B (62,5 ppm), namun apabila

dosis dinaikkan kerusakan jaringan usus ikan nila akan kembali naik. Hubungan atau grafik yang dihasilkan adalah kuadratik yang dibuktikan dengan persamaan $y = 2,4582 - 0,0215x + 0,0002x^2$ dengan koefisien determinasi R^2 sebesar 0,77. Perlakuan pemeberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dengan hasil terbaik terdapat pada perlakuan B dengan dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi 62,5 ppm dengan nilai kerusakan nekrosis yaitu sebesar 1,93. Hal ini disebabkan adanya aktifitas antibakteri yang dihasilkan tinta cumi-cumi. Tinta cumi-cumi mengandung butir-butir melanin atau pigmen hitam yang secara alami terdapat dalam bentuk melanoprotein dengan kandungan melanin 90%, protein 5,8% dan karbohidrat 0,8% (Agusandi, *et al.*, 2013). Melanin dari tinta cumi-cumi mempunyai aktivitas anti-tumor dan aktivitas antibakteri (Fitrial dan Khotimah, 2017). Menurut Fadjar, *et al.* (2016), hasil uji GC-MS diketahui bahwa ekstrak tinta cumi-cumi juga mengandung senyawa asam oleat. Kandungan asam oleat dalam ekstrak tinta cumi-cumi ini dapat membunuh bakteri secara langsung dengan cara menempel pada membran bakteri (misalnya, ceragenin dan lipopeptida), yang kemudian merusak struktur dinding sel bakteri.

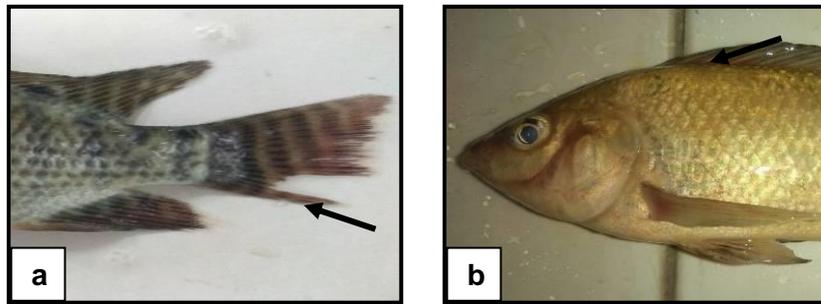
Menurut Radji dan Biomed (2011), nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme yaitu karbon, nitrogen, unsur non logam, unsur logam, vitamin dan air. Mikroorganisme seperti bakteri membutuhkan sumber-sumber makanan yang mengandung C, H, O dan N yang berguna untuk menyusun protoplasma. Karbon merupakan unsur utama bagi metabolisme bakteri, sehingga dapat dijadikan sumber nutrisi bagi bakteri. Sumber karbon dapat diperoleh dari karbohidrat, protein dan lemak. Berdasarkan pendapat diatas, dimungkinkan bahwa kandungan protein yang terdapat pada bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada dosis yang tinggi dapat dimanfaatkan sebagai nutrisi oleh bakteri, sehingga menyebabkan pertumbuhannya semakin meningkat.

4.2 Parameter Pendukung

4.2.1 Gejala Klinis

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan secara visual untuk mengetahui perubahan tingkah laku dan perubahan morfologi ikan nila setelah dilakukan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* didapatkan hasil bahwa pada saat dilakukan perendaman bakteri, ikan nila terlihat berenang tidak normal yang ditandai dengan pergerakan mulai melemah. Pada saat dilakukan pengecekan morfologi sirip pectoral terdapat bercak kemerahan dan sirip ekor terlihat geripis. Selanjutnya dilakukan pengamatan yang dilakukan saat penelitian terjadi penurunan nafsu makan pada ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan terjadi kematian. Hal ini sesuai dengan pernyataan Maisyaroh *et al.* (2018) bahwa gejala klinis pada ikan Nila pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* ditandai dengan perubahan tingkah laku pada 6 jam setelah infeksi. Perubahan tingkah laku ditandai dengan ikan nila berenang abnormal, ikan berdiam diri didasar akuarium, berenang mendekati aerasi dan nafsu makan menurun.

Menurut Adiputri *at al.* (2014), gejala klinis pada ikan *catfish* yang timbul setelah penginfeksi *A. hydrophilla* yaitu mengalami radang pada daerah penyuntikan, kemudian berkembang menjadi haemoragi dan tukak. Menurut Hardi *et al.* (2014), ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* menyebabkan munculnya gejala klinis abnormalitas pada pola berenang dan penurunan nafsu makan. Selain gejala klinis tingkah laku terdapat pula perubahan organ eksternal dan internal pada semua perlakuan yang muncul 24 jam pasca infeksi berupa adanya peradangan, kemerahan pada punggung, dan juga rongga perut berisi cairan (*dropsy*) dan pembengkakan pada organ internal ikan nila. Gejala klinis ikan nila dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Gejala Klinis Ikan Nila (*O. niloticus*) yang Terserang Bakteri *A. hydrophila* (a) Sirip ekor geripis (b) Bercak kemerah-merahan pada bagian tubuh.

4.2.2 Kualitas Air

Parameter pendukung dalam penelitian ini yaitu kualitas air. Kualitas air yang diamati dalam penelitian ini yaitu suhu, pH, dan DO (*Dissolved Oxygen*). Pengukuran dilakukan setiap hari selama 7 hari yaitu pada pagi dan sore hari yaitu pukul 08.00 WIB dan 16.00 WIB. Hasil kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 4

a. Suhu

Hasil pengukuran kualitas air yang diperoleh selama penelitian pada parameter suhu didapatkan hasil berkisar antara 26-28, 3°C. Hasil yang diperoleh masih dalam keadaan optimal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sari *et al.* (2017) bahwa suhu optimal dalam pemeliharaan ikan bekisar antara 25–30°C. Pertumbuhan ikan akan terhambat apabila suhu dibawah 20°C. Khairuman dan Amri (2008) menambahkan bahwa ikan nila aktif mencari makan pada siang hari dimana aktivitas makan dan gerak terbaik pada suhu diatas 20°C. Suhu dapat mempengaruhi aktifitas kehidupan organisme seperti nafsu makan ikan. Jika suhu meningkat maka akan meningkatkan pengambilan makanan oleh ikan dan turunnya suhu menyebabkan proses pencernaan dan metabolisme akan berjalan lambat (Effendi, 2003).

b. Oksigen Terlarut

Oksigen terlarut merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan sebagai pilihan utama menentukan layak tidaknya sumber air untuk digunakan dalam kegiatan budidaya. Hasil DO (*Dissolved Oxygen*) yang diperoleh selama penelitian yaitu berkisar antara 4,52-6,1 ppm. Hasil kualitas air yang diperoleh pada parameter DO (*Dissolved Oxygen*) masih berada dalam kondisi optimal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Warasto (2013), salah satu parameter penting dalam analisis kualitas air. Nilai DO yang biasanya diukur dalam bentuk konsentrasi ini menunjukkan jumlah oksigen yang tersedia dalam suatu badan air. Semakin besar nilai DO pada air, mengindikasikan air tersebut memiliki kualitas yang bagus. Sebaliknya jika nilai DO rendah, dapat diketahui bahwa air tersebut telah tercemar. Oksigen terlarut yang baik untuk budidaya perairan yaitu lebih dari 5 mg.L⁻¹. Sementara itu, konsentrasi oksigen yang baik untuk budidaya ikan nila adalah antara 5-7 mg.L⁻¹. Pada perairan dengan konsentrasi oksigen dibawah 4 mg.L⁻¹, beberapa jenis ikan masih mampu bertahan hidup, akan tetapi nafsu makannya mulai menurun (Monalisa dan Minggawati, 2010).

c. pH

Hasil pengukuran pH selama penelitian didapatkan hasil yaitu berkisar antara 6, 36-7, 31. Hasil pengukuran yang diperoleh berada dalam kondisi optimal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Siniwoko (2013) bahwa nila masih dapat tumbuh dengan baik pada kisaran pH 5–10. Batas pH yang mematikan adalah sebelas atau lebih. Sebaiknya, pH air dipertahankan pada nilai netral atau pada kisaran 6,8–7,5. Menurut El-Sherif dan El-Feky (2009), derajat keasaman (pH) merupakan komponen kimia dari kualitas air yang dapat mempengaruhi perkembangan ikan kisaran pH

untuk pertumbuhan optimalnya terjadi pada pH 7-8, sedangkan pH untuk habitat ikan nila antara 6-8,5

d. Kelulushidupan (SR)

Persentase nilai kelulushidupan merupakan salah satu parameter pendukung dalam penelitian ini. Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian bubuk tinta cumi-cumi didapatkan hasil rerata persentase kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* seperti yang dapat dilihat pada Tabel 9

Tabel 9 . Rerata Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*) (%)

| Perlakuan | Ulangan | | | Total | Rerata | STD |
|--------------|---------|-------|-------|---------|--------|------|
| | 1 | 2 | 3 | | | |
| A (52,5 ppm) | 84,46 | 76,92 | 76,92 | 238,3 | 79,43 | 4,35 |
| B (62,5ppm) | 92,00 | 84,46 | 92 | 268,46 | 89,49 | 4,35 |
| C (72,5 ppm) | 84,46 | 76,92 | 84,46 | 245,84 | 81,95 | 4,35 |
| K+ | 100,00 | 84,46 | 92 | 276,46 | 92,15 | 7,77 |
| K- | 61,53 | 46,15 | 53,84 | 161,52 | 53,84 | 7,69 |
| | | | | 1190,58 | | |

Selanjutnya dilakukan perhitungan sidik ragam untuk mengetahui pengaruh bubuk ekstrak cumi-cumi (*Loligo* sp.) terhadap parameter pendukung yaitu kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*). Hasil perhitungan sidik ragam kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Sumber Keragaman | db | JK | KT | F Hit | F 5% | F1% |
|------------------|----|---------|--------|---------|------|------|
| Perlakuan | 4 | 2772,55 | 693,14 | 19,65** | 3,48 | 5,99 |
| Acak | 10 | 352,76 | 35,28 | | | |
| Total | 14 | 3125,31 | | | | |

Keterangan **= berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel diatas, pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) pada pakan berpengaruh sangat nyata terhadap kelulushidupan ikan nila. Hal ini ditunjukkan oleh hasil F hitung yang lebih besar daripada F 5% dan F 1%.

