

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL
IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI
*Pseudomonas floouresces***

SKRIPSI

Oleh:

**ABDULLAH ABRAR WIDITAPUTRA
NIM. 155080500111067**



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

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL
IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI
*Pseudomonas floouresces***

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

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

Oleh:

**ABDULLAH ABRAR WIDITAPUTRA
NIM. 155080500111067**



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

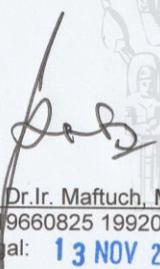
**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL
IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI
*Pseudomonas flourences***

Oleh :
ABDULLAH ABRAR WIDITAPUTRA
NIM. 155080500111005

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 7 November 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

Menyetujui,
Dosen Pembimbing II


(Prof. Dr. Ir. Maftuch, M.Si)
NIP. 19660825 199203 1 001
Tanggal: 13 NOV 2019


(Budianto, S.Pi., MP., M.Sc)
NIK. 20130485071810001
Tanggal: 13 NOV 2019

Mengetahui,
Ketua Jurusan




(Dr. Ir. Muhammad Firdaus, MP)
NIP. 19680919200501 1 001
Tanggal: 13 NOV 2019

IDENTIAS TIM PENGUJI

Judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.) terhadap Histopatologi Ginjal Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas flourences*

Nama Mahasiswa : Abdullah Abrar Widitaputra

NIM : 155080500111067

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING

Pembimbing 1 : Prof. Dr. Ir. Maftcuh, M.Si.

Pembimbing 2: Budianto, S.Pi., MP., M.Sc

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Penguji 1 : Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS

Penguji 2 : Ir. Ellana Sanoesi, MP.

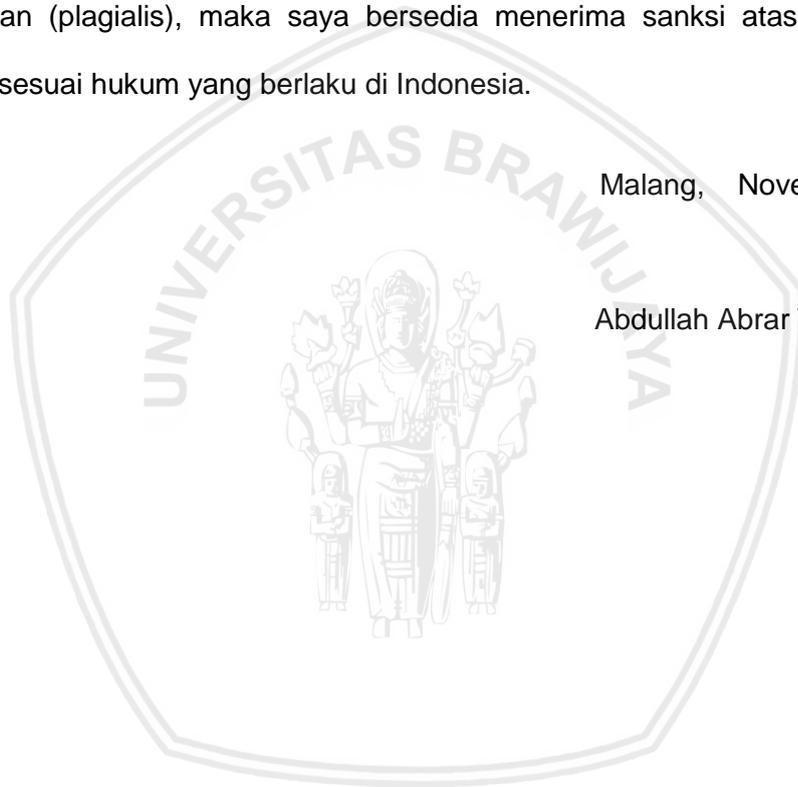
Tanggal Ujian : 7 November 2019

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dengan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagialis), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, November 2019

Abdullah Abrar Widityaputra



UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah *rabbi* *lamin*. Segala puji hanya milik Allah *Subhanahu Wa Ta'ala*, satu-satunya Tuhan Penguasa semesta alam. Penulis bersyukur kepada Allah yang memudahkan Laporan Skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan sebaik-baiknya. Sungguh tidak ada sesuatupun di dunia ini kecuali atas Kuasa-Nya.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan Skripsi ini, khususnya kepada:

1. Kedua orang tua serta saudara dan kerabat atas dukungan do'a yang tidak henti-hentinya.
2. Wahyu Endra Kusuma selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan atas dukungan dan kerjasama beliau.
3. Prof. Dr. Ir. Maftuch, M.Si dan Budianto, S.Pi., MP., M.Sc selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, petunjuk dan bimbingan sejak penyusunan usulan hingga selesainya penyusunan Skripsi.
4. Teman-teman seperjuangan di Program Studi Budidaya Perairan 2015, Tim Skripsi Baday (Kak Sira, Kak Nisa, Kak Ratna dan Nadira).
5. Sahabat-sahabatku khususnya Karunia Ayuningsih atas segala do'a, bantuan, dukungan dan motivasi yang di berikan.
6. Semua pihak yang telah telah membantu sehingga Laporan Skripsi ini bisa terselesaikan.

RINGKASAN

Abdullah Abrar Widitaputra. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* merr.) terhadap Histopatologi Ginjal Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas flourences* (dibawah bimbingan **Prof. Dr.Ir. Maftuch, M.Si dan Budianto, S.Pi., MP., M.Sc**)

Potensi perikanan budidaya secara nasional diperkirakan sebesar 15,59 juta hektar sedangkan potensi ikan air tawar sebesar 2,23 juta hektar. Oleh karena itu, potensi ikan air tawar terutama ikan nila memiliki potensi yang cukup tinggi untuk dikembangkan. Ikan nila memiliki laju pertumbuhan dan berkembang biakkannya yang cepat sehingga menjadi unggulan bagi para pembudidaya ikan. Salah satu masalah serius yang dihadapi oleh para pembudidaya ikan adalah penyakit ikan. Penyakit juga dapat menyebabkan penurunan kualitas ikan sehingga secara ekonomis berakibat pada penurunan harga jual. Penyakit pada ikan disebabkan antara lain oleh parasit, bakteri, ataupun jamur. Salah satu contoh Penyakit bakterial adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas flourences*. Ikan nila yang terinfeksi bakteri *P. flourences* dapat mengakibatkan ikan menjadi stres bahkan mengakibatkan kematian. Pengobatan bakteri *P. flourences* dapat menggunakan antibiotik. Antibiotik adalah suatu senyawa yang dihasilkan oleh organisme seperti bakteri dan jamur. Penggunaan antibiotik yang terlalu sering dapat mengakibatkan resisten terhadap bakteri dan ikan yang dipelihara tidak baik untuk dikonsumsi akibat residu antibiotik. Alternatif lain untuk mengobati ikan yang terserang bakteri ini adalah dengan menggunakan bahan-bahan alami yang mengandung zat antimikroba dan lebih aman bagi ikan, serta lebih ramah lingkungan. Bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) merupakan salah satu tanaman yang telah diketahui khasiatnya sebagai tanaman obat.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak kasar Bawang Dayak untuk ikan nila yang diinfeksi *P. flourences* serta mengetahui dosis tertinggi ekstrak kasar Bawang Dayak berpengaruh terhadap ikan nila yang diinfeksi *P. flourences*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada 1 Desember 2018 – 21 Januari 2019

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap. Metode eksperimen adalah metode yang dilakukan untuk mengetahui hubungan sebab akibat antara dua variabel atau lebih yang sudah diatur dengan melakukan beberapa perlakuan yang berbeda pada objek penelitian tersebut, dengan menggunakan 3 perlakuan yang berbeda yaitu A (30 ppm), B (50 ppm), dan C (70 ppm) dengan 3 kali ulangan.

Hasil yang diperoleh adalah pemberian ekstrak kasar bawang berpengaruh terhadap histopatologi ginjal ikan nila yang dibuktikan melalui kerusakan kongesti dan nekrosis. Parameter kualitas air menunjukkan kondisi normal yaitu suhu 22 - 25° C, pH berkisar 6,8 – 7,26 dan DO berkisar 4,01 – 5,2 ppm serta hasil kelulushidupan terbaik adalah 86,67 pada perlakuan C.

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa dosis tertinggi untuk mengurangi dampak kerusakan jaringan ginjal yang diakibatkan karena infeksi bakteri *P. flourences* adalah 70 ppm pada perlakuan C. Jadi dapat disimpulkan semakin tinggi dosis yang diberikan, maka akan semakin memberikan hasil yang lebih baik.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan usulan Skripsi yang berjudul “PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* Merr.) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas flourences*” sehingga dapat terselesaikan.

Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat selama kegiatan penelitian kedepannya. Skripsi ini memiliki kekurangan dan keterbatasan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar skripsi ini bermanfaat bagi yang membutuhkan dan membantu selama kegiatan skripsi nantinya.

Malang, November 2018

Abdullah Abrar Widitaputra

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
IDENTIAS TIM PENGUJI	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Waktu dan Tempat.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biologi Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	5
2.1.2 Habitat	6
2.2 Biologi Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> Merr.)	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	7
2.2.2 Bahan Aktif yang Terkandung pada Bawang Dayak.....	8
2.3 Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i>	9
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	9
2.3.2 Infeksi dan Tanda Penyebaran.....	9
2.3.3 Gejala Klinis	10
2.4 Histopatologi	10
2.4.1 Pengertian dan Manfaat Histopatologi.....	10
2.4.2 Jaringan Ginjal sebagai Parameter Uji Histopatologi.....	11
2.5 Kualitas Air.....	12
2.5.1 Suhu	12
2.5.2 pH	12
2.5.3 Oksigen Terlarut.....	13
2.6 Kelulushidupan (<i>Survival Rate</i>).....	13



3. METODE SKRIPSI	15
3.1 Metode Pengambilan Data.....	15
3.1.1 Alat-alat Penelitian	15
3.1.2 Bahan-bahan Penelitian	15
3.2 Metode Penelitian	16
3.4 Pengambilan Data	17
3.5 Rancangan Penelitian	17
3.5.1 Uji Patogenitas Bakteri <i>P. fluorescens</i> terhadap Ikan Nila	19
3.5.2 Uji Toksisitas Ekstrak Umbi Bawang Dayak terhadap Ikan Nila.....	19
3.6 Prosedur penelitian	21
3.6.1 Persiapan Penelitian	21
a. Sterilisasi Alat dan Bahan	21
b. Pembuatan Media	21
c. Pemiakan Bakteri <i>P. fluorences</i>	23
d. Pembuatan Ekstrak Kasar Bawang Dayak	24
e. Persiapan Alat.....	24
f. Persiapan Hewan Uji.....	25
3.6.2 Pelaksanaan penelitian	25
a. Penginfeksian Bakteri <i>P. fluorences</i> pada Ikan nila	25
b. Perendaman Ikan Uji Dengan Ekstrak Kasar Bawang Dayak.....	26
c. Uji Kelulushidupan Ikan Nila	26
d. Pengambilan Jaringan Ginjal Ikan Nila	26
e. Pembuatan Histopatologi Ginjal Ikan Nila.....	27
3.7 Parameter Uji.....	29
3.7.1 Parameter Utama.....	29
3.7.2 Parameter Penunjang	29
3.8 Analisis Data.....	30
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Analisis Kelulushidupan Ikan Nila	31
4.2 Histopatologi Ginjal	33
4.2.1 Ginjal Ikan yang Normal dan Terinfeksi Bakteri <i>P. fluorences</i>	33
4.2.2 Histopatologi Ginjal pada Sampel Perlakuan.....	34
a. Kongesti.....	35
b. Nekrosis.....	38
4.3 Mekanisme Senyawa Aktif terhadap Histopatologi.....	41
4.4 Gejala Klinis pada Ikan Nila	43
4.5 Parameter Kualitas Air	44
4.5.1 Oksigen Terlarut (DO)	44
4.5.2 Suhu	45
4.5.3pH	45
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43
LAMPIRAN.....	47



DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Ikan Nila.....	6
2. Bawang Dayak.....	8
3. Denah Lokasi Penelitian	18
4. Alur skoring Alur Perhitungan Skoring	29
5. Grafik Hubungan Dosis dan Nilai Kelulushidupan	32
6. Gambar Histopatologi Ginjal	34
7. Gambar Histopatologi Ginjal, (A) Dosis 30 ppm, (B) Dosis 50 ppm, dan (C) Dosis 70 ppm.....	34
8. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Nilai Skoring Ginjal (Kongesti)	38
9. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Nilai Skoring Ginjal (Nekrosis)	41
10 Ikan nila (<i>O. niloticus</i>) yang mengalami gejala klinis.	43



DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Hasil MIC Ekstrak Umbi Bawang Dayak	18
2. Hasil LD ₅₀ Bakteri <i>P. fluorescens</i>	19
3. Hasil LC ₅₀ Ekstrak Umbi Bawang Dayak	20
4. Kelulushidupan Ikan Nila	31
5. Sumber Keragaman Kelulushidupan.....	31
6. Uji BNT Kelulushidupan Ikan Nila	32
8. Rerata Skoring Ginjal Penelitian Pengamatan Kongesti.....	36
9. Sumber Keragaman Skoring Kongesti Jaringan Ginjal.....	36
10. Uji BNT Kongesti Jaringan Ginjal.....	37
11. Rerata nilai skoring Nekrosis	39
12. Sumber Keragaman Hasil Penelitian Kerusakan Nekrosis Jaringan Ginjal ..	39
13. Uji BNT Hasil Penelitian Nekrosis Ginjal	40
14. Kisaran Parameter Kualitas Air	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Alat Penelitian.....	42
2. Bahan Penelitian.....	52
3. Hasil Uji Fitokimia Bawang Dayak.....	54
4. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>P. fluorescens</i>	55
5. Perhitungan Dosis Ekstrak pada Uji MIC	56
6. Skema Uji MIC (<i>Minimum Inhibition Concentration</i>)	57
7. Perhitungan Kepadatan Bakteri	58
8. Dosis Ekstrak Kasar Bawang Dayak untuk Pengobatan Ikan Nila	56
9. Nilai Skoring Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	57
10. Perhitungan Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	58
11. Hasil Pengamatan Kualitas Air.....	68
12. Perhitungan Kelulushidupan	76

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Potensi perikanan budidaya secara nasional diperkirakan sebesar 15,59 juta hektar yang terdiri atas potensi ikan air tawar sebesar 2,23 juta hektar, air payau 1,22 juta hektar, dan budidaya laut sebesar 12,14 juta hektar. Namun pada saat ini, masing-masing budidaya tersebut baru mencapai 10,1% untuk budidaya air tawar; 40% budidaya air payau, dan 0,01% untuk budidaya laut. Oleh karena itu, potensi ikan air tawar terutama ikan nila (*Oreochromis niloticus*) memiliki potensi yang cukup tinggi untuk dikembangkan (Mujalifah *et al.*, 2018).

Ikan nila merupakan salah satu komoditas penting perikanan budidaya air tawar di Indonesia. Ikan nila memiliki laju pertumbuhan dan perkembangan biakkannya yang cepat sehingga menjadi unggulan bagi para pembudidaya ikan (Fitria, 2012). Menurut Mujalifah *et al.*, (2018), ikan nila hidup di air tawar seperti sungai, danau, waduk, dan rawa-rawa. Ikan nila dapat pula hidup dengan baik di air payau dan air laut karena memiliki toleransi sangat luas terhadap salinitas. Menurut KKP (2017), pada tahun 2013 produksi tilapia naik sebanyak 914,78 ribu ton senilai Rp 10,698 trilyun. Pada 2014 produksi naik menjadi 999,69 ribu ton senilai Rp 12,389 trilyun dan pada tahun 2015 produksi tilapia mencapai 1,084 juta ton dengan nilai Rp. 21,236 trilyun.

Salah satu masalah serius yang dihadapi oleh para pembudidaya ikan adalah penyakit ikan karena berpotensi menimbulkan kerugian yang sangat besar. Kerugian yang terjadi dapat berupa peningkatan kematian ikan. Selain itu, serangan penyakit dapat menyebabkan penurunan kualitas ikan sehingga secara ekonomis berakibat pada penurunan harga jual. Munculnya penyakit pada ikan merupakan hasil interaksi antara tiga komponen dalam ekosistem perairan yaitu inang (ikan) yang lemah, keberadaan organisme patogen, serta kualitas

lingkungan yang buruk (Samsundari, 2006). Penyakit pada ikan disebabkan antara lain oleh parasit, bakteri, ataupun jamur. Salah satu contoh Penyakit bakterial adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas fluorences*. Infeksi bakteri akan menunjukkan perubahan abnormal (lesi) pada kulit atau sirip, jaringan otot, dan organ-organ internal (Syawal *et al.*, 2008).

Bakteri *P. fluorences* merupakan salah satu bakteri patogen yang dapat menyerang ikan air tawar salah satunya ikan nila. Ikan nila yang terinfeksi bakteri *P. fluorences* dapat mengakibatkan ikan menjadi stres bahkan mengakibatkan kematian. Gejala awal yang dapat dilihat apabila terinfeksi dapat dilihat dari perubahan warna tubuh ikan nila yang menghitam, dan rusaknya mata pada ikan nila. Kondisi lingkungan yang buruk dapat membuat kondisi semakin buruk sehingga ikan lebih mudah terjangkit *P. fluorences*. *P. fluorences* dapat menular dengan cepat melalui air, kontak bagian tubuh atau melalui peralatan yang digunakan yang terkontaminasi bakteri (Kurniawan, 2016). Ginjal ikan nila juga akan mengalami kerusakan seperti membesarnya diameter dari tubulus renalis, pembengkakan pada glomerous, rusaknya glomerulus, dan masuknya cairan pada glomerulus ikan sehingga sel mengalami nekrosis (Hadi *et al.*, 2012).

Pengobatan bakteri *P. fluorences* dapat menggunakan antibiotik. Antibiotik adalah suatu senyawa yang dihasilkan oleh organisme seperti bakteri dan jamur, yang fungsinya salah satunya mampu menekan pertumbuhan dan atau membunuh mikroorganisme lainnya. Biasanya senyawa ini mempunyai kemampuan untuk membunuh bakteri (bakterisidal) atau menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) atau mikroorganisme lain. Berdasarkan sifatnya beberapa antibiotik mampu bereaksi terhadap beberapa spesies bakteri sekaligus (spektrum luas) seperti dari jenis Tetrasiklin dan Kloramphenikol, sedangkan ada juga antibiotik lain yang bersifat lebih spesifik hanya terhadap spesies bakteri tertentu (spektrum sempit) contohnya streptomisin. (Bezoen *et al.*,

2000). Penggunaan antibiotik yang terlalu serung dapat mengakibatkan resisten terhadap bakteri dan ikan yang dipelihara tidak baik untuk dikonsumsi akibat residu antibiotik. Alternatif dari antibiotik yaitu menggunakan bahan alami yaitu bawang dayak yang lebih aman, ramah lingkungan, murah serta tidak menimbulkan residu pada perairan.

