

**PENGARUH PEMBERIAN ALKALOID UBUR-UBUR (*Bougainvillia* sp.)  
MELALUI PAKAN TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI  
HATI DAN GINJAL KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*)  
YANG TERINFEKSI BAKTERI *Vibrio harveyi***

**SKRIPSI  
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
BUDIDAYA PERAIRAN**

**OLEH :  
FIRDIANSYAH  
NIM. 0410852011**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**FAKULTAS PERIKANAN**

**MALANG**

**2007**

**PENGARUH PEMBERIAN ALKALOID UBUR-UBUR (*Bougainvillia* sp.)  
MELALUI PAKAN TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI  
HATI DAN GINJAL KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*)  
YANG TERINFEKSI BAKTERI *Vibrio harveyi***

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Pada Fakultas Perikanan  
Universitas Brawijaya

OLEH :

**FIRDIANSYAH**  
**NIM. 0410852011**

Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Maftuch, MSi)  
Tanggal :

Dosen Penguji II

(Ir. M. Rasyid Fadholi, MSi)  
Tanggal :

**Menyetujui,**  
Dosen Pembimbing I

( Ir. Sri Andayani, MS)  
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Ir. M. Fadjar, MSc)  
Tanggal :

**Mengetahui,**  
Ketua Jurusan

( Ir. Maheno Sri Widodo, MS)  
Tanggal :

## KATA PENGANTAR

Segala Puji kepada Allah SWT yang Maha Pengasih dan Penyayang, atas rahmat yang dianugerahkan, sehingga penulisan skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Laporan ini sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang.

Atas terselesaikannya penulisan skripsi ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Emak dan Bapak tersayang, Kakak, adik dan semua keponakanku tercinta, yang selalu mencurahkan segala perasaan cinta dan kasih sayangnya dalam membimbing ananda untuk terus menjadi manusia yang senantiasa berbuat kebaikan. ... Terima kasih atas doanya.
2. Ir. Sri Andayani M.S sebagai dosen pembimbing I
3. Ir. M. Fadjar M.Sc sebagai dosen pembimbing II
4. Dr. Ir. Maftuch, MSi sebagai dosen penguji I
5. Ir. M. Rasyid Fadholi, MSi sebagai dosen penguji II

Atas segala petunjuk, bimbingan dan sarannya sejak penyusunan usulan penelitian, penyusunan laporan skripsi sampai dengan selesainya ujian skripsi ini.

6. Ir. Slamet Soebjakto, M.Si sebagai Kepala Balai Budidaya Air Payau Situbondo yang telah memberikan izin untuk melaksanakan penelitian.
7. Ir. Yani Lestari Nur'aini selaku Ketua Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan BBAP Situbondo, beserta staf yang telah memberikan bantuan fasilitas selama penelitian.
8. Ketua Laboratorium Patologi Anatomi RSSA Malang, dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang, beserta staf yang telah memberikan bantuan fasilitas selama penelitian.
9. Seluruh teman-teman seperjuangan ; "*gadis pecaron*", anak-anak ALJ, semua program studi khususnya BP, terima kasih dan tetap semangat
10. Teruntuk ikhwan dan akhwat Alief Foundation yang senantiasa mencintai Allah dan Dicintai oleh\_Nya. Yang senantiasa merindukan pertemuan dengan Allah dan Allah pun Merindukan pertemuannya. Yang senantiasa berjihad dan rela syahid di jalanNya... Terima kasih atas doanya.

Akhirnya saya berharap laporan ini dapat bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi semua pihak yang membutuhkan terutama kajian tentang histologi.

Malang, Juni 2007

**Penulis**

## RINGKASAN

**FIRDIANSYAH.** Skripsi tentang pengaruh pemberian alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) melalui pakan terhadap perubahan histopatologi hati dan ginjal kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang terinfeksi bakteri *Vibrio harveyi* Di bawah bimbingan **Ir. SRI ANDAYANI, MS** dan **Ir. M. FADJAR, MSc.**

Kerapu merupakan komoditas perikanan yang bernilai ekonomi tinggi dengan permintaan pasar yang terus meningkat, baik untuk pasaran dalam maupun luar negeri. Salah satu kendala penting budidaya ikan kerapu selama ini adalah keterbatasan penyediaan benih karena infeksi patogen. Sedangkan infeksi oleh bakteri merupakan penyebab yang terbanyak. Penelitian terakhir ternyata bakteri *Vibrio* spp. pada ikan kerapu budidaya dapat menyebabkan kematian ikan sampai dengan 100 % (Murdjani, 2002; Kamiso, 2004).

Pengendalian hama dan penyakit ikan selama ini bertumpu pada penggunaan obat-obatan termasuk antibiotik dan disinfektan yang secara terus-menerus akan menimbulkan patogen yang resisten, penimbunan residu obat-obatan di dalam tubuh ikan, menurunkan daya tahan, pencemaran lingkungan bahkan dapat menjadi sebab penolakan ekspor. Oleh karena itu perlu ditemukan bahan pengendali alternatif. Salah satu bahan pengendali yang tidak merusak lingkungan dalam meningkatkan kekebalan adalah immunostimulan.

Immunostimulan dapat memanfaatkan ekstrak tumbuhan atau hewan tertentu. Bahan aktif alkaloid ubur-ubur menunjukkan dapat menghambat perkembangan bakteri. Untuk itu diperlukan upaya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh penggunaan bahan aktif alkaloid dari ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) terhadap infeksi *V. harveyi* pada benih ikan kerapu macan.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama dan Penyakit BBAP Situbondo, Laboratorium Patologi Anatomi RSSA Malang, dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang pada bulan Januari sampai Maret 2007.

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian immunostimulan bahan aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) dengan dosis yang berbeda terhadap gambaran histopatologi hati dan ginjal ikan kerapu macan.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif dan teknik pengambilan data dengan cara observasi atau pengamatan secara langsung. Perlakuan yang digunakan terdiri dari 4 (empat) perlakuan dan 1 (satu) kontrol dengan 2 (dua) kali ulangan, penempatan dilakukan secara acak (random). Sebagai perlakuan adalah perbedaan pada dosis alkaloid ubur-ubur; 0,5, 0,75, 1, 1,25 g/kg pakan dan kontrol tanpa alkaloid.

Pelaksanaan penelitian ini dengan pemeliharaan ikan selama 28 hari, uji tantang dilakukan melalui perendaman ikan pada media dengan kepadatan bakteri  $10^5$  CFU/ml selama 5 hari, kemudian dilakukan reisolasi dengan penggantian air yang baru dan pemberian pakan kontrol. Parameter yang diamati adalah histologi yaitu pengamatan jaringan hati dan ginjal sebelum ikan mengalami perlakuan dan setelah ikan diinfeksi bakteri *V. harveyi* selain itu dilakukan pengamatan gejala patologi klinik.

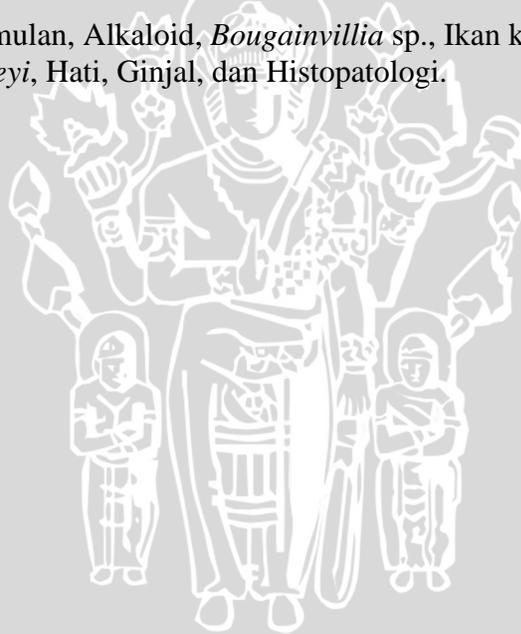
Hasil penelitian menunjukkan bahwa Pemberian immunostimulan alkaloid ubur-ubur dapat mempengaruhi perbedaan tingkat kerusakan histopatologi hati dan ginjal ikan kerapu macan. Pada perlakuan K (kontrol) tanpa alkaloid, sel-sel hati mengalami kerusakan antara lain nekrosis pada sel-sel hati dan *hemorrhagic* sedangkan pada struktur ginjal ditemukan adanya pembengkakan sel (*cloudy swelling*) epitel pembatas tubulus renalis serta nekrosis pada kapsul bowman.

Pemberian immunostimulan perlakuan B pada dosis alkaloid 0,75 gr/kg pakan, dan perlakuan C pada dosis alkaloid 1 gr/kg pakan tidak ditemukan adanya kerusakan pada sel-sel hati dan struktur ginjal.

Pemberian immunostimulan perlakuan D pada dosis alkaloid 1,25 gr/kg pakan pada sel-sel hati mengalami peradangan (*inflamasi*) dan kolonisasi bakteri pada sinusoida sedangkan pada struktur ginjal tidak ditemukan adanya kerusakan akibat serangan patogen.

Pada Pemberian immunostimulan perlakuan A pada dosis alkaloid 0,5 gr/kg pakan, menunjukkan sel-sel hati mengalami perubahan berupa peradangan (*inflamasi*) dan *cloudy swelling*, sedangkan struktur ginjal juga mengalami pembengkakan sel (*cloudy swelling*) epitel pembatas tubulus renalis.

Kata kunci : Immunostimulan, Alkaloid, *Bougainvillia* sp., Ikan kerapu macan, *Vibrio harveyi*, Hati, Ginjal, dan Histopatologi.



**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xi</b>
<b>1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Kegunaan Penelitian .....	5
1.5 Hipotesis .....	6
1.6 Tempat dan Waktu .....	6
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Klasifikasi dan Biologi Ikan Kerapu Macan .....	7
2.1.1 Klasifikasi Kerapu Macan .....	7
2.1.2 Biologi .....	7
a. Morfologi Kerapu Macan .....	7
b. Penyebarab dan Habitat .....	9
2.1.3 Kualitas Air untuk Ikan Kerapu Macan .....	9
1. OksigenTerlarut ... ..	9
2. Derajat Keasaman .....	9
3. Salinitas.....	10
4. Suhu .....	10
5. Amonia.....	10
2.2. Klasifikasi dan Biologi <i>Vibrio harveyi</i> .....	11
2.2.1 Klasifikasi <i>Vibrio harveyi</i> .....	11
2.2.2 Biologi .....	11
a. Morfologi .....	11
b. Metabolisme dan Pertumbuhan .....	12

c. Habitat dan Daerah Penyebaran .....	12
2.2.3 Tingkat Patogenisitas .....	12
2.3 Ubur-Ubur ( <i>Bougainvillia</i> sp.) .....	15
2.3.1 Klasifikasi .....	15
2.3.2 Biologi .....	16
a. Morfologi .....	16
b. Habitat dan Penyebaran .....	17
c. Reproduksi .....	18
2.4 Bahan Aktif Alkaloid Dari Ubur-Ubur ( <i>Bougainvillia</i> sp.) .....	19
2.5 Immunostimulan .....	21
2.6 Hati .....	24
2.6.1 Struktur .....	24
2.6.2 Fungsi .....	25
2.6.3 Perubahan Patologi dalam Hati .....	27
2.7 Ginjal .....	28
2.7.1 Struktur .....	28
2.7.2 Fungsi .....	30
2.7.3 Perubahan Patologi dalam Ginjal .....	31
2.8 Histologi .....	35
<b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN .....</b>	<b>40</b>
3.1 Materi Penelitian .....	40
3.1.1 Bahan Penelitaian .....	40
3.1.2 Alat Penelitian .....	41
3.2 Metode Penelitian .....	42
3.3 Prosedur Penelitian dan Pelaksanaan Penelitian .....	44
3.3.1 Prosedur Penelitian .....	44
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian .....	45
1. Persiapan Alat dan Bahan .....	45
2. Sterilisasi Alat dan Bahan .....	45
3. Persiapan Benih Uji .....	46
4. Pembuatan Media TCBSA, NB dan NA .....	47
5. Pembuatan Biakan Bakteri <i>V. harveyi</i> untuk Penginfeksi .....	47
6. Reinfeksi dan Reisolasi .....	48
7. Proses Penginfeksi .....	49
8. Pembuatan Preparat Histologi dan Histopatologi .....	49
3.4 Parameter Uji .....	50
3.5 Analisa Data .....	50

**4. HASIL DAN PEMBAHASAN ..... 51**

4.1 Gambaran Histologi dan Histopatologi Hati ..... 51

4.1.1 Gambaran Histologi Hati Ikan Sehat ..... 51

4.1.2 Gambaran Histopatologi Hati Ikan Kontrol dan Perlakuan ..... 52

4.1.3 Jumlah Sel-sel Fagosit ..... 56

4.2 Gambaran Histologi dan Histopatologi Ginjal ..... 59

4.2.1 Gambaran Histotologi Ginjal Ikan Sehat ..... 59

4.2.2 Gambaran Histopatologi Ginjal Ikan Kontrol dan Perlakuan ..... 60

4.2.3 Persentase Aktifitas Fagositosis Makrofag ..... 64

4.3 Gejala Klinik Ikan Kerapu Macan Setelah Diinfeksi *Vibrio harveyi*. ..... 66

4.4 Kualitas Air Ikan Kerapu macan ..... 68

**5. KESIMPULAN DAN SARAN ..... 71**

5.1 Kesimpulan..... 71

5.2 Saran..... 72

**DAFTAR PUSTAKA ..... 73**

**LAMPIRAN..... 81**



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ikan kerapu merupakan komoditas perikanan yang bernilai ekonomi tinggi. Kerapu dipasarkan sebagai ikan konsumsi maupun ikan hias dengan permintaan pasar yang terus meningkat, baik untuk pasaran dalam maupun luar negeri (Murdjani, 2002). Permintaan pasar terhadap ikan kerapu tergolong tinggi terutama dari negara Jepang, Cina, dan Korea Selatan. Harga jual eceran ikan kerapu macan hidup di Hongkong pada tahun 2002 bisa mencapai US\$ 42,9 (Sugama, 2003). Sedangkan harga kerapu macan di tingkat pembudidaya antara Rp 80.000 hingga Rp 100.000/kg (Sutarmat *et al.*, 2003).

Salah satu kendala penting budidaya ikan kerapu selama ini adalah keterbatasan penyediaan benih karena infeksi patogen yang dapat berupa virus, bakteri, parasit dan jamur (Lavilla-Pitago, 2001; Kamiso, 2004 *dalam* Maftuch 2006). Sedangkan infeksi oleh bakteri merupakan penyebab yang terbanyak. Penelitian terakhir ternyata bakteri *Vibrio* spp. pada ikan kerapu budidaya dapat menyebabkan kematian ikan sampai dengan 100 % (Murdjani, 2002; Kamiso, 2004).

Infeksi bakteri patogen *Vibrio* juga diduga sebagai penyebab rendahnya laju sintasan pada pembenihan ikan kerapu, yaitu berkisar antara 1,2 – 2,9% (anonim, 1999; Yuasa *et al.*, 2000). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Nuchsin dan Ariani (2003), diperoleh salah satu bakteri patogen yang berhasil diisolasi adalah *V. harveyi* dari kolam budidaya ikan kerapu di Balai Besar Riset Perikanan Laut, Gondol, Bali.

Penanggulangan infeksi *Vibrio* pada ikan kerapu di Indonesia hingga saat ini masih terbatas pada penggunaan antibiotik dan bahan kimia lainnya, yaitu Oksitetrasiklin, Kloramfenikol, Prefuran, Malachite green, Nitrofurazon, Sulphonamide,

Neomycin sulphate dan Acriflavine (Diani, 1996). Tetapi penggunaan obat-obatan secara terus-menerus akan menimbulkan efek samping dan beberapa kelemahan, yaitu timbulnya patogen yang resisten, penimbunan residu obat-obatan di dalam tubuh ikan, menurunkan daya tahan, maupun pencemaran lingkungan yang akhirnya dapat mempengaruhi organisme perairan yang berguna (Kordi, 2004). Oleh karena itu perlu ditemukan bahan pengendali alternatif yang tidak merusak lingkungan perairan.

Bahan pengendali yang tidak merusak lingkungan perairan dan sering digunakan dibidang perikanan adalah immunostimulan, vaksin, probiotik dan bahan aktif lainnya (Austin, 2004; Ellis, 1988; Kamiso, 2004). Sehubungan dengan adanya penemuan baru di bidang farmakologi kelautan saat ini, bahwa perlakuan immunostimulan pada ikan dapat juga memanfaatkan ekstrak tumbuhan atau hewan tertentu (Kamiso, 2004). Penelitian ini mengambil immunostimulan dari bahan aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) yang akan meningkatkan kekebalan seluler yang bersifat non spesifik yang dapat menghambat serangan bakteri maupun virus (Fegan and Clifford, 2001 dalam Kamiso, 2004).

Salah satu hasil penelitian menunjukkan bahwa ubur-ubur memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri, lebih lanjut dijelaskan oleh Yahya *et al.*, (2000), menunjukkan bahwa ubur- ubur dapat menghambat perkembangan bakteri *V. harveyi*. Jenis ubur-ubur beraneka ragam diantaranya adalah *Bougainvillia* sp. dari kelas Hydrozoa. Menurut Muliani *et al.*, (1998) dalam Fadjar *et al.*, (2003), hydrozoa merupakan salah satu biota laut yang tergolong ubur-ubur termasuk phylum Coelenterata, mempunyai senyawa bioaktif alkaloid yang menunjukkan aktifitas kuat terhadap bakteri pada ikan dan udang.

Penelitian jenis hydrozoa khususnya *Bougainvillia* sp. sangat jarang dilakukan, padahal di perairan sangat banyak keberadaannya. Untuk itu diperlukan upaya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh penggunaan bahan aktif alkaloid dari ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) yang dicampurkan dalam pakan bentuk pellet dengan dosis berbeda terhadap infeksi *V. harveyi* pada benih ikan kerapu macan.

Salah satu cara untuk mengetahui patogenitas penyakit adalah dengan mengamati kondisi jaringan tubuh inang yang terserang penyakit, yakni dengan cara mengamati perubahan-perubahan yang terjadi baik pada sel atau jaringan tersebut. Penggunaan perubahan histologi pada diagnosa tersebut dikenal dengan istilah diagnosa secara histopatologi (Hibiya, 1982).

Hal yang perlu diketahui dalam histopatologi ini adalah mengenali terlebih dahulu organ-organ apa yang biasanya terinfeksi oleh penyakit ikan. Selain itu juga harus mengetahui struktur jaringan yang normal, jaringan yang biasa menjadi target infeksi penyakit ikan antara lain : insang, kulit, daging, hati, limfa, ginjal, gelembung renang, empedu, mata dan otak (Nursanto, 2005).