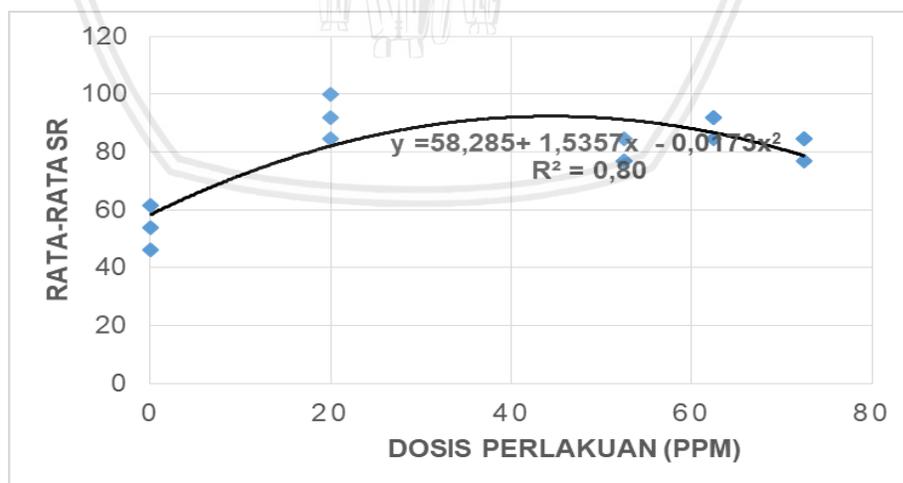
Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil. Tujuan dari Uji BNT ini yaitu untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Hasil uji BNT berdasarkan perhitungan yang dilakukan dapat dilihat pada Tabel 11

Tabel 11. Hasil Uji BNT Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Perlakuan | Rata-Rata | K+ | B | C | A | K- | Notasi |
|-----------|-----------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|--------|
| | | 92,15 | 89,49 | 81,95 | 79,43 | 53,84 | |
| K+ | 92,15 | | | | | | a |
| B | 89,49 | 2,67 ^{ns} | | | | | a |
| C | 81,95 | 10,21 ^{ns} | 7,54 ^{ns} | | | | a |
| A | 79,43 | 12,72 ^{**} | 10,05 ^{ns} | 2,51 ^{ns} | | | ab |
| K- | 53,84 | 38,31 ^{**} | 35,65 ^{**} | 28,11 ^{**} | 25,59 ^{**} | | b |

Keterangan : **) Berbeda sangat nyata
 *) Berbeda nyata
 ns) Non significant

Berdasarkan Tabel diatas dapat dijelaskan bahwa perlakuan A berpengaruh sangat nyata terhadap perlakuan K+ tetapi tidak berbeda nyata terhadap perlakuan B (62,5 ppm) dan perlakuan C (72,5 ppm). Perlakuan K- berpengaruh sangat nyata terhadap perlakuan A (52,5 ppm), B (62,5 ppm) dan perlakuan C (72,5 ppm). Selanjutnya dilakukan perhitungan polynomial orthogonal. Hasil dari perhitungan dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Grafik Hubungan Antara Dosis Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi Pada Pakan Terhadap Kelulushidupan Ikan Nila yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Grafik regresi diatas menjelaskan perbedaan hasil antar perlakuan dengan sederhana. Selain itu pada grafik regresi terdapat R^2 yang menunjukkan berapa persen dampak yang diberikan terhadap hasil perhitungan kelulushidupan ikan Nila (*O. niloticus*). Hubungan antara perbedaan dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) terhadap kerusakan nekrosis ikan nila menghasilkan grafik kuadratik yang menunjukkan bahwa pada dosis tertentu bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dapat bekerja sebagai antibakteri yang ditunjukkan dengan meningkatnya kelulushidupan ikan nila pada perlakuan B (62,5 ppm), namun apabila dosis dinaikkan kelulushidupan ikan nila akan kembali naik. Hubungan atau grafik yang dihasilkan adalah kuadratik yang dibuktikan dengan persamaan $y = 58,285 + 1,5357x - 0,0173x^2$ dengan koefisien determinasi R^2 sebesar 0,80. Perlakuan pemeberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dengan hasil terbaik terdapat pada perlakuan B dengan dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi 62,5 ppm dengan nilai kelulushidupan sebesar 89,49 %. Pelezar dan Chan (1986) berpendapat bahwa semakin tinggi konsentrasi antimikroba yang digunakan maka semakin cepat dalam membunuh bakteri, akan tetapi penggunaan konsentrasi yang terlalu tinggi kurang efektif dalam pengobatan karena dapat membunuh ikan dan juga kurang ekonomis dalam pemanfaatannya

Tinta cumi mengandung butir-butir melanin atau pigmen hitam yang secara alami terdapat dalam bentuk melanoprotein dengan kandungan melanin 90%, protein 5,8% dan karbohidrat 0,8% (Agusandi, *et al.*, 2013). Selain itu tinta cumi mengandung pula lemak dan glikosaminoglikan. Melanin dari tinta cumi-cumi mempunyai aktivitas anti-tumor dan aktivitas antibakteri (Fitrial dan Khotimah, 2017). Fadjar, *et al.* (2016) juga menambahkan bahwa dari hasil uji GC-MS diketahui bahwa ekstrak tinta cumi-cumi mengandung senyawa asam oleat. Kandungan asam

oleat dalam ekstrak tinta cumi-cumi dapat membunuh bakteri secara langsung. Asam oleat dalam tinta cumi dapat menempel pada membran bakteri (misalnya, ceragenin dan lipopeptida), yang kemudian merusak struktur dinding sel bakteri. Penghambatan dapat terjadi setelah 24 jam inkubasi.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) pada pakan terhadap histopatologi usus ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* yakni penggunaan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) berpengaruh nyata terhadap histopatologi usus ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan perlakuan terbaik pada perlakuan B (62,5 ppm) yang mendapatkan nilai kerusakan nekrosis dan kongesti yaitu 2,13 dan 1,93.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian yakni disarankan untuk menggunakan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dalam penanggulangan stres akibat infeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan nila. Perlu dilakukannya penelitian penelitian dalam skala lapang karena banyak faktor yang mempengaruhi dibandingkan dalam skala laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifianto, E. dan Liviawaty, E., 1992. Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan Kanisius, Jakarta. 81 hlm.
- Aisiah, S. 2012. Efikasi ekstraksi mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* dan toksisitasnya pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Sains Akuatik*. **14**(1): 55 – 63.
- Amri, K dan Khairuman. 2003. Budi Daya Ikan Nila Secara Intensif. Jakarta. Agromedia. 62 hlm.
- Andriani, Y. 2018. Budidaya Ikan Nila. Yogyakarta. Deepublish. 72 hlm.
- Ardianto, E. (2011). Metodologi Penelitian Untuk Public Relations Kuantitatif dan Kualitatif. Bandung: Simbiosis Rekatama Media. 45 hlm.
- Austin, B. dan Austin, D.A. (1987) *Bacterial Fish Pathogen: Disease in Farmed And Wild Fish*. Ellis. Horwood Ltd., Chichester: John Wiley & Sons. 58 hlm.
- Bullock R.E., D.A. Conroy and S.F. Sniesko, 1971. The Identification of Fish Pathogenic Bacteria. Book 2 B. T.H.F. Publication. England. 35 hlm.
- Camargo, M. M. P dan C.B.R Martinez. 2007. *Histopathology of gills, kidney, and liver of a neotropical fish caged in an urban stream. Neotropical Ichthyology*. **5**(3): 327-336.
- Derby, Charles D. 2014. Cephalopod ink: production, chemistry, functions and applications. *Marine drugs*. **12**: 2700-2730.
- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air. Kanisius. Yogyakarta. 115 hlm.
- Fadjar, M., K. Zaelanie dan A.R. Faqih. 2015. Ekstrak tinta cumi (*Loligo sp.*) sebagai *inhibitor autoinducer quorum sensing* bakteri *Vibrio harveyi* pada budidaya udang vanamei (*Litopenaeus vannamei*). Laporan Akhir Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi. Universitas Brawijaya. Malang. 71 hlm.
- _____, S. Andajani and K. Zaelani. 2016. Squid (*Loligo edulis*) ink raw extract as an anti-vibriosis substance in grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) juvenile culture infected by *Vibrio alginolyticus*. *AAFL Bioflux*. **9** (2): 422-428.
- Fitrial, Y. dan I. K. Khotimah. 2017. Aktivitas antibakteri dari melanin tinta sotong dan cumi-cumi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. **20** (2): 266-274.
- Eko Prasetyo*, Muhammad Mursin, Eka Indah Raharjo, 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, Universitas Muhammadiyah Pontianak*. **12**(2): 58 – 671.

El-Sherif M.S. dan El-Feky AMI. 2009. Performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fingerlings. II .Influence of Different Water Temperatures. *Int J. Agric Biol*. 11:301-305.

Haryani, A. R. Grandiosa, I. D. Buwono, dan A. Santika. 2012. Uji efektivitas daun pepaya untuk pengobatan infeksi bakteri *A. hydrophyla* pada ikan mas koki. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3**(3):214-220.

Hardi, E.H., C.A. Pebrianto., T. Hidayanti dan R.T. Handayani. 2014. Infeksi *Aeromonas hydrophila* Melalui Jalur yang Berbeda pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Loa Kulu Kutai Kartanegara Kalimantan Timur. *Jurnal Kedokteran*. **8**(2):130 – 133.

Harini Citra Pratiwi dan Abdul Manan. 2017. Teknik dasar histologi pada ikan gurami (*Osphronemus gouramy*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **7**(2): 153-158.

Hartami, P., Mukhlis dan Erniati. 2015. Konsumsi harian yang berbeda dari beberapa strain ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Acta Aquatica*. **2**(1): 1-7.

Hamdani, A. S dan E. Bahruddin. 2014. Metode Penelitian Kauntitatif Aplikasi Dalam Pendidikan. Deepublish. Yogyakarta.94 hlm.

Hossain, M.K., Hossain, M.D., & Rahma, M.H. (2007).Histopathology of some diseased fishes. *Journal Life Earth Science*. **2**(2), 47-50.

Holt, J. G., N. R. Kreig, P.H.A. Sneath, J. T. Staley, dan S. T. Williams. 1998. *Bergey's Manual of Determinative Microbiology*. 9th ed. The Williams and Wilkins Co. Baltimore. 787 pp.

Indriani, A. D., S. B. Prayitno dan Sarjito. 2014. Penggunaan ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) sebagai alternatif pengobatan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3**(3): 58-65

Isnawati, N., R. Sidik, dan G. Mahasri. 2015. Potensi serbuk daun pepaya untuk meningkatkan efisiensi pemanfaatan Pakan, rasio efisiensi protein dan laju pertumbuhan relatif pada budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **7**(2): 121-124..

Juanda S. Jdan S. Imelda Edo. 2018. Histopatologi insang, hati dan usus ikan lele (*Clarias gariepinus*) Di Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur. *Journal of Fisheries Science and Technology*. **14**(1): 23-29.

Junqueira, L. and J. Carneiro. 2007. *Histologi Dasar Teks dan Atlas*. Edisi 10. EGC,

Jakarta. 88 hlm.

- Kabata, Z. 1985. *Parasites and disease of fish cultured in the tropics London and Philadelphia*. Taylor and Fancis Press. 95 hlm.
- Kaemudin, A. Erlina dan A. Taslihan. 2016. Aplikasi ekstrak allisin untuk pengendalian penyakit kotoran putih pada udang vanamei (*Litopenaus vanamei*) di Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara. *Prosiding Seminar Nasional Tahun Ke-V Hasil-Hasil Penelitian Perikanan Dan Kelautan*. Hlm. 257-262.
- Kahfi, K. E., M. Riauaty dan I. Lukistyowati. 2017. Histopatologi hati dan ginjal ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diberi pakan simplisia kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L). *Jurnal Online Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Riau*. 1-11.
- Kamiso, H. N., Triyanto, dan S. Hartati. 1994. Karakteristik *Aeromonas hydrophilla* pada ikan lele (*Clarias* sp.) di daerah istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah Selatan. *Agricultural Science*. **5** (4): 741-750.
- Kee, J. L. Dan E.R. Hayes. 1996. Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan. Penerbit Buku Kedokteran EGC. 802 hlm.
- Khoifah R E dan H. M. Pasa. 2016. Peran dinas peternakan dan perikanan dalam mengembangkan usaha perikanan budidaya di Kecamatan Tlogosari Kabupaten Bondowoso. *Politico*. **16**(2):11-23.
- Kordi, K dan Ghufron. 2004. Penanggulangan Hama Penyakit Ikan. PT. Rineka Cipta dan PT. Bima Adiaksaa. Jakarta. 66 hlm
- Krieg, N.R dan J.G Holt. 1984. *Bergeys Manual of System Bacteriology*. Edisi ke 1. United States ig America Baltimore: Williams and Wilkins Company. 105 hlm.
- Kusmiyati dan N. W. S. Agustini. 2007. Uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas*. **8** (1): 48-53.
- Laith AR*, and Najiah M. 2013. *Aeromonas hydrophila: Antimicrobial Susceptibility and Histopathology of Isolates from Diseased Catfish, Clarias gariepinus (Burchell)*. *J Aquac Res Development*. **5**(2): 1-7.
- Lukistyowati, I dan Kurniasih. 2012. Pelacakan Gen Aerolysin dari *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas yang diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih. *Jurnal Veteriner*. **13**(1): 43-50.
- Maftuch, G. A. K. Fariestha, H. Suprastyani. 2016. The influence of ketapang (*Terminalia catappa*) bark extract on survival rate and histopathology of common carp (*Cyprinus carpio*) liver which is infected by *Aeromonas hydrophila*. *Omni Akuatika*. **12** (2): 11–16.