Bawang dayak dapat ditemukan di daerah Jawa Barat (Sunda), tanaman ini juga dikenal dengan nama daerah yaitu babawangan beureum. Hasil penapisan fitokimia pada bagian umbi menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder antara lain : alkaloid, glikosida, flavanoid, fenolik, kuinon, steroid, zat tannin, dan minyak atsiri. Bagian daun dan akar mengandung flavonoida dan polifenol (Heyne, 1987). Penelitian yang dilakukan oleh Nisyak (2016) menyatakan bahwa adanya pengaruh berbeda sangat nyata terhadap pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*, dengan rata – rata diameter zona hambat dengan dosis 35 ppm sebesar 3,61 mm, dan 60 ppm sebesar 4,44 mm. Ekstrak kasar bawang dayak merupakan antibakteri yang bersifat bakteriostatik, karena hanya menghambat pertumbuhan tanpa membunuh bakteri. Namun saat ini penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar bawang dayak terhadap ikan nila masih perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar bawang dayak terhadap ikan nila yang telah diinfeksi *P. fluorescens* yang dilihat dari perubahan histopatologi ginjal.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian ekstrak kasar Bawang Dayak berpengaruh terhadap histopatologi ginjal pada ikan Nila yang diinfeksi *P. fluorescens*?
2. Berapa dosis tertinggi dari pemberian ekstrak kasar Bawang Dayak pada ikan Nila yang diinfeksi *P. fluorescens*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk :

1. Mengetahui pengaruh ekstrak kasar Bawang Dayak untuk ikan nila yang diinfeksi *P. flourences*.
2. Mengetahui dosis tertinggi ekstrak kasar Bawang Dayak berpengaruh terhadap ikan nila yang diinfeksi *P. flourences*.

1.4 Hipotesis

H₀ : Diduga pemberian ekstrak kasar Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) dengan dosis yang berbeda tidak mempengaruhi gambaran histopatologi ginjal ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. flourences*.

H₁ : Diduga pemberian ekstrak kasar Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) dengan dosis yang berbeda mempengaruhi gambaran histopatologi ginjal ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. flourences*.

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada 1 Desember 2018 – 21 Januari 2019.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi ikan nila menurut Khairuman dan Amri (2012) adalah sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Pisces
Subkelas	: Acanthopterigii
Bangsa	: Perciformes
Suku	: Cichlidae
Marga	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>
Nama Lokal	: Ikan Nila

Said (2007) mengatakan bahwa, ikan nila (Gambar 1) memiliki bentuk tubuh agak memanjang dan pipih ke samping, warna putih kehitaman dan pada bagian ventral warna semakin terang. Tubuh terdapat garis vertikal berwarna hijau kebiruan, sedangkan pada sirip ekor terdapat garis melintang yang ujungnya berwarna kemerah-merahan. Mata tampak menonjol agak besar dan di tepinya berwarna hijau. Mulut terletak secara terminal atau di ujung tubuh. Ikan nila memiliki tipe sisik ctenoid atau sisik sisir.

Kordi (2015) menyatakan bahwa bentuk badan nila pipih ke samping memanjang. Sedangkan warna tubuh nila umumnya putih kehitaman dan merah, sehingga dikenal sebagai nila hitam dan nila merah. Tubuh nila hitam berwarna kehitaman, makin ke perut makin terang. Mempunyai garis vertikal 9-11 buah berwarna hijau kebiruan. Pada sirip ekor terdapat 6-12 garis melintang yang

ujungnya berwarna kemerah-merahan, sedangkan punggungnya terdapat garis-garis miring. Sedangkan nila merah mempunyai warna tubuh merah, termasuk sirip-siripnya, atau merah pada bagian punggung dan putih kemerahan pada bagian perut.



Gambar 1. Ikan Nila (Rukamana, 1997)

2.1.2 Habitat

Jihulya (2014) mengatakan bahwa habitat dan posisi geografis cenderung tergantung pada jenis makanan yang dicerna oleh spesies ikan. Ikan nila memiliki jenis makanan yang berbeda di habitat yang berbeda. Sebagian besar ikan nila ditemukan pada kedalaman mulai dari 0-20 meter. Disisi lain, ikan nila adalah ikan dermesal mencari makan di daerah pelagis. Sementara ikan nila kecil banyak ditemukan di lahan basah, terbuka dan di daerah perairan dalam.

Lingkungan tumbuh (habitat) yang paling ideal untuk tempat hidup ikan nila adalah perairan tawar yang memiliki suhu antara 14-38 °c atau suhu optimal 25-30 °c. Keadaan suhu rendah (kurang dari 14 °c) ataupun suhu terlalu tinggi (di atas 30 °c), pertumbuhan ikan nila terganggu (terhambat). Ikan nila memiliki toleransi tinggi terhadap perubahan lingkungan hidup. Ikan nila masih dapat tumbuh dalam keadaan air asin pada kadar salinitas 0-35 permil. Oleh karena itu, ikan nila dapat dipelihara di perairan payau, tambak, dan perairan laut (Rukamana, 1997).

2.2 Biologi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Departemen kesehatan (2001), secara taksonomi, tanaman bawang dayak memiliki jalur klasifikasi yaitu:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Liliales
Suku	: Iridaceae
Marga	: Eleutherine
Jenis	: <i>Eleutherine palmifolia</i> (L) Merr

Bawang dayak (Gambar 2) adalah tanaman khas Kalimantan Tengah yang digunakan oleh masyarakat suku Dayak sebagai obat. Tumbuhan ini memiliki tinggi sekitar 30-40 cm. Bentuk umbi pada bawang dayak berwarna merah berlapis menyerupai bawang merah yang biasa dipakai sebagai bumbu masakan, berdaun tunggal seperti pita dengan ujung dan pangkal runcing tepi rata atau tidak bergerigi berwarna hijau. Memiliki bunga majemuk yang tumbuh di ujung batang berwarna putih dengan putik berbentuk jarum berukuran kurang lebih 4 mm berwarna putih kekuningan, dan memiliki akar serabut berwarna coklat muda (Galingging, 2009).

Bawang dayak merupakan tanaman khas Kalimantan Tengah. Tanaman ini sudah secara turun-temurun digunakan sebagai tanaman obat. Tanaman ini umbi yang berwarna merah dengan daun hijau berbentuk pita dan bunganya berwarna putih. Penyebaran bawang dayak mulai dari Malaysia, Filipina, hingga Indonesia. Tumbuhan ini biasanya hidup di daerah pegunungan dengan ketinggian 600-2.000 meter di atas permukaan laut (LIPI, 1978).



Gambar 2. Bawang Dayak (Puspadewi *et al.*, 2013)

2.2.2 Bahan Aktif yang Terkandung pada Bawang Dayak

Bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) adalah salah satu jenis tanaman yang berkhasiat bagi kesehatan. Tanaman ini banyak ditemukan di Pulau Kalimantan. Penduduk lokal di daerah tersebut sudah menggunakan tanaman ini sebagai obat tradisional. Bagian yang dapat dimanfaatkan pada tanaman ini adalah umbinya. Secara empiris diketahui tanaman ini dapat berperan sebagai anti-kanker, anti-inflamasi, anti-mikroba dan menyembuhkan hipertensi serta diabetes mellitus. Berdasarkan hasil penelitian terdahulu didapatkan bahwa umbi bawang dayak mengandung antioksidan, fenol, polifenol, *quercetin*, dan turunannya (Lee *et al.*, 2015).

Bawang dayak merupakan tanaman yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Kandungan fitokimia yang dimiliki tanaman bawang dayak antara lain alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, steroid, tannin, serta kuinon. Tanaman khas Kalimantan Tengah ini mengandung senyawa fenolat golongan naftokuinon. Naftokuinon memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan dan anti kanker. Kandungan senyawa fenolik dalam bawang dayak diduga dapat membentuk ikatan senyawa radikal antioksidan lebih stabil dan tidak berbahaya bagi sel tubuh. Senyawa naftokuinon biasanya digunakan antara lain sebagai antimikroba dan antioksidan (Gayatri *et al.*, 2017).

2.3 Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Bergey (1984) mengatakan bahwa klasifikasi dari bakteri *P. fluorescens* adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Prokariota
Divisi	: Gracilicutes
Kelas	: Proteobacteria
Bangsa	: Pseudomonadaceae
Marga	: Pseudomonas
Jenis	: <i>Pseudomonas fluorescens</i>

Bakteri *P. fluorescens* berbentuk batang lurus atau lengkung, ukuran tiap bakteri 0,5-0,1 μm x 1,5-4,0 μm , tidak membentuk spora dan bereaksi negative terhadap pewarnaan gram. *Pseudomonas* terbagi atas beberapa kelompok diantaranya sub-kelompok berpigmen yang dapat mengeluarkan pigmen phenazine (Hasanudin, 2003).

Bakteri *Pseudomonas* sendiri memiliki karakteristik seperti, gram negatif, berbentuk batang (*rods*) atau kokus (*coccus*), aerob obligat, motil mempunyai flagel, dan polar. Bakteri ini, oksidase positif, katalase positif, nonfermenter, dan tumbuh dengan baik pada suhu 4 °C atau dibawah 43 °C. *Pseudomonas* banyak ditemukan pada tanah, tanaman, dan air (Suyono dan Salahudin, 2011).

2.3.2 Infeksi dan Tanda Penyebaran

Bakteri ini merupakan patogen oportunistik yang menyerang ikan air tawar dan digolongkan ke dalam kelompok bakteri perusak sirip (*bacterial fin rot*). infeksi pada hampir semua jaringan dalam tubuh inang dengan jalan menyebar dari bagian lesi setempat melalui saluran darah mengakibatkan lesi pada jaringan lain, dan menyebabkan kematian pada ikan. Kondisi ikan yang stres juga dapat membuat ikan semakin mudah terserang penyakit. Tanda-tanda yang dapat terlihat

secara kasar mata yaitu munculnya bercak merah pada tubuh ikan (Kurniawan, 2016).

Bakteri *Pseudomonas* sp. merupakan patogen oportunistik yang menyerang ikan air tawar dan digolongkan ke dalam kelompok bakteri perusak sirip. Gejala ikan yang terinfeksi bakteri ini adalah: terdapat benjolan merah pada pangkal sirip dada, perut membengkak, tubuh penuh borok, pendarahan pada organ internal, sekitar mulut, opercula dan daerah, terjadi nekrosis pada jaringan limpa dan ginjal (Manurung dan Susantie, 2017).

2.3.3 Gejala Klinis

Gejala klinis serangan bakteri *Pseudomonas* sp seperti kebanyakan infeksi bakteri lainnya, yaitu mirip seperti infeksi *Aeromonas hydrophila*, terjadi *hemorrhage* pada insang dan ekor, borok pada kulit, dan *septicemia*. Gejala lain yang dapat ditimbulkan adalah kekeruhan pada mata ikan (opasitas) Apabila gejala ini terus dibiarkan maka akan membuat ikan menjadi lemas dan dapat menimbulkan kematian bagi ikan (Mastan, 2013).

Gejala umum yang dapat terlihat dari ikan yang terserang bakteri *P. fluresces* yaitu perubahan pola renang ikan. Perubahan ini diawali dengan ikan berenang secara miring (*whirling*). Gejala lain yaitu ikan berenang lemah dan berada pada dasar dan diam pada dasar. Selain itu, ikan juga berenang dengan posisi mulut berada tepat di bawah permukaan air (*gasping*) (Hardi *et al.*, 2014).

2.4 Histopatologi

2.4.1 Pengertian dan Manfaat Histopatologi

Histopatologi merupakan cabang ilmu biologi yang mempelajari tentang kelainan kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Analisis histopatologi pada ikan dapat digunakan sebagai biomarker untuk memonitor lingkungan perairan melalui pengamatan terhadap kondisi kesehatan

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

Histopatologi dapat dijadikan sebagai sebuah cara untuk menganalisis apabila terjadi suatu perubahan dalam struktur sel akibat terkena penyakit, bakteri, adanya substansi berbahaya pada lingkungan. Hal tersebut menunjukkan bahwa telah terjadi atau bahan sedang berlangsung perubahan dimana ikan tersebut berada. Analisa histopatologi dapat menjadi parameter yang sensitive dalam menentukan perubahan struktur sel yang terjadi dalam organ (Khaisar, 2005).

2.4.2 Jaringan Ginjal sebagai Parameter Uji Histopatologi

Ginjal ikan terletak pada posisi retroperitoneal dibagian ventral dari tulang punggung, di bawah kolum vertebrae. Secara mikroskopis, ginjal terlihat berwarna coklat muda atau tua atau hitam, bentuknya bervariasi menurut spesies. Ginjal terbagi atas bagian anterior dan posterior. Bagian anterior berfungsi sebagai organ limphomeiloid, sedangkan bagian posterior berfungsi sebagai organ ekskretori (Damayanti, 2010).

Ginjal yang tidak normal akan memiliki perbedaan yang signifikan terhadap ikan yang sehat. Hal tersebut dapat dilihat dari membesarnya diameter dari tubulus renalis, pembengkakan pada glomerulus, rusaknya glomerulus, dan masuknya cairan pada glomerulus ikan sehingga sel mengalami nekrosis. Perubahan ini dapat diidentifikasi sebagai *hypertrophy*. Nekrosis merupakan kematian lokal jaringan dalam tubuh individu yang masih hidup. Sedangkan pembengkakan sel (degenerasi vakuola) disebabkan oleh adanya peningkatan permeabilitas sel sehingga terjadi perpindahan cairan ekstrasel ke dalam sel (Hadi *et al.*, 2012).

2.5 Kualitas Air

2.5.1 Suhu

Kaya *et al.* (2016) mengatakan suhu adalah salah satu faktor fundamental yang efektif dalam kinerja, metabolisme dan distribusi penyebaran ikan. Perubahan suhu memiliki pengaruh yang besar yakni pada konsumsi oksigen dan pengikatan oksigen oleh hemoglobin. Suhu juga mempengaruhi laju metabolisme pada ikan. Toleransi ikan terhadap perubahan suhu dapat meningkatkan kebutuhan oksigen atau mempengaruhi kapasitas pasokan oksigen.

Monalisa dan Minggawati (2010) menyatakan suhu yang optimal bagi kehidupan ikan adalah 25-30 °C. Menurut Kordi (2015), suhu optimal untuk pertumbuhan nila dan mujair antara 25-30 °C. Suhu yang kurang dari 14 °C dan lebih dari 37°C dapat membuat ikan terganggu dan mulai stres. Suhu mematikan untuk ikan nila berada pada 6 °C dan 42 °C.

2.5.2 pH

Suryono dan Badjoeri (2013) mengatakan kisaran pH untuk pertumbuhan optimal ikan antara 7-8. Selain itu, kebanyakan organisme akuatik sensitif terhadap perubahan pH. Kondisi perairan dengan pH rendah menunjukkan bahwa nilai alkalinitas perairan tersebut rendah dan konsentrasi karbon dioksida bebas meningkat. Selain itu, kondisi tersebut juga dipengaruhi oleh aktivitas mikroba dan pertukaran gas di permukaan.

Khairuman dan Amri (2005) menyatakan derajat keasaman (pH) yang baik untuk budidaya ikan nila adalah 5-9. Konsentrasi CO₂ akan mempengaruhi fluktuasi pH di dalam perairan. pH air juga dapat mempengaruhi tingkat kesuburan perairan karena mempengaruhi kehidupan jasad renik. Perairan yang asam akan kurang produktif karena kandungan oksigen terlarutnya rendah. Kandungan oksigen yang rendah dapat mempengaruhi aktivitas pernafasan ikan meningkat dan nafsu makan menurun.

2.5.3 Oksigen Terlarut

Monalisa dan Minggawati (2010) mengatakan ikan masih dapat hidup pada kadar oksigen dibawah 4 ppm tetapi nafsu makan mulai menurun. Konsentrasi oksigen yang baik dalam budidaya adalah 5-7 ppm. Oksigen terlarut merupakan faktor penting penentuan kelulushidupan ikan. Oksigen dalam perairan yang rendah akan mempengaruhi metabolisme pada ikan dan dapat membuat ikan stres.

DO (*Dissolved oxygen*) merupakan oksigen yang terlarut didalam perairan. Kisaran konsentrasi oksigen terlarut dalam air yang baik lebih dari 5 ppm. Jika oksigen terlarut tidak mencukupi dalam perairan maka dapat menyebabkan stress karena otak tidak mendapat suplai oksigen yang cukup, serta kematian akibat kekurangan oksigen (anoxia). Kadar oksigen maksimum terjadi pada sore hari dan minimum terjadi menjelang pagi hari (Tatangindatu *et al.*, 2013).

2.6 Kelulushidupan (*Survival Rate*)

Susilowati *et al.*, (2014) mengatakan bahwa *survival rate* adalah suatu indeks kelulushidupan ikan dari ikan awal ditebar sampai ikan dipanen. Beberapa data lain yang perlu dikumpulkan selain kelangsungan hidup (%) adalah laju pertumbuhan spesifik, pertumbuhan mutlak, jumlah produksi. Kelangsungan hidup udang atau ikan dihitung dengan membandingkan jumlah sample uji yang hidup pada akhir penelitian dan jumlah sampel hidup pada awal penelitian. Survival rate sendiri menjadi faktor penentu dalam keberhasilan kegiatan budidaya ikan.