Diagnosa dengan pengamatan preparat jaringan dapat memberikan informasi tingkat serangan patogen pada berbagai jaringan tubuh sekaligus untuk mengevaluasi status kesehatan organisme. Pengamatan preparat jaringan ini sangatlah penting karena dapat menjadi bukti apakah organisme tersebut terserang bakteri, dengan menunjukkan perubahan-perubahan yang terjadi yang diakibatkan oleh infeksi dari bakteri patogen (Murchelano dan MacLean, 1990).

## 1.2 Perumusan Masalah

Penyakit pada ikan budidaya laut, termasuk kerapu, dapat digolongkan menjadi dua macam yaitu penyakit infeksius dan non infeksius (Kurniastuty *et al.*, 2004). Pengendalian hama dan penyakit ikan selama ini bertumpu pada penggunaan obat-obatan termasuk antibiotik dan disinfektan.

Menurut Purbomartono (2004), penggunaan obat-obatan serta antibiotik ternyata kurang efektif untuk memberantas berbagai penyakit serta dapat memberikan pengaruh sampingan yang merugikan. Tindakan preventif merupakan langkah penanggulangan penyakit yang lebih efektif dibandingkan dengan pengobatan. Bahan pengendali yang tidak merusak lingkungan perairan dan sering digunakan dibidang perikanan adalah immunostimulan, vaksin, probiotik dan bahan aktif lainnya (Austin, 2004; Ellis, 1988; Kamiso, 2004).

Menurut Johnny *et al.*, (2001), immunostimulan belakangan ini banyak digunakan orang dalam mencegah terjadinya penyakit. Immunostimulan memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode lain karena immunostimulan mempunyai kemampuan meningkatkan ketahanan non spesifik hewan akuatik.

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Fadjar *et al.*, (2003), Awiningsih (2004), dan Heramawati (2005), menyatakan bahwa ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) memiliki bahan aktif alkaloid yang mampu menghambat perkembangan bakteri, oleh karena itu dilakukan upaya pengamatan lebih lanjut untuk mengetahui efektifitas dan efisiensi bahan aktif alkaloid pada benih ikan kerapu macan yang diinfeksi oleh bakteri *V. harveyi* yaitu melalui pengamatan preparat histologi dan histopatologi.

Menurut Murchelano dan MacLean (1990), diagnosa dengan pengamatan preparat jaringan dapat memberikan informasi tingkat serangan patogen pada berbagai jaringan tubuh sekaligus untuk mengevaluasi status kesehatan organisme. Pengamatan preparat jaringan ini sangatlah penting karena dapat menjadi bukti apakah organisme tersebut terserang bakteri atau virus atau patogen lain karena dengan preparat histologi ini dapat menunjukkan perubahan-perubahan yang terjadi yang diakibatkan oleh infeksi dari patogen.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian immunostimulan alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) pada dosis yang berbeda terhadap gambaran histopatologi hati dan ginjal ikan kerapu macan ikan yang diinfeksi *V. harveyi*.

### 1.4 Kegunaan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai gambaran histologi dan histopatologi ikan kerapu macan yang normal dengan yang telah diuji tantang *V. harveyi*.

## 1.5 Hipotesis

H0 : Diduga bahwa pemberian alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) pada dosis yang berbeda dalam pakan tidak berpengaruh terhadap perubahan gambaran histopatologi ikan yang diinfeksi *V. harveyi*.

H1 : Diduga bahwa pemberian alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) pada dosis yang berbeda dalam pakan berpengaruh terhadap perubahan gambaran histopatologi ikan yang diinfeksi *V. harveyi*.

## 1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama dan Penyakit BBAP Situbondo, Laboratorium Patologi Anatomi RSSA, Malang; dan Laboratorium Terpadu, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah, Malang; pada bulan Januari sampai Maret 2007.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Klasifikasi dan Biologi Ikan Kerapu Macan

Dalam bahasa Inggris kerapu macan juga disebut *brown marbled grouper*, *carpet cod* dan *blotchy rock cod*. Budidaya ikan ini sangat potensial dan telah dibudidayakan secara luas di Asia Tenggara (Sutarmat *et al.*, 2003).

#### 2.1.1 Klasifikasi Kerapu Macan

Menurut Saanin (1987) kerapu macan mempunyai klasifikasi sebagai berikut:

Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Class	: Osteichthyes
Sub class	: Actinopterygi
Ordo	: Perchomorphi
Sub ordo	: Percoidea
Family	: Serranidae
Genus	: <i>Epinephelus</i>
Species	: <i>Epinephelus fuscoguttatus</i>



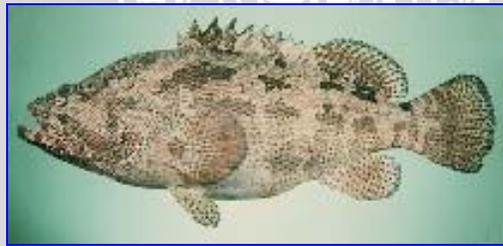
#### 2.1.2 Biologi

##### a. Morfologi Kerapu Macan

Menurut identifikasi oleh Weber dan Beaufort pada tahun 1931 kerapu macan mempunyai bentuk badan yang memanjang gepeng (*compressed*) atau agak membulat, mulut lebar serong ke atas dengan bibir bawah menonjol ke atas. Rahang bawah dan

atas dilengkapi dengan gig-gigi geratan berderet dua baris, lancip, dan kuat serta ujung luar bagian depan adalah gigi-gigi yang terbesar. Sirip ekor umumnya membulat (*rounded*), sirip punggung memanjang dimana bagian jari-jarinya yang keras berjumlah kurang lebih sama dengan jari-jari lunaknya, jari-jari sirip yang keras berjumlah 6-8 buah, sedangkan sirip dubur berjumlah 3 buah, jari-jari sirip ekor berjumlah 15 – 17 dan bercabang dengan jumlah 13 – 15. Warna dasar sawo matang, perut bagian bawah agak keputihan dan pada badannya terdapat titik berwarna merah kecoklatan serta tampak pula 4 – 6 baris warna gelap yang melintang hingga ke ekornya. Badan ditutupi oleh sisik kecil, mengkilat, dan memiliki ciri-ciri loreng (Antoro *et al.*, 1998).

Kerapu macan memiliki sifat hermaphrodit protogini (*protogynous hermaphrodite*) yang berarti setelah mencapai ukuran tertentu akan berganti kelamin (*change sex*) dari betina dewasa menjadi jantan. Transformasi dari betina menjadi jantan ini terjadi secara alami dan memerlukan waktu yang cukup lama. Namun, terjadinya peralihan kelamin ini dapat dipercepat dengan bantuan *methyl testoteron* secara oral (Ghufron dan Kordi, 2001). Gambar kerapu macan ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fucoguttatus*)  
<http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.cfm?id=4460>

## **b. Penyebaran dan Habitat**

Di Indonesia kerapu banyak ditemukan di perairan Sumatera, Jawa, Sulawesi, Pulau Buru, dan Ambon. Dalam siklus hidupnya kerapu muda hidup di perairan karang pantai dengan kedalaman 0,5 – 3 m, setelah menginjak dewasa beruaya ke perairan yang lebih dalam antara 40 – 60 m, dan biasanya ruaya ini terjadi pada siang dan senja hari. Telur dan larva bersifat pelagis sedangkan kerapu muda hingga dewasa bersifat demersal (Sukardi, 2003). Habitat favorit larva dan kerapu macan muda adalah perairan pantai dekat muara sungai dengan dasar pasir berkarang yang banyak ditumbuhi padang lamun (Antoro *et al.*, 1998).

### **2.1.3 Kualitas Air Untuk Ikan Kerapu Macan**

#### **1. Oksigen Terlarut**

Kelarutan oksigen ( $O_2$ ), merupakan faktor lingkungan yang terpenting bagi pertumbuhan ikan kerapu di tambak. Kandungan oksigen yang rendah dapat menyebabkan ikan kehilangan nafsu makan, sehingga mudah terserang penyakit dan pertumbuhannya terhambat. Menurut Ghufron dan Kordi (2001), bagi pembesaran ikan kerapu di tambak, jumlah oksigen terlarut optimal tidak boleh kurang dari 4 ppm. Menurut Antoro *et al.*, (2004), untuk pertumbuhan ikan kerapu kandungan oksigen terlarut lebih besar dari 3,5 ppm.

#### **2. Derajat Keasaman (pH)**

Ikan kerapu biasa hidup diperairan karang dengan pH 7,6 – 8,7 (Anonymous, 1994). Menurut Ghufron dan Kordi (2001), menyebutkan untuk budidaya ikan kerapu,

paling baik dilakukan di perairan dengan pH 7,6 – 8,9, yang merupakan kisaran umum pH air laut.

### 3. Salinitas

Salinitas (kadar garam) merupakan konsentrasi garam dalam air laut. Salinitas ini berpengaruh terhadap tekanan osmotik sel tubuh. Ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) umumnya menyukai salinitas 30 – 35 ppt (Ghufro dan Kordi, 2001).

Menurut Antoro *et al.*, (2004), cocok untuk pertumbuhan ikan kerapu salinitas antara 30 – 33 ppt.

### 4. Suhu

Suhu yang paling optimal untuk ikan kerapu adalah 27 – 32 °C (Ghufro dan Kordi, 2001). Menurut Antoro *et al.*, (2004), cocok untuk pertumbuhan ikan kerapu yaitu temperatur antara 24 – 31 °C.

### 5. Amonia

Diperairan umum produksi amonia biasanya berasal dari proses pembusukan protein hewani dan nabati, yang disebabkan oleh mikroba. Ditempat pemeliharaan ikan yang intensif seperti hatchery dan pendederan, amonia bisa berasal dari kotoran ikan atau sisa pakan. Kadar amonia dalam air sebaiknya kurang dari 1,5 mg/l, sedangkan di daerah tropis sebaiknya kurang dari 1,0 mg/l (Sudjiharno dan Winanto, 1998).

Amonia yang teroksidasi sangat berbahaya bagi kehidupan ikan, terutama akan menghambat daya serap terhadap O<sub>2</sub>, akibatnya ikan menjadi lemas dan mati. Amonia juga berpengaruh terhadap aktivitas metabolisme sehingga nafsu makan ikan menurun (Sudjiharno dan Winanto, 1998).

## 2.2 Klasifikasi dan Biologi *Vibrio harveyi*

### 2.2.1 Klasifikasi *Vibrio harveyi*

Menurut Bergey (1962) edisi ke-7 dalam Dwidjoseputro (1998), klasifikasi dari *V. harveyi* adalah sebagai berikut :

Phyllum	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Sub Ordo	: Pseudomonadineae
Famili	: Spirillaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Species	: <i>Vibrio harveyi</i>

### 2.2.2 Biologi

#### a). Morfologi

*Vibrio* dalam mikrofauna yang umumnya berada pada lingkungan laut estuaria. Secara bakteriologi berbentuk batang bengkok dengan ukuran lebar 0,5 – 0,8  $\mu$  dan dengan panjang 1,4 – 2,6  $\mu$ . Sebagian besar bakteri *vibrio* berenang aktif dan gerakannya disebabkan oleh gerakan rotasi flagel (Schlagel dan Schmidt, 1994).

Bakteri *V. harveyi* tergolong dalam famili *Vibrionaceae*, yang mempunyai tubuh berbentuk batang dan mempunyai kemampuan untuk bergerak karena dilengkapi dengan flagel (Kordi, 2004). Selain berbentuk batang sifatnya kaku dan termasuk kedalam gram negatif, berbentuk lurus atau bengkok, bersifat oksidasi positif, dan fakultatif anaerob (Bonang dan Koeswardono, 1982). Bakteri *Vibrio* ini mempunyai ukuran dengan lebar

sebesar 0,5-0,8  $\mu\text{m}$  dan panjang 1,4-2,6  $\mu\text{m}$  mempunyai flagel dengan jumlah satu atau banyak pada salah satu sisi dinding membran sel (Bergey's, 2000).

#### **b). Metabolisme dan Pertumbuhan**

Bakteri *V. harveyi* bersifat anerobik fakultatif, dimana metabolisme dapat dilakukan dengan oksigen atau tanpa oksigen (fermentasi). Selain itu bakteri ini dapat tumbuh dengan baik pada media mineral yang mengandung ammonium, karbon sederhana dan glutamat (Holt, 1979).

Bakteri *V. harveyi* dapat menggunakan komponen organik sebagai sumber karbon dan energi karena mampu menghasilkan enzim *protease*, *lipase* dan *chitinase* sehingga termasuk dalam bakteri *kemoorganotropik*, yaitu mikroba yang dapat menggunakan komponen organik sebagai sumber karbon dan energi (Dwijoseputro, 1989). Menurut Rukyani *et al.*, (1992), bahwa *V. harveyi* Memiliki enzim *katalase*, motilitas positif dan mampu menghasilkan enzim *oksidase* yang bersifat fermentatif.

Faktor yang mempengaruhi aktivitas dan pertumbuhan bakteri *Vibrio* adalah faktor abiotik. Faktor ini meliputi faktor fisik, seperti suhu, osmose, cahaya dan radiasi, juga faktor kimia, yang mencakup pH, salinitas, bahan organik, dan zat-zat kimia (Panjaitan, 1991). Lebih lanjut dikatakan bahwa, *V. harveyi* adalah jenis bakteri yang mampu menghasilkan suatu produk biologi yang mempunyai berat molekul relatif tinggi, dimana produk tersebut bersifat stabil (sulit terurai) dan bersifat racun. Menurut Bauman *et al.*, (1984), bahwa pada umumnya *V. harveyi* dapat tumbuh secara optimal pada suhu 30° C, salinitas optimum 20 – 30 ppt dan pH optimum berkisar 7,5 – 8,5.

Bakteri *V. harveyi* termasuk bakteri kemoorganotropik dan tumbuh dalam medium mineral yang mengandung D-Glukosa dan  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (Bauman *et al.*, 1984). Menurut Dwidjoseputro (1989), bahwa medium yang paling cocok untuk kehidupan bakteri ini adalah medium yang isotonis terhadap isi sel bakteri.

### c). Habitat dan Daerah Penyebaran

Bakteri *V. harveyi* termasuk jenis bakteri halofil, yaitu bakteri yang dapat hidup pada salinitas tinggi. Dapat ditemukan di habitat-habitat aquatik dengan kisaran salinitas yang luas, sangat umum pada lingkungan estuarin dan laut serta terdapat pada permukaan intestinal hewan laut. Beberapa spesies ditemukan di habitat air tawar (Bauman, *et. al.*, 1984).

Medium yang paling cocok bagi kehidupan bakteri adalah medium yang isotonis terhadap sel bakteri. Jika bakteri ditempatkan di dalam suatu larutan yang hipertonik terhadap isi sel, maka bakteri akan mengalami plasmolisis. Jika bakteri ditempatkan dalam larutan yang hipotonik terhadap isi sel, maka air cenderung masuk ke dalam sel sehingga sel membengkak dan akhirnya pecah (Dwidjoseputro, 1984).

### 2.2.3 Tingkat Patogenitas

Menurut Murdjani (2002), penyakit *Vibriosis* mula-mula ditemukan oleh Canesterini pada tahun 1983 di Italia, dan saat ini *vibriosis* merupakan penyakit yang umum dijumpai dan merupakan masalah yang serius diseluruh usaha budidaya ikan di laut dan air payau di dunia (Wolke, 1975; Kitao *et al.*, 1983; Yong and Seng, 1990; Chen *et al.*, 1992; Larkins, 1993; Lupiani *et al.*, 1993). Menurut Evelyn (1994), ada sekitar 20 spesies *Vibrio* yang menyerang ikan, udang dan beberapa hewan laut serta payau. Berdasarkan hasil penelitian Tompo dan Susianingsih (2004), ditemukan

sebanyak 15 spesies bakteri *Vibrio* baik pada air maupun pada tanah tambak yaitu : *V. alginolyticus*, *V. campbelhi*, *V. cholerae*, *V. Fishery*, *V. harveyi*, *V. marinus*, *V. mimicus*, *V. metschnikovii*, *V. natriegen*, *V. ordalli*, *V. parahaemolyticus*, *V. splendidus*, *V. tubuashi* dan *V. leiognathi*.

Bakteri *Vibrio* sp. bersifat oportunistik dan merupakan bakteri yang sangat ganas dan berbahaya pada budidaya air payau dan laut karena dapat bertindak sebagai patogen primer dan sekunder. Sebagai patogen primer bakteri masuk ke dalam tubuh ikan melalui kontak langsung, sedangkan sebagai patogen sekunder bakteri menginfeksi ikan yang telah terserang penyakit lain misalnya parasit (Murdjani, 2002). Tingkat kematian oleh serangan *Vibrio* berbeda-beda tergantung jenis, ukuran dan kepadatan ikan, kualitas air dan faktor virulen yang dimiliki. Faktor virulen pada *Vibrio* terutama adalah plasmid (Nur'aini, 2004).

Perbedaan jenis plasmid yang dimiliki akan membedakan tingkat keganasan (Crosa *et al.*, 1983). Kamiso (1986), menemukan bahwa tingkat perbedaan tingkat keganasan juga disebabkan karena perbedaan target organ dan kemampuan berkembang ditarget organ. Semakin banyak organ vital yang diserang, semakin tinggi suhu air diatas optimal dan semakin kecil ukuran ikan akan semakin tinggi tingkat kematiannya.

Gejala yang ditimbulkan oleh penyakit *Vibriosis* tergantung tingkat serangan, dibedakan menjadi kronis dan akut. Beberapa gejala yang terlihat adalah punggung kehitam-hitaman, bercak merah pada pangkal sirip, sisik tegak, bergerak lamban, keseimbangan terganggu, dan nafsu makan berkurang.

Gejala lain yang sering terjadi adalah mata menonjol (*Exophthalmia*), perut kembung berisi cairan kuning muda, pendarahan (*hemorrhagic*) pada insang, mulut,

tubuh, usus, dan organ dalam. Kamiso (1995) mengemukakan bahwa apabila sampai fase ini ikan belum mati maka gejala penyakit akan berkembang seperti kulit mengelupas, koreng atau nekrosis pada beberapa bagian tubuh dan dapat pula terbentuk borok (*ulcer*).

Menurut Ransom (1978), tanda-tanda lain adalah jumlah leukosit akan menurun, bakteri banyak terdapat dalam darah (*septicemia*). Ikan mati diduga karena adanya toksin, kehilangan cairan pada saluran pencernaan bagian belakang, dan tidak berfungsinya berbagai organ.