- Maisyaroh, L. A., T. Susilowati., A. H. Haditomo, Fajar Basuki dan T. Yuniarti. 2018. Penggunaan ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) sebagai antibakteri untuk mengobati infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*. **2**(2):36-43.
- Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari, dan E. Riani. 2010. Uji patogenisitas dan virulensi *aeromonas hydrophila* stanier pada ikan nila (*Oreochromis niloticus* lin. Melalui postulat Koch. *J. Ris. Akuakultur*. **5**(2) Tahun 2010: 245-255.
- Monalisa, S.S dan I. Minggawati. 2010. Kualitas air yang mempengaruhi pertumbuhan ikan nila (*oreochromis* sp.) di kolam beton dan terpal. Fakultas Perikanan Universitas Kristen Palangkaraya. Palangkaraya. *Journal of Tropical Fisheries*. **5**(2):526 – 530.
- Mulyani, Y., E. Bachtiar, dan M. U. Kurnia. 2013. Peranan senyawa metabolit sekunder tumbuhan mangrove terhadap infeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan mas (*C. carpio*). *Jurnal Veteriner*. **13**(1): 43-50.
- Mulia, D.S., 2003. Pengaruh vaksin debris sel *Aeromonas hydrophila* dengan kombinasi cara vaksinasi dan booster terhadap respon imun dan tingkat perlindungan relatif pada lele dumbo (*Clarias gariepinus* Burchell). Tesis. PPs Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Nair, J. R., D. Pillai., S. M. Joseph., P. Gomathi., P. V. Senan and P. M. Sherief. 2011. Chepalopod research and bioactive substances. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. **40** (1): 13-27.
- Olga. 2012. Patogenisitas bakteri *Aeromonas hydrophila* asb01 pada ikan gabus (*Ophicephalus striatus*). *Sains Akuatik*. **14** (1): 33 – 39.
- Persulesy, E. R., F. K. Lembang, dan H. Djidin. 2016. Penilaian cara mengajar menggunakan rancangan acak lengkap (studi kasus: jurusan matematika fmipa unpatti). *Jurnal Ilmu Matematika dan Terapan*. **10** (1):9 – 16.
- Radji, M. dan M. Biomed. 2011. Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. EGC. Jakarta. 320 hlm.
- Rahmaningsih, W. 2018. Hama dan Penyakit Ikan. Deepublish. Yogyakarta. 46 hlm.
- Rosmawaty, R., Rosidah, dan E. Liviawaty. 2016. Pemanfaatan ekstrak kulit jengkol dalam pakan ikan untuk meningkatkan imunitas benih gurame (*Osphronemus gouramy*) terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan Kelautan*. **7**(1): 14-22.
- Rukmana. R. 1997. Ikan Nila, Budi Daya dan Aspek Agribisnis. Yogyakarta. Kanisius. 35 hlm.

- Saragih, S. P., H. Syawal, dan M. Rauwaty. 2016. Total of erythrocytes, haematocrit, and haemoglobin changes of *Pangasius hypophthalmus* that were immersed in curcumin extract and that were in infected by *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Online Mahasiswa*. **3**(2): 1-14.
- Sari, E. T.P., Trigunaedi dan E indrayani. 2017. Pengendalian Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*). *Jurnal Biologi Papua* **9**(2):37–42.
- Setyowati, A., D. Hidayati, Awik P. D. N. Dan N. Abdulgani. 2010 Studi histopatologi hati ikan belanak (*Mugil cephalus*) di muara Sungai Aloo Sidoarjo. *Jurnal Akuakultur*. **1** (1): 1 – 10.
- Siswandari, W. 2005. Nilai Diagnosis Pemeriksaan Imunositokimia Limfosit Sediaan Apus Darah Tepi Dibandingkan Analisis Kromosom pada Penderita dengan Dugaan Sindroma Fragile X. Tesis. *Tidak dipublikasikan*.
- Siniwoko ED. 2013. Budidaya dan bisnis ikan nila. Dufa Publishing, Surabaya. 72 hlm.
- Sujana, A dan H. Rahmawati. 2018. Analisis sistem informasi pengolahan data nilai raport. *Isu Teknologi Stt Mandala*. **13**(1). 78-88.
- Susanto, D. 2008. Gambaran Histopatologi Organ Insang, Otot dan Usus Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) di Desa Cibanteng. FKH. IPB.
- Suyanto, R. 2010. Pembenihan dan pembesaran Ikan Nila. Jakarta. Penebar Swadaya.
- Suyanto, S.R. 2005. Nila. Penerbit Swadaya, Bogor. 38 hlm.
- Tambayong. 1995. Histologi Dasar. Buku Kedokteran EGC, Jakarta. 55 hlm.
- Trisna, D. E., A. D. Sasanti dan Muslim. Populasi bakteri, kualitas air media pemeliharaan dan histologi benih ikan gabus (*Channa striata*) yang diberi pakan berprobiotik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. **1**(1):90-102
- Wahjuningrum, D., E. H. Solikhah, T. Budiardi, dan M. Setiawati. 2010. Pengendalian infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) dengan campuran meniran (*Phyllanthus niruri*) dan bawang putih (*Allium sativum*) dalam pakan. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **9**(2): 93–103.
- Wahjuningrum, D., R. Astrini, dan M. Setiawati. 2013. Pencegahan infeksi *Aeromonas hydrophilla* pada benih ikan lele *Clarias sp.* yang berumur 11 hari menggunakan bawang putih *Allium sativum* dan meniran *Phyllanthus niruri*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **12** (1): 94-104.

- Warasto, Yulisman dan M. Fitriani. 2013. Tepung kiambang (*Salvinia molesta*) terfermentasi sebagai bahanpakan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. **1**(2):173-183.
- Wardhani, A. K., Sudarno dan R. Kusdarwati. 2017. Gambaran histopatologi kulit dan insang benih ikan lele (*Clarias* sp.) yang terinfeksi *Saprolegnia* sp. dan yang telah diobati dengan ekstrak daun sirih (*Piper Betle* L.). *Journal of Aquaculture and Fish Health*. **7** (1):25-31.
- Yin, G., Ardo L., Thompson, K.D., Adams A., Jeney Z., Jeney G., 2010. *Chinese Herbs (Astragalus radix and Ganoderma Lucidum) Enhance Immune Respons of carps, Cyprinus carpio and Protection Againts Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*. **26** (1):140 -145.

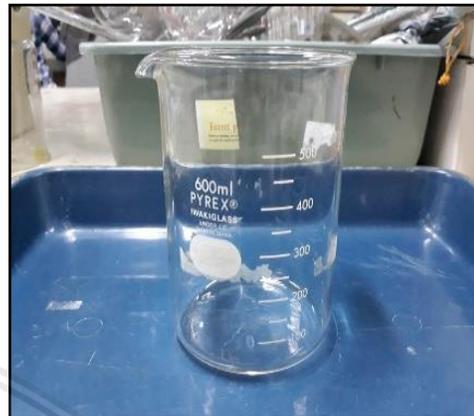


Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat Penelitian



Autoclave



Beaker Glass

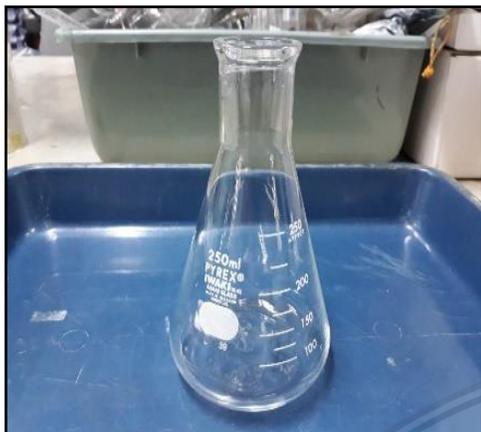


Botol Filum



Bunsen

Lampiran 1. Lanjutan



Erlenmeyer



Inkubator



Jarum Ose



Kulkas



Lampiran 1. Lanjutan



Fortex mixer



LAF



Nampan



Spatula

Lampiran 1. Lanjutan



Timbangan Digital

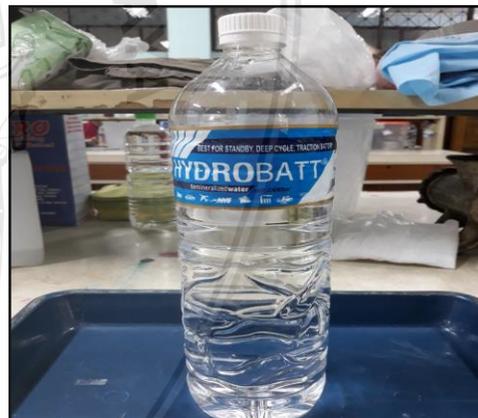


Sectio set

b. Bahan Penelitian



Alkohol



Aquades

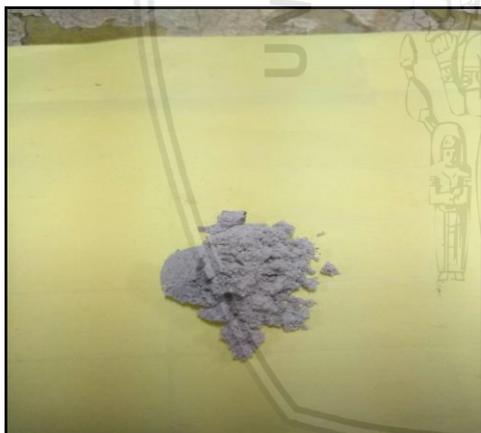
Lampiran 1. Lanjutan



Alumunium foil



Formalin 10%



Bubuk tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.)



Pelet

Lampiran 2. Perhitungan Pembuatan Media TSB (Tryptic Soy Broth) dan Perhitungan Pengenceran Bakteria. Pembuatan Media TSB (*Tryptic Soy Broth*)

Petunjuk pembuatan yakni 30 gram media TSB (*Tryptic Soy Broth*) dilarutkan dalam 1 liter akuades. Media yang akan digunakan adalah 266 ml, sehingga perhitungannya yakni sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{a. TSB (Tryptic Soy Broth)} &= \frac{30}{1000} = \frac{x}{266 \text{ ml}} \\ &= 7,98 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. Perhitungan Pengenceran Bakteri} & x \cdot 10^{10} = 20.000 \cdot 10^7 \\ & x = 20 \text{ ml} \end{aligned}$$



Lampiran 3. Analisa Data Pengamata Histologi Usus Ikan Nila (*O. niloticus*)

a. Nekrosis

Tabel Skoring Nekrosis

| Perlakuan | Ulangan | Area Lapang Pandang | | | | | Rerata LP | Rerata Sampel |
|-----------|---------|---------------------|---|---|---|---|-----------|---------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| A | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2,2 | 2,40 |
| | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2,4 | |
| | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2,6 | |
| B | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2,2 | 2,13 |
| | 2 | 3 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | |
| | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2,2 | |
| C | 1 | 3 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2,20 |
| | 2 | 2 | 3 | 3 | 2 | 1 | 2,2 | |
| | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2,4 | |
| K+ | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1,93 |
| | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1,8 | |
| | 3 | 1 | 1 | 2 | 3 | 3 | 2 | |
| K- | 1 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2,8 | 2,73 |
| | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 2,6 | |
| | 3 | 4 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2,8 | |

Data Rerata Nilai Skoring

| Perlakuan | Ulangan | | | Total | Rerata | STDV |
|--------------|---------|-----|-----|-------------|--------|------|
| | 1 | 2 | 3 | | | |
| A (52,5 ppm) | 2,2 | 2,4 | 2,6 | 7,2 | 2,4 | 0,2 |
| B (62,5ppm) | 2,2 | 2,0 | 2,2 | 6,4 | 2,1 | 0,1 |
| C (72,5 ppm) | 2,0 | 2,2 | 2,4 | 6,6 | 2,2 | 0,2 |
| K+ | 2 | 1,8 | 2,0 | 5,8 | 1,93 | 0,1 |
| K- | 2,8 | 2,6 | 2,8 | 8,2 | 2,7 | 0,1 |
| Total | | | | 34,2 | | |