Putra *et al.*, (2013) mengatakan bahwa kelangsungan hidup (SR) adalah perbandingan jumlah ikan yang hidup hingga akhir pemeliharaan dengan jumlah ikan pada awal pemeliharaan. Survival rate merupakan faktor penting dalam usaha budidaya ikan. Apabila ikan yang dipanen banyak dan yang mati sedikit maka nilai SR akan tinggi. Sedangkan jika banyak ikan yang mati dan ikan yang hidup sedikit

makan nilai SR akan rendah. Untuk menghitung kelangsungan hidup digunakan rumus dari Zonneveld *et al.*, (1991):

$$SR = (Nt/N0) \times 100\%$$

Keterangan :

Nt = Populasi ikan pada akhir masa pemeliharaan (ekor)

No = Populasi ikan pada awal masa pemeliharaan (ekor)



3. METODE SKRIPSI

3.1 Metode Pengambilan Data

3.1.1 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian diantaranya adalah sebagai berikut (Lampiran1):

- Timbangan analitik
- Baskom
- Gunting
- *Beaker glass*
- Corong
- Nampan
- Spektrofotometer
- Spatula
- *Vortex*
- Toples 10L
- *Waterbath*
- *Rotary evaporator*
- Sesar
- Aerator set
- Termometer
- pH meter
- Do meter
- Section set
- Mikroskop
- Botol film
- *Tissue processor*
- *Wadah embedding*
- *Mikrotom rotary*
- Pinset
- *Tissue floath bath*
- *Objeck glass*
- *Cover glass*
- Oven
- Pipet volume
- *Autoclaf*
- Mikropipet
- Erlemeyer

3.1.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian diantaranya adalah sebagai berikut (Lampiran 2):

- Etanol absolute
- Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)
- Bawng Dayak
- Kertas laber
- Kertas saring
- Bakteri *Pseudomonas flourences*
- Akuades
- Pakan ikan
- Tisu
- Paraffin cair
- Paraffin blok
- Alkohol 96%
- Kertas
- Aluminum
- *Plastic wrap*

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dimana metode ini merupakan metode penelitian yang memungkinkan peneliti memanipulasi variabel dan meneliti akibatnya. Menurut Atmodjo (2011), penelitian eksperimen adalah suatu penelitian yang meneliti hubungan sebab akibat dengan memanipulasi satu (lebih) variabel pada satu (lebih) kelompok eksperimen dan membandingkannya dengan kelompok lain yang tidak mengalami manipulasi.

Indriawati *et al.*, (2016) mengemukakan bahwa metode penelitian eksperimen adalah penelitian yang berusaha mencari pengaruh variabel tertentu terhadap variabel yang lain dalam kondisi yang terkontrol secara ketat. Penelitian eksperimen memiliki tiga unsur penting yang harus diperhatikan, yaitu kontrol, manipulasi, dan pengamatan. Metode eksperimen juga dapat diartikan sebagai percobaan untuk mengamati suatu objek, menganalisis data, membuktikan dan menarik kesimpulan sendiri tentang suatu objek dan membuktikan, suatu pertanyaan atau hipotesis tertentu.

3.4 Pengambilan Data

Teknik pengambilan data yang digunakan adalah dengan cara observasi langsung. Menurut Rangkuti (1997), observasi adalah seluruh kegiatan pengamatan terhadap suatu obyek atau orang lain. Partisipasi dan pengamatan dalam sebuah kegiatan merupakan salah satu cara untuk melakukan observasi. Data yang diperoleh dari kegiatan observasi dapat bermacam-macam informasi yang dilakukan secara lisan maupun tulisan. Metode observasi dapat didukung dengan dokumentasi yang diambil selama kegiatan.

3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan di laboratorium, rumah kaca, dan peternakan. Karena lingkungan homogen maka lingkungan atau tempat percobaan tidak memberikan pengaruh pada respon yang diamati. Menurut Sastrosupad (2009), model untuk RAL adalah sebagai berikut :

$$Y = \mu + T + \varepsilon$$

Keterangan:

μ : nilai rerata harapan (mean)

T : pengaruh faktor perlakuan

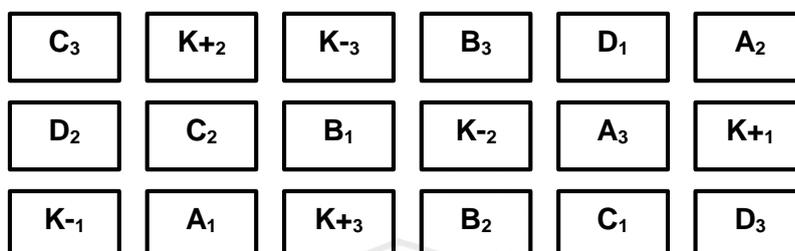
ε : pengaruh galat

Perlakuan dalam penelitian ini adalah sebanyak 3 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 2 kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif menggunakan antibiotik sintetis yaitu *Chloramphenicol* 30 ppm. Sedangkan kontrol negatif dengan menginokulasi bakteri ke media tanpa penambahan ekstrak.

Adapun perlakuan yang digunakan penelitian ini adalah sebagai berikut:

A : Pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* L. Merr) 30 ppm

- B : Pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* L. Merr) 50 ppm
- C : Pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* L. Merr) 70 ppm
- K+ : Perlakuan dengan pemberian antibiotik *Chloramphenicol* dengan dosis 30 ppm
- K- : Perlakuan tanpa pemberian antibiotik dan tanpa pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* L. Merr)



Gambar 3. Denah Lokasi Penelitian

Keterangan:

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

Penentuan dosis perlakuan berdasarkan uji log (penelitian pendahuluan), dimana menggunakan dosis 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, 10 ppm, dan 1 ppm. Dari dosis diatas dilihat pada kekeruhan tabung yang mendekati dengan control positif sehingga didapatkan hasil yang disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil MIC Ekstrak Umbi Bawang Dayak (*E. palmifolia* (L) Merr)

Konsentrasi	Absorbansi	Warna
1000	0,292	Agak Bening
500	0,376	Agak Bening
100	0,328	Agak Bening
10	0,192	Agak Bening
1	0,602	Keruh
Kontrol Negatif (K-)	1,161	Keruh
Kontrol Positif (K+)	0,088	Bening

Berdasarkan hasil MIC menunjukkan bahwa dosis 10 ppm dapat menghambat bakteri *P. fluorences*, dikarenakan dosis tersebut mendekati nilai kontrol positif dan dipilihnya dosis tersebut karena merupakan dosis yang efektif dikarenakan bakteri *P. fluorences* merupakan bakteri yang sensitif dan termasuk

dalam bakteri HPIK (Hama dan Penyakit Ikan Karantina). Sehingga dari hasil uji log tersebut digunakan untuk acuan dosis perlakuan yang digunakan sebagai uji LD / LC50.

3.5.1 Uji Patogenitas Bakteri *P. fluorescens* terhadap Ikan Nila

Hasil pada uji patogenitas bakteri *P. fluorescens* terhadap ikan nila dengan *Lethal Dose* (LC₅₀) yaitu jumlah ikan awal sebanyak 4 ikan, didapatkan total ikan yang mati dari masing-masing perlakuan dengan konsentrasi terbesar hingga terkecil adalah pada 10⁹ kematian ikan sebanyak 4 ekor, pada 10⁸ kematian ikan sebanyak 4 ekor, pada 10⁷ kematian ikan sebanyak 2 ekor dan pada 10⁶ kematian ikan sebanyak 0 ekor. Selanjutnya hasil LD₅₀ adalah 10⁷, didapatkan hasil selama 96 jam pengamatan, hasil uji patogenitas dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil LD₅₀ Bakteri *P. fluorescens* Terhadap Ikan Nila (*O. niloticus*)

Konsentrasi (ppm)	Σ Ikan Mati	Keterangan Pengamatan
10 ⁹	4	Terdapat banyak bercak merah di tubuh ikan dan pasif terhadap pakan.
10 ⁸	4	Terdapat bercak merah di tubuh ikan dan ikan terlihat pasif terhadap pakan.
10 ⁷	2	Terdapat bercak merah di tubuh ikan dan beberapa ikan pasif terhadap pakan.
10 ⁶	0	Terdapat bercak merah terlihat lebih sedikit di tubuh ikan dan ikan pasif terhadap pakan.

Berdasarkan hasil diatas dapat dihitung dengan metode perhitungan LD₅₀ menurut Thomson dan Weil (1950), didapatkan hasil sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Log LD}_{50} &= \text{Log } D + d (f + 1) \\ &= \text{Log } 10^6 + \text{Log } 10 (0,00000 + 1) \\ &= 7 \end{aligned}$$

$$\text{LD}_{50} = 10^7$$

3.5.2 Uji Toksisitas Ekstrak Umbi Bawang Dayak terhadap Ikan Nila

Hasil pada uji toksisitas ekstrak umbi bawang dayak terhadap ikan nila dengan *Lethal Concentration* (LC₅₀) yaitu jumlah ikan awal sebanyak 6 ikan,

didapatkan hasil kematian sebelum 24 jam pengamatan. Konsentrasi yang digunakan dalam uji toksisitas yaitu dengan dosis ekstrak masing-masing 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 70 ppm, 90 ppm, dan 110 ppm. Hasil uji toksisitas ekstrak kasar bawang dayak dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil LC_{50} Ekstrak Umbi Bawang Dayak Terhadap Ikan Nila

Konsentrasi (ppm)	Keterangan Pengamatan
10	Tidak terjadi kematian ikan selama pengamatan, ikan berenang normal dan aktif pada pakan.
30	Terjadi kematian 2 ekor ikan selama 18 jam pengamatan, ikan berenang agak ke permukaan dan mulai sedikit pasif pada pakan.
50	Terjadi kematian 1 ekor ikan selama 12 jam pengamatan, berkumpul di permukaan, disusul dengan kematian semua ikan pada 18 jam pengamatan dan pasif pada pakan.
70	Ikan berkumpul di permukaan, disusul dengan kematian semua ikan pada 14 jam pengamatan dan pasif pada pakan.
90	Terjadi kematian 3 ekor ikan selama 10 jam pengamatan, berkumpul di permukaan, disusul dengan kematian semua ikan pada 14 jam pengamatan dan pasif pada pakan.
110	Terjadi kematian pada semua ikan pengamatan selama 7 jam, dimana ikan berkumpul di permukaan dan berenang terbalik.

Tabel di atas menunjukkan bahwa pada data kematian setengah untuk LC_{50} pada ikan uji yaitu ikan nila pada dosis 90 ppm ekstrak kasar bawang dayak. Perubahan tingkah laku pada ikan diduga karena adanya pengaruh pemberian ekstrak yang mengandung senyawa saponin yang terlalu tinggi. Saponin merupakan racun bagi organisme poikiloterm karena dapat menghemolisis sel darah merah dan berakibat pada kematiannya. Hal ini diperlihatkan dengan jelas

oleh ikan melalui kegiatan yang paling menonjol dilakukan oleh ikan uji tersebut, yaitu tingginya frekuensi muncul ke permukaan air (Kinasih *et al.*, 2013).

3.6 Prosedur penelitian

3.6.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

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

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan sabun cuci, kemudian dikeringkan lalu ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan *plastic wrap*.
- Bahan-bahan yang akan disterilisasi dimasukkan kedalam erlenmeyer, kemudian ditutup kapas dan dibungkus dengan *plastic wrap*.
- Akuades dituang ke dalam autoklaf secukupnya.
- Alat yang telah dibungkus dimasukkan ke dalam autoklaf, kemudian ditutup rapat dengan mengencangkan sekrup secara simetris.
- Tarik tuas autoklaf menuju tanda "ON".
- Ditunggu sampai autoklaf mencapai suhu 121°C dan tekanan menunjukkan 2 atm, lalu ditunggu selama 15 menit.
- Buka klep sampai tidak ada uap yang keluar.

Alat dan bahan yang steril disimpan pada lemari dan lemari pendingin.

b. Pembuatan Media

Media yang dapat digunakan untuk menjamin dan menumbuhkan bakteri tersebut yaitu media TSA (*Tryptic Soy Agar*) dan media TSB (*Tryptic Soy Broth*).

Mekanisme pembuatan media diantaranya adalah sebagai berikut:

- 1) Media TSB

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

- Media TSB ditimbang sebanyak 0,3 g dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 10 ml aquades.
- Larutan dihomogenkan hingga larut sempurna yang dicirikan dengan warna larutan berwarna kuning.
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan *plastic wrap* kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama \pm 15 menit.
- Media yang akan digunakan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu \pm 30 °C karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.

2) Media TSA

Media TSA digunakan sebagai media untuk peremajaan bakteri *P. fluorescens*. Dosis yang digunakan dalam pembuatan NA sebesar 40 g/L. Adapun proses pembuatan media TSA adalah sebagai berikut:

- Media TSA ditimbang sebanyak 4 gram dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 20 ml aquades.
- Dihomogenkan sampai larut kemudian ditutup dengan kapas dan dibungkus *plastic wrap*, selanjutnya direbus selama \pm 15 menit.
- Erlenmeyer kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama \pm 15 menit.
- Media TSA yang akan digunakan ditunggu hingga hangat kemudian dituang pada tabung reaksi, tabung reaksi ditutup kapas dan dimiringkan kemudian ditunggu hingga dingin dan berbentuk agar.

- Apabila media tidak langsung di tanam bakteri, media dapat disimpan pada lemari pendingin dengan diberi label jika hendak digunakan keesokan harinya.

c. Pemiakan Bakteri *P. fluorences*

Bakteri yang digunakan dari kultur murni *P. fluorescens* yang didapat dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP). Hasil uji biokimia bakteri *P. fluorences* disajikan pada Lampiran 4.

1) Peremajaan Bakteri

Pemiakan bakteri pada media TSA miring yang akan digunakan untuk peremajaan bakteri. Adapun langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:

- Menyiapkan media TSA yang masih steril.
- Memanaskan jarum ose yang akan digunakan diatas Bunsen hingga berwarna merah menyala.
- Membuka penutup kapas pada tabung reaksi yang telah berisi bakteri kemudian dinginkan jarum ose pada ujung media agar NA.
- Mengambil satu inokulan bakteri dengan jarum ose dari hasil peremajaan sebelumnya kemudian goreskan secara zig-zag pada media agar yang masih steril di dekat bunsen yang menyala.
- Setelah itu, media hasil goresan diinkubasi di inkubator selama 24 jam dengan suhu 30°C untuk melihat pertumbuhan bakteri.
- Setelah bakteri pada media agar tumbuh, disimpan pada kulkas

2) Kultur Bakteri

Pemiakan bakteri pada media TSB yang akan digunakan untuk kultur bakteri. Adapun proses pemiakan adalah sebagai berikut:

- Peralatan yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu, kemudian disiapkan media TSB.

- Jarum ose dipanaskan di atas bunsen hingga berwarna merah menyala kemudian didinginkan jarum ose dengan cara disentuhkan ke biakan murni *P. flourences* kemudian dicelupkan ke TSB dan di *vortex mixer*.
 - Media NB dibiarkan 24 jam dalam inkubator pada suhu 30°C.
- Setelah 24 jam dan media telah tampak keruh, media disimpan dalam kulkas.

d. Pembuatan Ekstrak Kasar Bawang Dayak

Bahan-bahan yang digunakan untuk ekstraksi dan isolasi senyawa aktif yaitu, umbi bawang dayak (*E. palmifolia* (L) Merr) yang diperoleh dari Balai Medika Tanaman Obat Batu (Jawa Timur) yang telah diuji fitokimia (Lampiran 3). Pembuatan ekstrak kasar bawang dayak yang dilakukan pertama yaitu bawang dayak dicuci hingga bersih. Kemudian bawang dayak dikeringkan dan dipotong. Setelah itu dilakukan pengovenan pada suhu 50°C selama 48 jam. Setelah pengovenan selesai didapatkan bawang dayak kering, kemudian bawang dayak yang sudah kering dihaluskan untuk mendapatkan bawang dayak dalam bentuk bubuk. Setiap 1kg bawang dayak basah akan mendapatkan 100gr serbuk bawang dayak. Penelitian ini membutuhkan serbuk bawang dayak sebanyak 100gr.

Serbuk bawang dayak yang sudah jadi kemudian direndam (maserasi) di dalam etanol 96% selama 3 x 24 jam dalam suhu kamar dengan perbandingan 1:6. Setiap 100 gr serbuk dayak, direndam dalam 600 ml etanol. Kemudian larutan yang didapat kemudian di saring menggunakan kertas saring lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak kasar bawang dayak dalam bentuk gel.

e. Persiapan Alat

Toples yang digunakan untuk penelitian ini berukuran 16L sebanyak 18 buah. Toples yang akan digunakan sebelumnya dibersihkan dahulu dengan menggunakan detergen lalu dibilas hingga bersih Kemudian dikeringkan selama 1

hari, lalu diisi dengan air sumur. Toples kemudian diisi air sebanyak 10 liter dan dilengkapi dengan aerasi untuk mensuplai oksigen.

f. Persiapan Hewan Uji

Ikan uji yang digunakan adalah ikan nila yang didapatkan dari IBAT Punten, Batu. Ikan yang digunakan dalam penelitian berukuran 7–9 cm sebanyak 200 ekor ikan. Ikan dipelihara di kolam untuk pengadaptasian selama 3 hari. Proses pengadaptasian ini bertujuan untuk mengkondisikan ikan benar – benar sehat dan telah beradaptasi dengan lingkungan baru. Pada saat pengadaptasian ikan diberi makan 2 kali dalam sehari pada pagi dan sore hari.

3.6.2 Pelaksanaan penelitian

a. Penginfeksian Bakteri *P. fluoresces* pada Ikan nila

Penginfeksian bakteri *P. fluoresces* pada ikan uji dilakukan dengan cara perendaman dengan kepadatan 10^7 sel/ml. Perendaman ikan nila dengan bakteri *P. florences* menggunakan satu akuarium berukuran $80 \times 40 \times 50 \text{ cm}^3$ dengan kapasitas air 90 liter (90.000 ml). perhitungan dilakkan dengan rumus regresi yaitu $y = 168,74 x - 11,065$ dengan nilai absorbansi (x) sebesar 0,401, sehingga didapatkan nilai y sebesar $0,56 \times 10^{11}$, dari perhitungan tersebut dapat dihitung volume bakteri sebai berikut:

$$\text{Volume} = \frac{90.000 \times 10^7}{0,56 \times 10^{11}}$$
$$\text{Volume} = 16,07 \text{ ml}$$

Berdasarkan hasil perhitungan, kebutuhan bakteri yang digunakan untuk penginfeksian sebanyak 16,07 ml dan air tawar sebanyak 90.000ml. penginfeksian dilakukan selama 24 jam, kemudian dipindahkan ke dalam toples untuk yang telah diberi ekstrak kasar bawang dayak untuk pengobatan. Perhitungan kepadatan bakteri disajikan pada Lampiran 7.

b. Perendaman Ikan Uji Dengan Ekstrak Kasar Bawang Dayak

Pemberian ekstrak kasar bawang dayak yang pertama dilakukan yaitu toples diisi air sebanyak 10 liter, lalu tambahkan ekstrak kasar bawang dayak sesuai dosis yang ditentukan (Lampiran 8). Toples diberi aerasi untuk mensuplai oksigen. Pada tiap toples berisikan 10 ekor ikan nila. Proses perendaman dilakukan selama 5 jam dan diamati setiap 1 jam.