### 2.3 Ubur-Ubur (*Bougainvillia* sp.)

#### 2.3.1 Klasifikasi

Menurut Haeckel (1879) dalam Arifin (2003), klasifikasi dari *Bougainvillia* sp. adalah sebagai berikut :



Phyllum	: Coelenterata
Sub phyllum	: Cnidaria
Class	: Hydrozoa
Ordo	: Filifera
Sub ordo	: Hydrida
Family	: Bougainvilliidae
Genus	: <i>Bougainvillia</i>
Species	: <i>Bougainvillia</i> sp.

## 2.3.2 Biologi

### a. Morfologi

Bentuk ubur-ubur hampir seperti lonceng atau payung dimana bagian atas disebut *exumbrella* dan bagian bawah disebut *subumbrella*, tentakel menggantung ditepi velum dan berjumlah 4-16, tentakel ini kaya akan *nematocyst* yang merupakan racun pada ubur-ubur (Wijarni dan Arfiati, 1984).

Menurut Ramimohtarto dan Juwana (2005), sebagian besar badan Hydrozoa sangat halus, berenda, berbentuk seperti belukar yang melekat pada dasar laut dan sering dikira alga. Hickman (1970), tubuh Hydrozoa dapat mencapai panjang 0,5 – 6 cm atau berupa jelly yang tipis, memiliki *tube silinder*, pada tubuhnya juga terdapat *pedal disk* yang berfungsi sebagai senjata, pedal ini dilengkapi dengan jaringan sel yang memungkinkan untuk menempel pada substrat dan gelembung untuk mengapung.

Selanjutnya dikatakan oleh Radiopoetro (1991), jaringan epidermis pada polip hydrozoa tersusun atas sel-sel, antara lain :

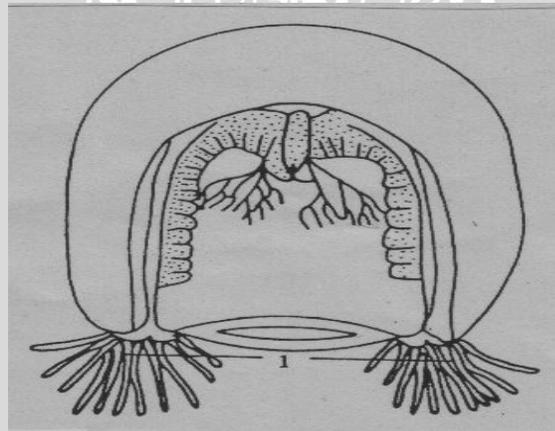
- Sel-sel epitheliomusculair
- Sel-sel sensoris
- Sel-sel saraf
- Sel-sel interstisiil
- Sel-sel kelenjar (*cnidoblast*)

*Cnidoblast* terbentuk dari sel interstisiil pada ujung permukaan tubuh, *cnidoblast* mempunyai lanjutan dari protoplasma yaitu *cnidocil*. Dalam *cnidoblast* terdapat *nematocyst* yang berbentuk gelembung dengan dinding membran yang kuat dan

mengandung cairan beracun yang dapat menyebabkan iritasi. Ada empat macam *nematocyst* dalam kelas hydrozoa yaitu:

- Penetrant, adalah suatu benang yang panjang yang melingkar-lingkar dan pada pangkalnya mempunyai tiga baris duri yang panjang.
- Volvent, adalah benang yang pendek dan tebal.
- Glutinant streptolin, mempunyai benang yang panjang dan mempunyai duri-duri kecil.
- Glutinant streolin, mempunyai benang yang lurus dan tidak berduri.

Morfologi Ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) secara umum dapat dilihat pada Gambar 2 berikut ini :



**Gambar 2.** Morfologi Ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) (Wickstead, 1965)

#### **b. Habitat dan Penyebaran**

Wijarni dan Arfiati (1984), menyebutkan bahwa ubur-ubur merupakan coelenterata yang hidup dekat pantai atau teluk dimana banyak terdapat bahan-bahan organik dan banyak organisme invertebrata kecil sebagai makanan, gelombang dan arus kecil, kecerahan antara 50 – 30 cm.

Menurut Manuputty (1988) dalam Ratnawati (2003), ubur-ubur merupakan coelenterata yang hidup di laut. Hidup soliter atau berkelompok, berenang bebas dengan bantuan kontraksi payungnya yang bekerja seperti pompa, beraturan dan berirama. Beberapa jenis juga bergantung pada ombak, bila keadaan ombak cukup besar mereka cenderung bergerak ke pantai. Ubur-ubur ada yang senang hidup di perairan hangat dan sedang, ada yang senang dekat permukaan atau dalam, serta hidup pada perairan yang dangkal didaerah tropis dan sub tropis. Sehingga secara garis besar ubur-ubur tersebar luas disemua perairan laut.

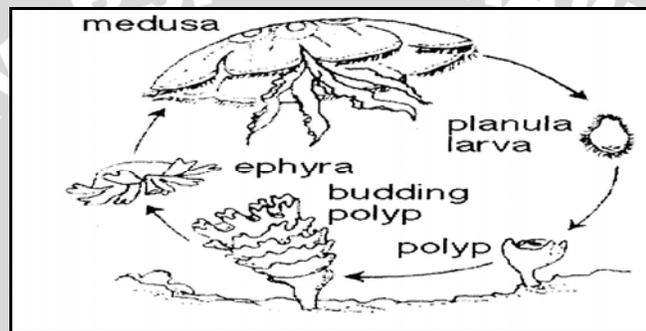
Menurut Rohmimoharto dan Juwana (1999) dalam Fadjar *et all.*, (2003), daerah yang telah diketahui memproduksi ubur-ubur untuk diekspor ialah Probolinggo di Jawa Timur, Cilacap dan Jepara di Jawa Tengah. Tetapi produksi ubur-ubur hanya ada pada waktu musim ubur-ubur dan pada waktu musim tersebut dilakukan pemanenan secara besar-besaran.

### **c. Reproduksi**

Menurut Barnes (1974), reproduksi ubur-ubur secara seksual adalah bentuk dewasa (medusa) dan aseksual adalah bentuk polip. Pada reproduksi seksual, spermatozoa hewan jantan keluar melalui mulut dan berenang menuju hewan betina, selanjutnya melalui mulut hewan betina akan menuju telur yang dihasilkan oleh ovarium. Pembuahan terjadi di dalam tubuh hewan betina. Zygote yang dihasilkan akan keluar melalui mulut dengan bantuan lengan mulut. Selanjutnya terjadi pembelahan sampai terbentuk larva planula yang bersilia dan dapat berenang.

Planula akan berenang beberapa saat, kemudian akan melekat pada dasar perairan yang agak keras. Kemudian silia akan hilang dan dimulai reproduksi aseksual,

yaitu akan membentuk mulut, tentakel dan mulai menangkap makanan dan tumbuh. Kemudian terbentuk polip yang bersusun dan antara yang satu dan yang lainnya mulai memisahkan diri mulai dari polip yang paling atas. Peristiwa ini disebut strobilasi dan medusa yang terbentuk disebut strobila. Tentakel strobila akan memendek dan bentuk ini disebut *ephyra*. *Ephyra* akan berenang bebas dan selanjutnya tumbuh menjadi ubur-ubur dewasa. Siklus hidup ubur-ubur secara umum dapat dilihat pada Gambar 3 berikut ini :



Gambar 3. Daur hidup ubur-ubur (Barnes, 1974)

#### 2.4 Bahan Aktif Alkaloid Dari Ubur-Ubur (*Bougainvillia* sp.)

Sebagian besar bahan aktif yang diekstraksi dari lautan adalah toksin. Sebenarnya toksin adalah molekul yang mempunyai aktifitas fisiologi yang kuat dengan fungsi khusus. Toksin mempunyai potensi untuk digunakan sebagai obat walaupun kadang-kadang tidak dapat digunakan secara langsung sebagai obat. Ekstraksi bahan aktif dari laut sudah banyak dilakukan, sebagai contoh bahan antibiotik, anti cendawan pada jenis monera; anti virus dari protista; antibiotik, faktor perusak dan faktor pertumbuhan dari jenis spons; serta bahan anti koagulan dan neurohormonal dari beberapa jenis coelenterata. Ekstrak alkohol dan etanol dari 2000 spesies organisme laut telah diuji di berbagai negara maju dan golongan tersebut ternyata mengandung senyawa

sitotoksik, antibakteri, antibiotik, antitumor, maupun antikanker diantaranya golongan coelenterata (Angka dan Suhartono, 2000).

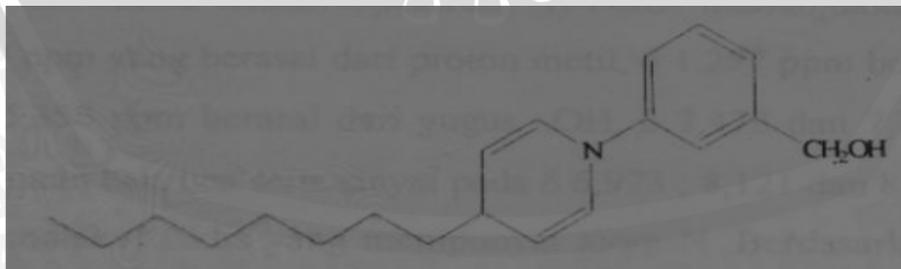
Adapun bahan aktif yang dikandung golongan *Coelentrata* salah satunya adalah alkaloid. Menurut Robinson (1974), alkaloid biasanya tanpa warna, berbentuk kristal, zat organik yang pahit, contohnya seperti kafein, morfina, quinina dan strikhnina, bersifat alkalin dan mengandung nitrogen. Alkaloid dapat ditemukan pada tanaman dan terkadang pada hewan. Alkaloid dapat memiliki efek toksik pada sistem manusia atau hewan. Ditambahkan oleh Harborne (1987), alkaloid sering kali beracun bagi manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan.

Struktur dasar dari alkaloid berdasarkan Fessenden dan Fessenden (1984), terdapat pada Gambar 4 seperti dibawah ini :



Gambar 4. Struktur Dasar Alkaloid

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Farid *et al.*, (2004), stuktur senyawa alkaloid dalam ekstrak kloroform ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) adalah ; *1-benzilalkohol*, *4-oktil piperidin* ditunjukkan pada Gambar 5 sebagai berikut :



*1-benzilalkohol, 4-oktil piperidin*

Gambar 5. Struktur alkaloid pada ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.)

## 2.5 Immunostimulan

Immunostimulan adalah suatu bahan kimia, obat atau stressor yang bekerja dengan cara meningkatkan pertahanan non-spesifik atau respon kekebalan spesifik (Anderson, 1992; Sakai, 1998). Immunostimulan merupakan sekelompok senyawa biologi dan sintesis yang dapat meningkatkan tanggap kebal non-spesifik, sehingga dapat dijadikan alternatif untuk penggunaan vaksin atau antibiotik dalam perlindungan terhadap serangan penyakit. Keistimewaan immunostimulan dibandingkan vaksinasi adalah sifatnya yang tidak spesifik (Johnny dan Roza, 2001).

Secara umum ada 10 kelompok immunostimulan yaitu : (1) produk bakteri, (2) jamur, (3) yeast, (4) ikatan partikel terlarut dengan  $\beta$ -glukan, (5) glycan-polisakarida, (6) chitosan, (7) peptida, (8) ekstrak tumbuhan dan hewan, (9) bahan sintesis, dan (10) cytokines (Almendras, 2001).

Dijelaskan pula bahwa sistem kekebalan non spesifik ini memegang peran yang lebih banyak pada hewan tingkat rendah seperti ikan dan hewan air (Bellanti, 1985). Immunostimulan digunakan untuk meningkatkan daya tahan ikan terutama pertahanan seluler (fagosit, makrofag, sel NK) berperan dalam sistem imun non-spesifik seluler (Baratawidjaja, 2004).

Sistem pertahanan non spesifik berfungsi sebagai barier terdepan pada awal terjadinya infeksi penyakit, yang termasuk dalam sistem pertahanan non spesifik adalah makrofag, sel darah merah dan sel asesories, selain itu juga bahan biokimia dan fisik barier seperti kulit yang mensekresi lisosim dan dapat merusak bakteri (Rantam, 2003). Sedangkan menurut Anderson (1974) menyebutkan yang berperan dalam sistem pertahanan non-spesifik meliputi : lapisan epidermis, mukus, komponen darah yang

mengingesti mikroorganisme yaitu oleh makrofag, dan interferon pelindung host dari spektrum virus yang luas.

Pertemuan pertama antara hospes dengan benda asing (misalkan bakteri) menimbulkan respon yang elemen fagositik ke daerah tempat benda asing tersebut masuk. Hal ini dapat terjadi sebagai suatu kejadian tersendiri atau sebagai bagian dari respon *inflamatoris*.

Tanda awal dari respon imun adalah *inflamasi* yang merupakan reaksi dari tubuh terhadap injuri seperti invasi agen infeksius. Terjadinya proses ini dapat ditandai dengan tiga hal yaitu pertama terjadi peningkatan aliran darah ke daerah infeksi, kedua peningkatan permeabilitas kapiler yang menyebabkan reaksi sel endothel, sehingga terjadi reaksi silang antara molekul besar dan sel endothelial dan ketiga adalah terjadinya migrasi leukosit dan makrofag dari kapiler ke jaringan sekitar (Rantam, 2003).

Lebih lanjut dijelaskan oleh Ward (1993) bahwa *inflamasi* dapat dipandang sebagai satu seri peristiwa kompleks yang berkembang bila tubuh mendapat injuri secara mekanik atau agen kimia atau oleh proses penghancuran diri (autoimun). Inflamasi adalah respon protektif yang sangat diperlukan dalam mana tubuh berupaya untuk mengembalikan ke keadaan sebelum injuri atau untuk memperbaiki diri sendiri sesudah terkena injuri. Dengan demikian respon *inflamatoris* adalah perlindungan yang sangat diperlukan dan merupakan reaksi perbaikan tubuh, karena respon *inflamatoris* ini mencoba untuk mempertahankan *homeostasis* di bawah pengaruh lingkungan yang merugikan.

Respon hospes dengan benda asing selanjutnya adalah *fagositosis*, menurut Bellanti dan Kadlec (1993), sekali bergerak, sel-sel fagositik melakukan serangan pada sasarannya dengan proses yang disebut fagositosis (*cell eating*), suatu upaya multifase yang memerlukan langkah-langkah sebagai berikut : pengenalan (*recognition*) dari benda yang akan dicerna, gerakan kearah objek (*kemotaksis*), perlekatan, penelanan (*ingestion*) dan selanjutnya pencernaan (*digestion*) intraseluler oleh mekanisme-mekanisme antimikroba.

Adapun mekanisme kerja immunostimulan dalam meningkatkan fungsi sel-sel fagositosis tersebut seperti yang diterangkan oleh Jawetz *et al.*, (1982), yaitu apabila immunostimulan masuk ke dalam tubuh maka immunostimulan akan merangsang makrofag untuk memproduksi interleukin yang akan menggiatkan sel limfosit yang kemudian membelah menjadi limfosit T dan limfosit B. Selanjutnya limfosit T akan memproduksi interferon yang mampu menggiatkan kembali makrofag, sehingga dapat memfagosit bakteri, virus, dan partikel asing lainnya yang masuk ke dalam tubuh.

Aplikasi immunostimulan lebih baik jika diberikan pada ikan muda karena sistem kekebalan tubuh non spesifik terus berkembang, hal ini sesuai dengan Mac Arthur dan Fletcher (1985) yang menyebutkan bahwa pada ikan-ikan muda sistem kekebalan non spesifik lebih menonjol karena organ-organ limfoid masih dalam perkembangan sehingga immunostimulan dapat dipergunakan sebagai alternatif pencegahan penyakit pada benih ikan kerapu macan selain vaksinasi.

Aplikasi immunostimulan sudah banyak diterapkan pada beberapa jenis ikan baik melalui pakan, perendaman maupun melalui suntikan. Immunostimulan sudah terbukti efektif meningkatkan ketahanan udang terhadap penyakit (Johnny *et al.* 2001).

Penggunaan immunostimulan pada ikan kerapu sudah dilakukan oleh Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, percobaan dilakukan pada ikan kerapu bebek diantaranya penggunaan immunostimulan dengan dosis 1 % dalam pakan segar ikan lemuru yang dicacah halus ditambahkan vitamin campuran memberikan sintasan sebesar 72 % dibandingkan kontrol sebesar 60 % (Zafran *et al. dalam* Johnny *et al.* 2001) dan penyuntikan immunostimulan dengan dosis 5 mg/kg meningkatkan LA sebesar 2,2 cm dibandingkan kontrol sebesar 1,8 cm (Koesharyani *et al.*, 1999).

## **2.6 Hati**

### **2.6.1 Struktur**

Hati merupakan organ penting yang mensekresikan bahan untuk proses pencernaan. Organ ini umumnya merupakan suatu kelenjar yang kompak, berwarna merah kecoklatan. Posisi hati pada ikan sangat bervariasi, secara umum posisi hati terletak pada rongga bawah tubuh, dibelakang jantung dan disekitar usus depan. Di sekitar hati terdapat organ berbentuk kantung kecil bulat, oval atau memanjang dan berwarna hijau kebiruan, organ ini dinamakan kantung empedu yang fungsinya untuk menampung cairan empedu.

Pada ikan bertulang sejati, hati umumnya berbentuk lobul (bongkahan) yang jumlahnya bervariasi antara jenis yang satu dengan jenis lainnya. Organ hati tersusun oleh sel-sel hati (hepatosit), dan di antara sel-sel tersebut banyak dijumpai kapiler-kapiler darah dengan tipe sinusoid. Saluran darah yang masuk ke organ hati terdiri atas arteri yang berasal dari aorta dorsalis dan vena portal yang berasal dari saluran

pencernaan. Sedangkan saluran darah yang keluar dari organ hati adalah vena hepaticus, vena ini kemudian menuju jantung (Efendi *et al.*, 1992).

Saluran yang bukan saluran darah yang keluar dari organ hati adalah saluran hepatic. Saluran ini berhubungan dengan kantung empedu dan juga dengan usus depan.

Hepatosit atau sel hati merupakan unit terkecil dari organ hati. Pada permukaan sel yang berbatasan dengan kapiler darah dan saluran Bile (Bile Duct) terdapat mikrovilli hal ini menunjukkan bahwa sel hati merupakan sel yang sangat aktif, baik dalam pengambilan nutrient maupun dalam sekresi bahan hasil metabolisme. Seperti halnya pada sel yang lain, organel pada sel hati meliputi antara lain : membran sel, inti, mitokondria, retikulum endoplasmik granula dan badan golgi. Bahan cadangan nutrient yang umum terdapat pada sel hati adalah butiran lemak dan glikogen (Efendi *et al.*, 1992).