Perhitungan

$$\begin{aligned}
 1. \text{ Faktor Koreksi} &= \frac{(\sum G)^2}{n \cdot x \cdot r} \\
 &= \frac{(34,2)^2}{5 \cdot 3} \\
 &= 77,97
 \end{aligned}$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 2. \text{ Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= \sum X_{ij} - FK \\
 &= (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (K)^2 - FK \\
 &= 2,2^2 + 2,4^2 + 2,6^2 + \dots + 2,8^2 - 77,97 \\
 &= 1,34
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{(\sum x_i)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum k^+) + (\sum k^-)}{3} - FK \\
 &= \frac{(7,2)^2 + (6,4)^2 + (6,6)^2 + (5,8)^2 + (8,2)^2}{3} - 77,97 \\
 &= 1,1
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\
 &= 1,34 - 1,1 \\
 &= 0,24
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ db Total} &= (n \times r) - 1 \\
 &= (5 \times 3) - 1 \\
 &= 14
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 5 - 1 \\
 &= 4
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \text{ db Acak} &= n (r - 1) \\
 &= 5 (3 - 1) \\
 &= 10
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8. \text{ Kuadrat Tengah Perlakuan} &= \frac{JKP}{db} \\
 &= \frac{1,1}{4} \\
 &= 0,27
 \end{aligned}$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

9. Kuadrat Tengah Acak $= \frac{JKA}{db}$

$= \frac{1,1}{10}$

$= 0,024$

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

$= \frac{0,27}{0,02}$

$= 11,5$

a. Sidik Ragam Nekrosis Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Sumber Keragaman | db | JK | KT | F Hit | F 5% | F1% |
|------------------|-----------|-------------|-------|--------|------|------|
| Perlakuan | 4 | 1,10 | 0,276 | 11,5** | 3,48 | 5,99 |
| Acak | 10 | 0,24 | 0,024 | | | |
| Total | 14 | 1,34 | | | | |

**) Berbeda sangat nyata

Perhitungan

1. SED

$= \sqrt{\frac{2 \times KTA}{r}}$

$= \sqrt{\frac{2 \times 0,024}{3}}$

$= 0,12$

2. BNT 5%

$= t \text{ tabel } 5\% \text{ (db acak)} \times \text{SED}$

$= 0,28$

3. BNT 1%

$= t \text{ tabel } 1\% \text{ (db acak)} \times \text{SED}$

$= 0,40$

Lampiran 3. (Lanjutan)

b. Hasil Uji BNT Nekrosis Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Perlakuan | Rerata | K+ | B | C | A | K- | Notasi |
|-----------|--------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------|--------|
| | | 1,93 | 2,13 | 2,20 | 2,40 | 2,73 | |
| K+ | 1,93 | - | - | - | - | - | a |
| B | 2,13 | 0,20 ^{ns} | - | - | - | - | a |
| C | 2,20 | 0,27 ^{ns} | 0,20 ^{ns} | - | - | - | a |
| A | 2,40 | 0,47 ^{**} | 0,27 ^{ns} | 0,20 ^{ns} | - | - | ab |
| K- | 2,73 | 0,80 ^{**} | 0,60 ^{**} | 0,53 ^{**} | 0,33 ^{**} | - | c |

*) Berbeda nyata

***) Berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel diatas, perlakuan B (62,5 ppm) tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan K+. Perlakuan C (72,5 ppm) tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan K+ dan B (62,5 ppm). Perlakuan A (52,5 ppm) berpengaruh sangat nyata terhadap perlakuan K+ tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan B (62,5 ppm) dan C (72,5 ppm). Sedangkan perlakuan K- berpengaruh sangat nyata terhadap perlakuan K+, perlakuan B (62,5 ppm), perlakuan C (62,5 ppm) dan perlakuan A (52, 5 ppm) Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi terhadap nekrosis usus ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dilakukan perhitungan polinomial orthogonal

c. Tabel Uji Polinomial Orthogonal Nekrosis Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Perlakuan | Total | Linier | Kuadratik | Kubik | Kuartik |
|---------------------------|-------|----------|-----------|----------|----------|
| A | 7,2 | -2 | 2 | -1 | 1 |
| B | 6,4 | -1 | -1 | 2 | -4 |
| C | 6,6 | 0 | -2 | 0 | 6 |
| K+ | 5,8 | 1 | -1 | -2 | -4 |
| K- | 8,2 | 2 | 2 | 1 | 1 |
| Q= $\sum ci \cdot Ti$ | | 1,4 | 5,4 | 2,2 | 6,2 |
| Hasil Kuadratik | | 10 | 14 | 10 | 70 |
| Kr= $(\sum ci^2) \cdot r$ | | 30 | 42 | 30 | 210 |
| JK=Q ² /Kr | | 0,065333 | 0,694286 | 0,161333 | 0,183048 |

Lampiran 3. (Lanjutan)

Perhitungan:

1. Q Linier $= \sum (C_i \times T_i)$
 $= (-2 \times 7,2) + (-1 \times 6,4) + (0 \times 6,6) + (1 \times 5,8) + (2 \times 8,2)$
 $= 1,4$
2. Q Kuadratik $= \sum (C_i \times T_i)$
 $= (2 \times 7,2) + (-1 \times 6,4) + (-2 \times 6,6) + (-1 \times 5,8) + (2 \times 8,2)$
 $= 5,4$
3. Q Kubik $= \sum (C_i \times T_i)$
 $= (-1 \times 7,2) + (2 \times 6,4) + (0 \times 6,6) + (-2 \times 5,8) + (1 \times 8,2)$
 $= 2,2$
4. Q Kuartik $= \sum (C_i \times T_i)$
 $= (1 \times 7,2) + (-4 \times 6,4) + (6 \times 6,6) + (-4 \times 5,8) + (1 \times 8,2)$
 $= 6,2$
5. Hasil Kuadrat Ci Linier $= (-2)^2 + (-1)^2 + (0)^2 + (1)^2 + (2)^2$
 $= 10$
6. Hasil Kuadrat Ci Kuadratik $= (2)^2 + (-1)^2 + (-2)^2 + (-1)^2 + (2)^2$
 $= 14$
7. Hasil Kuadrat Ci Kubik $= (-1)^2 + (2)^2 + (0)^2 + (-2)^2 + (1)^2$
 $= 10$
8. Hasil Kuadrat Ci Kuartik $= (1)^2 + (-4)^2 + (6)^2 + (-4)^2 + (1)^2$
 $= 70$
9. KR Linier $= (\sum C_i)^2 \times r$
 $= 10 \times 3$
 $= 30$
10. KR Kuadratik $= (\sum C_i)^2 \times r$

Lampiran 3. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 &= 14 \times 3 \\
 &= 42 \\
 11. \text{ KR Kubik} &= (\sum C_i)^2 \times r \\
 &= 10 \times 3 \\
 &= 30 \\
 12. \text{ KR Kuartik} &= (\sum C_i)^2 \times r \\
 &= 70 \times 3 \\
 &= 210 \\
 13. \text{ Linier} &= \frac{Q^2}{KR} \\
 &= \frac{1,4}{30} \\
 &= 0,06 \\
 14. \text{ JK Kuadrat} &= \frac{Q^2}{KR} \\
 &= \frac{5,4^2}{42} \\
 &= 0,69 \\
 15. \text{ JK Kubik} &= \frac{Q^2}{KR} \\
 &= \frac{2,2^2}{30} \\
 &= 0,16 \\
 16. \text{ JK Kuartik} &= \frac{Q^2}{KR} \\
 &= \frac{6,2^2}{210} \\
 &= 0,18 \\
 17. \text{ Total JK Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadrat} + \text{JK Kubik} + \\
 &\quad \text{JK Kuartik} \\
 &= 0,06 + 0,69 + 0,06 + 0,16 \\
 &= 1,104
 \end{aligned}$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

d. Tabel Sidik Ragam Regresi Polinomial Orthogonal Nekrosis Usus Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | F Hit | F 5% | F 1% |
|------------------|----|----------|----------|----------|---------|----------|
| Perlakuan | 4 | 1,104 | 0,276 | 0,25 | 3,47805 | 5,994339 |
| Linier | 1 | 0,065333 | 0,065333 | 2,722222 | | |
| Kuadratik | 1 | 0,694286 | 0,694286 | 28,92857 | | |
| Kubik | 1 | 0,161333 | 0,161333 | 6,722222 | | |
| Kuartik | 1 | 0,183048 | 0,183048 | 7,626984 | | |
| Acak | 10 | 0,24 | 0,024 | | | |
| Total | 14 | 1,344 | | | | |

Perhitungan:

$$\begin{aligned}
 1. \text{ Linier} &= \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,6}{0,6 + 0,24} \\
 &= 0,21
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ R}^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,69}{0,69 + 0,24} \\
 &= 0,74
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ R}^2 \text{ Kubik} &= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,1}{0,1 + 0,24} \\
 &= 0,40
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ R}^2 \text{ Kuartik} &= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,1}{0,1 + 0,24} \\
 &= 0,43
 \end{aligned}$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

Hasil perhitungan R^2 diatas menunjukkan bahwa nilai R^2 Kuadratik lebih besar dibandingkan dengan nilai R^2 linier, kubik dan kuartik,. Berdasarkan hasil tersebut, maka arah laju kurva yang digunakan adalah kurva kuadratik.

Tabel sumbu x dan y kerusakan nekrosis ukus ikan nila

| Perlakuan | x | y | xy | x^2 |
|-----------|------|-----|-------|---------|
| K-1 | 0 | 2,8 | 0 | 0 |
| K-2 | 0 | 2,6 | 0 | 0 |
| K-3 | 0 | 2,8 | 0 | 0 |
| A1 | 52,5 | 2,2 | 115,5 | 2756,25 |
| A2 | 52,5 | 2,4 | 126 | 2756,25 |
| A3 | 52,5 | 2,6 | 136,5 | 2756,25 |
| B1 | 62,5 | 2,2 | 137,5 | 3906,25 |
| B2 | 62,5 | 2 | 125 | 3906,25 |
| B3 | 62,5 | 2,2 | 137,5 | 3906,25 |
| C1 | 72,5 | 2 | 145 | 5256,25 |
| C2 | 72,5 | 2,2 | 159,5 | 5256,25 |
| C3 | 72,5 | 2,4 | 174 | 5256,25 |
| K+1 | 20 | 2 | 40 | 400 |
| K+2 | 20 | 1,8 | 36 | 400 |
| K+3 | 20 | 2 | 40 | 400 |

b. Kongesti

Tabel Skoring Kongesti Usus Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Perlakuan | Ulangan | Area Lapang Pandang | | | | | Rerata LP | Rerata Sampel |
|-----------|---------|---------------------|---|---|---|---|-----------|---------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| A | 1 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2,4 | 2,33 |
| | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2,4 | |
| | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2,2 | |
| B | 1 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 1,8 | 1,93 |
| | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1,8 | |
| | 3 | 2 | 3 | 3 | 2 | 1 | 2,2 | |
| C | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2,07 |
| | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 | 1 | 2,2 | |
| | 3 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | |
| K+ | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1,6 | 1,733333 |
| | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 | 1,8 | |

| Perlakuan | Ulangan | Area Lapang Pandang | | | | | Rerata LP | Rerata Sampel |
|-----------|---------|---------------------|---|---|---|---|-----------|---------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| K- | 3 | 2 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1,8 | 2,6 |
| | 1 | 4 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2,8 | |
| | 2 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2,4 | |
| | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2,6 | |