Ikan sampel yang akan diamati jaringannya adalah ikan yang normal (tidak diinfeksi), ikan yang diinfeksi, dan ikan yang diberi ekstrak kasar bawang dayak. Ikan yang menunjukkan keadaan yang tidak normal seperti gerak yang mendadak, ikan gelisah kemudian diambil lalu diamati jaringannya.

c. Uji Kelulushidupan Ikan Nila

Tahap yang dilakukan setelah proses penginfeksian bakteri *P. flourences* dan pemberian ekstrak kasar bawang dayak maka ikan nila dipindahkan ke toples berukuran 16L yang berisi air 10 liter, sebelumnya toples sudah diberi aerasi selama 24 jam. Kemudian toples tersebut diberi tanda setiap perlakuan seperti A (1, 2, 3), B (1, 2, 3), C (1, 2, 3), K(-) (1, 2, 3) dan K(+) (1, 2, 3). Pengamatan dilakukan selama 10 hari masa pemeliharaan. Pengamatan yang dilakukan meliputi gejala klinis dari ikan dan jumlah ikan yang mati selama masa pemeliharaan. Saat pemeliharaan ikan diberi makan 2 kali yakni pada pagi pukul 07.00 dan sore pukul 15.00 hari secara adlibitum. Pada pagi dilakukan sifon untuk membersihkan sisa kotoran ikan yang ada pada dasar toples serta dilakukan pengukuran suhu, pH, dan DO selama masa pemeliharaan.

d. Pengambilan Jaringan Ginjal Ikan Nila

Pengambilan jaringan ginjal ikan nila diambil setelah masa pemeliharaan 10 hari dengan *section set* untuk diamati histopatologi ginjal ikan. Sampel ginjal yang sudah diambil lalu dimasukkan dalam botol film yang didalamnya sudah

terdapat formalin 10% untuk mengawetkan sampel ginjal (Maftuch *et al.*, 2018) Proses selanjutnya yaitu membuat preparat untuk histopatologi.

e. Pembuatan Histopatologi Ginjal Ikan Nila

Sampel ginjal yang sudah diambil dimasukkan ke dalam botol film dan diberi bahan pengawet yaitu larutan formalin 10%, dilanjutkan dengan pembuatan dan pengamatan preparat hasil histopatologi. Asniatih *et al.*, (2013) menyatakan tahapan - tahapannya yaitu:

1) Tahap Fiksasi

Sampel ginjal diambil untuk diamati jaringannya. Kemudian jaringan tersebut direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam.

2) Tahap Dehidrasi

Tahap dehidrasi dilakukan dengan memasukkan ke dalam botol yang berisi alkohol. alkohol yang digunakan dengan seri naik. Dimana terdiri dari alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96% dan alkohol *absolute*.

3) Tahap *Clearing*

Tahap *clearing* untuk mentransparankan serta menggantikan larutan alcohol dari jaringan. Dilakukan dengan mencelupkan ke dalam larutan xylol 1 selama 1 jam, xylol 2 selama 1 jam.

4) Tahap Impregnasi

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

5) 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

45°C), kemudian pilih hasil sayatan yang terbaik dan siapkan obyek glass untuk persiapan pewarnaan HE (*Haematoxylin Eosin*). Kemudian keringkan pada oven dengan suhu 45°C selama 24 jam.

6) Teknik Pewarnaan Jaringan dengan Menggunakan HE (*Haematoxylin Eosin*)

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

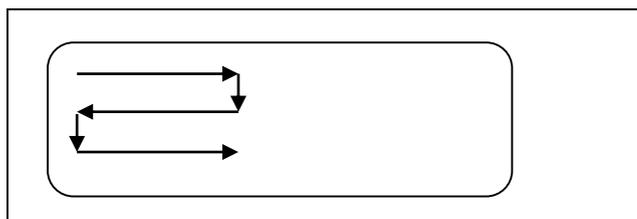
7) Tahap *Mounting*

Tahap ini merupakan prosedur terakhir dalam pembuatan preparat sebelum diamati secara makroskopik dan mikroskopik bertujuan untuk mempermudah saat pengamatan. Preparat dilem dengan menggunakan *entelen new*. Kemudian ditutup dengan *cover glass* jangan sampai terjadi gelembung. Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai lem mengering kemudian diamati dibawah mikroskop dengan menggunakan perbesaran 400x.

8) *Scoring*

Hasil uji histopatologi ginjal ikan nila menggunakan analisis secara deskriptif. Siswandari (2005) mengatakan bahwa untuk mengetahui tingkat kerusakan jaringan ginjal maka dilakukan analisis dengan pemberian *scoring* dengan metode semi kuantitatif. Pembacaan dilakukan secara manual dari ujung kiri kemudian bergerak zigzag menuju ke bawah yang terlihat pada Gambar 4.

Perhitungan *scoring* didapatkan dengan cara membagi jumlah sel yang rusak dengan jumlah sel total kemudian dikali dengan seratus persen. Hasil yang didapatkan kemudian dimasukkan dalam rentang 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 %.



Gambar 4. Alur skoring Alur Perhitungan Skoring (Gerak zig zag) (Siswandari, 2005)

3.7 Parameter Uji

3.7.1 Parameter Utama

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini adalah histopatologi jaringan ginjal ikan nila. Pengamatan ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan ikan nila yang sehat, ikan terinfeksi bakteri dan ikan yang telah dibati dengan melihat jaringan ginjal ikan nila.

3.7.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah kualitas air dan kelulushidupan atau *Survival Rate* (SR). Pada pengukuran kualitas air, parameter yang diukur meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut, dimana:

- Suhu yang diukur menggunakan termometer
- pH air yang diukur menggunakan pH meter
- Oksien terlarut yang diukur menggunakan DO meter

Sedangkan kelulushidupan atau *Survival Rate* (SR) diamati selama 10 hari pemeliharaan di dalam akuarium. Rumus SR menurut Prasetio *et al.*, (2015), adalah sebagai berikut:

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = Kelangsungan hidup hewan uji (%)

Nt = Jumlah ikan uji akhir penelitian (ekor)

No = Jumlah ikan uji pada awal penelitian (ekor)

3.8 Analisis Data

Data yang telah diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak lengkap. Metode ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diuji. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Kelulushidupan Ikan Nila

Penelitian diperoleh kisaran kelulushidupan ikan nila yaitu 53% sampai dengan 86%. Adapun perhitungan Kelulushidupan ikan nila disajikan pada Lampiran 12. Terjadinya kematian pada ikan nila yang terinfeksi *P. flourences* disebabkan karena bakteri *P. flourences* merupakan bakteri patogen dan dapat menyebabkan kematian pada ikan. Menurut Akbar (2016), kelangsungan hidup ikan dengan pemberian pengobatan ekstrak kasar bawang dayak diperoleh hasil kelulusan hidup yaitu 66,67-100%. Adapun kelulushidupan ikan nila disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Kelulushidupan Ikan Nila

No.	Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
		1	2	3			
1.	A	50,00	50,00	60,00	160	53,33	±5,77
2.	B	80,00	70,00	60,00	210	70,00	±10,00
3.	C	80,00	90,00	90,00	260	86,67	±5,77

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak kasar bawang dayak terhadap kelulushidupan ikan nila dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Sumber Keragaman Kelulushidupan

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%	F1%
Perlakuan	2	1.666,67	833,33	15**	5,14	10,92
Acak	6	333,33	55,56			
Total	8	2.000,00				

Keterangan: (**) = berbeda sangat nyata

Pada Tabel 5 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh nilai $F\ 5\% < F\ 1\% < F\ hitung$, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar bawang dayak berpengaruh sangat nyata terhadap

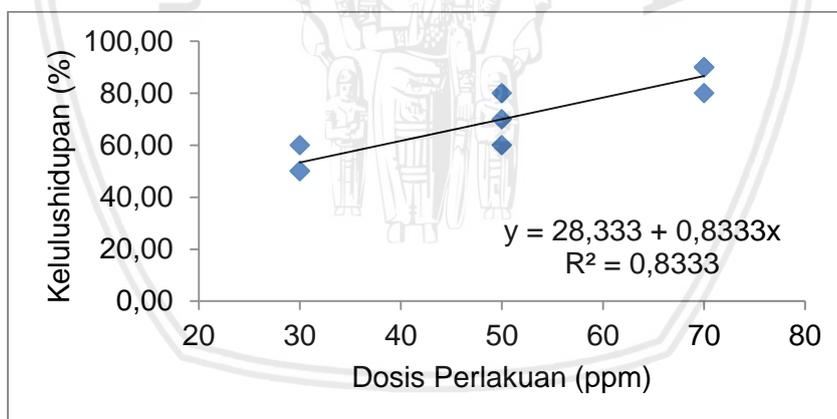
Kelulushidupan ikan nila. Untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan maka perlu dilakukan uji BNT seperti yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Uji BNT Kelulushidupan Ikan Nila

No.	Perlakuan	Rerata	A	B	C	Notasi
			53,33	70,00	86,67	
1.	A	53,33	-	-	-	a
2.	B	70,00	16,67*	-	-	b
3.	C	86,67	33,33 **	16,67*	-	c

Keterangan: (*) = berbeda nyata, (**) = berbeda sangat nyata

Tabel 6 menunjukkan hasil perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan B, perlakuan A berbeda sangat nyata dengan perlakuan C. Perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan C. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan C dengan dosis 70 ppm dengan notasi c adalah perlakuan tertinggi diikuti perlakuan b dengan dosis 50 ppm dengan notasi b diikuti perlakuan A dengan dosis 30 ppm dengan notasi a. Adapun hubungan antara dosis ekstrak dan nilai kelulushidupan disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Hubungan Dosis dan Nilai Kelulushidupan Ikan nila (*O. niloticus*)

Grafik diatas menunjukkan persamaan $y = 28,333 + 0,8333x$ dan memiliki nilai koefisien determinasi yakni 0,833 menunjukkan bahwa dosis yang digunakan berpengaruh terhadap presentase kelulushidupan Ikan nila sebesar 83,3%. Dalam ekstrak juga terdapat flavonoid yang merupakan zat antibakteri, Haryani *et al.*, (2012) menjelaskan bahwa flavonoid merupakan senyawa fenol dan merupakan antimikroba. Flavonoid mempunyai cara kerja, yaitu dengan mendenarurasi

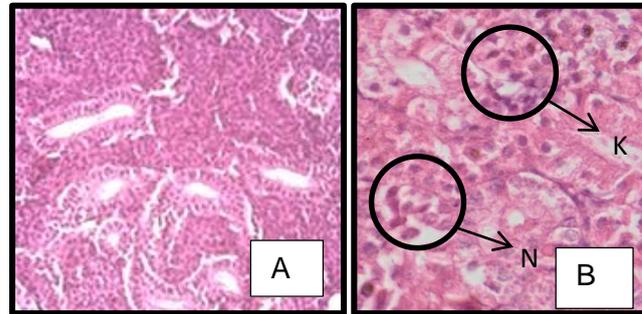
protein bakteri yang menyebabkan terhentinya aktivitas metabolisme sel bakteri. Terhentinya aktivitas metabolisme mengakibatkan kematian pada sel. Roslizawaty *et al.* (2013) menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka semakin tinggi kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri. Sehingga kemampuan suatu bahan untuk membunuh bakteri semakin besar. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi ekstrak yang diberikan dapat mengurangi kematian ikan nila.

4.2 Histopatologi Ginjal

4.2.1 Gambaran Ginjal Ikan yang Normal dan Terinfeksi Bakteri *P. fluorences*

Ginjal ikan yang sudah diambil kemudian diletakkan di preparat kemudian diamati di bawah mikroskop. Gambaran jaringan ginjal ikan yang sehat menunjukkan bahwa tidak ada terjadi kerusakan sebelum diinfeksi bakteri *P. fluorences* (Gambar 6A), hal ini sesuai dengan pendapat Lubis (2014), bahwa struktur jaringan ginjal ikan normal ditandai dengan adanya sel glomerulus, tidak berbentuk bulat utuh tapi berbentuk angka enam dan kapsula bowmen terlihat rapi membungkus glomerulus. Sedangkan jaringan ginjal ikan yang terinfeksi bakteri *P. fluorences* dan tanpa pemberian ekstrak kasar bawang dayak terlihat adanya kerusakan pada jaringan ginjal, kerusakan yang ada berupa Kongesti dan Nekrosis, ginjal ikan yang terinfeksi bakteri tanpa pemberian ekstrak kasar bawang dayak dapat dilihat pada Gambar 6B. Timbulnya nekrosis menyebabkan terjadinya respon peradangan pada jaringan yang masih hidup di sekitar daerah yang terjadi nekrosis. Kelainan jaringan ginjal akibat nekrosis menggambarkan keadaan dimana terjadi penurunan aktivitas jaringan dengan mulai hilangnya beberapa bagian sel satu demi satu dari satu jaringan yang dalam waktu singkat akan mengalami kematian. Struktur organ ginjal juga terlihat kelainan berupa kongesti. Kongesti merupakan pembendungan darah akibat adanya gangguan sirkulasi

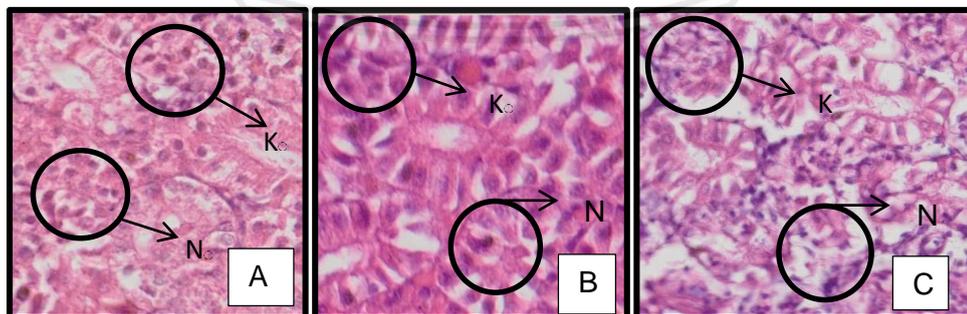
yang dapat mengakibatkan kekurangan oksigen dan zat gizi (Cahyaningrum *et al.*, 2015).



Gambar 6. Histopatologi Ginjal, (A) Histopatologi Ginjal Ikan Sehat, (B) Histopatologi Ginjal yang Terinfeksi *P. fluorences*, (K) Kongesti dan (N) Nekrosis. Pengamatan dengan menggunakan pembesaran 400x dengan pewarnaan HE

4.2.2 Gambaran Histopatologi Ginjal pada Sampel Perlakuan

Pengamatan histopatologi digunakan untuk mengetahui perubahan patologi pada jaringan ginjal ikan nila dengan pemberian ekstrak kasar bawang dayak yang diinfeksi dengan bakteri *P. fluorences* dengan pemberian dosis yang berbeda. perlakuan yang digunakan pada penelitian ini menggunakan 3 macam perlakuan yaitu, perlakuan A dengan dosis 30 ppm, perlakuan B dengan dosis 50 ppm, dan perlakuan C dengan dosis 70 ppm. Dimana pemeliharaan dilakukan selama 10 hari. Gambar jaringan ginjal pada sampel perlakuan disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Histopatologi Ginjal, (A) Dosis 30 ppm, (B) Dosis 50 ppm, dan (C) Dosis 70 ppm. Gejala kerusakan timbul (K) Kongesti dan (N) Nekrosis. Pengamatan dengan menggunakan pembesaran 400x dengan pewarnaan HE.

Gambar 7 menunjukkan bahwa perlakuan A, B, dan C dengan dosis ekstrak berturut-turut yakni 30 ppm, 50 ppm, dan 70 ppm rata-rata mengalami kerusakan ginjal yaitu kongesti dan nekrosis. Penambahan dosis ekstrak kasar bawang dayak dapat ditunjukkan melalui nilai skoring kerusakan pada jaringan ginjal yang disajikan pada Lampiran 9. Kemudian dilakukan Uji RAL (Rancangan Acak Lengkap) yang disajikan pada Lampiran 10.

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 pengamatan histologi dapat mengetahui ada atau tidaknya kerusakan pada ginjal ikan nila (Parameswari *et al.*, 2013). Pada Gambar 7 terlihat adanya kerusakan yaitu berupa nekrosis dan kongesti pada setiap perlakuan. Kongesti juga merupakan pembendungan darah pada ginjal yang disebabkan adanya gangguan sirkulasi yang dapat mengakibatkan kekurangan oksigen dan zat gizi (Asnita, 2011). Nekrosis atau kematian sel terjadi akibat adanya kerusakan sel akut. Kerusakan pada bagian ginjal seperti nekrosis diduga timbul karena bakteri sudah berkembang di dalam ginjal. Kematian sel yang terjadi secara tidak terkontrol dapat menyebabkan rusaknya suatu sel (Price dan Wilson, 2006)

Analisis data kerusakan pada histopatologi jaringan ginjal yang terinfeksi bakteri *P. flourences* yang direndam dalam ekstrak kasar bawang dayak adalah sebagai berikut:

a. Kongesti

Kongesti adalah kondisi adanya penggumpalan darah (eriterosit) pada organ tubuh. Kongesti juga terjadi pada ginjal yang disebabkan adanya gangguan sirkulasi yang dapat mengakibatkan kekurangan oksigen dan zat gizi. Kongesti terjadi ditandai dengan munculnya warna merah pada sel, hal ini terjadi karena

adanya peningkatan darah yang menggumpal didalam pembuluh darah (Parameswari *et al.*, 2013). Pada Gambar 7 pada perlakuan A dapat dilihat terjadi penggumpalan darah pada perlakuan A yang cukup besar. Pada perlakuan B juga terdapat gumpalan darah yang hampir sama dengan perlakuan A. pada perlakuan C gumpalan darah semakin mengecil.