### 2.6.2 Fungsi

Secara umum, hati berfungsi dalam metabolisme karbohidrat, metabolisme lemak dan dalam memproduksi cairan empedu. Karbohidrat yang dikonsumsi oleh ikan dicerna di dalam saluran pencernaan menjadi bahan yang sederhana yaitu glukosa. Glukosa ini akan diserap oleh dinding usus dan kemudian masuk ke dalam darah. Glukosa di dalam darah (vena) akan meninggalkan usus menuju hati. Di organ hati sebagian besar dari glukosa tersebut akan masuk ke dalam hepatosit secara mudah. Di dalam hepatosit glukosa di ubah bentuknya menjadi glikogen melalui control enzim "*Glicogen Synthetase*" (Efendi *et al.*, 1992).

Hati yang berfungsi sebagai kelenjar pencernaan adalah untuk mengeluarkan empedu. Empedu dikeluarkan oleh sel hepatik ke dalam canaliculi empedu intraselular yang kemudian diteruskan ke canaliculi empedu ekstraselular. Canaliculi empedu kemudian bergabung membentuk saluran pipa empedu dan sesudah itu bergabung dengan saluran pipa yang hepatik. Gabungan itu kemudian meninggalkan hati dan menuju ke duodenum. Pada banyak ikan, saluran pipa hepatik mempunyai suatu cabang, *ductus cysticus*, yang mengarah pada kantong empedu yang menyimpan sari buah empedu.

Dinding empedu dan saluran pipa hepatik terdiri dari lapisan tunggal sel epitel kolumnar yang tinggi atau rendah di atas lapisan yang melapisi jaringan penghubung. Struktur histologis saluran pipa empedu serupa dengan saluran pipa yang hepatik, bedanya saluran empedu memiliki lapisan otot yang lembut. Terdapat tiga lapisan yang berbeda dalam kantong empedu : lapisan bagian dalam, yang terdiri atas suatu epithelium sel kolumnar sederhana dan jaringan penghubung; lapisan tengah, yang terdiri dari otot lembut; dan lapisan luar, yang merupakan selaput serous. Dinding gall-bladder berkontaksi dan menyusut jika makanan khususnya makanan berlemak, melewati duodenum untuk mengeluarkan sari buah empedu.

Sel hepatik mempunyai banyak fungsi penting selain mengeluarkan empedu. Mereka memainkan suatu peran penting dalam protein, lipid dan metabolisme karbohidrat. Mereka bertindak sebagai tempat penyimpanan beberapa bahan gizi. Detoxication juga merupakan suatu fungsi penting. Lebih dari itu, mereka terlibat dalam hematopoiesis selama masa hidup larva dan produksi antibodi. Ukuran sel hepatik saat

persiapan mikroskopik mencerminkan keadaan fungsi fisiologis mereka, dan jelas berbeda dengan keadaan hiperfungsional dan hipofungsional (Hibiya, 1982).

### 2.6.3 Perubahan Patologi dalam Hati

Menurut Hibiya (1982), perubahan patologi dalam hati antara lain :

#### 1. Cloudy swelling

Sel bengkak dan sitoplasma berisi butir kecil dan berwarna putih. Butiran kasar atau halus dan sedikit penurunan hyaline eosinophilik pada sitoplasma. Inti sel mempertahankan suatu bentuk yang normal tetapi kadang-kadang tidak jelas.

#### 2. Nekrosis

Di dalam sel hepatik nekrotik, eosin menginformasikan suatu pewarnaan yang hampir seragam kepada sitoplasma. Ukuran inti menurun dan kromatin sering nampak bertahan pada selaput nucleus. Pada kondisi selanjutnya, inti menjadi piknotik dan secepatnya mengalami kariolisis.

#### 3. Degenerasi Vakuola

Degenerasi vakuola adalah keadaan sel menjadi bengkak yang disebabkan oleh mengumpulnya protein koloid dalam jumlah yang besar di dalam sitoplasma. Vacuola kadang-kadang ditemukan dalam nucleus yang sedang dalam persiapan bergabung dengan HE.

#### 4. Degenerasi Lemak

Akumulasi yang berlebihan dari lemak (sebagian besar lemak alami) di dalam sitoplasma, dan sering diikuti oleh berhentinya pertumbuhan nukleus. Bagian paraffin biasa memperlihatkan struktur berbusa di dalam sitoplasma dimana lemak mula-mula

berasal. Perubahan stroma mungkin juga terjadi jika banyak sel yang rusak, jaringan penghubung sering menunjukkan suatu kecenderungan untuk menjadi hiperplastik.

## **5. Radang hati**

Banyak limfosit dan leukosit dijumpai di sekitar pembuluh darah dalam hati. degenerasi seperti hidropsi, cloudy swelling dan nekrosis ditemui pada sel yang berdekatan dengan sel hepatik. Ketika radang hati berkembang, jaringan penghubung pada daerah yang rusak mulai berkembang biak.

## **2.7 Ginjal**

### **2.7.1 Struktur**

Bentuk ginjal ikan eksternal bervariasi menurut jenisnya. Ginjal Teleostei terdiri dari kepala dan badan ginjal. Secara embriologi, kepala ginjal berasal dari pronephros, dan badan ginjal dari mesonephros. Dalam beberapa ikan seperti karper dan ikan mas, kedua ginjal dapat dibedakan secara makroskopis, tetapi sulit dibedakan pada ikan yang lain (seperti ikan belut dan semacam ikan rainbow trout). Kepala ginjal adalah bagian depan ginjal dan terdiri dari jaringan limfoid. Nephron ginjal teleostei dibagi menjadi dua bagian dibawah ini. Beberapa bagian barangkali tidak ada dalam beberapa jenis ikan (Hibiya, 1982).

Nephron ikan tidak memiliki segmen Henle yang tipis/encer sebagaimana yang ditemukan pada nephron hewan bertulang belakang tingkat tinggi. Nephron diikuti oleh saluran pipa pengumpul dan saluran kencing. Dalam beberapa jenis ikan bagian yang besar yang menyerupai kantong ditemukan di ujung saluran kencing, bagian ini disebut kantong kemih, tetapi tidak sama dengan hewan bertulang belakang yang lebih tinggi.

Sel darah ginjal terdiri atas suatu glomerulus dan kapsulnya, sebelum memasuki kapsul glomerulus, arteri afferent terbagi dalam beberapa jerat kapiler, yang membentuk glomerulus. Jerat ini menyatu kembali dan meninggalkan kapsul sebagai arteri efferent. Mesangium mengisi ruang antara jerat kapiler glomerulus. Kapsul Glomerulus terdiri dari bagian dalam dan lapisan luar dari epitel rata yang tunggal. Kapiler glomerulus mempunyai sejumlah podosit-padosit, yang merupakan epitel sel lapisan bagian dalam. Di dalam juxtaglomerulus teleostei, sel dapat ditemukan pada dinding arteri afferent. Sel ini berisi butir halus yang keluar dan yang bisa berwarna dengan Metoda Bowie's dan bahan reaksi PAS.

Tubulus ginjal pendek dan tipis pada segmen leher dan terdiri dari lapisan tunggal sel epitel yang rendah dan dengan silia yang panjang. Segmen Proximal convoluted dibagi menjadi dua bagian, segmen I dan II. pada segmen I ginjal tubulus terdiri atas sel epitel cuboidal dengan silia dan mikrovili yang tersusun pada lumen yang berbentuk pipa secara rapat.

Perbedaan struktural dalam nefron antara teleostoi air tawar dan air laut, segmen Distal convoluted tidak ada dalam ginjal ikan air laut, glomerulus teleostoi air tawar banyak dan ukurannya besar. Pada teleostei air laut, glomerulus lebih sedikit dan ukurannya lebih kecil. Bahkan dalam kasus yang ekstrim, glomerulus sepenuhnya lenyap dari ginjal beberapa ikan air laut. Ini disebut ikan aglomerular, dan meliputi seahorse, pipefish, dan frogfish.

Jaringan Limfoid kepala ginjal dan jaringan intertubulus badan ginjal merupakan jaringan hematopoitik teleostei. Jaringan-jaringan ini terdiri atas jaringan retikular yang berisi sel retikular dan kapiler yang berlimpah. Blast sel dan sel darah matang

ditemukan pada jaringan itu. Mitosis, yang menandakan suatu proses pembentukan darah juga dijumpai pada jaringan itu, namun, identifikasi dan penggolongan sel darah sulit dilakukan pada jaringan hematopoietic yang di taruh di cairan Bouin dan melekat dengan HE. Jaringan itu sering berisi cadangan granula yang berwarna kuning kecoklatan atau coklat tua.

Terdapat tiga lapisan dalam saluran kencing. Lapisan bagian dalam terdiri dari sel-sel epitel columnar, pada lapisan tengah, terdapat dua komponen; jaringan penghubung yang disebut lamina propria dan serabut lingkaran otot yang lembut, lapisan luar berupa suatu jaringan penghubung yang disebut *tunica adventitia*.

Kandung kemih hewan bertulang belakang terestrial adalah suatu turunan dubur, tetapi ikan berbeda secara embriologi. Kandung kemih ikan adalah suatu kantung yang berdinding tipis, yang merupakan turunan dari saluran kencing. Terdapat tiga lapisan yang berbeda dalam kandung kemih. Lapisan bagian dalam terdiri dari satu atau dua lapisan sel epitel yang melapisi lumen bagian dalam, lapisan pertengahan adalah suatu lapisan tipis yang terdiri dari jaringan penghubung yang disebut tunica propria, dan berisi serabut otot yang lembut, lapisan luar juga berupa jaringan penghubung yang tipis (Hibiya, 1982).

### 2.7.2 Fungsi

Ginjal melakukan dua fungsi utama : pertama mengekresikan sebagian besar produk akhir metabolisme tubuh dan kedua mengatur konsentrasi cairan tubuh (Fujaya, 2002). Glomerulus berfungsi menyaring cairan, sedangkan tubulus mengubah cairan yang disaring menjadi urin. Dengan demikian nefron dapat membersihkan atau

menjernihkan plasma darah dari zat-zat yang tidak dikehendaki ketika melalui ginjal. Filtrasi dapat terjadi pada glomerulus karena jaringan kapiler glomerulus merupakan jaringan bertekanan tinggi sedangkan jaringan kapiler peritubulus adalah jaringan bertekanan rendah.

Pada teleostei air tawar fungsi utama ginjal adalah untuk mengeluarkan sejumlah besar air yang masuk ke badan ikan melalui insang. dengan begitu air seni ikan air tawar adalah mempunyai konsentrasi elektrolit yang sangat rendah. Pada sisi lain, insang adalah saluran pembuang produk akhir nitrogen, ammonia dan urea yang utama.

Pada teleostei ikan laut, terdapat bahaya pengurangan air yang tetap melalui insang. Dengan begitu penyimpanan air dan pengurangan volume air kencing menjadi penting. Air seni yang hanya sedikit yang dikeluarkan oleh teleostoi air laut berisi berbagai zat; elektrolit di-dan tri-valent seperti  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , and  $\text{PO}_4^{3-}$  dan juga produk akhir nitrogen seperti kreatin, kreatinin dan trimethylamin oksida ( TMAO). Namun, amoniak, Urea dan monovalent elektrolit sebagian besar dikeluarkan melalui insang (Hibiya, 1982).

### **2.7.3 Perubahan Patologis dalam Ginjal**

Ginjal teleostei terdiri atas parenkim dan jaringan interstitial. Jaringan Interstitial ikan ( jaringan limfoid), yang tidak sama dengan hewan bertulang belakang yang lebih tinggi, merupakan jaringan hematopoitik yang utama di tubuh, karena perbedaan fungsi dua komponen utama ginjal ini, perubahan patologinya juga dibedakan sebagaimana yang diuraikan Hibiya (1982), dibawah ini :

## 1. Sel darah ginjal

Glomerulus adalah komponen yang utama sel darah ginjal dan terdiri atas jerat kapiler darah. Darah disaring secara selektif ketika mengalir melalui kapiler glomerular, daerah kapiler dan mesangial memainkan peran yang penting dalam filtrasi darah yang normal. Karenanya adalah penting untuk memperoleh pengertian yang mendalam tentang perubahan mikroskopik mereka.

Kapiler glomerulus terdiri atas sel epitel, basal lamina dan sel endotel. Di bawah mikroskop cahaya/ringan, struktur halus kapiler tidak bisa dikenali, tetapi sampel yang disiapkan dengan tepat dan dicampur dengan PAS mungkin mengungkapkan suatu gambaran umum yang akurat. Pada kondisi-kondisi patologi, dilatasi kapiler darah dan penebalan dinding mungkin kadang-kadang terjadi dikarenakan perubahan basal lamina. Hal ini sering diikuti oleh perubahan sel epitel dan endotel karena kondisi sel ini sangat berkaitan dengan keadaan fisiologis basal lamina.

Sebagai tambahan, radang yang kapiler mungkin juga ditemukan. Radang ini mungkin disebabkan oleh hiperplasia epitel atau endotel dan hipertropi glomerulus. Hal tersebut mungkin sering mengakibatkan tersumbatnya ruang antara glomerulus dan Kapsule Bowman. Perubahan ini kadang-kadang diikuti oleh penyusupan/perembesan leukosit, penghancuran dan fibrosis glomerulus.

Mesangium menempati ruang kapiler glomerular. Strukturnya secara berangsur-angsur menjadi jelas dengan bantuan mikroskop elektron, dan banyak teori mengenai fisiologi dan fungsinya telah berkembang. Walaupun banyak penyelidik sudah mengenali pentingnya mesangium dalam fungsi glomerular, peranannya yang lebih rinci belum jelas. pada hewan bertulang belakang yang lebih tinggi, perubahan mesangial

yang disebabkan oleh penyakit tertentu tampak dengan jelas, sebagai contoh, sklerosa kapiler yang disebabkan oleh unsur/zat yang menyerupai selaput dasar dapat diamati pada individu dengan penyakit kencing manis, sistemik lupus erithematosus atau glomerular nephritis pada ikan.

Perubahan patologi dalam Kapsule Bowman, ditemukan perkembang biakan sel epitel yang abnormal dan penebalan/pengentalan basal lamina. Lebih dari itu, penampilan sel darah, bekas peninggalan sel darah atau zat asing mungkin terjadi pada ruang Browman itu. Semua perubahan ini mencerminkan kondisi-kondisi sel darah ginjal yang aneh.

## **2. Tubulus ginjal**

Banyak laporan tentang perubahan patologi pada tubulus ginjal ikan yang telah diterbitkan, bakteri dan benalu tertentu mungkin memiliki efek patologi langsung pada tubul ginjal. Interaksi dengan logam berat atau bahan-bahan kimia pertanian mungkin juga berdampak pada tubul secara tidak langsung dengan metabolisme yang ganjil, kebanyakan perubahan tubul ginjal ditemukan pada sel epitel.

Seperti pada otot atau hati parenkim, pembengkakan sel epitel dalam tubul ginjal dikenal sebagai degenerasi albuminous, diperkirakan sebagai perubahan reversible (perubahan dapat dibalik) yang disebabkan fungsi sel atau organ/bagian badan yang berlebihan. Perubahan ini sering ditemui dalam epitelium pada segmen proximal convoluted, sel yang terpengaruh mengalami hipertrophi dan sitoplasma memperlihatkan butiran granula. Garis bentuk selular tidak bisa dibedakan dengan jelas, dan luminal kaliber tubul berkurang. Namun, tidak ditemukan perubahan nukleus yang mencolok.

Penurunan degenerasi hyaline pada sel epitel adalah salah satu dari perubahan yang khas yang terjadi pada tubul ginjal, granula eosinophilik kasar nampak pada sitoplasma, ukuran granula tidaklah seragam tetapi bervariasi dari yang agak besar ke kecil. Di dalam kasus yang ekstrim, akumulasi granula mungkin menyebabkan nekrosis, yang dibuktikan dengan piknosis dan vacuolisasi sitoplasma. Granula mungkin diproduksi di dalam sel sendiri atau dibentuk oleh penyerapan kembali sejumlah kelebihan unsur protein yang disaring melalui glomerulus.

Sebagai tambahan tentang kondisi patologi yang diuraikan di atas, granula hyaline eosinophilik juga nampak dalam sel epitel tubul ginjal pada kondisi-kondisi dibawah normal. Namun, dalam hal ini, granula, perubahan nucleus atau nukleolus tidaklah jelas.

Banyak contoh nekrosis dalam sel epitel tubul ginjal yang telah dilaporkan. Belumlah jelas apakah cloudy swelling dan penurunan degenerasi hyaline selalu mendahului nekrosis, walaupun dalam beberapa peristiwa urutan perubahan mungkin sebagai berikut ; cloudy swelling – penurunan degenerasi hyaline - nekrosis.

Jenis degenerasi lain di epitel yang berbentuk pipa adalah penyusupan glikogen, kelebihan akumulasi glikogen mungkin terjadi pada bagian yang besar ataupun kecil dari epitelium yang berbentuk pipa, yang menyebabkan nekrosis dan peradangan sel epitel secara berangsur-angsur.

Keganjilan ginjal yang diuraikan di atas sering diikuti oleh dilatasi tubulus lumen, perubahan ini pada umumnya dijumpai pada bagian belakang tubul. Terdapat penurunan panjang sel epitelial yang mencolok dan peningkatan volume luminal, kemacetan segmen proximal atau distal tubul ginjal dapat terjadi dengan pengumpulan

material tertentu di didalam lumen. Material bercampur dengan eosin dan PAS dan mungkin glikoprotein, penampilan mereka di dalam tubul diperkirakan berhubungan dengan malfungsi glomerulus. Pada kasus yang relatif jarang terjadi, penghancuran dan proses pengerasan kapur tubul ginjal mungkin mengikuti. sebagai tambahan, benalu, seperti sporozoa, mungkin nampak dan berkembang biak dalam epitelium yang berbentuk pipa atau glomerulus ikan liar.

## 2.8 Histologi

Menurut Bevelander dan Ramaley (1988), histologi (*histos*, Yunani., jaringan) adalah suatu ilmu yang menguraikan struktur dari hewan serta tumbuhan secara terinci, dan hubungan antara struktur pengorganisasian sel dan jaringan dan fungsi-fungsi yang mereka lakukan. Menurut Hibiya (1982), histologi struktur tubuh dan organ ikan secara umum sama dengan hewan bertulang belakang tingkat tinggi. Akan tetapi, ikan diperairan memiliki spesifik karakteristik morfologi dan fisiologi yang berbeda dengan hewan darat. Jaringan ikan terkadang berbeda dengan jaringan pada manusia dan jenis binatang lain.