Data Rerata Skoring

| Perlakuan | Ulangan | | | Total | Rerata | STD |
|--------------|---------|-----|-----|-------------|--------|-----|
| | 1 | 2 | 3 | | | |
| A (52,5 ppm) | 2,4 | 2,4 | 2,2 | 7 | 2,33 | 0,1 |
| B (62,5ppm) | 1,8 | 1,8 | 2,2 | 5,8 | 1,93 | 0,2 |
| C (72,5 ppm) | 2,0 | 2,2 | 2,0 | 6,2 | 2,00 | 0,1 |
| K+ | 1,6 | 1,8 | 1,8 | 5,2 | 1,73 | 0,1 |
| K- | 2,8 | 2,4 | 2,6 | 7,8 | 2,60 | 0,2 |
| Total | | | | 32,2 | | |

Perhitungan

1. Faktor Koreksi

$$= \frac{(\sum C)^2}{n \times r}$$

$$= \frac{(32)^2}{5 \times 3}$$

$$= 69,26$$

2. Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$= \sum X_{ij}^2 - FK$$

$$= (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (K_-)^2 - FK$$

$$= 2,4^2 + 2,4^2 + 2,2^2 + \dots + 2,6^2 - 68,26$$

$$= 1,39$$

3. Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP) = $\frac{(\sum Xi)^2}{r} - FK$

$$= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum k+) + (\sum k-)}{3} - FK$$

$$= \frac{(7)^2 + (5,8)^2 + (6,6)^2 + (5,2)^2 + (7,8)}{3} - 68,26$$

$$= 1,6$$

Lampiran 3.(Lanjutan)

4. Jumlah Kuadrat Acak (JKA) = JKT - JKP
 = 1,65 – 1,38
 = 0,26

5. db Total = (n x r) – 1
 = (5 x 3) – 1
 = 14

6. db Perlakuan = n - 1
 = 5 - 1
 = 4

7. db Acak = n (r - 1)
 = 5 (3 - 1)
 = 10

8. Kuadrat Tengah Perlakuan = $\frac{JKP}{db}$
 = $\frac{1,65}{4}$
 = 0,03

9. Kuadrat Tengah Acak = $\frac{JKA}{db}$
 = $\frac{1,3}{10}$
 = 0,35

10. F Hitung = $\frac{KT Perlakuan}{KT Acak}$
 = $\frac{0,35}{0,03}$
 = 13

a. Sidik Ragam Kongesti Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | F Hit | F 5% | F 1% |
|------------------|-----------|-------------|------|-------|------|------|
| Perlakuan | 4 | 1,39 | 0,35 | 13** | 3,48 | 5,99 |
| Acak | 10 | 0,27 | 0,03 | | | |
| Total | 14 | 1,65 | | | | |

**) Berbeda sangat nyata

Lampiran 3.(Lanjutan)

Perhitungan

$$\begin{aligned} 1. \text{ SED} &= \sqrt{\frac{2 \times KTA}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times 0,03}{3}} \\ &= 0,13 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \text{ BNT } 5\% &= t \text{ tabel } 5\% \text{ (db acak)} \times \text{ SED} \\ &= 0,30 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. \text{ BNT } 1\% &= t \text{ tabel } 1\% \text{ (db acak)} \times \text{ SED} \\ &= 0,42 \end{aligned}$$

b. Hasil Uji BNT Kongesti Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Perlakuan | Rerata | | | | | | Notasi |
|-----------|--------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------|--------|
| | | K+ | B | C | A | K- | |
| | | 1,73 | 1,93 | 2,07 | 2,33 | 2,60 | |
| K+ | 1,73 | | | | | | a |
| B | 1,93 | 0,20 ^{ns} | | | | | a |
| C | 2,07 | 0,33 ^{ns} | 0,13 ^{ns} | | | | a |
| A | 2,33 | 0,60 ^{**} | 0,40 [*] | 0,27 ^{ns} | | | ab |
| K- | 2,60 | 0,87 ^{**} | 0,67 ^{**} | 0,53 ^{**} | 0,27 ^{ns} | | b |

*) Berbeda nyata

***) Berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel diatas, perlakuan B (62,5 ppm) tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan K+. Perlakuan C (72,5 ppm) tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan K+ dan B (62,5 ppm). Perlakuan A (52,5 ppm) berpengaruh sangat nyata terhadap perlakuan K+, berpengaruh nyata terhadap perlakuan B (62,5 ppm) tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap dan C (72,5 ppm). Sedangkan perlakuan K- berpengaruh sangat nyata terhadap perlakuan K+,perlakuan B (62,5 ppm), perlakuan C (62,5 ppm) tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan A (52, 5 ppm) Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan perlakuan pemberian bubuk

Lampiran 3.(Lanjutan)

ekstrak tinta cumi-cumi terhadap kongestii usus ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dilakukan perhitungan polinomial orthogonal

c. Tabel Uji Polinomial Orthogonal Kongesti Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | F Hit | F 5% | F 1% |
|------------------|----|------|-----|----------|------|------|
| Perlakuan | 4 | 1,39 | 0,3 | 0,25 | 3,48 | 5,99 |
| Linier | 1 | 0,03 | 0,0 | 1,25 | | |
| Kuadratik | 1 | 0,92 | 0,9 | 34,32143 | | |
| Kubik | 1 | 0,13 | 0,1 | 5 | | |
| Kuartik | 1 | 0,30 | 0,3 | 11,42857 | | |
| Acak | 10 | 0,27 | 0,0 | | | |
| Total | 14 | 1,65 | | | | |

Perhitungan:

- Q Linier

$$= \sum (C_i \times T_i)$$

$$= (-2 \times 7) + (-1 \times 5,8) + (0 \times 6,2) + (1 \times 5,2) + (2 \times 7,8)$$

$$= 1$$
- Q Kuadratik

$$= \sum (C_i \times T_i)$$

$$= (2 \times 7) + (-1 \times 5,8) + (-2 \times 6,2) + (1 \times 5,2) + (2 \times 7,8)$$

$$= 6,2$$
- Q Kubik

$$= \sum (C_i \times T_i)$$

$$= (-1 \times 7) + (2 \times 5,8) + (0 \times 6,2) + (-2 \times 5,2) + (1 \times 7,8)$$

$$= 2$$
- Q Kuartik

$$= \sum (C_i \times T_i)$$

$$= (1 \times 7) + (-4 \times 5,8) + (6 - 2 \times 6,2) + (-4 \times 5,2) + (1 \times 7,8)$$

$$= 8$$
- Hasil Kuadrat Ci Linier

$$= (-2)^2 + (-1)^2 + (0)^2 + (1)^2 + (2)^2$$

$$= 10$$
- Hasil Kuadrat Ci Kuadratik

$$= (2)^2 + (-1)^2 + (-2)^2 + (-1)^2 + (2)^2$$

$$= 14$$

Lampiran 3.(Lanjutan)

$$\begin{aligned} 6. \text{ Hasil Kuadrat Ci Kubik} &= (-1)^2 + (2)^2 + (0)^2 + (-2)^2 + (1)^2 \\ &= 10 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 7. \text{ Hasil Kuadrat Ci Kuartik} &= (1)^2 + (-4)^2 + (6)^2 + (-4)^2 + (1)^2 \\ &= 70 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 8. \text{ KR Linier} &= (\sum Ci)^2 \times r \\ &= 10 \times 3 \\ &= 30 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 9. \text{ KR Kuadratik} &= (\sum Ci)^2 \times r \\ &= 42 \times 3 \\ &= 42 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 10. \text{ KR Kubik} &= (\sum Ci)^2 \times r \\ &= 10 \times 3 \\ &= 30 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 11. \text{ KR Kurtik} &= (\sum Ci)^2 \times r \\ &= 70 \times 3 \\ &= 210 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 12. \text{ JK Linier} &= \frac{Q^2}{KR} \\ &= \frac{1}{30} \\ &= 0,03 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 13. \text{ JK Kuadratik} &= \frac{Q^2}{KR} \\ &= \frac{6,2^2}{42} \\ &= 0,9 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 14. \text{ JK Kubik} &= \frac{Q^2}{KR} \\ &= \frac{2^2}{30} \end{aligned}$$

Lampiran 3.(Lanjutan)

$$= 0,13$$

15. JK Kuartik $= \frac{Q^2}{KR}$

$$= \frac{8^2}{210}$$

$$= 0,30$$

16. Total JK Regresi = JK Linier + JK Kuadratik + JK Kubik + JK Kuartik

$$= 0,03+ 0,91 + 0,13 + 0,3$$

$$= 1,38$$

d. Tabel Sidik Ragam Regresi Polinomial Orthogonal Kongesti Usus Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | F Hit | F 5% | F 1% |
|------------------|----|------|-----|----------|------|------|
| Perlakuan | 4 | 1,39 | 0,3 | 0,25 | 3,48 | 5,99 |
| Linier | 1 | 0,03 | 0,0 | 1,25 | | |
| Kuadratik | 1 | 0,92 | 0,9 | 34,32143 | | |
| Kubik | 1 | 0,13 | 0,1 | 5 | | |
| Kuartik | 1 | 0,30 | 0,3 | 11,42857 | | |
| Acak | 10 | 0,27 | 0,0 | | | |
| Total | 14 | 1,65 | | | | |

**) Berbeda sangat nyata

Perhitungan:

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

$$= \frac{0,03}{0,03 + 1,38}$$

$$= 0,11$$

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

$$= \frac{0,92}{0,92 + 1,38}$$

$$= 0,33$$

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

Lampiran 3.(Lanjutan)

$$= \frac{0,13}{0,13 + 1,38}$$

$$= 0,0933$$

8. R² Kuartik

$$= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,30}{0,30 + 1,38}$$

$$= 0,1818$$

Hasil perhitungan R² diatas menunjukkan bahwa nilai R² kudratik lebih besar dibandingkan dengan nilai R² linier, kubik dan kuartik,. Berdasarkan hasil tersebut, maka arah laju kurva yang digunakan adalah kurva kuadratik.

Tabel sumbu x dan y kerusakan kongesti

| Perlakuan | x | Y | xy | x ² |
|-----------|------|-----|-------|----------------|
| K-1 | 0 | 2,8 | 0 | 0 |
| K-2 | 0 | 2,4 | 0 | 0 |
| K-3 | 0 | 2,6 | 0 | 0 |
| A1 | 52,5 | 2,4 | 94,5 | 2756,25 |
| A2 | 52,5 | 2,2 | 94,5 | 2756,25 |
| A3 | 52,5 | 2,4 | 115,5 | 2756,25 |
| B1 | 62,5 | 1,8 | 112,5 | 3906,25 |
| B2 | 62,5 | 1,8 | 125 | 3906,25 |
| B3 | 62,5 | 2,2 | 137,5 | 3906,25 |
| C1 | 72,5 | 1,8 | 145 | 5256,25 |
| C2 | 72,5 | 2 | 130,5 | 5256,25 |
| C3 | 72,5 | 2,2 | 116 | 5256,25 |
| K+1 | 20 | 2 | 0 | 400 |
| K+2 | 20 | 1,8 | 36 | 400 |
| K+3 | 20 | 1,6 | 32 | 400 |