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan nila yang diinfeksi bakteri *P. floouences* dan diberikan ekstrak kasar bawang dayak diperoleh hasil rata-rata yang berbeda terhadap kerusakan akibat kongesti yang terjadi pada ginjal ikan nila dengan data yang didapatkan saat skoring. Adapun hasil skoring kongesti disajikan pada Lampiran 9. Kemudian setelah skoring dilakukan maka data diolah dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Adapun data perhitungan kongesti disajikan pada Lampiran 10. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan data rerata nilai skoring kongesti disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Rerata Skoring Ginjal Penelitian Pengamatan Kongesti

No.	Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
		1	2	3			
1.	A	2,40	2,00	2,20	6,60	2,20	±0,20
2.	B	1,60	1,80	1,80	1,73	1,73	±0,12
3.	C	1,60	1,80	1,40	4,80	1,60	±0,20

Dosis yang digunakan ditujukan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak kasar bawang dayak terhadap kongesti pada ginjal ikan nila dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Sumber Keragaman Skoring Kongesti Jaringan Ginjal

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%	F1%
Perlakuan	2	0,59	0,29	9,5*	5,14	10,92
Acak	6	0,18	0,03			
Total	8	0,70				

Keterangan: (*) = berbeda nyata

Tabel 8 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh nilai $F_{5\%} < F_{hitung} < F_{1\%}$, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar bawang dayak berpengaruh nyata terhadap kongesti pada histopatologi ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri *P. flourences*. Perbedaan setiap perlakuan dapat dilihat dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkencil) seperti yang disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Uji BNT Kongesti Jaringan Ginjal

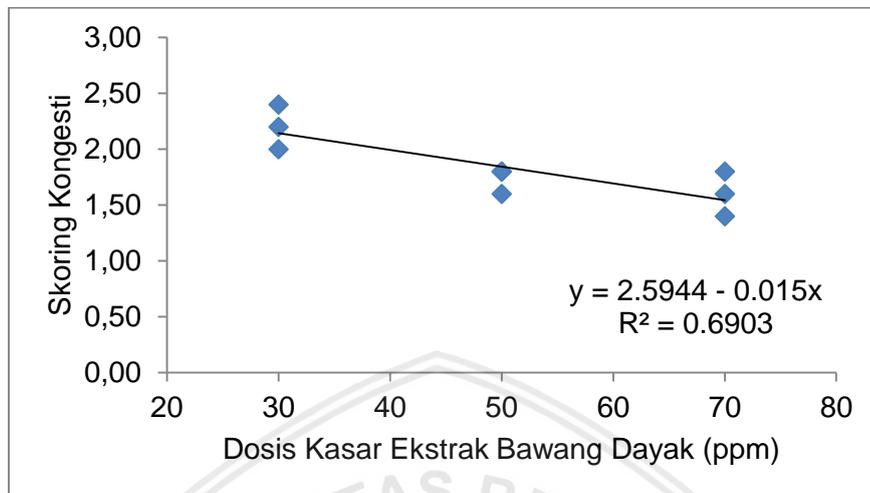
No.	Perlakuan	Rerata	A	B	C	Notasi
			2,20	1,73	1,60	
1.	A	2,20	-	-	-	a
2.	B	1,73	0,46*	-	-	b
3.	C	1,60	0,60*	0,13 ^{ns}	-	bc

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

Tabel 9 menunjukkan bahwa hasil uji BNT antar pengaruh pemberian ekstrak kasar bawang dayak terhadap nilai skoring sel ginjal ikan nila yang mengalami kongesti didapatkan hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan B, sedangkan perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan A dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Berdasarkan uji BNT dapat diketahui perlakuan tertinggi dari 3 perlakuan tersebut adalah perlakuan C. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan dengan dosis 70 ppm dengan notasi (bc) diikuti dengan perlakuan B dengan dosis 50 ppm dengan notasi (b) diikuti dengan perlakuan A dengan dosis 30 ppm dengan notasi (a). Hal ini dikarenakan pada bawang dayak juga terdapat tannin dan saponin yang juga berperan sangat penting.

Maftuch *et al.*, (2018) menyatakan bahwa hasil histopatologi ginjal terdapat kerusakan pada setiap perlakuan pemberian ekstrak kasar bawang dayak yang diinfeksi pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Kerusakan yang ditemukan diantaranya yaitu kongesti. Kongesti terlihat semakin

berkurang pada dosis 70 ppm. Adapun grafik hubungan dosis ekstrak kasar bawang dayak dengan nilai skoring sel disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Hubungan antara Dosis dengan Nilai Skoring Ginjal yang mengalami Kongesti

Grafik diatas dapat diketahui bahwa dosis ekstrak berbanding terbalik dengan kerusakan jaringan, dimana apabila semakin tinggi dosis ekstrak maka nilai skoring kerusakan semakin rendah. Didapatkan hasil persamaan yaitu $y=2,5944 - 0,015x$ yang memiliki nilai koefisien determinasi yakni 69% sumbu y dipengaruhi sumbu x, menunjukkan bahwa dosis ekstrak kasar bawang dayak berpengaruh terhadap presentase kerusakan jaringan. Menurut Wahjuningrum *et al.*, (2008) penurunan kerusakan ini diakibatkan oleh adanya flavonoid. Flavonoid dapat merespon secara natural yang menunjukkan hasil bahwa flavonoid dapat merubah reaksi allergen, virus dan penyebab lain karena pada flavonoid memiliki anti alergi, anti inflamsi, anti mikrobial dan anti kanker. semakin kecil dosis yang diberikan maka akan semakin kecil perbedaan yang terlihat. Sedangkan semakin tinggi dosis yang diberikan maka akan samakin baik dalam pengobatan.

b. Nekrosis

Nekrosis merupakan kerusakan sel yang terjadi dengan ditandai inti sel memudar, mengecil maupun menjadi besar serta bentuk selnya tidak beraturan. Perubahan histopatologi pada ginjal dapat mengganggu fungsi ginjal dalam

pembersihan bahan kimia dalam darah (Supriyono *et al.*, 2013). Pada Gambar 7 dapat dilihat pada perlakuan A terjadi nekrosis terlihat banyak inti sel yang memudar dan ada juga bentuk sel yang pecah, sedangkan pada perlakuan B inti sel semakin membaik, pada perlakuan C inti sel dan bentuk sel semakin membaik, perlakuan C lebih baik dibandingkan dengan perlakuan B dan A.

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan nila yang diinfeksi oleh bakteri *P. flourences* dan diberikan ekstrak kasar bawang dayak memperoleh hasil rata-rata yang berbeda terhadap kerusakan akibat Nekrosis yang terjadi pada pada ginjal ikan nila yang diperoleh dari data skoring. Adapun hasil skoring Nekrosis disajikan pada Lampiran 9. Setelah dilakukan skoring kemudian data diolah menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Adapun perhitungan Nekrosis disajikan pada Lampiran 10. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan data rerata nilai skoring Nekrosis pada jaringan ginjal ikan nila dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Rerata nilai skoring Nekrosis

No.	Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
		1	2	3			
1.	A	3.40	3.40	3.20	10	3.33	±0,12
2.	B	3,20	3,20	3,20	9,60	3,20	±0,01
3.	C	3.00	3.00	3.20	9.2	3.07	±0,12

Dosis yang digunakan ditujukan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak kasar bawang dayak terhadap kongesti pada ginjal ikan nila dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada tabel 11.

Tabel 11. Sumber Keragaman Hasil Penelitian Kerusakan Nekrosis Jaringan Ginjal

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%	F1%
Perlakuan	2	0,107	0,05	6*	5,14*	10,92
Acak	6	0,053	0,008	-	-	-
Total	8	0,16				

Keterangan : (*) = Berbeda nyata

Pada Tabel 11 dapat dilihat bahwa hasil uji sumber keragaman diperoleh hasil nilai $F_{5\%} < F_{hitung} < F_{1\%}$, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar bawang dayak berpengaruh nyata terhadap Nekrosis pada histopatologi ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri *P. flourences*. Perbedaan setiap perlakuan dapat diketahui dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) seperti yang disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Uji BNT Hasil Penelitian Nekrosis Ginjal

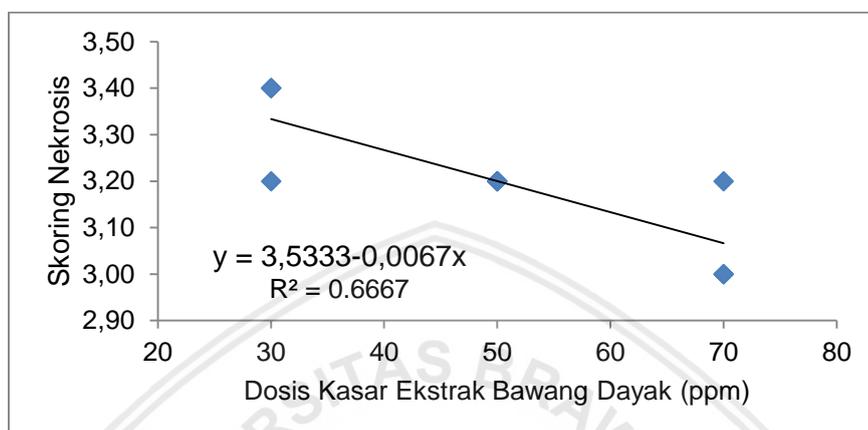
No.	Perlakuan	Rerata	A	B	C	Notasi
			3,067	3,200	3,333	
1.	A	3,067	-	-	-	a
2.	B	3,200	0,133 ^{ns}	-	-	a
3.	C	3,333	0,267*	0,133 ^{ns}	-	ab

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

Tabel 12 menunjukkan hasil uji menunjukkan bahwa perlakuan A tidak berbeda nyata pada perlakuan B. Perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan C. Perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan A dan B. Berdasarkan uji BNT dapat diketahui perlakuan tertinggi dari 3 perlakuan tersebut adalah perlakuan C. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan dengan dosis 70 ppm dengan notasi (ab) diikuti dengan perlakuan B dengan dosis 50 ppm dengan notasi (a) diikuti dengan perlakuan A dengan dosis 30 ppm dengan notasi (a).

Maftuch *et al.*, (2018) menyatakan bahwa hasil histopatologi ginjal terdapat kerusakan pada setiap perlakuan pemberian ekstrak kasar bawang dayak yang diinfeksi pada ikan mas oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Kerusakan yang ditemukan diantaranya yaitu nekrosis. Dosis yang terbaik untuk mengurangi dampak dari kerusakan jaringan ginjal pada dosis 70 ppm. Penurunan kerusakan ini diakibatkan oleh adanya tannin. Hal ini dikarenakan kandungan antimikroba yang terdapat pada bawang dayak, dimana salah satunya adalah tannin. Hal sesuai dengan pendapat Doss *et al.*, (2009), tannin merupakan senyawa

antimikroba yang mempunyai kemampuan untuk merusak dinding sel bakteri dan menghambat pertumbuhan bakteri. Tannin dapat berikatan dengan asam lipoteikoit pada permukaan sel bakteri. Adapun grafik hubungan dosis ekstrak kasar bawang dayak dengan nilai skoring sel disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Hubungan antara Dosis dengan Nilai Skoring Ginjal yang Mengalami Nekrosis

Grafik di atas menunjukkan bahwa dosis ekstrak berbanding terbalik dengan kerusakan jaringan, dimana apabila semakin tinggi dosis ekstrak maka nilai skoring kerusakan semakin rendah. Didapatkan hasil persamaan yaitu $y = 3,5333 - 0,0067x$ yang memiliki nilai koefisien determinasi yakni 66% sumbu y dipengaruhi sumbu x, menunjukkan bahwa dosis ekstrak kasar bawang dayak berpengaruh terhadap presentase kerusakan jaringan. Mailoa *et al.*, (2014), menambahkan tannin dapat menghambat bakteri dengan menghancurkan membran plasma bakteri. Kerusakan membran sel dapat mencegah bahan makanan atau nutrisi yang diperlukan bakteri masuk untuk menghasilkan energi sehingga mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat atau bahkan mati.

4.3 Mekanisme Senyawa Aktif terhadap Histopatologi

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kasar bawang dayak mengandung bahan aktif yang bersifat polar yaitu flavonoid dan Tanin, Salah satu

zat yang terkandung dalam bawang dayak yang dapat menghambat perkembangan bakteri yaitu flavonoid (Lampiran 3).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang mempunyai efek antibakteri dan paling banyak terdapat pada tumbuhan. Flavonoid merupakan kelompok dari fitokimia fenolik yang berfungsi sebagai peredam radikal bebas, serta sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri dan virus. Mekanisme kerja senyawa-senyawa fenol termasuk flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel. Penghambat dan perusakan dinding dan membran sel ini dapat dilakukan dengan terbentuknya ikatan-ikatan hidrogen dan kovalen antara bahan aktif yang bersifat hidrofobik sehingga mengganggu integrasi dinding dan membrane sel bakteri (Ibrahim *et al.*, 2013).

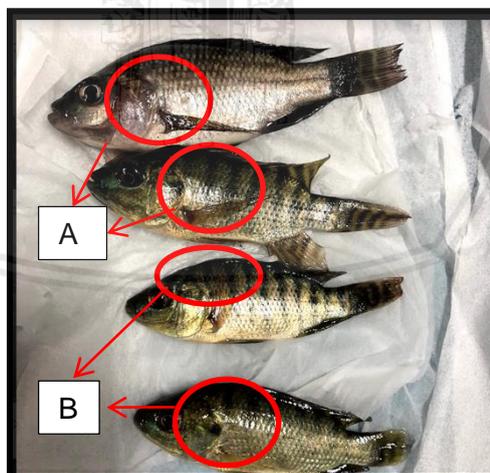
Mekanisme kerja flavonoid termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, dan nukleotida. Membran sitoplasma bekerja untuk mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar-masuknya bahan-bahan lain. Membran sitoplasma juga menyediakan peralatan biokimiawi untuk memindahkan ion-ion mineral, gula, asam-asam amino, elektron, serta metabolit-metabolit lain melintasi membran. Kerusakan pada membran akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel (Volk dan Wheeler, 1993).

Saputra dan Anggraini *et al.*, (2016) menyatakan senyawa tanin merupakan senyawa turunan fenol yang secara umum mekanisme antimikrobanya dari senyawa fenol. Tanin merupakan *growth inhibitor*, sehingga banyak mikroorganisme yang dapat dihambat pertumbuhannya oleh tanin. Tanin mempunyai target pada polipeptida dinding sel. Senyawa ini merupakan zat kimia

yang terdapat dalam tanaman yang memiliki kemampuan menghambat sintesis dinding sel bakteri dan sintesis protein sel kuman gram positif maupun gram negatif. Keaktifan dari golongan senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai antiradikal bebas, anti bakteri ditentukan oleh adanya gugus fungsi –OH (hidroksi) bebas dan ikatan rangkap karbon-karbon, seperti flavon, flavonon, b-karoten dan vitamin c (Asih *et al.*, 2010).

4.4 Gejala Klinis pada Ikan Nila

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan hasil pada saat ikan dilakukan perendaman ke dalam air toples yang berisi bakteri *P. flourences* dengan kepadatan bakteri yaitu 10^7 sel/ml, ikan terlihat gelisah yang selalu berada di atas permukaan air. Selain itu juga ikan berenang tidak beraturan yang sering menabrak dinding toples, perut membesar dan insang memudar. Ikan juga terlihat mengalami kerusakan pada bagian ekor dan sisik tubuh yang mulai mengelupas seperti yang disajikan pada Gambar 10.



Gambar 10 Ikan nila (*O. niloticus*) yang mengalami gejala klinis akibat terinfeksi bakteri *P. flourences*. (A) insang mulai mengelupas dan (B) kulit menghitam.

Gejala yang muncul ketika ikan terkena bakteri *P. flourences* yaitu tubuh menjadi gelap, kulit kasar dan timbul pendarahan yang akan menyebabkan borok (*hemorrhage*). Kemampuan berenang ikan juga mulai menurun. Ikan juga sering

megap-megap di permukaan air karena insangnya rusak sehingga menyebabkan kesulitan bernafas. Terlihat juga bagian perut agak kembung atau membengkak. Jika sudah terlalu parah maka sirip dapat rusak dan insangnya berwarna keputihan. Bagian mata juga agak menonjol keluar yang menandai ikan terkena *P. flourences* (Mudlofar *et al.*, 2013).

Ikan yang terkena bakteri *P. flourences* sering berada dipermukaan dan didekat aerasi. Ikan mudah terkejut,serta warna tubuh pucat. Ikan yang terkna penyakit menyebabkan tubuh dipenhi lender. Bagian perut membengkak, sirip anus terdapat bintik-bintik merah. Kemudian ikan akan senang bergerombol, dengan selalu bergerak didekat aerasi. Kemudian apabila ikan sudah parah maka dapat menyebabkan kematian (Sari *et al.*, 2012).

4.5 Parameter Kualitas Air

Kualitas air merupakan faktor penting yang diperhatikan dalam pemeliharaan ikan. Hal tersebut dikarenakan kualitas air dapat mempengaruhi kelangsungan hidup ikan. Beberapa kualitas air yang diukur dalam penelitian ini antara lain suhu, pH dan DO. Adapun hasil pengukuran kualitas air pada saat penelitian selama 10 hari disajikan pada Lampiran 11. Sedangkan hasil kisaran pengukuran kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Kisaran Parameter Kualitas Air

No.	Parameter Kualitas Air	Hasil Pengamatan Kualitas Air	Kisaran Kualitas Air
1.	Oksigen Terlarut	4,01-5,22 ppm	>5ppm (Ulfiana <i>et al.</i> , 2012)
2.	Suhu	22-25°C	20-30 °C (Effendi, 2003)
3.	Ph	6,8-7,26	6,5-8,5(Sulmartiwi <i>et al.</i> , 2014)

4.5.1 Oksigen Terlarut (DO)

Hasil penelitian kualitas air pada oksigen terlarut yang dilakukan selama masa 10 hari pemeliharaan, didapatkan hasil nilai tertinggi yaitu 5,22 ppm sedangkan hasil nilai terendah yaitu 4,01 ppm. Nilai oksigen terlarut di media

pemeliharaan adalah normal untuk kehidupan ikan nila. Hal ini sesuai pernyataan Ulfiana *et al.*, (2012) bahwa oksigen terlarut di perairan kolam budidaya adalah 9 ppm. Nilai oksigen terlarut tersebut dapat dikatakan jenuh karena nilai oksigen terlarut minimum yang bisa ditoleransi oleh ikan nila adalah 5,0 ppm. lingkungan yang lebih dari 5 ppm membuat ikan nila tumbuh optimal. Sehingga apabila kurang dari 5 ppm maka pertumbuhan nila akan terhambat. Hal ini dikuatkan oleh pernyataan dari Effendi (2003) bahwa, nilai oksigen terlarut untuk produksi ikan nila pada kolam air tenang adalah ≥ 3 ppm dan konsentrasi oksigen terlarut kurang dari 4 ppm dapat menimbulkan efek yang kurang menguntungkan bagi hampir semua organisme akuatik.