Struktur sel dan jaringan serta hasil produksi sel diusahakan supaya dapat dilihat sehingga dapat dipelajari, dengan menggunakan bahan-bahan kimia yang dapat *mengawetkan* jaringan dari pembusukan, *memfiksasi* komponen-komponen sel dan matriks tadi sesuai dengan bentuk aslinya untuk mencegah kerusakan, dan *pewarnaan* yang memungkinkan pengamatan bagian-bagian sel dan matriks dengan kontras yang cukup sehingga mudah terlihat dengan mikroskop (Belevander dan Ramaley, 1988).

Seluruh proses diatas merupakan serangkaian dasar dari proses histologi. Lebih rinci dijelaskan Anonymous (2003), prosedur histologi terdiri dari serangkaian pekerjaan, yaitu : Sampling jaringan atau organ, prosesing sampel dengan urutan fiksasi (menggunakan larutan fiksatif), dehidrasi (menggunakan alkohol bertingkat), clearing (menggunakan xylol), infiltrasi (menggunakan parafin), pemotongan (tebal 5-10  $\mu$ m menggunakan mikrotom) dan penempelan pada obyek gelas atau affixing. Proses ini dinamakan embedding. Selanjutnya , irisan jaringan atau slide siap diwarnai menggunakan Hematoxylin-Eosin (HE) dan terakhir diamati dibawah mikroskop.

Jika suatu jaringan dipotong dan ditinggalkan tanpa suatu perlakuan, maka segera jaringan itu akan mngalami suatu perubahan yang sangat besar, ialah akan kering dan mengkerut. Fiksasi adalah suatu usaha manusia untuk mempertahankan elemen-elemen sel atau jaringan agar tetap pada tempatnya dan tidak mengalami perubahan bentuk maupun ukuran. Fiksatif, umumnya mempunyai kemampuan untuk mengubah indeks bias bagian-bagian sel, sehingga bagian-bagian dalam sel tersebut mudah terlihat dibawah mikroskop. Fiksatif mempunyai kemampuan menyerap zat warna (Suntoro, 1983).

Menurut Wijayanti (2004), maksud fiksasi adalah 1) untuk mematikan dan mengeraskan jaringan secara cepat dan aman, 2) memelihara sel atau jaringan terhadap perubahan autolisis dan pembusukan dan 3) menjaga sel atau jaringan agar lebih tahan terhadap proses *dehidrasi*, *clearing*, *embedding* dan *staining*. Ketika jaringan digunakan dalam waktu yang lama dan tidak tentu, formalin selalu dipilih sebagai fiksatif untuk mengawetkan jaringan tersebut, formalin dapat digunakan untuk fiksasi dalam waktu tak terbatas dan tidak mengeraskan jaringan (Humason, 1967).

Selain formalin larutan yang dapat digunakan sebagai fiksatif antara lain menurut Suntoro (1983), larutan fiksatif sederhana: adalah suatu larutan yang didalamnya hanya mengandung satu macam zat saja, misalnya : formalin 10 %, mercuric chloride ; Larutan fiksatif majemuk atau fiksatif campuran : adalah suatu larutan yang di dalamnya mengandung lebih dari satu macam zat, misalnya : larutan Bouin, ini mengandung picric acid, formalin dan glacial acetic acid.

Untuk proses jaringan selanjutnya terdiri dari tiga fase yaitu *dehidrasi* menggunakan alkohol bertingkat.. Istilah dehidrasi disini, berarti penarikan molekul air dari dalam jaringan. Proses ini sangat penting terutama untuk jaringan-jaringan yang akan dibuat preparat irisan. Kemikalia-kemikalia yang dapat digunakan untuk proses dehidrasi ialah : *ethanol (ethyl alkohol)*, *dioxane*, *acetone* dan sebagainya (Suntoro, 1983).

Proses dehidrasi dijalankan secara perlahan-lahan menggunakan alkohol bertingkat, dimulai dengan alkohol prosentase rendah, misalnya 30 % sampai alkohol absolut. Masson (1928), mengatakan bahwa dehidrasi justru akan baik hasilnya bila dimulai dari alkohol 95 %. Jika agak ragu-ragu dapat dengan alkohol prosentase 80 %, sebagai langkah pertama dalam proses dehidrasi tersebut. Banyak alkohol yang digunakan, biasanya 10x volume jaringan yang didehidrasi.

*Clearing* dimaksudkan untuk mengeluarkan alkohol dan meningkatkan indeks bias jaringan, sehingga jaringan menjadi relative transparan (Wijayanti, 2004). Sejak dahulu xylen, adalah satu-satunya larutan yang digunakan, tetapi cenderung lebih membuat jaringan menjadi keras, sehingga benzena atau toluena digunakan untuk clearing dan infiltrasi (Humason, 1967).

*Infiltrasi* dengan menggunakan parafin diperlukan inkubator dengan temperatur tetap 55-60 °C (sesuai dengan titik didih parafin) agar parafin tetap cair. Akan tetapi seiring dengan perkembangan jaman diciptakan alat yang dapat bekerja secara otomatis untuk melakukan serangkaian proses mulai dehidrasi hingga infiltrasi yaitu Tissue Processor. Gambar Tissue Processor pada Lampiran 1. Setelah proses infiltrasi spesimen/potongan jaringan tersebut dicetak dengan parafin dalam kaset kemudian didinginkan. Pada proses ini digunakan alat “embedding center” yang terdiri dari dua bagian : 1) bagian atau ruang dimana parafin tetap tetap dalam kondisis cair dan 2) bagian pendingin mempercepat membentuk blok specimen (Wijayanti, 2004). Gambar alat Embedding Center pada Lampiran 1.

Untuk pemotongan jaringan ini diperlukan peralatan dan sarana: 1) mikrotom, alat untuk pemotong jaringan sesuai dengan ukuran dan tebal jaringan, 2) water bath (temperatur 30 °C), untuk mengembangkan jaringan hasil irisan, 3) obyek glass dan 4) perekat Mayer’s egg albumin untuk merekatkan irisan jaringan pada obyek glass. Gambar Mikrotom, Water bath pada Lampiran 1. Ada berbagai macam metode pewarnaan atau pengecatan yang dapat digunakan. Prosedur pewarnaan menggunakan Hematoksilin dan Eosin (cara pembuatan Hematoksilin dan Eosin pada Lampiran 8) modifikasi dari Anonimous (1957) dalam Wijayanti (2004), dapat dijelaskan sebagai berikut :

- 1) Potongan jaringan yang menyerap parafin bersifat impermeable terhadap zat warna dan reagen yang lain, sehingga parafin harus dihilangkan/dilarutkan terlebih menggunakan xylol.

- 2) Setelah parafin larut oleh xylol, maka xylol juga harus dibersihkan/dilarutkan menggunakan larutan alkohol bertingkat, mulai dari konsentrasi tinggi sampai konsentrasi rendah karena xylol tidak dapat langsung larut dalam alkohol konsentrasi rendah.
- 3) Setelah ini jaringan baru siap diwarnai (pewarnaan tergantung tujuan), pada metode ini jaringan diwarnai dengan Haris Hematoksilin.
- 4) Kemudian dilakukan pencucian dengan air (deeping) dan dicelupkan dalam larutan 1 % asam alkohol.
- 5) Jaringan dicuci dengan air mengalir selama 5 menit.
- 6) Sisa-sisa air didehidrasi terlebih dahulu dengan larutan alkohol bertingkat mulai dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi (karena air tidak dapat bercampur dengan agen clearing).
- 7) Agar jaringan menjadi lebih transparan dilakukan "*clearing*" dengan direndam dalam larutan xylol.
- 8) Setelah dilakukan "*mounting*" dengan ditetesi Entellan atau Canada Balsam dan ditutup dengan menggunakan cover glass, agar potongan jaringan mudah diamati menggunakan mikroskop dengan jelas dan tetap tahan lama pada obyek glass sebagai preparat awetan.

### III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Bahan Penelitian

###### a. Hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah kerapu macan (*E. fuscoguttatus*) dengan panjang total sekitar 7 - 8 cm yang dipelihara dengan bak plastik kapasitas 60 liter dengan kepadatan 10 ekor/bak. Gambar benih ikan kerapu dapat dilihat pada Lampiran 2.

###### b. Isolat bakteri

Isolat bakteri digunakan untuk ujiantang adalah bakteri *V. harveyi*. Isolat bakteri tersebut merupakan koleksi Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan BBAP Jepara dan BBRPBL Gondol. Gambar isolat bakteri murni dapat dilihat pada Lampiran 3.

###### c. Ekstrak ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.)

Pembuatan ekstrak ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) prosesnya mengacu pada Maldoni (1991) dalam Heramawati (2005).

###### d. Pakan ikan

Pakan ikan yang diberikan berupa pakan pellet, dimana bahan pakan yang digunakan sesuai dengan formula Ellana *et al.*, (2002) dan modifikasi formula Gondol (Sutarmat, 2003). Adapun komposisi bahan pakan, perhitungan dosis alkaloid, hasil uji proksimat pakan, dan gambar pakan dapat di lihat pada Lampiran 4 dan 5.

###### e. Bahan biakan murni bakteri *Vibrio harveyi*.

NA (Oxoid), NB (Oxoid), TCBSA (Oxoid), TRISALT [NaCl (Merk)], KCl (Merk), MgSO<sub>4</sub> (Wako Pure, Jepang), aquadest, kapas, alkohol 70 %, aluminium foil, tissue, spirtus.

**f. Larutan fiksatif histologi**

Bahan yang dipergunakan untuk mengawetkan organ hati dan ginjal adalah *buffered neutral formalin solution*. Formula larutan buffer netral formalin dapat dilihat pada Lampiran 6.

**g. Bahan untuk pengamatan histologi**

Bahan yang digunakan untuk pengamatan histologi adalah alkohol 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 100 %, xylol 100 %, parafin lunak, haemotoksilin, eosine, aquades, dan mayer's egg albumin, kertas, tissue, air hangat, minyak cengkeh.

**3.1.2 Alat Penelitian****a. Alat untuk Pemeliharaan Kerapu Macan**

1. Bak plastik ukuran 60 liter
2. Timbangan, penggaris, dan seser
3. Sistem aerasi

**b. Alat untuk biakan murni bakteri *Vibrio harveyi*.**

Tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur, corong, drigalski, petridish, pipet mikro, rak, pipet ukur, eppendorf, autoclave, incubator, lemari pendingin, jarum ose, pembakar Bunsen, karet penghisap, timbangan analitik, vortex, spatula, kompor, coloni counter, mikrotiter plate, garpu mikrotiter, mikropipet 100 µl dan 1000 µl.

**c. Alat untuk pengamatan histologi**

Alat sectio (gunting bedah, scapel, pinset), pembakar Bunsen, botol fiksatif jaringan, botol penyimpan larutan xylol, alkohol dan paraffin, Tissue Processor 'LEICA TP 1020', wadah embedding (basket), cassette, Embedding Machine "LEICA EG 1120" (Embedding), Embedding Machine "LEICA EG 1150 C" (pendingin,

mengeraskan parafin), mikrotom. pisau mikrotom, kuas, Tissue Float Bath, obyek glass, cover glass, oven, mikroskop, photomikroskop.

#### **d. Alat untuk analisis kualitas air**

Pengukuran oksigen terlarut, suhu air, pH, dan salinitas menggunakan alat Thermometer, pH meter, dan Oxymeter.

### **3.2 Metode Penelitian**

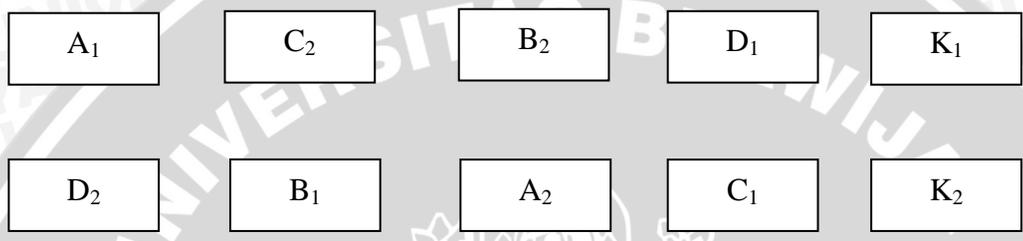
Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif. Menurut Suryabrata (1988), penelitian deskriptif bertujuan untuk memberikan gambaran secara sistematis, fluktuatif dan akurat mengenai fakta-fakta dan sifat-sifat populasi tertentu. Pelaksanaan metode deskriptif tidak hanya terbatas pada pengumpulan dan penyusunan data, tetapi juga meliputi analisa dan interpretasi data tersebut. Sedangkan menurut Muhammad (1991), sifat umum dari bentuk deskriptif adalah mengumpulkan, menyusun, menganalisa, dan menafsirkan data yang ada, kemudian diadakan klasifikasi atau dibandingkan antara satu kelompok data yang satu dengan lainnya.

Teknik pengambilan data dengan cara observasi langsung, dimana penyelidik mengadakan pengamatan secara langsung terhadap gejala-gejala subyek yang diselidiki. Pengamatan itu dilakukan didalam situasi buatan yang khusus diadakan maupun tidak (Surakhmad,1990). Perlakuan yang digunakan terdiri dari 4 (empat) perlakuan dengan 2 (dua) kali ulangan serta kontrol, dan penempatan dilakukan secara acak (random).

Sebagai perlakuan adalah perbedaan dosis senyawa alkaloid ubur-ubur yaitu :

- Perlakuan A = Dosis alkaloid sebesar 0.5 g/kg pakan
- B = Dosis alkaloid sebesar 0.75 g/kg pakan
- C = Dosis alkaloid sebesar 1 g/kg pakan
- D = Dosis alkaloid sebesar 1.25 g/kg pakan
- K = Kontrol (tanpa alkaloid)

Adapun denah perlakuan dirancang seperti pada Gambar 6.



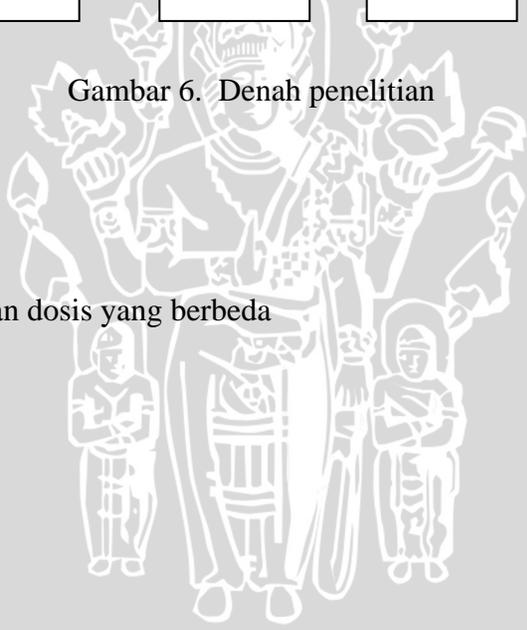
Gambar 6. Denah penelitian

Keterangan :

1 dan 2 : Ulangan

A,B,C,D : Perlakuan dosis yang berbeda

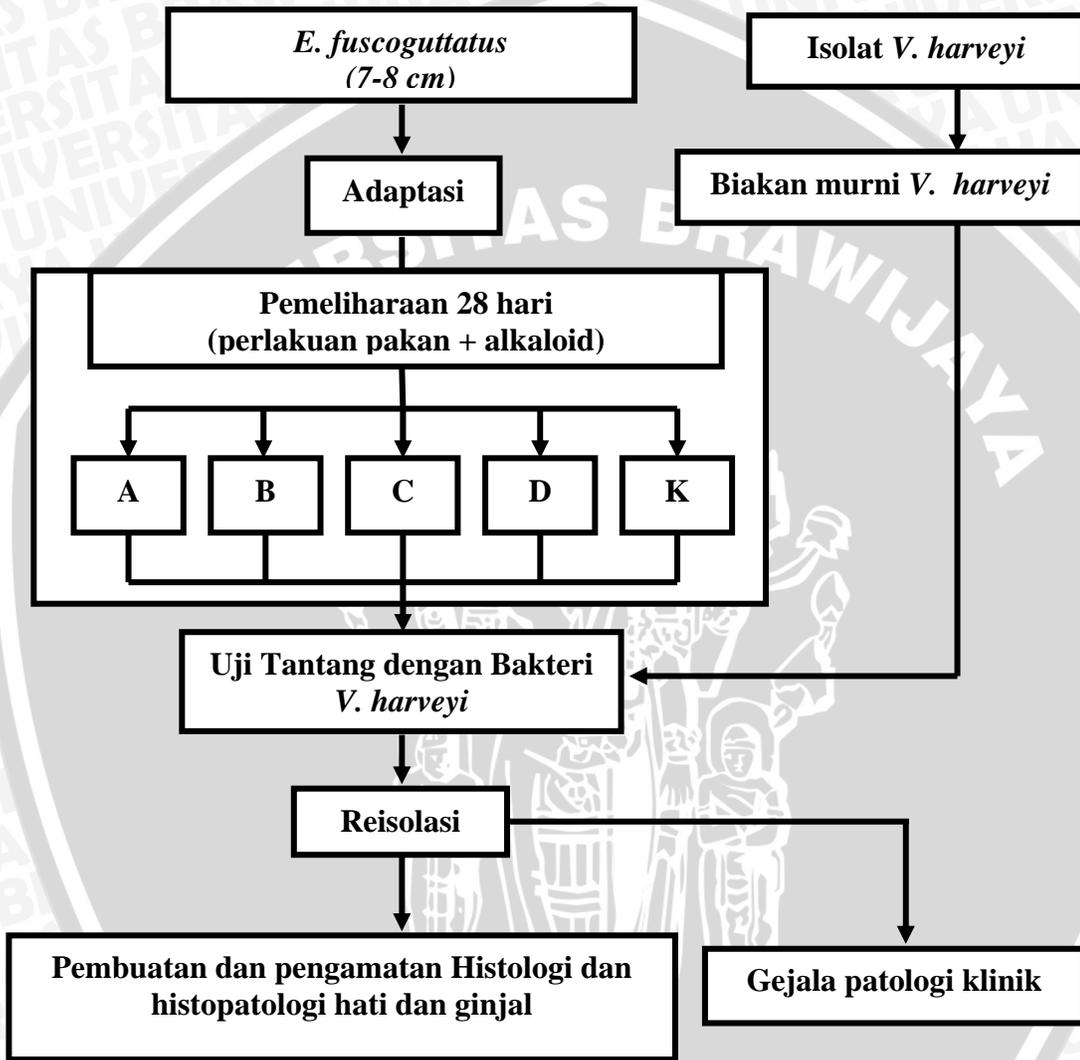
K : Kontrol



### 3.3 Prosedur Penelitian dan Pelaksanaan Penelitian

#### 3.3.1 Prosedur Penelitian

Urut-urutan prosedur penelitian yang dilakukan oleh peneliti adalah sbb:



Gambar 7. Bagan alir penelitian yang dilakukan.