Lampiran 4. Data Kualitas Air

Data kualitas air harian

| Hari, tanggal | Perlakuan | Kualitas Air | | | | | |
|-----------------------------------|-----------|--------------|-------------|------|--------------|-------------|------|
| | | Pagi | | | Sore | | |
| | | Suhu (°C) | DO (ppm) | pH | Suhu (°C) | DO (ppm) | pH |
| Jumat, 22 Februari 2019 | A1 | 25,5 | 4,52 | 6,5 | 26 | 5,42 | 6,77 |
| | A2 | 26 | 5,32 | 6,76 | 28 | 5,45 | 5,89 |
| | A3 | 27 | 4,54 | 7,43 | 25,5 | 5,66 | 6,78 |
| | B1 | 25,5 | 4,54 | 6,44 | 26 | 5,45 | 6,77 |
| | B2 | 28 | 4,63 | 6,55 | 28 | 5,67 | 6,89 |
| | B3 | 26,5 | 5,44 | 6,09 | 25 | 4,44 | 6,09 |
| | C1 | 27 | 4,56 | 6,77 | 25 | 4,56 | 6 |
| | C2 | 26 | 4,77 | 7,22 | 27 | 4,6 | 7 |
| | C3 | 27 | 5,7 | 6,78 | 26 | 4,51 | 6,6 |
| | K+1 | 26 | 5,33 | 6,77 | 27 | 5,67 | 6,87 |
| | K+2 | 28 | 5,45 | 6,45 | 29 | 5,54 | 6,43 |
| | K+3 | 26 | 5,64 | 6,88 | 26 | 5,41 | 7,42 |
| | K-1 | 29 | 5,44 | 6,8 | 26 | 5,64 | 6,78 |
| | K-2 | 26 | 4,44 | 6,9 | 28 | 5,46 | 7,43 |
| K-3 | 26,5 | 4,53 | 6,56 | 27 | 4,56 | 6,78 | |
| Sabtu, 23 Februari 2019 | A1 | 26 | 4,65 | 6,78 | 27 | 5,65 | 6,45 |
| | A2 | 27,2 | 5,51 | 6,67 | 26 | 5,45 | 6,65 |
| | A3 | 28 | 4,21 | 6,66 | 27 | 5,43 | 7,2 |
| | B1 | 26 | 5,52 | 6,78 | 26 | 5,65 | 7,21 |
| | B2 | 28 | 4,56 | 6,99 | 26 | 5,67 | 5,67 |
| | B3 | 27 | 6,01 | 7,21 | 26 | 6,01 | 5,66 |
| | C1 | 28 | 5,41 | 6,55 | 25 | 5,41 | 6,55 |
| | C2 | 26 | 5,45 | 6,74 | 27 | 5,67 | 6,45 |
| | C3 | 27 | 5,43 | 6,45 | 26 | 5,43 | 6,54 |
| | K+1 | 29 | 5,34 | 6,77 | 27 | 5,67 | 6,54 |
| | K+2 | 27 | 5,53 | 7,01 | 29 | 5,53 | 6,45 |
| | K+3 | 26 | 5,45 | 7,78 | 26 | 5 | 6,45 |
| | K-1 | 28 | 5,65 | 6,67 | 27 | 5,67 | 6,54 |
| | K-2 | 27 | 5,45 | 6,87 | 26 | 5,66 | 6,33 |
| K-3 | 26,5 | 4,35 | 6,33 | 28 | 4,35 | 7,01 | |
| Minggu, 24 Februari 2019 | A1 | 27 | 5,41 | 7,12 | 26 | 5,67 | 7,01 |
| | A2 | 29 | 5,01 | 7,42 | 26 | 5,76 | 6,89 |
| | A3 | 25,5 | 4,34 | 7,22 | 26 | 5,66 | 6,77 |
| | B1 | 26 | 4,53 | 7,39 | 26 | 6,54 | 6,78 |
| | B2 | 29 | 5,43 | 7,21 | 27 | 5,67 | 6,84 |
| | B3 | 27 | 3,9 | 7,48 | 28 | 6,54 | 6,55 |
| | C1 | 28 | 5,43 | 7,24 | 26 | 5,44 | 6,78 |
| | C2 | 27 | 4,56 | 7,23 | 27 | 5,45 | 6,78 |
| | C3 | 26 | 5,53 | 7,25 | 26 | 5,55 | 7,01 |
| | K+1 | 27 | 5,4 | 7,34 | 27 | 5,7 | 5,87 |

| Hari, tanggal | Perlakuan | Kualitas Air | | | | | |
|-----------------------------------|-----------|--------------|-------------|------|--------------|-------------|------|
| | | Pagi | | | Sore | | |
| | | Suhu (°C) | DO (ppm) | pH | Suhu (°C) | DO (ppm) | pH |
| | K+2 | 29 | 5,6 | 7,21 | 26 | 6,45 | 6,7 |
| | K+3 | 26 | 5,45 | 7,33 | 27 | 4,65 | 7,21 |
| | K-1 | 27 | 4,56 | 7,39 | 26 | 4,76 | 6,78 |
| | K-2 | 28 | 4,66 | 7,48 | 27 | 5,76 | 5,9 |
| | K-3 | 28 | 4,34 | 7,22 | 26 | 5,66 | 7,88 |
| Senin, 25 Februari 2019 | A1 | 26,5 | 4,56 | 6,78 | 27 | 5,65 | 7,01 |
| | A2 | 28 | 5,64 | 6,88 | 26 | 5,55 | 7,52 |
| | A3 | 27 | 4,65 | 6,78 | 27 | 4,56 | 7,42 |
| | B1 | 25 | 4,65 | 6,89 | 27 | 5,67 | 7,5 |
| | B2 | 26 | 5,64 | 6,87 | 26 | 6,78 | 7,42 |
| | B3 | 29 | 4,5 | 6,77 | 27 | 5,67 | 7,31 |
| | C1 | 28 | 4,65 | 6,56 | 26 | 5,67 | 6,98 |
| | C2 | 26 | 5,04 | 6,87 | 27 | 5,04 | 7,24 |
| | C3 | 26,5 | 5,67 | 6,86 | 26 | 4,56 | 6,78 |
| | K+1 | 26 | 4,56 | 7,01 | 27 | 5,6 | 7,45 |
| | K+2 | 28 | 5,67 | 7,02 | 28 | 5,76 | 7,5 |
| | K+3 | 26 | 5,42 | 7,34 | 27 | 5,76 | 7,38 |
| | K-1 | 26 | 4,5 | 6,91 | 26 | 5,64 | 6,27 |
| K-2 | 27 | 5,1 | 6,87 | 27 | 5,67 | 6,55 | |
| K-3 | 29 | 5,56 | 6,71 | 26 | 5,67 | 6,68 | |
| Selasa, 26 Februari 2019 | A1 | 26 | 5,64 | 6,98 | 28 | 5,67 | 6,37 |
| | A2 | 28 | 4,56 | 7,01 | 29,8 | 5,66 | 6,44 |
| | A3 | 27 | 5,45 | 7,02 | 27 | 5,67 | 6,4 |
| | B1 | 26 | 4,55 | 7,4 | 26 | 5,66 | 6,7 |
| | B2 | 27 | 4,45 | 7,81 | 25,5 | 5,46 | 6,6 |
| | B3 | 26,5 | 4,65 | 6,01 | 29 | 5,64 | 6,78 |
| | C1 | 28 | 4,65 | 6,44 | 26 | 5,66 | 6,58 |
| | C2 | 26 | 4,56 | 6,56 | 27 | 5,44 | 6,54 |
| | C3 | 27 | 4,35 | 6,98 | 28 | 5,43 | 6,4 |
| | K+1 | 26 | 5 | 7,01 | 26 | 4,56 | 6,45 |
| | K+2 | 27 | 5,67 | 6,89 | 26 | 5,76 | 6,33 |
| | K+3 | 28 | 5,63 | 6,72 | 28 | 5,66 | 6,4 |
| | K-1 | 26,5 | 5,67 | 6,89 | 26,5 | 5,67 | 6,27 |
| K-2 | 26 | 5,61 | 6,93 | 26 | 5,61 | 6,55 | |
| K-3 | 27 | 5,67 | 6,99 | 27 | 5,67 | 6,68 | |
| Rabu, 27 Februari 2019 | A1 | 26 | 5,67 | 6,68 | 26 | 5,67 | 6,52 |
| | A2 | 26,5 | 5,66 | 6,7 | 27 | 5,66 | 6,62 |
| | A3 | 27 | 5,76 | 6,76 | 27 | 4,56 | 6,67 |
| | B1 | 26 | 5,55 | 6,83 | 26 | 5,55 | 6,69 |
| | B2 | 27 | 5,45 | 6,8 | 27 | 5,45 | 6,73 |
| | B3 | 28 | 5,6 | 6,83 | 26 | 5,6 | 6,88 |
| | C1 | 28 | 5,55 | 6,75 | 26,5 | 5,55 | 6,61 |
| | C2 | 28 | 4,67 | 6,7 | 26 | 4,67 | 6,54 |

Dilanjutkan

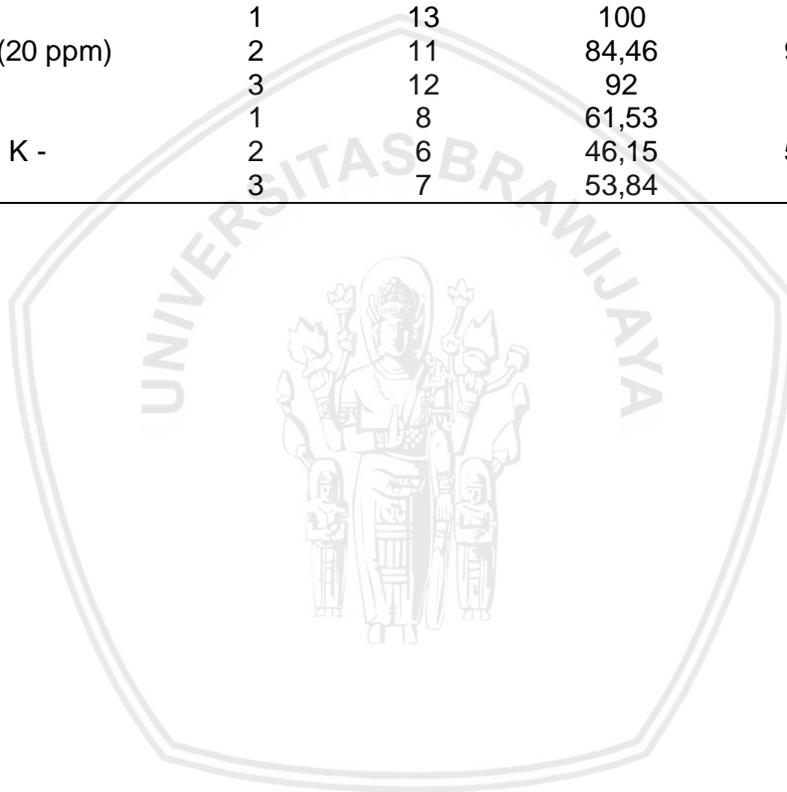
| Hari, tanggal | Perlakuan | Kualitas Air | | | | | |
|--------------------------|-----------|--------------|----------|------|-----------|----------|------|
| | | Pagi | | | Sore | | |
| | | Suhu (°C) | DO (ppm) | pH | Suhu (°C) | DO (ppm) | pH |
| | C3 | 26 | 5,78 | 6,72 | 27 | 5,78 | 6,21 |
| | K+1 | 26 | 5,67 | 6,75 | 26,5 | 5,67 | 6,51 |
| | K+2 | 27 | 5,66 | 6,78 | 26 | 5,66 | 6,42 |
| | K+3 | 29 | 5,6 | 6,71 | 27 | 5 | 6,38 |
| | K-1 | 26 | 5,67 | 6,7 | 27 | 5,67 | 6,33 |
| | K-2 | 26 | 5,5 | 6,79 | 26 | 5,66 | 6,48 |
| | K-3 | 28 | 4,34 | 7,22 | 26 | 5,66 | 7,88 |
| Senin, 25 Februari 2019 | A1 | 26,5 | 4,56 | 6,78 | 27 | 5,65 | 7,01 |
| | A2 | 28 | 5,64 | 6,88 | 26 | 5,55 | 7,52 |
| | A3 | 27 | 4,65 | 6,78 | 27 | 4,56 | 7,42 |
| | B1 | 25 | 4,65 | 6,89 | 27 | 5,67 | 7,5 |
| | B2 | 26 | 5,64 | 6,87 | 26 | 6,78 | 7,42 |
| | B3 | 29 | 4,5 | 6,77 | 27 | 5,67 | 7,31 |
| | C1 | 28 | 4,65 | 6,56 | 26 | 5,67 | 6,98 |
| | C2 | 26 | 5,04 | 6,87 | 27 | 5,04 | 7,24 |
| | C3 | 26,5 | 5,67 | 6,86 | 26 | 4,56 | 6,78 |
| | K+1 | 26 | 4,56 | 7,01 | 27 | 5,6 | 7,45 |
| | K+2 | 28 | 5,67 | 7,02 | 28 | 5,76 | 7,5 |
| | K+3 | 26 | 5,42 | 7,34 | 27 | 5,76 | 7,38 |
| | K-1 | 26 | 4,5 | 6,91 | 26 | 5,64 | 6,27 |
| | K-2 | 27 | 5,1 | 6,87 | 27 | 5,67 | 6,55 |
| K-3 | 29 | 5,56 | 6,71 | 26 | 5,67 | 6,68 | |
| Selasa, 26 Februari 2019 | A1 | 26 | 5,64 | 6,98 | 28 | 5,67 | 6,37 |
| | A2 | 28 | 4,56 | 7,01 | 29,8 | 5,66 | 6,44 |
| | A3 | 27 | 5,45 | 7,02 | 27 | 5,67 | 6,4 |
| | B1 | 26 | 4,55 | 7,4 | 26 | 5,66 | 6,7 |
| | B2 | 27 | 4,45 | 7,81 | 25,5 | 5,46 | 6,6 |
| | B3 | 26,5 | 4,65 | 6,01 | 29 | 5,64 | 6,78 |
| | C1 | 28 | 4,65 | 6,44 | 26 | 5,66 | 6,58 |
| | C2 | 26 | 4,56 | 6,56 | 27 | 5,44 | 6,54 |
| | C3 | 27 | 4,35 | 6,98 | 28 | 5,43 | 6,4 |
| | K+1 | 26 | 5 | 7,01 | 26 | 4,56 | 6,45 |
| | K+2 | 27 | 5,67 | 6,89 | 26 | 5,76 | 6,33 |
| | K+3 | 28 | 5,63 | 6,72 | 28 | 5,66 | 6,4 |
| | K-1 | 26,5 | 5,67 | 6,89 | 26,5 | 5,67 | 6,27 |
| | K-2 | 26 | 5,61 | 6,93 | 26 | 5,61 | 6,55 |
| K-3 | 27 | 5,67 | 6,99 | 27 | 5,67 | 6,68 | |
| Rabu, 27 Februari 2019 | A1 | 26 | 5,67 | 6,68 | 26 | 5,67 | 6,52 |
| | A2 | 26,5 | 5,66 | 6,7 | 27 | 5,66 | 6,62 |
| | A3 | 27 | 5,76 | 6,76 | 27 | 4,56 | 6,67 |
| | B1 | 26 | 5,55 | 6,83 | 26 | 5,55 | 6,69 |
| | B2 | 27 | 5,45 | 6,8 | 27 | 5,45 | 6,73 |
| | B3 | 28 | 5,6 | 6,83 | 26 | 5,6 | 6,88 |