4.5.2 Suhu

Hasil penelitian kualitas air pada suhu yang dilakukan selama masa 10 hari pemeliharaan, didapatkan hasil nilai tertinggi yaitu 25 °C dan terendah yaitu 22 °C. Nilai suhu di media pemeliharaan adalah normal untuk kehidupan ikan nila. Suhu merupakan derajat panas dinginnya suatu zat. Suhu merupakan salah satu kualitas air yang sangat berpengaruh terhadap metabolisme ikan. Kisaran suhu yang optimum untuk ikan budidaya adalah 26 – 31° C, dimana pada kisaran ini metabolisme ikan dapat berlangsung dengan baik sehingga pertumbuhan dari ikan itu sendiri akan berlangsung dengan baik (Reksono *et al.*, 2012). Hal ini sesuai pernyataan Effendi (2003) yang menyatakan suhu sangat berperan mengendalikan kondisi ekosistem perairan. Peningkatan suhu juga menyebabkan terjadinya peningkatan dekomposisi bahan organik oleh mikroba. Kisaran suhu optimum bagi pertumbuhan ikan di perairan adalah 20°C-30°C. Pada suhu tersebut dapat dikatakan masih mendukung pertumbuhan ikan dengan baik.

4.5.3 pH

Hasil penelitian kualitas air pada pH yang dilakukan selama masa 10 hari pemeliharaan, didapatkan hasil nilai tertinggi yaitu 7,26 sedangkan hasil nilai

terendah yaitu 6,8. Nilai pH di media pemeliharaan adalah normal untuk kehidupan ikan nila. Hal ini sesuai pendapat Sulmartiwi *et al.*, (2013), bahwa pH optimal untuk kehidupan ikan nila yaitu berkisar antara 6 –8. pH ini termasuk bisa ditoleris oleh ikan nila, sehingga ikan tidak mati. Sedangkan Kordi (2009), nilai pH air yang cocok untuk ikan nila adalah 6-8,5 dan nilai pH yang masih ditoleransi ikan nila adalah 5-11.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

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

- Pemberian ekstrak kasar bawang dayak berpengaruh terhadap pengobatan ikan nila yang terinfeksi bakteri *P. fluorences* dengan dosis yang berbeda.
- Dosis tertinggi pada penelitian yaitu pada perlakuan C dengan dosis 70 ppm.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar bawang dayak terhadap histopatologi ginjal ikan nila yang di infeksi bakteri *P. fluorences* disarankan untuk melakukan pengobatan dengan dosis tertinggi yaitu 70 ppm, namun belum didapatkan dosis yang optimal untuk pemberian ekstrak. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui dosis optimal dari pemberian ekstrak kasar bawang dayak untuk pengobatan ikan nila tentang histopatologi ginjal yang diinfeksi bakteri *P. fluorences*..

DAFTAR PUSTAKA

- Alabi, O. A., M. T. Haruna, C. P. Anokwuru, T. Jagede, H. Abia, V. E. Okegbe dan B. E. Esan. 2012. Comparative Studies on Antimicrobial Properties of Extracts of Fresh and Dried Leaves of *Carica papaya* L. On Clinical Bacterial and Fungi Isolates. *Advances in Applied Science Research*. 3 (5) : 3107 – 3114.
- Akbar, J. 2016. Uji Efektifitas Ekstrak Bawang Dayak terhadap Penyembuhan Infeksi Jamur *Saprolegnia* sp. Pada Ikan Nila . *Fish Scientie*. 4(1): 48-56.
- Bergey, D. H., 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer. 1084p.
- Asnita. 2011. Identifikasi cacing parasitik dan perubahan histopatologi pada ikan bunglon batik jepara (*Cryptocentrus leptoccephalus*) dari kepulauan seribu. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Cahyaningrum, D., Sarjito dan A. H. C. Haditomo . 2015. Pengaruh perendaman ekstrak daun ceremai (*Phyllanthus acidus* [L.] Skeels) terhadap kelulushidupan dan histopatologi ginjal ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 4(1): 40-46.
- Damayanti, F.N. 2010. Pengaruh Pencemaran Logam Berat terhadap Kondisi Histologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Linn) dalam Karamba Jaring Apung Di Blok Jangari Waduk Cirata. Skripsi. Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2001. Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I), Jilid 2. Departemen Kesehatan & Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia. Jakarta.
- Doss, A., H. M. Mubarak dan R. Dhanabalan. 2009. Antibacterial Activity of Tannins from the Leaves of *Solanum trilobatum* Linn. *Indian Journal of Sciences and Technology*. 2 (2) : 41 – 43.
- Effendi H. 2003. Telaah Kualitas Air. Kanisius. Yogyakarta. 68 hlm.
- Fitria, Ajeng Suci. 2012. Analisis kelulushidupan dan pertumbuhan benih ikan nila larasati (*Oreochromis niloticus*) F5 D₃₀-D₇₀ pada berbagai salinitas. *Journal Of Aquaculture Management and Technology*. 1 (1): 18-34.
- Galingging, R.Y. 2009. Bawang Dayak Sebagai Tanaman Obat Multifungsi, *Warta Penelitian dan Pengembangan*. Kalimantan Tengah. Volume 15(3) : 1-14.
- Gayatri , P. R., Sudjarwo S. A, dan I'tishom R. Potensi Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.) sebagai Protektor Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus*) Balb/C yang di Induksi Timbal Asetat. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 19 (3) : 1-8.
- Hasanuddin. 2003. Peningkatan Peranan Mikroorganisme Dalam Sistem Pengendalian Penyakit Tumbuhan Secara Terpadu. Jurusan Hama Dan

Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara,
<http://library.usu.ac.id/download/fp/fp-hasanuddin.pDb>.

- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia I, terjemahan Badan Litbang Departemen Kehutanan. Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta. 94 hlm.
- Indriawati, A., S. M. E. Susilowati dan K. I. Supardi. 2016. Pembelajaran berbasis masalah dengan bahan ajar berorientasi sumberdaya perairan terhadap karakter peduli lingkungan dan hasil belajar IPA. *Journal of Primary Education*. 5 (2) : 88-96.
- Jihulya, N. J. 2014. *Diet and feeding ecology of Nile Tilapia, Oreochromis niloticus and Nile Perch, Lates niloticus in protected and unprotected areas of Lake Victoria, Tanzania. International Journal of Scientific & Technology Research*. 3(11): 280-286.
- Khairuman, H. dan K. Amri. 2012. Pembesaran Nila di Kolam Air Deras. Agromedia Pustaka. Jakarta. 92 hlm.
- Khaisar, O. 2005. Respon Histopatologis Organ Ikan Alu-Alu (*Sphyraena barracuda*) Di Perairan Teluk Jakarta. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kordi K. 2009. Budi Daya Perairan. PT Citra Aditya Bakti. Bandung. 463 hlm.
- Kordi, M. G. H. 2015. Akuakultur Intensif & Super Intensif: Produksi Tinggi dalam Waktu Singkat. Rineka Cipta. Jakarta. 424 hlm
- Latuconsina, H., M. N. Nessa dan R. A. Rappe. 2012. Komposisi spesies dan struktur komunitas ikan padang lamun di perairan tanjung tiram Teluk Ambon dalam. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 4 (1) : 35 – 46.
- Lee, D., Albenberg, L., Compher, C., Baldassano, R., Piccoli, D., Lewis, J.D., Wu, G.D., 2015. *Diet in the Pathogenesis and Treatment of Inflammatory Bowel Diseases. Gastroenterology*.
- LIPI. 1978. Tumbuhan Obat. Bogor: Lembaga Biologi Nasional-LIPI. 27 hlm.
- Lubis, F.A. 2014. Histologi hati dan ginjal ikan baung (*Mystus nemurus*) sebelum dan setelah diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* ROXB). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Tidak diterbitkan. 27 hlm.
- Mailoa, M. N., M. Mahendradatta, A. Laga dan N. Djide. 2014. Antimicrobial Activities of Tannins Extract from Guava Leaves (*Psidium guajava* L) on Pathogens Microbial. *International Journal of Scientific and Technology Research*. 3 (1) : 236 – 241.
- Mandia, S., N. Marusin dan P. Santoso. 2013. Analisis histologis ginjal ikan asang (*Osteochilus hasseltii*) di Danau Maninjau dan Singkarak, Sumatera Barat. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2(3): 194-200.
- Manurung. Usy N., dan Susantie D. 2017. Identifikasi bakteri patogen pada ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di lokasi budidaya ikan air tawar Kabupaten Kepulauan Sangihe. 5 (3) : 11-17.

- Mujalifah, Santoso dan Saimul Laili. 2018. Kajian morfologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dalam habitat air tawar dan air payau. BIOSAIN TROPIS. 3 (3): 10 – 17.
- Prameswari, W., A. D. Sasanti, dan Muslim. 2013. *Bacteria Population, Histology, Survival Rate and Growth of Snakehead (Channa striata) Fry Maintained in Media with Addition of Probiotics*. Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia. 1(1) : 76-89.
- Price, S.A., Wilson, L.M. 2006. Patofisiology. Edisi VI. Volume I. EGC. Philadelphia. 87 p.
- Rahayu, S. D., Z. L. Zulfatin dan A. Nuriliani. 2013. Efek Histopatologis Insektisida λ -Cyhalothrin terhadap Insang, Hati, dan Usus Halus Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* L., 1758). Biosfera. 30 (2) : 52-65.
- Rangkuti, Freddy. 1997. Riset Pemasaran. Jakarta. PT Gramedia Pustaka Utama. 42 hlm.
- _____, H. R. 1997. Ikan Nila Budi Daya dan Prospek Agribisnis. Kanisius. Yogyakarta. 20 hlm.
- Reksono, B., H. Hamdani dan Yuniarti. 2012. Pengaruh Padat Penebaran *Gracilaria* sp. Terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) pada Budidaya Sistem Polikultur. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3 (3) : 41 – 49.
- Roslizawaty, N.Y. Ramadani, Fakhruddin dan Herrialfian. 2013. Aktivitas antibakterial ekstrak etanol dan rebusan sarang semut (*Myrmecodia* sp.) terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Medika Veterinaria*. 7(2): 91-94.
- Rukmana, H. R. 1997. Ikan Nila, Budi Daya dan Aspek Agrobisnis. Kanisius: Yogyakarta. 20 hlm.
- Said, Ahmad. 2007. Budidaya Mujair dan Nila. Azka Press. 32 hlm.
- Samsundari, S. 2006. Pengujian Ekstrak Temulawak dan Kunyit terhadap Resistensi Bakteri *Aeromonas hydrophila* yang Menyerang Ikan Mas (*Ciprinus carpio*). *Gamma* 2 (1) : 71-83.
- Sari, N. W., I. Lukistyowati, N. Aryani. 2012. Pengaruh pemberian temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) terhadap kelulushidupan ikan mas (*Cyprinus carpio* L) setelah di infeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal perikanan dan kelautan*. 17(2): 43 -59.
- Sari., D. R, S. B. Prayitno dan Sarjito. 2014. Pengaruh perendaman ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) terhadap kelulushidupan dan histologi ginjal ikan Lele (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi bakteri “*Edwardsiella tarda*”. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(4): 126-133.
- Siswandari, W. 2005. Nilai Diagnostik Pemeriksaan Imunositokimia Limfosit Sediaan Apus Darah Tepi Dibandingkan Analisis Kromosom pada Penderita dengan Dugaan Sindroma Fragile X. Tesis. Universitas Diponegoro. Semarang.



- Sulmartiwi, L., S. Harweni, A. T. Mukti dan Rr. J. Triastuti. 2013. Pengaruh penggunaan larutan daun bandotan (*Ageratum conyzoides*) terhadap kadar glukosa darah ikan koi (*Cyprinus carpio*) pasca transportasi. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 5 (1): 73-76.
- Suryono , T. dan M. Badjoeri. 2013. Kualitas air pada uji pembesaran larva ikan sidat (*Anguilla* spp.) dengan sistem pemeliharaan yang berbeda. *LIMNOTEK*. 20 (2) : 169 – 177.
- Suyono, Y., dan Salahudin F. 2011. Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri *Pseudomonas* pada Tanah yang Terindikasi Terkontaminasi Logam. *Biopropal Industri*. 2 (1) : 8-14.
- Syawal, H. dan S. Hidayah. 2008. Pemberian Ekstrak Kayu Siwak (*Salvadora persica* L.) untuk Meningkatkan Kekebalan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) yang Dipelihara dalam Keramba. *Biodiversitas* 9 (1) : 44-47.
- Tatangindatu, F., O. Kalesaran dan R. Rompas. 2013. Studi Parameter Fisika Kimia Air pada Areal Budidaya Ikan di Danau Tondano, Desa Paleloan, Kabupaten Minahasa. *Budidaya Perairan*. 1 (2) : 8 – 19.
- Thompson, E. B. and C. S. Weil. 1950. *Drug Bio Screening Fundamental of Drug Evaluation Techniques in Pharmacology*. Graceway Publ. Co., Inc., New York. 87-112.
- Ulfiana, R., G. Mahasri dan H. Suprpto. 2012. Tingkat kejadian aeromonosis pada ikan koi (*Cyprinus carpio carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus koi* pada derajat infeksi yang berbeda. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 4(2): 169-174.
- Wahjuningrum, D., N. Ashry dan S. Nuryati. 2008. Utilization Ketapang (*T. cattapa*) leaf extract for treatment of *Aeromonas hydrophila* infected cat fish (*Pangasionodon Hypophthalmus*). *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 7 (1) : 79–94.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat Penelitian



Akuarium (200x60x80)cm²



Toples plastik 16L



Timbangan digital



Toples kaca 10L

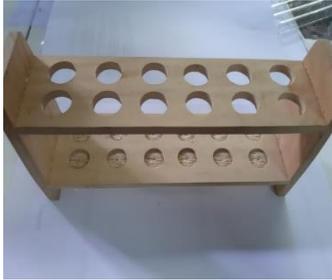


Oven



Aerator Set

Lampiran 1. (Lanjutan)

 <p>Bunsen</p>	 <p>Rak Tabung Reaksi</p>
 <p>Sprayer</p>	 <p>Jarum Ose</p>
 <p>Botol film</p>	 <p>Lemari pendingin</p>
 <p>Mikroskop</p>	 <p>Gelas ukur</p>

Lampiran 1. (Lanjutan)



Rotary Evaporator



Spektrofotometer



Vortex Mixer



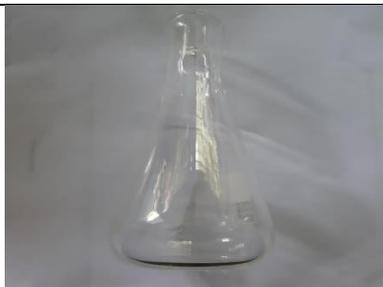
Inkubator



Cover glass



Objek glass



Erlenmeyer



Seser ikan

Lampiran 1. (Lanjutan)



Thermometer



Hotplate



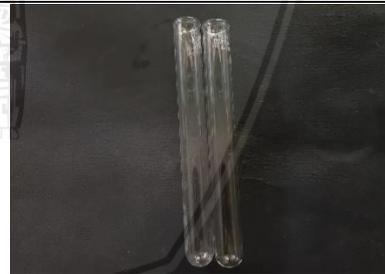
DO meter



pH meter



Bola hisap



Tabung reaksi

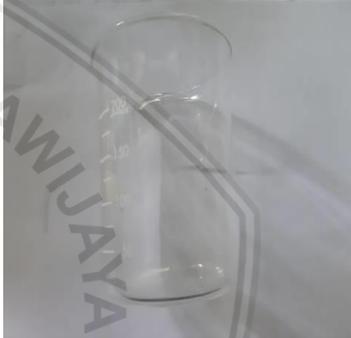


Autoklaf



Spatula

Lampiran 1. (Lanjutan)

 <p><i>Sectio set</i></p>	 <p><i>Laminary Air Flow (LAF)</i></p>
 <p><i>Micropipet</i></p>	 <p><i>Beaker glass</i></p>
 <p><i>Pipet volume</i></p>	 <p><i>Washing botol</i></p>

Lampiran 2. Bahan Penelitian



Ikan Nila ukuran 3 – 5 cm



Ekstrak kasar Bawang Dayak



Alkohol 70%



Etanol PA



Latex



Akuades

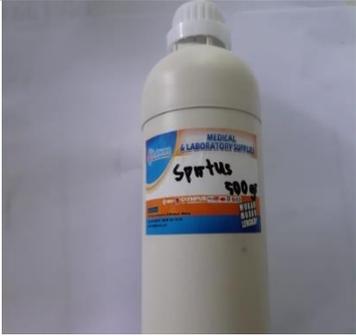
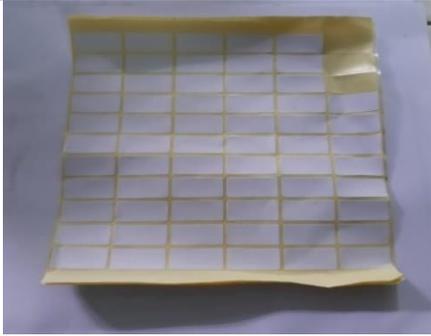


Media



Kapas

Lampiran 2. (Lanjutan)

	
<p>Spiritus</p>	<p>Kertas label</p>
	
<p>Plastic wrap</p>	<p>Kertas saring</p>

Lampiran 3. Hasil Uji Fitokimia Bawang Dayak



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

65313

Nomor : 074 / 40D / 102.7 / 2019
 Sifat : Biasa
 Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon

Nama	NIM	Instansi
Immaria Fransira	176080100111007	Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang
Abdullah Abrar Widadiputra	155080500111067	
Nadira Lola Rizkyta	155080507111002	

2. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Bawang Dayak
 Nama latin : *Eleutherine palmifolia (L) Merr*
 Bagian sampel : -
 Bentuk sampel : Ekstrak
 Pelarut : Etanol p.a
 Asal sampel : -
 Tanggal penerimaan : 18 April 2019
 Tanggal pemeriksaan : 23 April 2019

3. Hasil

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

4. Lampiran

Nama Sampel	Flavonoid	Alkaloid		
		Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Bawang Dayak <i>(Eleutherine palmifolia (L) Merr)</i>				

Nama Sampel	Tanin	Terpenoid	Fenol	Saponin
	Bawang Dayak <i>(Eleutherine palmifolia (L) Merr)</i>			

Lampiran 4. Hasil Uji Biokimia Bakteri *P. fluoremces*



KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
 DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA
 BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU
LABORATORIUM UJI BBPAP JEPARA
 Alamat surat: PO Box 1 Jepara, Kantor: Jl. Cik Lanang – Bulu Jepara 59418
 Telp. : (0291) 591125, Faximili : (0291) 591724
www.bbpbapjepara.djpb.kkp.go.id ; Email: bbpbapjpr@gmail.com

HASIL UJI BIOKIMIA

Hal : Uji biokimia Identifikasi Bakteri
 Asal : Lab. Mikrobiologi
 Alamat : BBAPAP Jepara
 Metode : Cowan and stell's, Manual for Identification of medical bacteria
 Hasil :

Uji Bio Kimia	Isolat
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Gram	—
Bentuk	Batang
Katalase	+
Oksidase	+
H ₂ S	—
Indol	—
Citrate	+
OF medium	Oksidatif
VP	—
MR	—
TSIA	A/A
Urea	—
Glukosa	+
Sukrosa	—
37 ^o C	+
Pigment flourecent	+

Lab. Mikrobiologi BBPAP Jepara



Lampiran 5. Perhitungan Dosis Ekstrak pada Uji MIC

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

- Perhitungan Stok Awal Ekstrak Kasar Bawang Dayak

$$\begin{aligned} 1000 \text{ ppm} &= \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} \times 5 \text{ ml} \\ &= 5 \text{ mg ekstrak} + 5 \text{ ml DMSO } 10\% \end{aligned}$$

Larutan stok terbuat dari 5 mg ekstrak kasar bawang dayak yang dilarutkan dalam 10 ml DMSO. Kemudian dilakukan pengenceran untuk mendapatkan dosis ekstrak yang diinginkan.