### 3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dengan pemeliharaan ikan selama 28 hari, ujiantang dilakukan melalui perendaman ikan pada media dengan kepadatan bakteri  $10^5$  CFU/ml selama 5 hari, kemudian dilakukan reisolasi dengan penggantian air yang baru dan pemberian pakan kontrol. Parameter yang diamati adalah histologi yaitu pengamatan jaringan hati dan ginjal sebelum ikan mengalami perlakuan dan setelah ikan diinfeksi bakteri *V. harveyi* selain itu dilakukan pengamatan gejala patologi klinik. Untuk lebih jelasnya tentang pelaksanaan penelitian beberapa langkah yang dilakukan sebagai berikut :

#### 1. Persiapan alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian antara lain alat untuk pemeliharaan benih mulai dari akuarium, selang siphon, seser, aerator, selang aerator, batu aerasi dan filter dibersihkan terlebih dahulu selanjutnya disetting sesuai dengan perlakuan.. Alat-alat yang digunakan untuk pengamatan histologi dan histopatologi meliputi alat-alat sectio, botol-botol penyimpan larutan dan aquades hendaknya juga disterilkan terlebih dahulu untuk membunuh mikroorganisme yang berbahaya.

Apabila alat-alat yang digunakan sudah siap selanjutnya menyiapkan bahan-bahan mulai dari benih ikan kerapu ukuran 7 – 8 cm, pakan dan immunostimulan, *V. harveyi* untuk ujiantang hingga larutan BNF untuk larutan fiksatif histologi.

#### 2. Sterilisasi alat dan bahan

- Alat-alat yang akan disterilkan dibungkus dengan kertas perkamen atau kertas koran, kemudian diikat dengan benang.

- Dituangkan air 800 ml ke dalam autoclave, kemudian alat yang telah dibungkus kertas perkamen dimasukkan ke dalam autoclave dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara silang.
- Pasang kabel autoclave pada stop kontak, setelah beberapa saat manometer akan menunjukkan angka 2 atm pada suhu 121 °C..
- Saklar dimatikan untuk mengurangi tekanan menjadi 1 atm, jika sudah mencapai 1 atm saklar dihidupkan kembali dan tekanan naik menjadi 2 atm.
- Setelah tekanan menjadi 2 atm matikan saklar dan lepaskan kabel autoclave ditunggu sampai tekanan menjadi 0 atm
- Buka baut pengencang secara silang, dan buka tutup uap untuk menghilangkan uap air yang ada
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam inkubator, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

### 3. Persiapan benih uji

Benih ikan kerapu macan sebelum diberi perlakuan terlebih dahulu diadaptasikan pada bak plastik volume 60 liter menggunakan sirkulasi air terbuka dengan jumlah kepadatan ikan adalah 10 ekor per bak. Adaptasi juga dilakukan pada pakan dimana benih ikan diberi pakan berupa pelet, adapun cara adaptasi pakan yaitu pada saat awal pemberian ikan rucuh dicampur dengan pelet dengan perbandingan jumlah ikan rucuh lebih banyak, selanjutnya jumlah ikan rucuh dikurangi hingga akhirnya hanya pelet saja yang diberikan.

#### 4. Pembuatan Media TCBSA, NB dan NA

- Media TCBSA (*Thiosulfate Citrate Bilesalt Sukrose Agar*), diambil dan ditimbang, untuk setiap pembuatan media TCBSA sebanyak 1000 ml maka dibutuhkan TCBSA sebanyak 89 gram.
- Pupuk KCL; Mg SO<sub>4</sub>; dan NaCl masing-masing ditimbang sebanyak 0,75 gr; 6,94 gr; 13,4 gr untuk setiap pembuatan media TCBSA 1000 ml.
- Media diatas semuanya dimasukkan kedalam tabung erlenmeyer dan ditambahkan aquadest steril sesuai dengan kebutuhan bahan yang ditimbang sebelumnya.
- Bahan diatas dipanaskan di hot plate dan beri pengaduk magnetig stirer supaya agar TCBSA tidak menggumpal. Ambil tabung erlenmeyer dari atas hot plate jika sudah berbuih.
- Media TCBSA dituangkan kedalam masing-masing petri dengan perlakuan steril diatas bunsen, tunggu hingga agar memadat setelah itu balik media agar tersebut agar uap air tidak menetes atau jatuh pada media agar yang akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri menjadi swab.
- Media agar disimpan pada lemari pendingin agar tahan lama.
- Media NB (*Nutrien Brouth*), dan NA (*Nutrient Agar*) pembuatannya sama saja dengan perlakuan diatas tapi hanya saja untuk NA membutuhkan 28 gram dan NB 13 gram untuk setiap 1000 ml aquadest.

#### 5. Pembuatan Biakan bakteri *V. harveyi* Untuk Penginfeksi

- Biakan bakteri murni *V. harveyi* disiapkan, dan diperbanyak dengan cara diremajakan kembali pada tabung-tabung reaksi yang berisi NA. Untuk mengetahui biakan murni bakteri *V. harveyi* dapat dilihat pada Lampiran 3.

- NB dibuat dan diletakkan dalam tabung erlenmeyer sesuai dengan keperluan.
- Biakan bakteri *V. harveyi* dimasukkan kedalam tabung erlemeyer kurang lebih untuk 4 ml NB diambil biakan bakteri sebanyak 5 ose.
- Bakteri dimasukkan kedalam inkubator selama 18 – 24 jam dan diatur pada suhu 37 °C.
- Larutan standart *MC Farland* I; II; dan III dibuat untuk mengetahui kepadatan bakteri *V. harveyi* yang dihasilkan nantinya. Dimana larutan tersebut campuran dari H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 % dengan BaCl<sub>2</sub> 1 %.
- Kepadatan larutan standart Mc Farland tersebut nantinya akan menghasilkan kepadatan bakteri *V. harveyi* untuk I; II; dan III adalah 3 x 10<sup>8</sup>; 6 x 10<sup>8</sup>; dan 9 x 10<sup>8</sup> sel/ml.
- Bakteri yang digunakan untuk menginfeksi ikan kerapu macan nantinya menggunakan kepadatan 10<sup>5</sup> sel/ml. Sehingga untuk mendapatkan kepadatan bakteri tersebut harus dilakukan perhitungan pengenceran dengan menggunakan rumus :

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

Dimana :

N1 = Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)

N2 = Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki NB (sel/ml)

V1 = Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan (ml)

V2 = Volume media air dalam wadah perlakuan (ml)

## 6. Reinfeksi dan Reisolasi

Reinfeksi bertujuan untuk mengembalikan isolat *V. harveyi* ke lingkungan alaminya sehingga mampu mengembalikan tingkat keganasan/patogenisitas alami isolat

tersebut. Ikan dipelihara dalam air bersih dengan perlakuan aerasi, penyiponan, dan pemberian pakan. Reinfeksi *V. harveyi* pada ikan uji dilakukan perendaman. Pengamatan dilakukan sampai ikan uji menunjukkan adanya gejala penyakit baik secara eksternal maupun internal. Reisolasi bakteri dilakukan secara aseptis dari ginjal pada medium TCBS.

### **7. Proses Penginfeksian**

1. Akuarium yang bersih diisi air laut sebanyak 30 liter
2. Ikan di masukkan kembali dalam bak masing-masing perlakuan 10 ekor
3. Bakteri yang sudah disiapkan pada NB dalam tabung erlenmeyer dapat langsung diinfeksi dalam media hidup ikan kerapu, pada konsentrasi  $10^5$  CFU/ml.
4. Proses penginfeksian berlangsung selama 5 hari
5. Kemudian direisolasi dengan penggantian air dan diberi pakan kontrol
6. Proses reisolasi dilakukan sampai hari ke-7

### **8. Pembuatan Preparat Histologi dan Histopatologi**

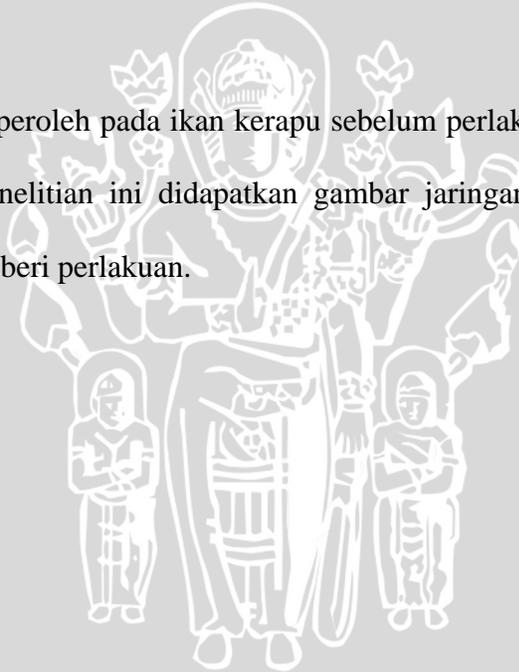
Setelah perlakuan selesai, dilakukan pengambilan organ yang akan diamati adalah hati dan ginjal dengan memotong bagian organ tersebut. Langkah selanjutnya organ tersebut dimasukkan ke dalam botol berisi larutan buffer netral formalin untuk kemudian dibuat sediaan histologi dan histopatologi. Cara pembuatan sediaan histologi dan histopatologi dapat dilihat pada Lampiran 7.

### 3.4 Parameter Uji

Parameter uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah parameter kualitatif yaitu data yang diperoleh dari hasil pengamatan histologi untuk jaringan normal meliputi organ hati dan ginjal dan histopatologi dari tiap sampel jaringan setelah masa pemeliharaan 28 hari dan diinfeksi dengan *V. harveyi* selama 5 hari, selanjutnya reisolasi selama 7 hari dengan pemberian pakan kontrol. Parameter penunjang adalah pengamatan gejala patologi klinik ikan perlakuan setelah diinfeksi baik perubahan gejala internal maupun eksternal.

### 3.5 Analisa Data

Data histologi diperoleh pada ikan kerapu sebelum perlakuan (0 hari) setelah ujiantang. Data hasil penelitian ini didapatkan gambar jaringan hati dan ginjal yang normal dan yang telah diberi perlakuan.



## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Gambaran Histologi Dan Histopatologi Hati

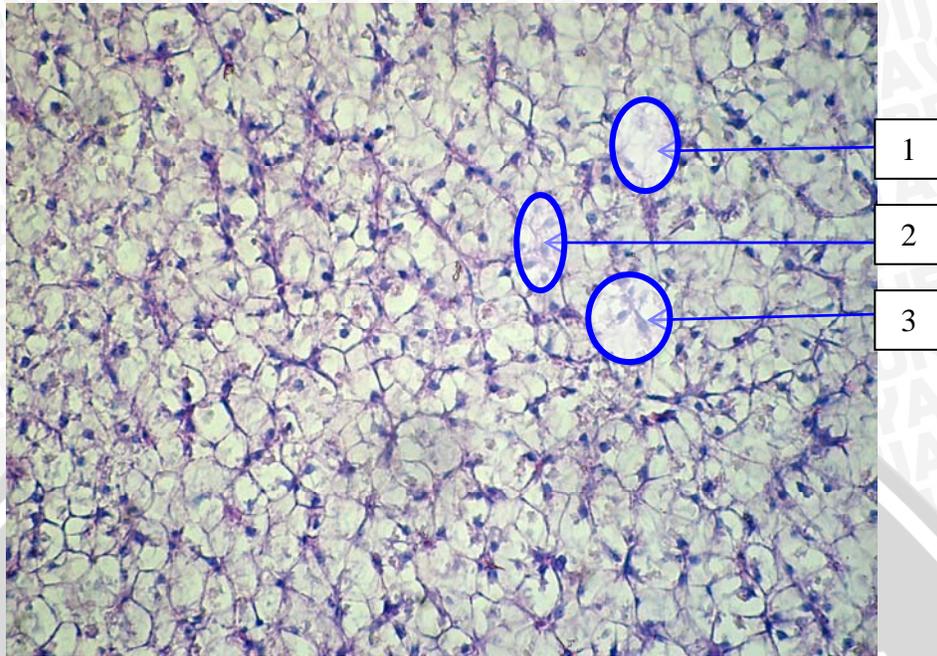
#### 4.1.1 Gambaran Histologi Hati Ikan Sehat

Pada ikan bertulang sejati, hati umumnya berbentuk lobul (bongkahan) yang jumlahnya bervariasi antara jenis yang satu dengan jenis lainnya. Organ hati tersusun oleh sel-sel hati (hepatosit), dan di antara sel-sel tersebut banyak dijumpai kapiler-kapiler darah dengan tipe sinusoid. Saluran darah yang masuk ke organ hati terdiri atas arteri yang berasal dari aorta dorsalis dan vena portal yang berasal dari saluran pencernaan. Sedangkan saluran darah yang keluar dari organ hati adalah vena hepaticus, vena ini kemudian menuju jantung (Efendi *et al.*, 1992).

Hepatosit atau sel hati merupakan unit terkecil dari organ hati. Seperti halnya pada sel yang lain, organel pada sel hati meliputi antara lain : membran sel, inti, mitokondria, retikulum endoplasmik granula dan badan golgi. Bahan cadangan nutrisi yang umum terdapat pada sel hati adalah butiran lemak dan glikogen (Efendi *et al.*, 1992).

Pada gambar hati terlihat penampakan sel-sel hepatosit, dimana sel-sel hepatosit memiliki bentuk yang menyerupai plat tipis atau lembaran-lembaran yang terpisah oleh sinusoida-sinusoida yang tersebar secara radial (Bevelander and Rameley, 1988).

Berdasarkan hasil penelitian, kondisi hati kerapu macan sebelum perlakuan memperlihatkan bentuk histologi yang normal dengan penampakan inti sel, sel-sel hepatosit, dan sinusoid pada komposisi lobulus hati (Gambar 8).

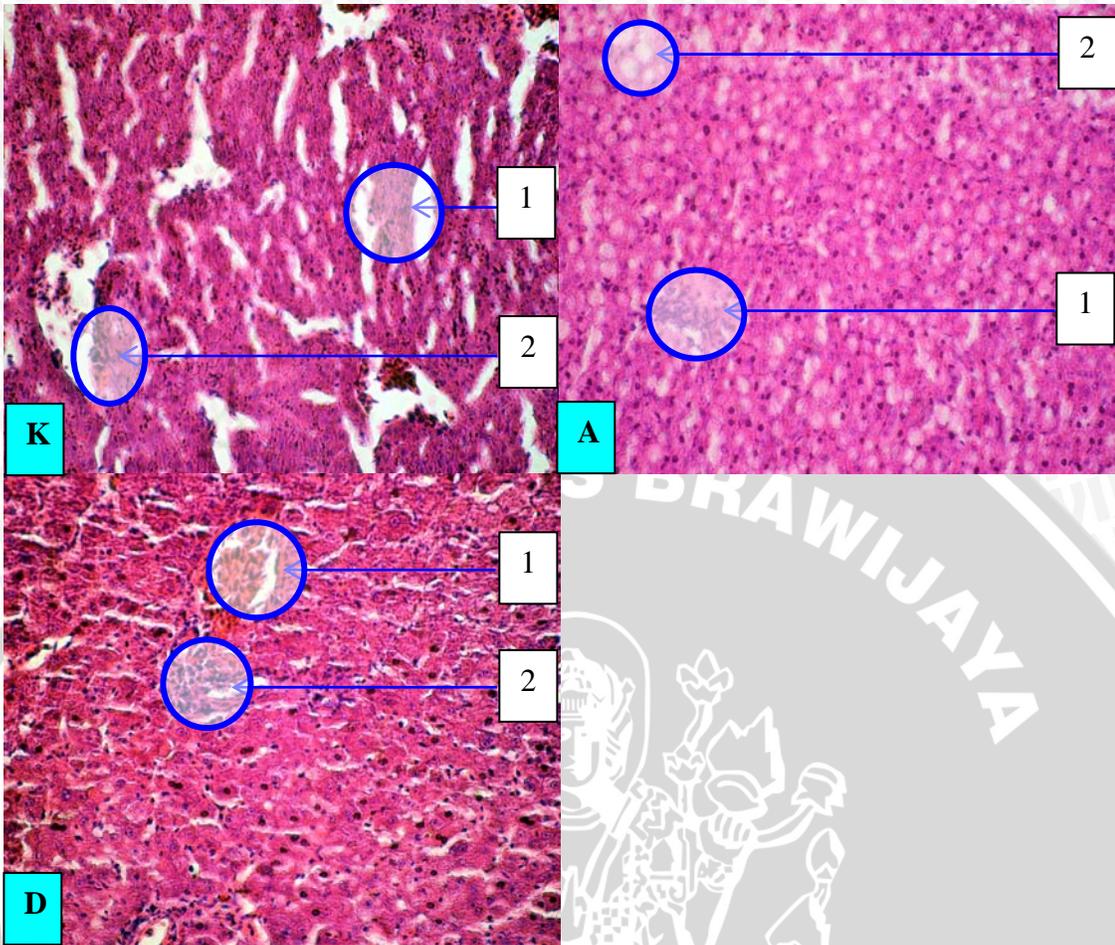


Gambar 8. Irisan melintang hati normal, tanda panah no 1. Hepatosit; 2. Sinusoid; 3. Inti sel (nucleus); 400x, H&E.

#### 4.1.2 Gambaran Histopatologi Hati Ikan Kontrol dan Perlakuan

Hasil penelitian di bawah ini menunjukkan bahwa pemberian dosis immunostimulan alkaloid yang berbeda berpengaruh terhadap perbedaan tingkat kerusakan yang terjadi pada sel-sel hati.

Pada perlakuan K (kontrol) tanpa alkaloid perlakuan A pada dosis alkaloid 0.5 gr/kg pakan, ditemukan beberapa gejala kerusakan struktur jaringan atau sel-sel hati yang disebabkan oleh serangan bakteri. Sedangkan pada perlakuan B pada dosis alkaloid 0.75 gr/kg pakan dan perlakuan C pada dosis alkaloid 1 gr/kg pakan tidak ditemukan kerusakan pada struktur jaringan atau sel-sel hati yang ditimbulkan oleh serangan bakteri patogen. Perlakuan D pada dosis alkaloid 1,25 gr/kg pakan, juga ditemukan beberapa gejala kerusakan struktur jaringan atau sel-sel hati yang disebabkan oleh serangan bakteri. Perubahan tersebut dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Irisan melintang hati perlakuan. (K): tanda panah no 1. Nekrosis pada sel-sel hati.; 2. Hemorrhagic; (A): tanda panah no 1. Peradangan (*inflamasi*); 2. Cloudy Swelling; (D): tanda panah no 1. Peradangan (*inflamasi*); 2. Kolonisasi bakteri pada sinusoida; 400x, H&E.