Dilanjutkan

| Hari, tanggal | Perlakuan | Kualitas Air | | | | | |
|----------------------------------|-----------|--------------|-------------|------|--------------|-------------|------|
| | | Pagi | | | Sore | | |
| | | Suhu (°C) | DO (ppm) | pH | Suhu (°C) | DO (ppm) | pH |
| | C1 | 28 | 5,55 | 6,75 | 26,5 | 5,55 | 6,61 |
| | C2 | 28 | 4,67 | 6,7 | 26 | 4,67 | 6,54 |
| | C3 | 26 | 5,78 | 6,72 | 27 | 5,78 | 6,21 |
| | K+1 | 26 | 5,67 | 6,75 | 26,5 | 5,67 | 6,51 |
| | K+2 | 27 | 5,66 | 6,78 | 26 | 5,66 | 6,42 |
| | K+3 | 29 | 5,6 | 6,71 | 27 | 5 | 6,38 |
| | K-1 | 26 | 5,67 | 6,7 | 27 | 5,67 | 6,33 |
| | K-2 | 26 | 5,5 | 6,79 | 26 | 5,66 | 6,48 |
| | K-3 | 28 | 5,76 | 6,87 | 25 | 5,67 | 6,71 |
| Kamis, 28 Februari 2019 | A1 | 26 | 6,2 | 6,2 | 27 | 5,67 | 6,55 |
| | A2 | 28 | 6,4 | 6,4 | 26 | 5,8 | 6,45 |
| | A3 | 29 | 3,5 | 6,87 | 28 | 6,7 | 6,76 |
| | B1 | 26 | 2,5 | 6,75 | 25 | 6,7 | 7,21 |
| | B2 | 29 | 4,5 | 7 | 26 | 6,67 | 6,89 |
| | B3 | 26,5 | 4,5 | 6,56 | 28 | 6,88 | 7,09 |
| | C1 | 28 | 4 | 6,78 | 25 | 5,7 | 6,78 |
| | C2 | 26 | 2,5 | 6,55 | 26 | 5,8 | 6,89 |
| | C3 | 27 | 5,6 | 6 | 28 | 6,78 | 7,01 |
| | K+1 | 26 | 4,67 | 6,87 | 27 | 6,78 | 6,78 |
| | K+2 | 29 | 5,64 | 6,77 | 28 | 5,67 | 7,01 |
| | K+3 | 28 | 6,45 | 6,99 | 27 | 5,66 | 7,02 |
| | K-1 | 26 | 5,64 | 6,88 | 27 | 5,76 | 6,78 |
| | K-2 | 27 | 4,65 | 7,88 | 28 | 5,67 | 6,88 |
| | K-3 | 28 | 4,76 | 6,98 | 29 | 5,55 | 6,99 |

Lampiran 5 Rata-Rata Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Perlakuan | Ulangan | Ikan Nila yang Hidup (ekor) | Nilai SR (%) | Nilai Rata-Rata SR (%) |
|--------------|---------|-----------------------------|--------------|------------------------|
| A (52,5 ppm) | 1 | 11 | 84,46 | 79,43 |
| | 2 | 10 | 76,92 | |
| | 3 | 10 | 76,92 | |
| B (62,5 ppm) | 1 | 12 | 92 | 89,49 |
| | 2 | 11 | 84,46 | |
| | 3 | 12 | 92 | |
| C (72,5 ppm) | 1 | 11 | 84,46 | 81,95 |
| | 2 | 10 | 72,92 | |
| | 3 | 11 | 84,46 | |
| K + (20 ppm) | 1 | 13 | 100 | 92,15 |
| | 2 | 11 | 84,46 | |
| | 3 | 12 | 92 | |
| K - | 1 | 8 | 61,53 | 53,84 |
| | 2 | 6 | 46,15 | |
| | 3 | 7 | 53,84 | |



Lampiran 5. Lanjutan

a. Rerata Kelulshhidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Perlakuan | Ulangan | | | Total | Rerata | STD |
|--------------|---------|-------|-------|---------|--------|------|
| | 1 | 2 | 3 | | | |
| A (52,5 ppm) | 84,46 | 76,92 | 76,92 | 238,3 | 79,43 | 4,35 |
| B (62,5ppm) | 92,00 | 84,46 | 92 | 268,46 | 89,49 | 4,35 |
| C (72,5 ppm) | 84,46 | 76,92 | 84,46 | 245,84 | 81,95 | 4,35 |
| K+ | 100,00 | 84,46 | 92 | 276,46 | 92,15 | 7,77 |
| K- | 61,53 | 46,15 | 53,84 | 161,52 | 53,84 | 7,69 |
| | | | | 1190,58 | | |

Perhitungan

1. Faktor Koreksi

$$= \frac{(\sum G)^2}{n \times r}$$

$$= \frac{(1190,58)^2}{5 \times 3}$$

$$= 94498,75$$

2. Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$= \sum X_{ij}^2 - FK$$

$$= (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (K)^2 - FK$$

$$= 84,46^2 + 76,92^2 + 76,92^2 + \dots + 253,84^2 - 94498,7$$

$$= 3125,31$$

3. Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP) = $\frac{(\sum X_i)^2}{r} - FK$

$$= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum k+) + (\sum k-)}{3} - FK$$

$$= \frac{(79,43)^2 + (89,49)^2 + (81,95)^2 + (92,15)^2 + (753,84)}{3} - 94498,7$$

$$= 2772,55$$

4. Jumlah Kuadrat Acak (JKA)

$$= JKT - JKP$$

$$= 3125,31 - 2772,5$$

$$= 352,75$$

Lampiran 5. Lanjutan

$$\begin{aligned}
 5. \text{ db Total} &= (n \times r) - 1 \\
 &= (5 \times 3) - 1 \\
 &= 14
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 5 - 1 \\
 &= 4
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \text{ db Acak} &= n (r - 1) \\
 &= 5 (3 - 1) \\
 &= 10
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8. \text{ Kuadrat Tengah Perlakuan} &= \frac{JKP}{db} \\
 &= \frac{2772}{4} \\
 &= 693,14
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \text{ Kuadrat Tengah Acak} &= \frac{JKA}{db} \\
 &= \frac{1352,75}{10} \\
 &= 35,28
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10. \text{ F Hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{693,14}{35,28} \\
 &= 19,65
 \end{aligned}$$

b. Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Sumber Keragaman | db | JK | KT | F Hit | F 5% | F1% |
|------------------|-----------|----------------|--------|---------|------|------|
| Perlakuan | 4 | 2772,55 | 693,14 | 19,65** | 3,48 | 5,99 |
| Acak | 10 | 352,76 | 35,28 | | | |
| Total | 14 | 3125,31 | | | | |

***) Berbeda sangat nyata

Perhitungan

$$1. \text{ SED} = \sqrt{\frac{2 \times KTA}{r}}$$

Lampiran 5. Lanjutan

$$= \sqrt{\frac{2 \times 35,28}{3}}$$

$$= 4,84$$

2. BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED

$$= 10,8$$

3. BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED

$$= 15,36$$

c. Hasil Uji BNT SR Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Perlakuan | Rata-Rata | K+ | B | C | A | K- | Notasi |
|-----------|-----------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|--------|
| | | 92,15 | 89,49 | 81,95 | 79,43 | 53,84 | |
| K+ | 92,15 | | | | | | a |
| B | 89,49 | 2,67 ^{ns} | | | | | a |
| C | 81,95 | 10,21 ^{ns} | 7,54 ^{ns} | | | | a |
| A | 79,43 | 12,72 ^{**} | 10,05 ^{ns} | 2,51 ^{ns} | | | ab |
| K- | 53,84 | 38,31 ^{**} | 35,65 ^{**} | 28,11 ^{**} | 25,59 ^{**} | | c |

*) Berbeda nyata

***) Berbeda sangat nyata

Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi terhadap hemoragi usus ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dilakukan perhitungan polinomial orthogonal

d. Tabel Uji Polinomial Orthogonal Nekrosis Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Perlakuan | Total | Linier | Kuadratik | Kubik | Kuartik |
|-----------------|--------|----------|-----------|----------|----------|
| A | 238,3 | -2 | 2 | -1 | 1 |
| B | 268,46 | -1 | -1 | 2 | -4 |
| C | 245,84 | 0 | -2 | 0 | 6 |
| K+ | 276,46 | 1 | -1 | -2 | -4 |
| K- | 161,52 | 2 | 2 | 1 | 1 |
| Q= Σci*Ti | | -145,56 | -236,96 | -92,78 | -304,82 |
| Hasil Kuadratik | | 10 | 14 | 10 | 70 |
| Kr= (Σci^2)*r | | 30 | 42 | 30 | 210 |
| JK=Q^2/Kr | | 706,2571 | 1336,906 | 286,9376 | 442,4535 |

Perhitungan:

17. Q Linier = Σ (Ci x Ti)

Lampiran 5 (Lanjutan)

$$= (-2 \times 238,2) + (-1 \times 268,46) + (0 \times 245,84) + (1 \times 276,42) + (2 \times 161,52)$$

$$= -145,56$$

18. Q Kuadratik

$$= \sum (C_i \times T_i)$$

$$= (2 \times 238,2) + (-1 \times 268,46) + (-2 \times 245,84) + (-1 \times 276,42) + (2 \times 161,52)$$

$$= -236,96$$

19. Q Kubik

$$= \sum (C_i \times T_i)$$

$$= (-1 \times 238,2) + (2 \times 268,46) + (0 \times 245,84) + (-2 \times 276,42) + (1 \times 161,52)$$

$$= -92,78$$

20. Q Kuartik

$$= \sum (C_i \times T_i)$$

$$= (-1 \times 238,2) + (-4 \times 268,46) + (6 \times 245,84) + (-4 \times 276,42) + (1 \times 161,52)$$

$$= -304,82$$

21. Hasil Kuadrat Ci Linier

$$= (-2)^2 + (-1)^2 + (0)^2 + (1)^2 + (2)^2$$

$$= 10$$

22. Hasil Kuadrat Ci Kuadratik

$$= (2)^2 + (-1)^2 + (-2)^2 + (-1)^2 + (2)^2$$

$$= 14$$

23. Hasil Kuadrat Ci Kubik

$$= (-1)^2 + (2)^2 + (0)^2 + (-2)^2 + (1)^2$$

$$= 10$$

24. Hasil Kuadrat Ci Kuartik

$$= (1)^2 + (-4)^2 + (6)^2 + (-4)^2 + (1)^2$$

$$= 70$$

25. KR Linier

$$= (\sum C_i)^2 \times r$$

$$= 10 \times 3$$

$$= 30$$

26. KR Kuadratik

$$= (\sum C_i)^2 \times r$$

Lampiran 5 (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 &= 42 \times 3 \\
 &= 42 \\
 27. \text{ KR Kubik} &= (\sum C_i)^2 \times r \\
 &= 10 \times 3 \\
 &= 30 \\
 28. \text{ KR Kurtik} &= (\sum C_i)^2 \times r \\
 &= 70 \times 3 \\
 &= 210 \\
 29. \text{ JK Linier} &= \frac{Q^2}{KR} \\
 &= \frac{-145,56}{30} \\
 &= 706,23 \\
 30. \text{ JK Kuadratik} &= \frac{Q^2}{KR} \\
 &= \frac{-236,96^2}{42} \\
 &= 1336,90 \\
 31. \text{ JK Kubik} &= \frac{Q^2}{KR} \\
 &= \frac{-92,78^2}{30} \\
 &= 286,937 \\
 32. \text{ JK Kuartik} &= \frac{Q^2}{KR} \\
 &= \frac{-304,82^2}{210} \\
 &= 442,45 \\
 33. \text{ Total JK Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} + \\
 &\quad \text{JK Kuartik} \\
 &= 706,25 + 1336,0 + 286,93 + 442,45 \\
 &= 2772,55
 \end{aligned}$$

Lampiran 5 . (Lanjutan)

e. Tabel Sidik Ragam Regresi Polinomial Orthogonal Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | F Hit | F 5% | F 1% |
|------------------|----|---------|--------|----------|------|------|
| Perlakuan | 4 | 2772,6 | 693,1 | 0,25 | 3,48 | 5,99 |
| Linier | 1 | 706,3 | 706,3 | 20,0211 | | |
| Kuadratik | 1 | 1336,9 | 1336,9 | 37,89883 | | |
| Kubik | 1 | 286,9 | 286,9 | 8,134156 | | |
| Kuartik | 1 | 442,5 | 442,5 | 12,54275 | | |
| Acak | 10 | 352,8 | 35,3 | | | |
| Total | 14 | 3125,31 | | | | |

**) Berbeda sangat nyata

Perhitungan:

$$\begin{aligned}
 9. R^2 \text{ Linier} &= \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{706,3}{706,3 + 2772,5} \\
 &= 0,66
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10. R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{1336,9}{1336,9 + 2772,5} \\
 &= 0,80
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 11. R^2 \text{ Kubik} &= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{286,9}{286,9 + 2772,5} \\
 &= 0,44
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 12. R^2 \text{ Kuartik} &= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{442,5}{442,5 + 2772,5} \\
 &= 0,55
 \end{aligned}$$

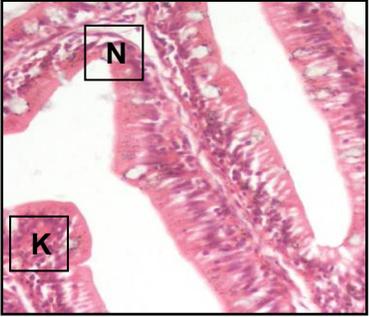
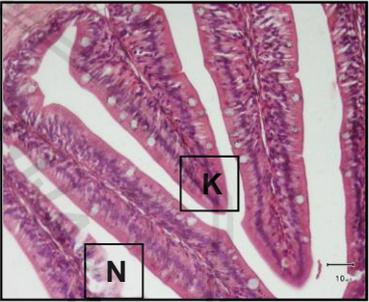
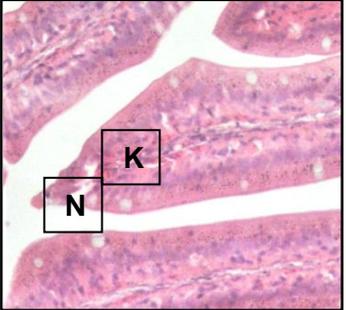
Lampiran 5 . (Lanjutan)

Hasil perhitungan R^2 diatas menunjukkan bahwa nilai R^2 Kuartik lebih besar dibandingkan dengan nilai R^2 linier, kubik dan kuartik,. Berdasarkan hasil tersebut, maka arah laju kurva yang digunakan adalah kurva kuadratik.

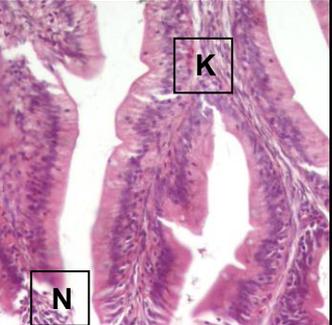
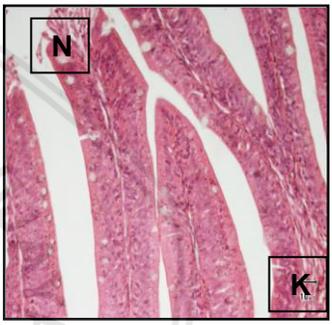
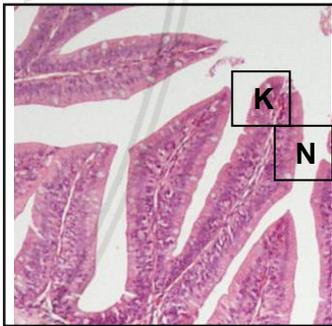
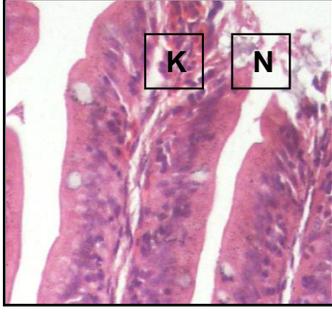
Tabel sumbu x dan y kelulushidupan ikan nila

| Perlakuan | X | y | xy | x² |
|------------------|----------|----------|-----------|----------------------|
| K-1 | 0 | 61,53 | 0 | 0 |
| K-2 | 0 | 46,15 | 0 | 0 |
| K-3 | 0 | 53,84 | 0 | 0 |
| A1 | 52,5 | 84,46 | 4434,15 | 2756,25 |
| A2 | 52,5 | 76,92 | 4038,3 | 2756,25 |
| A3 | 52,5 | 76,92 | 4038,3 | 2756,25 |
| B1 | 62,4 | 92 | 5740,8 | 3893,76 |
| B2 | 62,4 | 84,46 | 5270,304 | 3893,76 |
| B3 | 62,4 | 92 | 5740,8 | 3893,76 |
| C1 | 72,5 | 84,46 | 6123,35 | 5256,25 |
| C2 | 72,5 | 76,92 | 5576,7 | 5256,25 |
| C3 | 72,5 | 84,46 | 6123,35 | 5256,25 |
| K+1 | 20 | 100 | 2000 | 400 |
| K+2 | 20 | 84,46 | 1689,2 | 400 |
| K+3 | 20 | 92 | 1840 | 400 |

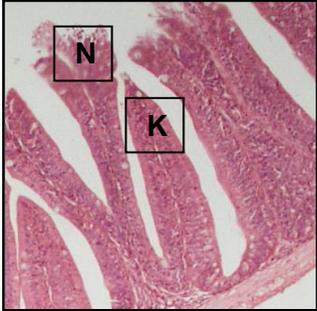
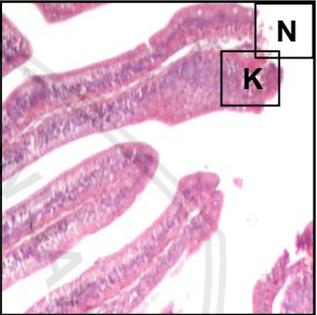
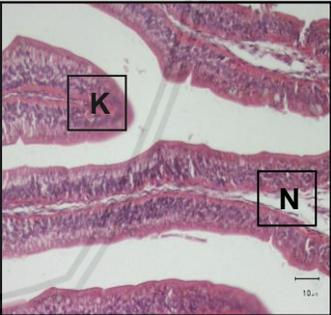
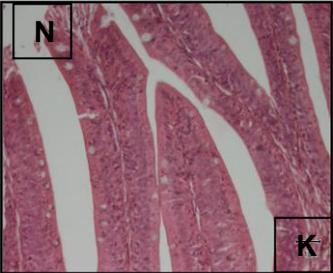
Lampiran 6. Gambar Histopatologi Usus Ikan Nila (*O. niloticus*)

| No | Perlakuan | Ulangan | Gambar |
|----|-----------|---------|--|
| 1 | A | 1 |  |
| | | 2 |  |
| | | 3 |  |
| 2 | B | 1 |  |

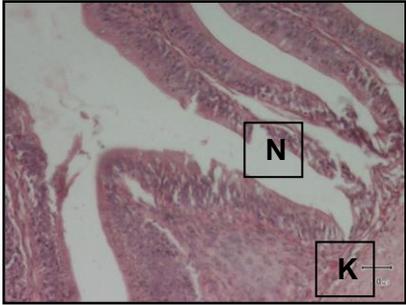
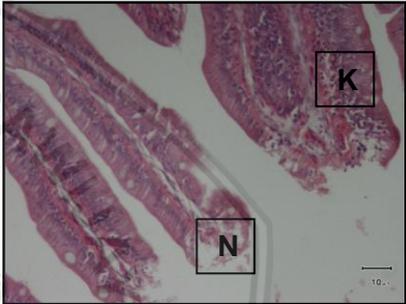
Lampiran 6. (Lanjutan)

| No | Perlakuan | Ulangan | Gambar |
|----|-----------|---------|---|
| 2 | B | 2 |  |
| | | 3 |  |
| 3 | C | 1 |  |
| | | 2 |  |

Lampiran 6. (Lanjutan)

| No. | Perlakuan | Ulangan | Gambar |
|-----|-----------|---------|--|
| 3 | C | 3 |  |
| 4 | K+ | 1 |  |
| | | 2 |  |
| | | 3 |  |

Lampiran 6. (Lanjutan)

| No | Perlakuan | Ulangan | Gambar |
|----|-----------|---------|--|
| 5 | K- | 1 |  <p>A histological section of placental tissue stained with H&E. The image shows chorionic villi. A label 'N' is placed over a fetal blood vessel within a villus, and a label 'K' is placed over a maternal blood vessel in the intervillous space. A scale bar is visible in the bottom right corner.</p> |
| | | 2 |  <p>A histological section of placental tissue stained with H&E. The image shows chorionic villi. A label 'K' is placed over a maternal blood vessel in the intervillous space, and a label 'N' is placed over a fetal blood vessel within a villus. A scale bar is visible in the bottom right corner.</p> |
| | | 3 |  <p>A histological section of placental tissue stained with H&E. The image shows chorionic villi. A label 'K' is placed over a maternal blood vessel in the intervillous space, and a label 'N' is placed over a fetal blood vessel within a villus.</p> |