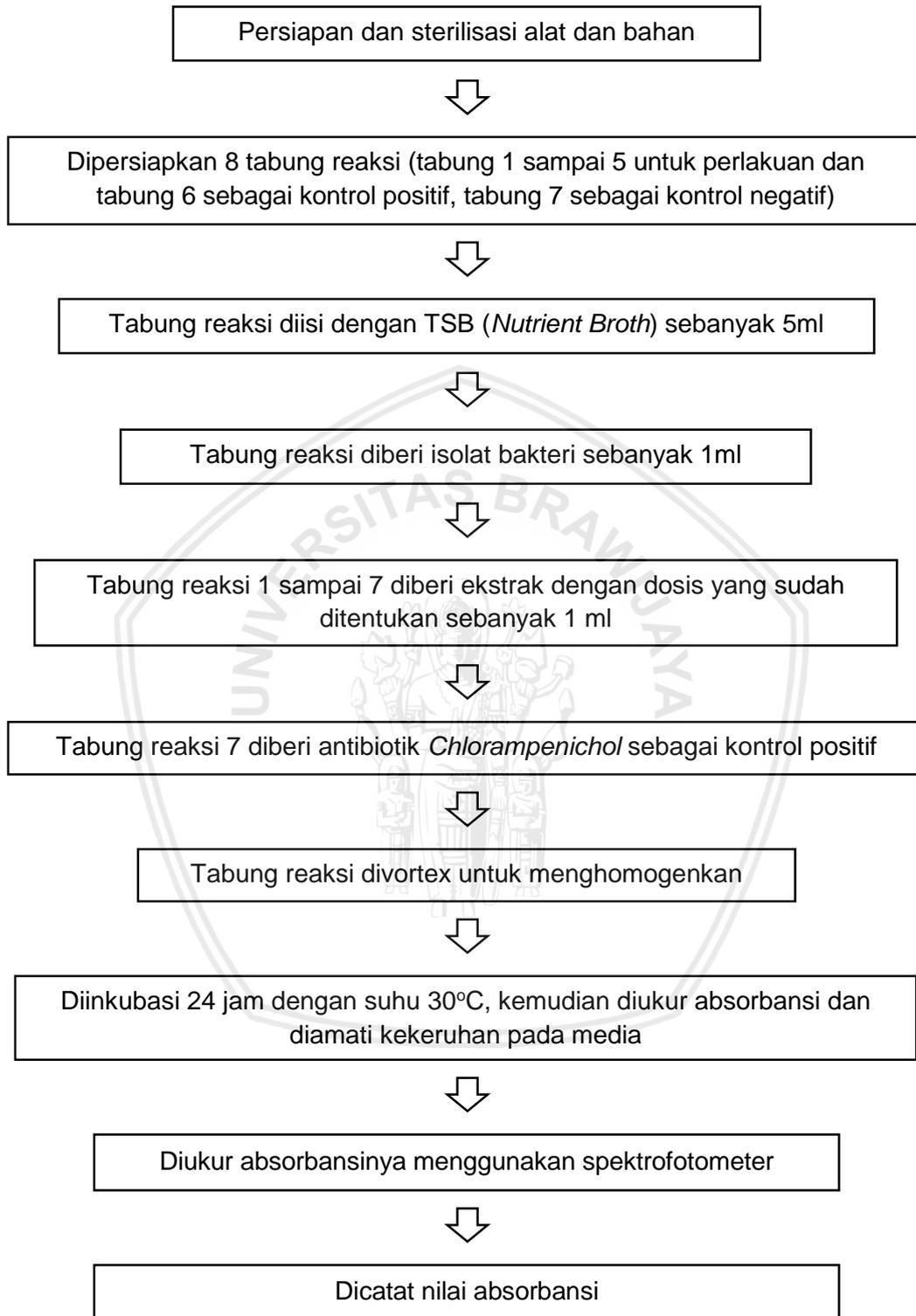
$$500 \text{ ppm} = \frac{500}{1 \text{ L}} \times 3 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml Ekstrak (larutan stok)} + 1,5 \text{ ml DMSO } 10\%$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{100}{1 \text{ L}} \times 3 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml Ekstrak (larutan stok)} + 2,7 \text{ ml DMSO } 10\%$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{10}{1 \text{ L}} \times 3 \text{ ml} = 0,03 \text{ ml Ekstrak (larutan stok)} + 2,97 \text{ ml DMSO } 10\%$$

$$1 \text{ ppm} = \frac{1}{1 \text{ L}} \times 3 \text{ ml} = 0,003 \text{ ml Ekstrak (larutan stok)} + 2,997 \text{ ml DMSO } 10\%$$

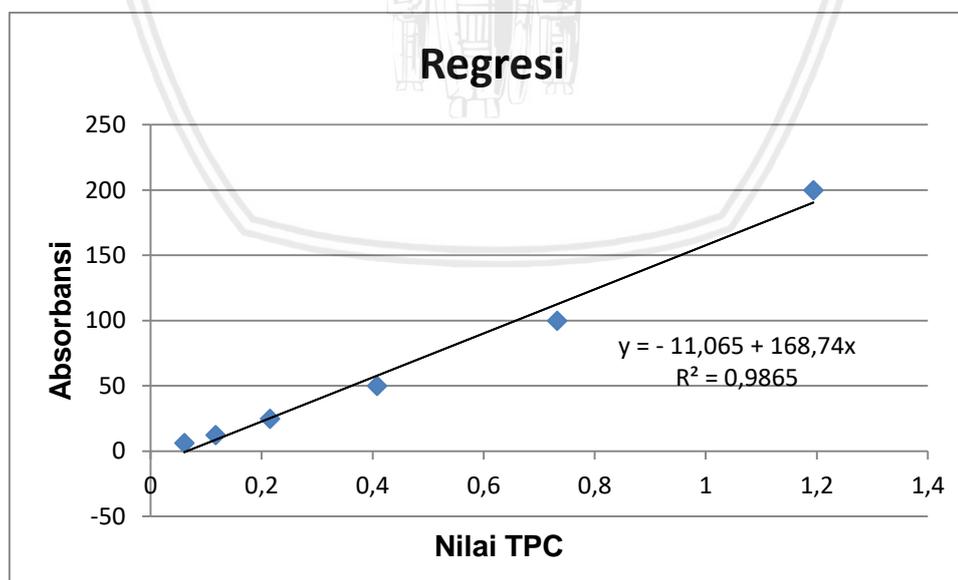
Lampiran 6. Skema Uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*)



Lampiran 7. Perhitungan Kepadatan Bakteri

- a. Perhitngan kepadatan Bakteri menggunakan metode Regresi
 - Dilakukan penanaman bakteri pada media sebagai bakteri stok.
 - Kemudian diambil 1 ml pada media stok lalu ditanam pada media TSB 5 ml pada 5 tabung raksi, kemudian dihitung nilai absorbansi dengan *spektofotometer*.
 - Diambil 1 tabung reaksi lalu ambil 100µl untuk ditanam pada media agar, lalu dihitung dengan metode TPC.
 - Dimasukkan pada rumus regresi dengan sumbu x berupa hasil TPC dan sumbu y berupa nilai absorbansi, nilai tersebut dapat dilihat pada grafik dibawah.

	Absorbansi	TPC
1	1.194	200
2	0.732	100
3	0.408	50
4	0.215	25
5	0.117	12.5
6	0.061	6.25



- Grafik diatas menunjukkan rumus $y = -11.065 + 168.74x$
- Berdasarkan rumus diatas didapatkan nilai $y = 168.74(1,194) - 11.065 = 114.03$

Lampiran 7. (Lanjutan)

- Berdasarkan perhitungan diatas diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan adalah sebanyak 114,03 ml tiap toples perlakuan



Lampiran 8. Pembuatan Dosis Ekstrak Kasar Bawang Dayak untuk Pengobatan Ikan Nila

Volume toples yang digunakan adalah 10.000 ml, adapun perhitungan dosis ekstrak kasar Bawang Dayak adalah sebagai berikut:

a. Dosis 30 ppm

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

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

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

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

b. Dosis 50 ppm

$$50 \text{ ppm} = \frac{50 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$- 10 \text{ L} = 50 \text{ mg} \times 10 \text{ L}$$

$$= \frac{500 \text{ mg}}{10 \text{ L}}$$

$$= \frac{0,5 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

c. Dosis 70 ppm

$$70 \text{ ppm} = \frac{70 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$- 10 \text{ L} = 70 \text{ mg} \times 10 \text{ L}$$

$$= \frac{700 \text{ mg}}{10 \text{ L}}$$

$$= \frac{0,7 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

d. Dosis antibiotik *Chloramphenicol* 30 ppm (Kontrol positif)

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

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

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

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

Lampiran 9. Nilai Skoring Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Nila (*O.niloticus*)

Kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	Nilai Skoring					Rerata LP	Rerata Sampel
			1	2	3	4	5		
Kongesti	A (30 ppm)	1	2	2	2	4	2	2.4	2.20
		2	2	2	2	2	2	2	
		3	2	3	2	1	3	2.2	
	B (50 ppm)	1	2	1	2	2	1	1.6	1.73
		2	2	2	2	2	1	1.8	
		3	2	2	2	1	2	1.8	
	C (70 ppm)	1	2	1	2	1	2	1.6	1.60
		2	2	2	2	2	1	1.8	
		3	1	2	1	1	2	1.4	
Nekrosis	A (30 ppm)	1	3	2	3	3	4	3	3.07
		2	3	2	4	4	2	3	
		3	3	2	4	3	4	3.2	
	B (50 ppm)	1	4	3	2	4	3	3.2	3.20
		2	3	3	3	4	3	3.2	
		3	3	4	3	3	3	3.2	
	C (70 ppm)	1	3	3	4	4	3	3.4	3.33
		2	3	4	3	3	4	3.4	
		3	4	3	3	3	3	3.2	

Lampiran 10. Perhitungan Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Nila (*O. niloticus*)

a. Kongesti

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A	2,40	2,00	2,20	6,60	2,20	±0,02
B	1,60	1,80	1,80	5,20	1,73	±0,12
C	1,60	1,80	1,40	4,80	1,60	±0,20
				16,60		

• **Perhitungan Sidik Ragam**

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

$$= \frac{16,60^2}{9}$$

$$= 30,61$$

• JK Total = $(A1^2 + A2^2 + \dots + C3^2) - FK$
 $= (2,40^2 + 2,00^2 + \dots + 1,40^2) - 30,61$
 $= 31,40 - 30,61$
 $= 0,78$

• JK Perlakuan = $\frac{\sum(\sum xi)}{r} - FK$
 $= \frac{TA^2 + TB^2 + TC^2}{r} - FK$
 $= \frac{6,60^2 + 5,20^2 + 4,80^2}{3} - 30,61$
 $= 0,59$

• JK Acak = JK Total – JK Perlakuan
 $= 0,78 - 0,59$
 $= 0,18$

• Derajat Bebas (dB) Total = $(n \times r) - 1$
 $= (3 \times 3) - 1$
 $= 8$

• Derajat Bebas (db) Perlakuan = $n - 1$
 $= 3 - 1$
 $= 2$

• Derajat Bebas (db) Acak = $n \times (r - 1)$
 $= 3 \times (3 - 1)$
 $= 6$

• Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP) = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}}$
 $= \frac{0,59}{2}$



Lampiran 10. (Lanjutan)

$$= 0,29$$

- Kuadrat Tengah Acak (KTA) = $\frac{JK\ Acak}{db\ Acak}$

$$= \frac{0,18}{6}$$

$$= 0,03$$

- F Hitung = $\frac{KTP}{KTA}$

$$= \frac{0,29}{0,03}$$

$$= 9,57$$

- **Analisis Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%	F1%
Perlakuan	2	0,59	0,29	9,57*	5,14	10,92
Acak	6	0,18	0,03			
Total	8	0,78				

Keterangan: (*) = berbeda nyata

Karena nilai F hitung > F 5% dan F hitung < F 1% maka perhitungan dilanjutkan dengan perhitungan Uji BNT.

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

- SED = $\sqrt{\frac{2 \times KT\ Acak}{r}}$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 0,03}{3}}$$

$$= 0,14$$

- BNT 5% = T tabel 5% (dB Acak) x SED

$$BNT\ 5\% = 2,447 \times 0,14$$

$$= 0,35$$

- BNT 1% = T tabel 1% (dB Acak) x SED

$$= 2,447 \times 0,14$$

$$= 0,86$$

Lampiran 10. (Lanjutan)

• **Tabel BNT**

Perlakuan	Rerata	A	B	C	Notasi
		2,20	1,73	1,60	
A	2,20	-	-	-	a
B	1,73	0,46*	-	-	b
C	1,60	0,60*	0,13 ^{ns}	-	c

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

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

• **Tabel *Polynomial Orthogonal***

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A	6,6	-1	1
B	5,2	0	-2
C	4,8	1	1
Q= Σ(ci*Ti)		-1,8	1
Hasil Kuadrat		2	6
Kr= (Σci²)*r		6	18
JK=Q²/Kr		0,54	0,05

– JK Regresi Total = JK Linier + JK Kuadratik

$$= 0,54 + 0,05$$

$$= 0,59$$

• **Analisis Sidik Ragam Regresi**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0,59			5,14	10,92
Linier	1	0,54	0,54	17,357**	*	
Kuadratik	1	0,05	0,05	1,785 ^{ns}	Ns	
Acak	6	0,18	0,03			
Total	10	1,37				

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

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

Lampiran 10. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 - \quad R^2 \text{ linier} &= \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,54}{0,54+0,18} \\
 &= 0,743
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \quad R^2 \text{ Kuadrat} &= \frac{JK \text{ Kuadrat}}{JK \text{ Kuadrat} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,055}{0,055+0,18} \\
 &= 0,229
 \end{aligned}$$

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

- **Tabel Sumbu x dan y**

Perlakuan	X	y	Xy	x ²
A1	30	2,40	72	900
A2	30	2,00	60	900
A3	30	2,20	66	900
B1	50	1,60	80	2500
B2	50	1,80	90	2500
B3	50	1,80	90	2500
C1	70	1,60	112	4900
C2	70	1,80	126	4900
C3	70	1,40	98	4900
Total	450	16,60	794	24900

Lampiran 10. (Lanjutan)

$$- \quad b_1 = \frac{(\sum xy) - \left(\frac{\sum x \sum y}{n}\right)}{(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n})} = -0,015$$

$$- \quad b_0 = \frac{\sum y}{n} - \left(b_1 \frac{\sum x}{n}\right) = 2,594$$

Berdasarkan perhitungan b_0 dan b_1 , maka didapat persamaan linier sebagai berikut: $y=2,5944 - 0,015x$.



Lampiran. 10. (Lanjutan)

b. Nekrosis

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A	3,00	3,00	3,20	9,2	3,07	±0,12
B	3,20	3,20	3,20	9,6	3,20	±0,00
C	3,40	3,40	3,20	10	3,33	±0,12
				28.8		

• Perhitungan Sidik Ragam

- Faktor Koreksi (FK) = $\frac{G^2}{N}$
 $= \frac{28.8^2}{8}$
 $= 92,16$
- JK Total = $(A1^2 + A2^2 + \dots + C3^2) - FK$
 $= (3,00^2 + 3,00^2 + \dots + 3,20^2) - 34.68$
 $= 92,32 - 92,16$
 $= 0,16$
- JK Perlakuan = $\frac{\sum(\sum xi)}{r} - FK$
 $= \frac{TA^2 + TB^2 + TC^2}{r} - FK$
 $= \frac{9,20^2 + 9,60^2 + 10^2}{3} - 92,16$
 $= 0.106$
- JK Acak = JK Total – JK Perlakuan
 $= 0,106 - 0,16$
 $= 0,053$
- Derajat Bebas (dB) Total = $(n \times r) - 1$
 $= (3 \times 3) - 1$
 $= 8$
- Derajat Bebas (db) Perlakuan = $n - 1$
 $= 3 - 1$
 $= 2$
- Derajat Bebas (db) Acak = $n \times (r - 1)$
 $= 3 \times (3 - 1)$
 $= 6$

Lampiran 10. (Lanjutan)

– Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP) = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}}$

$$= \frac{0,106}{2}$$

$$= 0,053$$

– Kuadrat Tengah Acak (KTA) = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}}$

$$= \frac{0,053}{6}$$

$$= 0,008$$

– F Hitung = $\frac{KTP}{KTA}$

$$= \frac{0,053}{0,008}$$

$$= 6$$

• **Analisis Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0.1067	0.0533	6*	5.14	10.92
Acak	6	0.0533	0.0089			
Total	8	0,16				

Keterangan : (* *) = Berbeda sangat nyata

Karena nilai F hitung > F 5% dan F hitung < F 1%, maka perhitungan dilanjutkan dengan perhitungan Uji BNT.

• Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

– $SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}}$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 0,0089}{3}}$$

$$= 0,076$$

– BNT 5% = T tabel 5% (dB Acak) x SED

$$= 2,447 \times 0,076$$

$$= 0,188$$

Lampiran 10. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 - \quad \text{BNT } 1\% &= T \text{ tabel } 1\% \text{ (dB Acak)} \times \text{SED} \\
 &= 2,447 \times 0,076 \\
 &= 0,46
 \end{aligned}$$

• **Tabel BNT**

Perlakuan	Rerata	A	B	C	Notasi
		3,067	3,200	3,333	
30	3,067	-	-	-	a
50	3,200	0,133 ^{ns}	-	-	a
70	3,333	0,267*	0,133 ^{ns}	-	b

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

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

• **Tabel *Polynomial Orthogonal***

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A	9,2	-1	-1
B	9,6	0	-2
C	10	1	1
Q= Σ(ci*Ti)		0,8	
Hasil Kuadrat		2	6
Kr= (Σci^2)*r		6	18
JK=Q^2/Kr		0,106	0.12

$$\begin{aligned}
 - \quad \text{JK Regresi Total} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadrat} \\
 &= 0,106 + 0.12 \\
 &= 0,106
 \end{aligned}$$

Lampiran 10. (Lanjutan)

• Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fhit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0.10666667			5.14	10.92
Linier	1	0.10666667	0.10666667	12	**	
Kuadratik	1	7.0121E-31	7.0121E-31	7.89E-29	ns	
Acak	8	0.1067	0.0133			
Total	11	0.9200				

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

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

$$\begin{aligned} R^2 \text{ linier} &= \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} \\ &= \frac{0,106}{0,106 + 0,053} \\ &= 0,667 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} \\ &= \frac{0.1200}{0.1200+0.1067} \\ &= 0.5294 \end{aligned}$$

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

Lampiran 10. (Lanjutan)

Tabel Sumbu x dan y

Perlakuan	X	Y	Xy	x ²
A1	30	3.00	90	900
A2	30	3.00	90	900
A3	30	3.20	96	900
B1	50	3.20	160	2500
B2	50	3.20	160	2500
B3	50	3.20	160	2500
C1	70	3.40	238	4900
C2	70	3.40	238	4900
C3	70	3.20	224	4900
Total	450	28.80	1456	24900

$$- \quad b_1 = \frac{(\sum xy) - \left(\frac{\sum x \sum y}{n}\right)}{(\sum x^2) - \left(\frac{(\sum x)^2}{n}\right)} = 0,0067$$

$$- \quad b_0 = \frac{\sum y}{n} - \left(b_1 \frac{\sum x}{n}\right) = 2,867$$

Berdasarkan perhitungan b₀ dan b₁, maka didapat persamaan linier sebagai berikut: $y = 2.8667 + 0.0067x$.

Lampiran 11. Hasil Pengamatan Kualitas Air

Hari	Perlakuan	Suhu		Kualitas Air DO		pH	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
1	A1	24,7	22,8	4,24	5,2	6,8	7,19
	A2	25	22,7	4,24	4,88	7	7,23
	A3	24	23,1	4,41	5,16	6,94	7,26
	B1	24,6	22,4	4,27	5,12	6,9	7,18
	B2	24,8	22	4,52	4,54	7,1	7,2
	B3	23,9	22,9	4,57	4,98	6,8	7,19
	C1	24,7	22,5	4,55	4,65	6,87	7,12
	C2	24,2	22,7	4,17	4,7	7	7,26
	C3	24,6	23,5	4,09	4,45	7,1	7,22
	K-1	25	22,9	4,1	4,9	6,91	7,17
	K-2	24	22,4	4,14	4,14	6,87	7,17
	K-3	24,5	22,5	4,12	4,89	6,8	7,19
	K-1	24,1	22,7	4,12	4,99	7,1	7,2
	K-2	24,7	23,6	4,22	4,88	7	7,26
	K-3	24,8	23,1	4,66	5,16	6,9	7,17
	KN1	23,9	22,9	4,97	5,19	6,87	7,18
	KN2	24,5	23	4,27	4,88	7	7,22
	KN3	24,3	22,4	4,3	4,89	6,93	7,17
	A1	24,1	22,7	4,24	5,1	6,88	7,26
	A2	24,7	23,6	4,45	4,89	6,91	7,17
	A3	25	22,7	4,9	4,65	7	7,2
B1	24	22,4	4,51	4,74	6,95	7,12	
B2	24,5	22,8	4,12	4,73	6,9	7,26	
B3	24,1	23,6	4,17	4,85	6,94	7,13	
C1	24,6	22	4,5	5,2	6,99	7,17	
C2	23,9	22,7	4,46	4,32	6,8	7,19	
C3	24,7	23	4,56	5,2	6,82	7,17	
K-1	24,5	22,5	4,27	4,88	7	7,26	
K-2	24	23,6	4,35	4,71	7,1	7,22	
K-3	24,1	22,7	4,76	5,16	6,91	7,13	
K-1	24,6	22,5	4,93	4,99	6,87	7,19	
K-2	23,9	23	4,44	4,88	6,93	7,12	
K-3	25	23,5	4,78	4,8	6,8	7,18	
KN1	24,7	22,9	4,5	4,65	7,1	7,23	
KN2	25	23,5	4,45	4,88	7	7,2	
KN3	24,7	22,9	4,56	4,68	7,1	7,23	



Lampiran 11. (Lanjutan)

Hari	Perlakuan	Suhu		Kualitas Air DO		pH	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
3	A1	24,1	23,1	4,89	5	6,87	7,17
	A2	24,7	22,4	4,52	4,99	6,95	7,13
	A3	24,6	22,7	4,1	5,1	6,99	7,26
	B1	24	22,5	4,26	5,2	6,8	7,17
	B2	23,9	22,9	4,27	4,48	7	7,2
	B3	24,7	23,6	4,11	5,03	7,1	7,2
	C1	24,1	22	4,44	5,04	6,82	7,19
	C2	24,5	22,4	4,52	5,16	7	7,17
	C3	24,6	22,5	4,7	5,22	6,94	7,12
	K-1	25	22,7	4,72	5,13	6,9	7,18
	K-2	24,7	23,6	4,27	5,2	6,87	7,17
	K-3	24,6	23,1	4,17	4,89	6,94	7,26
	K-1	24,1	22,9	4,23	4,99	7,1	7,22
	K-2	24	23	4,31	4,88	7	7,14
	K-3	24,6	22,7	4,47	4,21	6,93	7,17
	KN1	24,8	22,4	4,73	5,16	7,1	7,14
	KN2	24,7	23,5	4,2	5,2	6,87	7,18
	KN3	24,8	22,7	4,67	5	6,82	7,26
	A1	23,9	23	4,24	5,1	6,99	7,17
	A2	24,1	22,9	4,5	4,89	7,1	7,19
	A3	24,1	22,7	4,26	4,67	6,88	7,18
B1	24,6	22,5	4,24	4,53	6,8	7,18	
B2	24	23,5	4,64	4,44	6,99	7,26	
B3	23,9	22,9	4,52	4,9	7,1	7,22	
C1	24,5	23	4,46	4,89	6,9	7,19	
C2	23,9	22,8	4,72	5,2	6,91	7,17	
C3	24,6	22,4	4,52	5,2	6,8	7,18	
K-1	24,1	23	4,5	4,83	7	7,26	
K-2	24,7	22	4,32	4,99	6,94	7,17	
K-3	25	23,6	4,28	4,24	6,93	7,23	
K-1	24,6	22,7	4,57	4,24	6,9	7,14	
K-2	24	22	4,88	4,41	7,1	7,26	
K-3	24,8	22,4	4,52	5,2	7	7,2	
KN1	24,6	23	4,72	5,1	6,87	7,18	
KN2	24,7	23,1	4,76	5,11	7,1	7,23	
KN3	25	22,7	4,97	5	7,1	7,14	

Lampiran 11. (Lanjutan)

Hari	Perlakuan	Suhu		Kualitas Air DO		pH	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
5	A1	24,1	22,7	4,19	4,75	6,88	7,17
	A2	24,7	23,6	4,5	5,02	6,9	7,18
	A3	24,1	22,9	4,52	5	6,95	7,13
	B1	24,6	22,5	4,73	5,2	6,9	7,17
	B2	23,9	22,7	4,35	5	6,87	7,12
	B3	24,5	23,1	4,3	4,99	7	7,2
	C1	23,9	22,4	4,52	5,2	6,8	7,26
	C2	24,6	23,6	4,72	5	6,82	7,14
	C3	24	23	5	4,89	7,1	7,22
	K-1	25	22,8	4,27	5,16	6,91	7,13
	K-2	24,7	22,7	4,9	5	7	7,26
	K-3	24,1	22,4	4,74	4,98	6,91	7,14
	K-1	24,6	22,7	4,52	4,81	6,8	7,18
	K-2	24,2	22	4,57	4,73	6,88	7,19
	K-3	25	22,7	4,55	4,35	6,87	7,13
	KN1	24,7	22,8	4,72	5,02	7	7,2
	KN2	24,3	23,1	4,52	4,75	6,87	7,17
	KN3	24,3	22,7	4,37	4,49	7	7,1
	A1	23,9	22,7	4,5	4,89	6,91	7,12
	A2	24,7	23,5	4,92	5,16	6,87	7,18
A3	24,1	22,9	4,8	4,92	6,87	7,12	
B1	24,5	23	4,52	4,89	6,94	7,19	
B2	23,9	22,5	4,72	5,2	6,82	7,18	
B3	24,6	23,5	4,32	4,92	7,1	7,14	
C1	24,1	22,4	4,21	4,99	6,93	7,13	
C2	25	22,8	4,52	4,89	7,1	7,22	
C3	24	22,9	4,72	5,2	6,87	7,17	
K-1	24,6	23,6	4,44	4,88	6,8	7,19	
K-2	24,5	22,5	4,27	4,99	6,87	7,18	
K-3	23,9	22,4	5,03	5,16	6,94	7,13	
K-1	24,1	23,1	4,6	4,92	6,82	7,19	
K-2	24,2	22,7	4,57	4,99	6,9	7,13	
K-3	25	23,5	4,78	5,14	6,87	7,17	
KN1	24,7	22,9	4,88	5,2	7,1	7,22	
KN2	24,8	22	4,27	4,45	6,95	7,26	
KN3	24,3	22,7	4,32	4,21	6,91	7,13	

Lampiran 11. (Lanjutan)

Hari	Perlakuan	Suhu		Kualitas Air DO		pH	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
7	A1	24,3	23	4,76	4,74	7	7,26
	A2	24	22	4,67	5,16	6,87	7,19
	A3	24,6	22,4	4,53	5,19	6,8	7,18
	B1	24,2	22,9	4,52	5,2	6,82	7,19
	B2	24,1	22,9	4,44	5	6,9	7,17
	B3	24,6	22	4,21	4,99	6,94	7,13
	C1	24	22,4	4,52	5,16	7,1	7,22
	C2	23,9	23,5	4,67	4,89	6,8	7,13
	C3	24,5	22,7	4,44	4,88	6,87	7,18
	K-1	24,2	22,5	4,92	5,2	7	7,2
	K-2	24,8	22,9	4,52	4,99	6,94	7,12
	K-3	24,6	22,4	4,58	4,99	6,91	7,26
	K-1	24,1	23,5	4,27	5	6,8	7,17
	K-2	24,5	22,7	4,92	5,2	7,1	7,22
	K-3	24,3	22	4,68	5	6,95	7,17
	KN1	24,8	22,7	4,72	5,16	7	7,2
	KN2	24	23,5	4,78	4,22	6,99	7,13
	KN3	24,3	22,7	4,9	4,47	6,93	7,12
	A1	25	23	4,57	4,89	7,1	7,26
	A2	24	22,7	4,92	5,2	6,91	7,18
	A3	24,6	23,1	4,52	4,99	6,87	7,19
B1	23,9	23	4,12	4,88	6,94	7,17	
B2	24,1	22	4,17	5,16	6,82	7,17	
B3	24,8	22,4	4,24	4,74	6,99	7,12	
C1	24,7	23,5	4,52	5,2	7	7,2	
C2	24,3	22,9	4,57	4,74	6,87	7,17	
C3	24,5	22,4	4,72	5,16	7,1	7,22	
K-1	23,9	22,8	4,52	4,99	6,91	7,13	
K-2	24,6	22,4	5,01	4,89	6,8	7,18	
K-3	24,2	23	4,92	5,2	6,95	7,17	
K-1	24,1	23,1	4,52	4,88	6,91	7,18	
K-2	25	22,7	5,13	4,99	6,9	7,17	
K-3	24,5	23,5	4,72	4,8	6,82	7,26	
KN1	23,9	22,5	4,27	5,16	6,88	7,18	
KN2	24,3	22,7	4,78	4,5	6,8	7,26	
KN3	24,3	22,7	4,62	4,32	6,91	7,17	

Lampiran 11. (Lanjutan)

Hari	Perlakuan	Suhu		Kualitas Air DO		pH	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
9	A1	23,9	22,7	4,5	4,89	6,87	7,17
	A2	24,5	23,5	4,27	4,72	6,95	7,26
	A3	24	22,7	4,22	5	6,8	7,17
	B1	24,1	23,6	4,01	5,2	6,94	7,17
	B2	24,6	22	4,27	4,89	7,1	7,22
	B3	25	23	4,4	4,72	6,8	7,17
	C1	24,1	22,9	4,56	5,2	7,1	7,19
	C2	24,6	22	4,52	4,99	6,95	7,26
	C3	24	23,6	4,5	4,88	6,9	7,17
	K-1	24,5	22,7	4,32	5,2	6,93	7,19
	K-2	23,9	23,1	4,28	4,71	7,1	7,17
	K-3	24,6	22,4	4,52	4,45	6,8	7,18
	A1	23,9	22,7	4,5	4,89	6,87	7,17
	A2	24,5	23,5	4,27	4,72	6,95	7,26
	A3	24	22,7	4,22	5	6,8	7,17
	KN1	24	23	4,02	4,99	6,87	7,19
	KN2	24,1	23,5	4,31	4,88	7	7,17
	KN3	24	22,7	4,27	4,72	7,1	7,22
10	A1	25	22	4,74	4,89	6,94	7,12
	A2	23,9	22,4	4,99	5,2	7,1	7,22
	A3	24,6	23,1	4,41	5	7	7,11
	B1	24,1	22,8	4,74	4,99	6,87	7,17
	B2	24,7	23,5	4,15	4,88	6,9	7,19
	B3	25	23	4,97	5,2	6,92	7,12
	C1	24,5	23,6	4,59	4,89	7,1	7,23
	C2	25	22,8	4,22	5,16	6,95	7,12
	C3	24,5	22,4	4,06	4,84	7	7,2
	K-1	24	23,6	4,27	4,76	6,87	7,18
	K-2	24,6	22	4,33	4,56	6,94	7,17
	K-3	24	22,4	4,27	5,02	7	7,26
	K-1	24,7	23	4,52	5,2	6,93	7,19
	K-2	23,9	23,1	4,45	4,99	6,8	7,12
	K-3	24,6	22,4	4,21	5,16	7,1	7,23
	KN1	24,1	22,5	4,23	4,99	6,87	7,17
	KN2	24,5	22,9	4,52	5,16	6,8	7,18
	KN3	24,8	23,1	4,74	5,19	7,1	7,23



Lampiran 12. Perhitungan Kelulushidupan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A	50	50	60	160	53,33	±5,77
B	80	70	60	210	70,00	±10,00
C	80	90	90	260	86,67	±5,77

• Perhitungan Sidik Ragam

- Faktor Koreksi (FK) = $\frac{G^2}{N}$
 $= \frac{630^2}{9}$
 $= 44100$
- JK Total = $(A1^2 + A2^2 + \dots + C3^2) - FK$
 $= (50^2 + 50^2 + \dots + 90^2) - 44100$
 $= 46100 - 44100$
 $= 2000$
- JK Perlakuan = $\frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - FK$
 $= \frac{TA^2 + TB^2 + TC^2}{r} - FK$
 $= \frac{160^2 + 210^2 + 260^2}{3} - 44100$
 $= 1666,67$
- JK Acak = JK Total – JK Perlakuan
 $= 2000 - 1666,67$
 $= 333,33$
- Derajat Bebas (db) Total = $(n \times r) - 1$
 $= (3 \times 3) - 1 = 8$
- Derajat Bebas (db) Perlakuan = $n - 1$
 $= 3 - 1$
 $= 2$
- Derajat Bebas (db) Acak = $n \times (r - 1)$
 $= 3 \times (3 - 1) = 6$
- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = JKP/db Perlakuan
 $= 1666,67/2$
 $= 833,33$

Lampiran 12. (Lanjutan)

- Kuadrat Tengah (KT) Acak = JKA/db Acak
= 333,33/6
= 55,56
- F.Hitung = KTP/KTA
= 833,33/55,56
= 15

• **Analisa Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%	F1%
Perlakuan	2	1.666,67	833,33	15	5,14	10,2
Acak	6	333,33	55,56	*		
Total	8	2.000,00				

Keterangan: (*) berbeda nyata

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

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

- $SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}}$
= $\sqrt{\frac{2 \times 55,56}{3}} = 6,09$
- BNT 5% = T tabel 5% (db acak) x SED
= 2,447 x 6,09
= 14,89
- BNT 1% = T tabel 1% (db acak) x SED
= 3,707 x 6,09
= 22,56

• **Tabel BNT**

Perlakuan	Rerata	A	B	C	Notasi
		53,33	70,00	86,67	
A	53,33	-	-	-	a
B	70,00	16,67	-	-	b
C	86,67	33,33	16,7	-	c

Keterangan: (*) = berbeda nyata
(**) = berbeda sangat nyata

Lampiran 12. (Lanjutan)

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

- **Tabel Polynomial Orthogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A	160	-1	1
B	210	0	-2
C	260	1	1
Q= $\Sigma(ci \cdot Ti)$		100	0
Hasil Kuadrat		2	6
Kr= $(\Sigma ci^2) \cdot r$		6	18
JK= Q^2 / Kr		1666,67	0

$$\begin{aligned}
 - \text{ JK Regresi Total} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} \\
 &= 1666,67 + 0 \\
 &= 1666,67
 \end{aligned}$$

- **Analisis Sidik Ragam Regresi**

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%	F1%
Perlakuan	2	1666,67			5,14	10,92
Linier	1	1666,67	1666,67	30,00	**	-
Kuadratik	1	0,00	0,00	0,00	ns	-
Acak	6	333,33	55,56	-	-	-
Total	8	3666,67	-	-	-	-

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

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

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{JK Acak}} \\
 &= \frac{1666,67}{1666,67 + 333,33} \\
 &= 0,833
 \end{aligned}$$

Lampiran 12. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} R^2 \text{ Kuadrat} &= \frac{\text{JK Kuadrat}}{\text{JK Kuadrat} + \text{JK Acak}} \\ &= \frac{0,00}{0,00 + 333,33} \\ &= 0,00 \end{aligned}$$

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

Perlakuan	X	y	xy	x ²
A1	30	50	1500	900
A2	30	50	1500	900
A3	30	60	1800	900
B1	50	80	4000	2500
B2	50	70	3500	2500
B3	50	60	3000	2500
C1	70	80	5600	4900
C2	70	90	6300	4900
C3	70	90	6300	4900
Total	450	630	33500	24900

$$B1 = \frac{n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} = 0,833$$

$$B0 = \frac{(\sum y)(\sum x^2) - (\sum x)(\sum xy)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} = 28,33$$

Berdasarkan perhitungan b0 dan b1, maka didapat persamaan linier sebagai berikut $y = 28,33 + 0,833x$