Pengamatan preparat histopatologi hati ikan kerapu macan dengan Hasil perlakuan K yaitu pada perlakuan tanpa alkaloid menunjukkan kerusakan hati yang paling berat dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Histopatologi hati terlihat adanya *hemorrhagic* dan nekrosis pada sel-sel hati (Gambar 10K).

*Hemorrhagic* adalah keluarnya darah dari pembuluh darah, baik ke luar tubuh maupun ke dalam jaringan tubuh (Kurniasih, 1999). Hibiya (1982) menyatakan bahwa *hemorrhagic* menunjukkan sel leukosit dan eritrosit pada jaringan atau sel.

Sedangkan perubahan sel-sel hepatosit yang mengalami nekrosis menunjukkan beberapa bagian sel tersebut hilang bila dibandingkan dengan komponen sel yang masih utuh, eosin menginformasikan suatu pewarnaan yang hampir seragam dengan sitoplasma dan ukuran inti sel (nukleus) menurun serta kromatin sering terlihat bertahan pada selaput nukleus (Hibiya, 1982). Nekrosis yang terjadi pada sel-sel hepatosit diperkirakan sebagai akibat infeksi bakteri yang mengeluarkan toksin dan dapat merusak sel-sel hati, dengan rusaknya sel hepatosit akan memudahkan bakteri masuk ke dalam jaringan hati dan menimbulkan kerusakan yang lebih besar (Murdjani, 2002).

Hal ini terjadi karena pada perlakuan K (kontrol), ikan tidak diberikan immunostimulan. Sehingga pada perlakuan K (kontrol) tanpa immunostimulan mengalami kerusakan yang paling berat karena daya imun ikan pada perlakuan ini lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Sistem pertahanan non spesifik berfungsi sebagai barier terdepan pada awal terjadinya infeksi penyakit, yang termasuk dalam sistem pertahanan non spesifik adalah makrofag, sel darah merah dan sel asesories, selain itu juga bahan biokimia dan fisik barier seperti kulit yang mensekresi lisosim dan dapat merusak bakteri (Rantam, 2003).

Perlakuan A pada dosis alkaloid 0.5 gr/kg pakan setelah diinfeksi *V. harveyi* secara mikroskopis memperlihatkan peradangan (*inflamasi*) disekitar sel-sel hati dan lebih jauh menyebabkan *cloudy swelling* pada permukaan sel-sel hati (Gambar 10A).

Pengumpulan sel darah (marginasi) pada organ disebabkan karena timbulnya proses peradangan akibat invasi bakteri *V. harveyi* disebut *inflamasi*. *Inflamasi* timbul sebagai reaksi perlindungan saat terjadi serangan yang disebabkan oleh infeksi patogen, dengan ciri secara mikroskopis ditandai dengan banyaknya limfosit dan leukosit

disekitar pembuluh darah atau sinusoid (Hibiya, 1982). Terjadinya pengumpulan sel darah putih dan limfosit pada jaringan sebagai upaya proteksi dengan cara pemangsaan sel bakteri atau partikel asing oleh sel makrofag. Dengan pemangsaan ini, bakteri atau toksin mengalami lokalisasi sehingga tidak menyebar ke jaringan lain yang lebih luas (Murdjani, 2002).

Kerusakan awal pembengkakan sel (*cloudy swelling*) merupakan perubahan awal dari sel yang mengalami lesi, dengan ciri secara mikroskopis sel-sel tampak membesar dan warnanya lebih pucat, sitoplasmanya terlihat lebih keruh, tersebar dan kadang-kadang ditemukan adanya vacuola (jika pembengkakan dari organella cukup berat) (Zaqiah, 2006). Pembengkakan ini terjadi karena bakteri *V. harveyi* yang diinfeksi masuk kedalam hati bersama aliran darah dan berhasil menginfeksi sel-sel hati (Murdjani, 2002).

Perlakuan A pada dosis 0,5 gr/kg pakan, kerusakan yang terjadi sebagai akibat pemberian dosis immunostimulan yang kecil sehingga menyebabkan sistem kekebalan tubuh non spesifik dalam hati tidak dapat bekerja secara maksimal yang menyebabkan kerusakan pada jaringan akibat infeksi bakteri. Dijelaskan oleh Jawetz *et al.*, (1996), bahwa dosis immunostimulan yang terlalu kecil atau terlalu besar menyebabkan pengaruh dalam sistem imun kecil selain itu juga dapat berubah menjadi toksin.

Sedangkan pada perlakuan B pada dosis 0,75 gr/kg pakan, dan perlakuan C pada dosis 1 gr/kg pakan tidak menunjukkan adanya kerusakan jaringan. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada dosis 0,75 – 1, 25 gr/pakan, senyawa alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) berfungsi sebagai immunostimulan yang dapat meningkatkan respon imun non spesifik ikan kerapu macan khususnya bertambahnya jumlah sel makrofag.

Peningkatan jumlah sel makrofag tersebut sesuai dengan data hasil penelitian Nisak (2007), menunjukkan bahwa semakin banyak dosis senyawa alkaloid yang diberikan maka jumlah sel makrofag ikan kerapu macan semakin meningkat (dapat dilihat pada Sub Bab 4.1.3).

Hasil perlakuan D pada dosis alkaloid 1,25 gr/kg pakan menunjukkan kerusakan hati dengan gejala peradangan (*inflamasi*), dan kolonisasi bakteri pada sinusoida. Menurut Bevelander and Rameley (1988), kolonisasi bakteri pada sinusoida disebabkan terlibatnya sel-sel fagosit dalam penyaringan darah sewaktu melalui sinusoida (Gambar 10D).

Hal ini dapat terjadi karena pemberian dosis immunostimulan yang berlebih, menimbulkan efek samping yang bersifat toksin. Efek toksin timbul bila senyawa alkaloid tersebut diberikan dalam dosis yang tinggi. Hal itu sesuai fungsi hati juga untuk detoksifikasi zat yang masuk tubuh dan ampas detoksifikasi ini dibuang lewat empedu (Yatim, 2002). Menurut Guralnik (1972) dan Harborne (1978), menyebutkan bahwa alkaloid dapat menyebabkan efek toksin dan seringkali menyebabkan racun bagi organisme (manusia dan hewan) bila diberikan pada level dosis yang terlalu tinggi.

#### **4.1.3 Jumlah Sel-sel Fagosit**

Menurut Widiyanto (1987), immunostimulan dapat menstimulasi sistem imun baik secara langsung maupun tak langsung. Secara langsung adalah dengan cara meningkatkan proliferasi sel makrofag, neutrofil dan limfosit T, sedangkan cara tidak langsung adalah melalui sistem komplemen atau limfosit melalui produksi interferon atau enzim lisosomal untuk meningkatkan fagositosis. Makrofag yang telah teraktivasi

merupakan sel fagosit yang jauh lebih kuat daripada neutrofil. Makrofag mampu memfagositosis sampai 100 bakteri. Makrofag juga mempunyai kemampuan untuk menelan partikel yang jauh lebih besar, bahkan sel darah merah utuh. Segera setelah partikel asing difagositosis, lisosom segera datang bersentuhan dengan gelembung fagositik dan membrannya menjadi satu dengan membran pada gelembung yang disebut dengan fagolisosom, dan segera memulai proses pencernaan partikel yang sudah difagositosis. Guyton dan Hall (1997), mengatakan bahwa makrofag mempunyai sejumlah besar lisosom yang berisi enzim proteolitik atau lipase, yang dapat mencerna membran lipid tebal yang terdapat pada bakteri tertentu.

Hasil penelitaian Nisak (2007), menunjukkan bahwa Perlakuan A pada dosis alkaloid 0,5 gr/kg pakan jumlah sel makrofag sebesar  $2,1 \cdot 10^5$  sel/ml; sesudah perlakuan sebesar  $4,84 \cdot 10^5$  sel/ml; perlakuan B pada dosis alkaloid 0,75 gr/kg pakan jumlah sel makrofag sebesar  $2,0 \cdot 10^5$  sel/ml; sesudah perlakuan sebesar  $6,05 \cdot 10^5$  sel/ml; perlakuan C pada dosis alkaloid 1 gr/kg pakan jumlah sel makrofag sebesar  $2,1 \cdot 10^5$  sel/ml; sesudah perlakuan sebesar  $8,55 \cdot 10^5$  sel/ml; perlakuan D pada dosis alkaloid 1,25 gr/kg pakan jumlah sel makrofag sebesar  $2,2 \cdot 10^5$  sel/ml; sesudah perlakuan sebesar  $7,75 \cdot 10^5$  sel/ml; dan untuk perlakuan K (kontrol) tanpa alkaloid peningkatan jumlah sel makrofag lebih kecil sebesar  $2,1 \cdot 10^5$  sel/ml; sesudah perlakuan sebesar  $2,90 \cdot 10^5$  sel/ml. Hal ini dapat di lihat pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Jumlah Sel Makrofag (dalam  $10^5$  sel/ml) selama 34 Hari

Perlakuan	Hari Pengamatan				
	0	28	30	32	34
<b>K</b>	$2,1 \cdot 10^5$ sel/ml	$2,90 \cdot 10^5$ sel/ml	$4,50 \cdot 10^5$ sel/ml	$5,10 \cdot 10^5$ sel/ml	$5,80 \cdot 10^5$ sel/ml
<b>A</b>	$2,1 \cdot 10^5$ sel/ml	$4,85 \cdot 10^5$ sel/ml	$6,40 \cdot 10^5$ sel/ml	$7,40 \cdot 10^5$ sel/ml	$7,90 \cdot 10^5$ sel/ml
<b>B</b>	$2,0 \cdot 10^5$ sel/ml	$6,05 \cdot 10^5$ sel/ml	$7,45 \cdot 10^5$ sel/ml	$8,30 \cdot 10^5$ sel/ml	$9,05 \cdot 10^5$ sel/ml
<b>C</b>	$2,1 \cdot 10^5$ sel/ml	$8,55 \cdot 10^5$ sel/ml	$11,00 \cdot 10^5$ sel/ml	$13,40 \cdot 10^5$ sel/ml	$14,10 \cdot 10^5$ sel/ml
<b>D</b>	$2,2 \cdot 10^5$ sel/ml	$7,75 \cdot 10^5$ sel/ml	$8,20 \cdot 10^5$ sel/ml	$9,15 \cdot 10^5$ sel/ml	$10,00 \cdot 10^5$ sel/ml

Sumber : Nisak, 2007

Dengan bertambahnya jumlah sel makrofag dalam tubuh ikan kerapu macan merupakan indikasi meningkatnya respon imun dalam tubuh ikan. Sehingga dapat dikatakan bahwa alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) merupakan senyawa immunostimulan yang dapat meningkatkan respon imun non spesifik karena dapat meningkatkan proliferasi sel makrofag pada ikan kerapu macan. Sistem imun dapat menerima berbagai rangsangan, diantaranya faktor dari dalam individu ikan itu sendiri (Setiawati *et al.*, 2005). Faktor dari dalam tubuh ikan yang dimaksud adalah IgM (antibodi makroglobular) yang hanya dimiliki ikan (Mor *et al.*, 1988). Proses pengaktifannya didukung oleh berbagai faktor, diantaranya adalah sel darah merah dengan menyediakan oksigen sebagai sumber energi dan sel darah putih yang menjadi 'mesin aktif' dalam membangun pertahanan tubuh ikan. mekanisme kerja kedua sel tersebut saling mendukung untuk meningkatkan pertahanan tubuh melalui rangsangan dari luar, yaitu salah satunya pemberian bahan aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) (Guyton, 1997; Sakai, 1998).

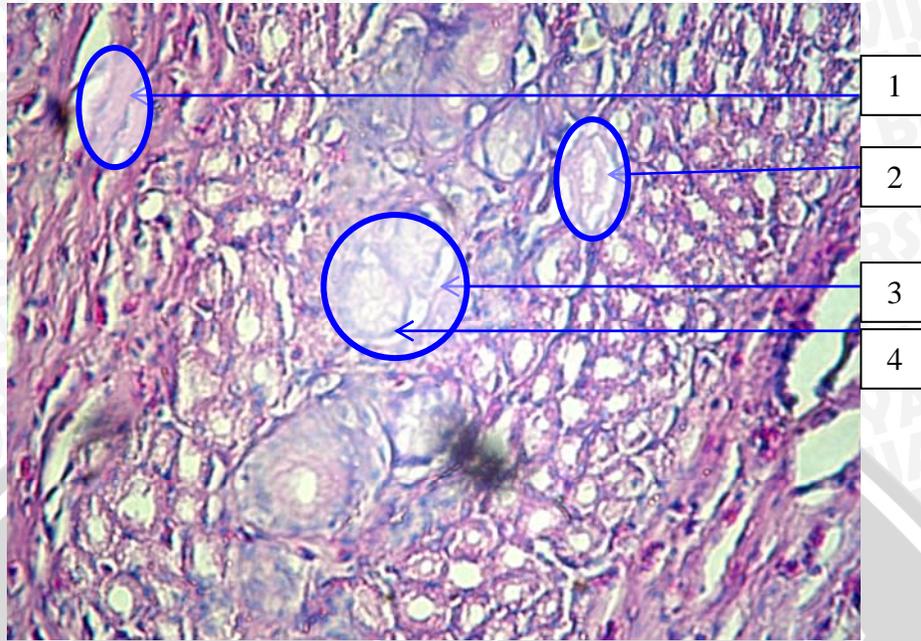
## 4.2 Gambaran Histologi Dan Histopatologi Ginjal

### 4.2.1 Gambaran Histologi Ginjal Ikan Sehat

Ginjal melakukan dua fungsi utama : pertama mengekresikan sebagian besar produk akhir metabolisme tubuh dan kedua mengatur konsentrasi cairan tubuh (Fujaya, 2002). Glomerulus berfungsi menyaring cairan, sedangkan tubulus mengubah cairan yang disaring menjadi urin. Dengan demikian nefron dapat membersihkan atau menjernihkan plasma darah dari zat-zat yang tidak dikehendaki ketika melalui ginjal. Filtrasi dapat terjadi pada glomerulus karena jaringan kapiler glomerulus merupakan jaringan bertekanan tinggi sedangkan jaringan kapiler peritubulus adalah jaringan bertekanan rendah.

Korteks mengandung badan malpighi berjuta banyaknya, dan inilah komponen utama alat pembuangan. Satu badan malpighi bersama pembuluhnya merupakan satu unit otonom alat pembuangan, yang disebut nefron. Badan malpighi terdiri dari beberapa bagian sebagai berikut : glomerulus, kapsul bowman, dan tubulus (Yatim, 2002).

Berdasarkan hasil penelitian, kondisi ginjal kerapu macan sebelum perlakuan memperlihatkan bentuk histologi yang normal dengan penampakan pancaran meduler, tubulus proksimalis, glomerulus, dan kapsul bowman dari bagian korteks ginjal (Gambar 9).

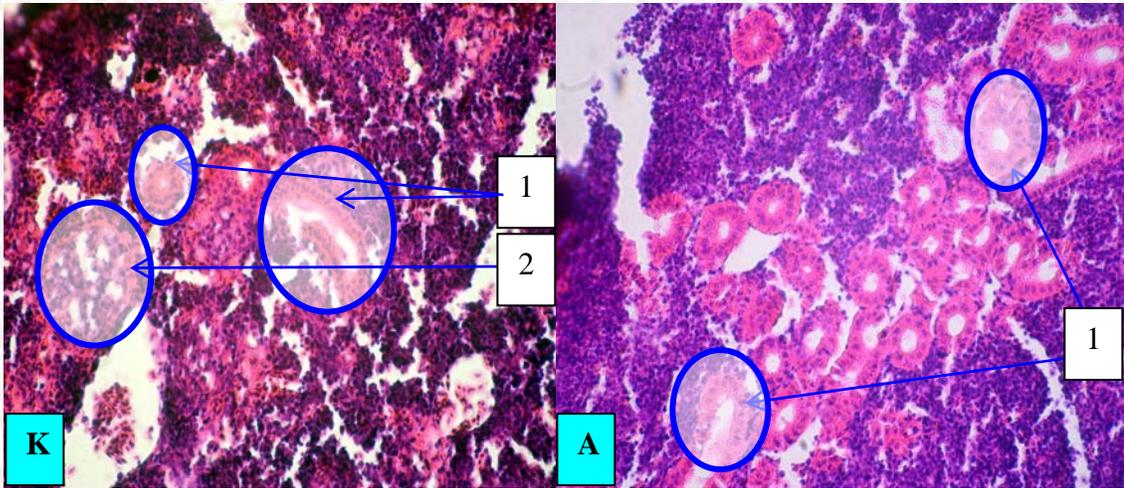


Gambar 9. Irisan melintang ginjal normal, tanda panah no 1. Pancaran meduler; 2. Tubulus proksimalis; 3. Kapsul bowman; 4. Glomerulus; 400x, H&E.

#### 4.2.2 Gambaran Histopatologi Ginjal Ikan Kontrol dan Perlakuan

Hasil penelitian di bawah ini menunjukkan bahwa pemberian dosis immunostimulan alkaloid dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap perbedaan tingkat kerusakan yang terjadi pada ginjal.

Pada perlakuan K (kontrol) tanpa alkaloid dan perlakuan A pada dosis alkaloid 0.5 gr/kg pakan, ditemukan beberapa gejala kerusakan struktur jaringan ginjal yang disebabkan oleh serangan bakteri. Sedangkan pada perlakuan B pada dosis alkaloid 0.75 gr/kg pakan, perlakuan C pada dosis alkaloid 1 gr/kg pakan, dan perlakuan D pada dosis 1 gr/kg pakan tidak ditemukan kerusakan pada struktur jaringan ginjal yang ditimbulkan oleh serangan bakteri patogen. Perubahan tersebut dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Irisan melintang ginjal perlakuan (K): tanda panah no 1. Pembengkakan sel (*cloudy swelling*) epitel pembatas tubulus renalis; 2. Nekrosis pada kapsul bowman; (A): tanda panah no 1. Pembengkakan sel (*cloudy swelling*) epitel pembatas tubulus renalis; 400x, H&E.

Pengamatan preparat histopatologi ginjal ikan kerapu macan perlakuan K (kontrol) yaitu perlakuan tanpa alkaloid menunjukkan kerusakan ginjal yang paling berat dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Histopatologi ginjal terlihat adanya kerusakan berupa pembengkakan sel (*cloudy swelling*) epitel pembatas tubulus renalis yaitu tubulus proksimalis dan tubulus distalis, sehingga menyebabkan lumen tubulus tampak sempit, tidak berbentuk bulat dan menyatu. Nekrosis juga terjadi pada kapsul bowman (Gambar 11E).

Pembengkakan ini terjadi karena bakteri *V. harveyi* yang di injeksikan masuk ke dalam ginjal bersama aliran darah dan menginfeksi sel-sel epitel pembatas tubulus renalis. Infeksi bakteri *V. harveyi* juga mempengaruhi metabolisme dan proses-proses enzimatik di dalam sel. Hal ini akan menyebabkan terjadinya degenerasi dan nekrosis (kematian sel) epitel pembatas tubulus renalis. Lebih lanjut terjadinya kerusakan struktur dan gangguan fungsi normal ginjal akan menyebabkan terganggunya proses-

proses fisiologik di dalam tubuh ikan bahkan akan menyebabkan kematian (Murdjani, 2002).

Nekrosis yang terjadi pada kapsul bowman yang diperkirakan akibat infeksi bakteri yang mengeluarkan toksin dan dapat merusak sel-sel ginjal. Murdjani (2002), menyatakan bahwa dengan rusaknya sel ginjal, akan mempermudah bakteri masuk dalam jaringan ginjal dan menimbulkan kerusakan yang semakin besar. Selain itu bakteri juga akan masuk dalam saluran darah dan melalui aliran darah bakteri akan tersebar ke dalam organ lainnya.

Hal ini dapat terjadi karena pada perlakuan K (kontrol), ikan tidak diberikan immunostimulan maka daya imun ikan pada perlakuan ini lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Sehingga pada perlakuan K mengalami kerusakan yang paling berat. Adapun mekanisme kerja immunostimulan dalam meningkatkan fungsi sel-sel fagositosis tersebut seperti yang diterangkan oleh Jawetz *et al.*, (1982), yaitu apabila immunostimulan masuk ke dalam tubuh maka immunostimulan akan merangsang makrofag untuk memproduksi interleukin yang akan menggiatkan sel limfosit yang kemudian membelah menjadi limfosit T dan limfosit B. Selanjutnya limfosit T akan memproduksi interferon yang mampu menggiatkan kembali makrofag, sehingga dapat memfagosit bakteri, virus, dan partikel asing lainnya yang masuk ke dalam tubuh.

perlakuan A pada dosis alkaloid 0.5 gr/kg pakan, pengamatan secara mikroskopis jaringan ginjal memperlihatkan terjadinya beberapa kerusakan struktural. Kerusakan awal berupa pembengkakan sel (*cloudy swelling*) epitel pembatas tubulus renalis,

sehingga menyebabkan lumen tubulus tampak sempit, tidak berbentuk bulat dan menyatu (Gambar 11A).

Pembengkakan ini terjadi karena bakteri *V. harveyi* yang masuk ke dalam ginjal bersama aliran darah dan menginfeksi sel-sel epitel pembatas tubulus renalis. Infeksi bakteri *V. harveyi* juga mempengaruhi metabolisme dan proses-proses enzimatik di dalam sel. Hal ini akan menyebabkan terjadinya degenerasi dan nekrosis (kematian sel) epitel pembatas tubulus renalis. Lebih lanjut terjadinya kerusakan struktur dan gangguan fungsi normal ginjal akan menyebabkan terganggunya proses-proses fisiologik di dalam tubuh ikan bahkan akan menyebabkan kematian (Murdjani, 2002).

Hal ini dapat terjadi karena kurangnya dosis pemberian immunostimulan, sehingga sehingga menyebabkan sistem kekebalan tubuh non spesifik tidak dapat bekerja secara optimal yang menyebabkan kerusakan eritrosit pada jaringan ginjal akibat infeksi bakteri. Dijelaskan oleh Nitimulyo dan Triyanto (1990), pemberian immunostimulan dosis yang terlalu rendah dan tinggi hanya menghasilkan sedikit kompleks kebal sehingga mengakibatkan sistem pertahanan yang terbentuk juga rendah dan mudah terserang organisme penyebab patogen.

Pada perlakuan B pada dosis alkaloid 0,75 gr/kg pakan, perlakuan C pada dosis alkaloid 1 gr/kg pakan, dan perlakuan D pada dosis alkaloid 1,25 gr/kg pakan tidak menunjukkan adanya kerusakan jaringan. Hal ini menunjukkan bahwa mampu pemberian immunostimulan alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) dalam pakan berpengaruh dalam mengaktifkan kekebalan non spesifik dengan jumlah persentase aktifitas fagositosis makrofag (dalam %) yang mengalami peningkatan dibandingkan pada perlakuan K (kontrol) tanpa alkaloid (Nisak, 2007).

#### 4.2.3 Persentase Aktifitas Fagositosis Makrofag

Bakteri *V. harveyi* yang masuk dalam tubuh ikan harus melewati berbagai garis pertahanan. Menurut Anderson (1974), aktivitas pertahanan ikan berupa garis pertahanan pertama (*First Line of Defence*) dan garis pertahanan kedua (*Second Line of Defence*). Mekanisme pertahanan pada garis pertahanan pertama akan diberikan oleh lendir, sisik dan lapisan epidermis pada kulit ikan. Sedangkan mekanisme pertahanan pada garis pertahanan kedua dilakukan darah. Hal ini didukung hasil penghitungan persentase aktifitas fagositosis makrofag menunjukkan semakin mengalami peningkatan dibandingkan pada perlakuan K (kontrol) sesuai dengan data hasil penelitian Nisak (2007), menunjukkan bahwa semakin banyak dosis senyawa alkaloid yang diberikan maka persentase aktifitas fagositosis makrofag (dalam %) ikan kerapu macan semakin meningkat. Perlakuan A pada dosis alkaloid 0,5 gr/kg pakan persentase aktifitas fagositosis makrofag sebesar 12,4 %; sesudah perlakuan sebesar 18,0 %; perlakuan B pada dosis alkaloid 0,75 gr/kg pakan persentase aktifitas fagositosis makrofag sebesar 12,6 %; sesudah perlakuan sebesar 23,0 %; perlakuan C pada dosis alkaloid 1 gr/kg pakan persentase aktifitas fagositosis makrofag sebesar 12,5 %; sesudah perlakuan sebesar 29,5 %; perlakuan D pada dosis alkaloid 1,25 gr/kg pakan persentase aktifitas fagositosis makrofag sebesar 12,6 %; sesudah perlakuan sebesar 24,5 %; dan untuk perlakuan K (kontrol) tanpa alkaloid peningkatan persentase aktifitas fagositosis makrofag lebih kecil sebesar 12,5 %; sesudah perlakuan sebesar 13,5 %. Hal ini dapat di lihat pada Tabel 2 berikut ini.

**Tabel 2. Persentase Aktifitas Fagositosis Makrofag (dalam %) selama 34 Hari**

Perlakuan	Hari Pengamatan				
	0	28	30	32	34
<b>K</b>	12,5 %	13,5 %	22,0 %	36,5 %	41,0 %
<b>A</b>	12,4 %	18,0 %	31,5 %	39,0 %	43,0 %
<b>B</b>	12,6 %	23,0 %	33,0 %	48,5 %	62,0 %
<b>C</b>	12,5 %	29,5 %	49,5 %	71,5 %	87,5 %
<b>D</b>	12,6 %	24,5 %	38,5 %	61,5 %	75,5 %

Hal ini menunjukkan bahwa pemberian alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) dalam pakan berpengaruh terhadap jumlah persentase aktifitas fagositosis makrofag (dalam %) yang mengalami peningkatan dibandingkan pada perlakuan K (kontrol) tanpa alkaloid selama 34 hari.

Peningkatan kekebalan tubuh ikan kerapu macan ditunjukkan dengan peningkatan jumlah makrofag. Makrofag yang diamati dalam penelitian ini adalah makrofag yang terdapat pada ginjal anterior (*head kidney*). Ginjal sangat penting dalam *hematopoiesis* (pembentukan darah) dan imunitas pada ikan. Pada tahap pertumbuhan awal, ginjal secara keseluruhan berkembang untuk memproduksi sel-sel imun dan merupakan awal dari proses tanggap kebal tubuh ikan. Semakin ikan dewasa, ginjal pada bagian anterior berkembang menjadi bagian terpenting dalam pembentukan sel darah dan sistem imun. Darah mengalir ke ginjal dengan lambat untuk mengenalkan antigen. Hal ini menyebabkan bertambahnya konsentrasi sel-sel imun meningkat pada ginjal bagian anterior. Sel-sel imun yang dimaksud adalah makrofag, limfosit, dan plasma sel. Sel-sel tersebut berperan dalam penangkapan antigen dan menjalankan fungsi imun spesifik yang mempunyai memori (Secombes *et al.*, 1982).

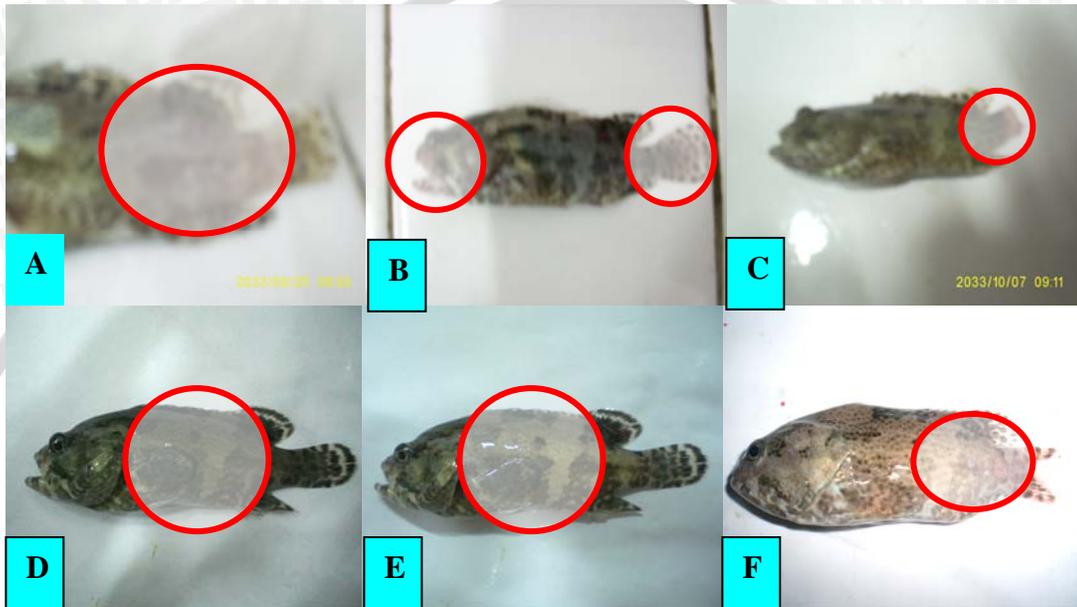
### 4.3 Gejala Patologi Klinik Ikan Kerapu Macan Selama Diinfeksi *Vibrio harveyi*

Gejala-gejala patologi klinik yang diamati selama perlakuan ujiantang dengan *V. harveyi* dapat dilihat pada Tabel 3 sebagai berikut :

**Tabel 3. Perbedaan Gejala Patologi Klinik antara Ikan Kerapu Macan yang Diberi Perlakuan dan yang tidak Diberi Perlakuan**

Hari ke-	Gejala Patologi Klinik	
	Ikan yang Diberi Pakan dengan Campuran Bahan Aktif Alkaloid	Ikan yang Diberi Pakan Tanpa Campuran Bahan Aktif Alkaloid
1-2	Tidak aktif berenang, lemas, nafsu makan menurun, lendir berlebih, mulut kemerah-merahan, warna insang pucat.	Tidak aktif berenang, lemas, respon kurang, nafsu makan rendah, lendir berlebih, mulut kemerah-merahan
3-5	Ikan berenang kepermukaan dan bergerak berputar-putar ( <i>whirling</i> ), permukaan tubuh kehitam-hitaman ( <i>melanisasi</i> ), nafsu makan kurang, dan mulut kemerah-merahan, terdapat ikan yang mati.	Ikan berenang kepermukaan dan bergerak berputar-putar ( <i>whirling</i> ), permukaan tubuh kehitam-hitaman ( <i>melanisasi</i> ), warna insang pucat, nafsu makan kurang, mulut kemerah-merahan, sirip dada, sirip perut dan sirip ekor kemerah-merahan, dan ekor gripis, ikan yang mati organ dalam mengalami <i>hemorrhagic</i> pada organ hati dan ginjal,
6-7	Ikan mulai berenang kedasar bak dan cenderung bergerombol, respon bagus, nafsu makan mulai meningkat, dan lendir normal	Ikan nampak semakin lemah, nafsu makan tidak ada, warna insang pucat, mulut kemerah-merahan, pangkal sirip kemerah-merahan, dan terdapat luka pada pangkal ekor.

Gambar 12 dibawah ini memperlihatkan beberapa jenis kerusakan organ ikan uji. Gambar A sampai F adalah jenis kerusakan yang terjadi sesuai dengan perkembangan gejala-gejala patologi klinik yang disebutkan di atas yang umumnya ditemukan pada perlakuan K (kontrol) yaitu tanpa pemberian immunostimulan alkaloid.



Gambar 12. Perubahan gejala klinik ikan kerapu macan pasca uji tantangan. A: bercak merah (*petikiae*); B: mulut dan sirip ekor kemerah-merahan; C: kerusakan sirip (*fin rot*); D: tubuh kehitam-hitaman (*melanisasi*); E: lendir berlebihan; F: luka (*ulcer*) pada jaringan kulit dan otot (perlakuan K)

Kamiso (1985), menyatakan bahwa beberapa gejala yang terlihat adalah punggung kehitam-hitaman, bercak merah pada pangkal sirip, sisik tegak, bergerak lamban, keseimbangan terganggu, nafsu makan kurang, sering terjadi mata menonjol (*exophthalmia*), perut kembung berisi cairan, *Hemorrhagic* pada insang, mulut, tubuh, usus dan organ dalam. Apabila pada fase ini ikan belum mati gejala penyakit akan berkembang. Kulit mengelupas, koreng atau nekrosis pada beberapa bagian tubuh dan dapat pula berbentuk luka (*ulcer*).

Pernyataan ini sependapat dengan Fryer *et al.*, (1972) dalam Bullock (2005), bahwa penyakit vibriosis menyebabkan luka pada kulit, nekrosis pada jaringan, *petikiae* pada permukaan tubuh, pendarahan pada insang dan rongga perut serta peradangan pada saluran pencernaan. Menurut Wang *et al.*, (2000), infeksi *Vibrio* pada ikan secara umum dikenal sebagai *hemorrhagic septicemia* dengan luka yang meluas pada kulit, nekrosis, pada hati, ginjal, dan jaringan lain.

Jalan masuk (*portal of entry*) *Vibrio* ke dalam tubuh ikan kerapu macan melalui saluran gastrointestinal, insang dan kulit. Menurut Balebona *et al.*, (1998), infeksi diawali adhesi sel bakteri pada permukaan mucus, dilanjutkan proliferasi sebagai akibat aktivitas hidrolitik dan kemampuan menggunakan mucus sebagai satu-satunya sumber nutrisi. Selanjutnya bakteri berkolonisasi di bawah lapisan epitel dan tahap akhir infeksi adalah proses invasi yang menyebabkan luka dan kerusakan jaringan inang.

Invasi bakteri diikuti penyebaran sistemik dan multiplikasi. Kemampuan multiplikasi di dalam jaringan terus meningkat apabila bakteri tersebut lolos dari sistem pertahanan tubuh inang. Kemampuan ini menyebabkan kerusakan organ yang lebih parah dan kematian inang (Emancipator, 1996 dalam Maftuch, 2006).

#### **4.4 Kualitas Air Ikan Kerapu Macan**

Penyakit timbul sebagai akibat adanya ketidak seimbangan antara inang (host), penyebab penyakit (patogen) dan lingkungan. Penyakit akan timbul apabila ikan yang dipelihara rentan terhadap penyakit dan kondisi lingkungan yang buruk (kualitas air) yang menyebabkan peningkatan serangan penyakit serta penurunan kekebalan dari inang (Dwiyanto, 2004). Kisaran hasil pengukuran kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 4 dibawah ini.

**Tabel 4. Kisaran Hasil Pengukuran Kualitas Air**

No.	Parameter Kualitas Air	Kisaran	Pustaka (Suriawan, 2004)
1.	Suhu	28,6 – 31,9 °C	28 – 32 °C
2.	Oksigen Terlarut (DO)	8,4 – 9,3 ppm	5 ppm
3.	Salinitas	30 – 33 ppt	31 – 32
4.	Derajat keasaman (pH)	7,73 – 8,14	7,8 – 8,3
5.	Amoniak	0,08 – 0,1925 ppm	< 0,1 ppm

Hasil pengukuran kualitas air pada media hidup ikan kerapu macan selama penelitian diatas menunjukkan kondisi yang sesuai. Anderson (1974), menyatakan bahwa ikan-ikan yang diimmunisasi pada suhu 25° C akan memproduksi antibodi secara baik, bahkan ketika dipindahkan ke suhu 12° C. Dijelaskan juga, sel-sel fagosit akan aktif melakukan fagositosis partikel asing pada suhu 21° C. Sedangkan suhu antara 18° - 21° C, partikel asing akan terikat pada permukaan sel fagosit tetapi tidak terjadi fagositosis.

Menurut Nabib dan Pasaribu (1989), bahwa kondisi suhu yang rendah cenderung memperlambat dan atau meniadakan pembentukan antibodi. Suhu di bawah suhu kritis mengakibatkan reaksi kekebalan tidak dapat berkembang. Pernyataan ini sependapat dengan Ellis (1988) yang mengatakan bahwa, reaksi pembentukan antibodi spesifik akan lebih cepat bila ikan dipelihara pada suhu 28° C dari pada suhu 15° C. Dari hasil pengamatan suhu air selama penelitian sangat menunjang untuk proses pembentukan tanggap kebal non-spesifik ikan, yakni antara 28,6 – 31,9 °C.

Ketersediaan oksigen terlarut dengan konsentrasi yang optimal dalam air sangat membantu ikan untuk memproses pembentukan antibodi dan pemberian immunostimulan dengan menggunakan alkaloid ubur-ubur memberikan peningkatan

terhadap kelulushidupan ikan, hasil pengamatan oksigen terlarut selama penelitian masih dapat ditolerir ikan untuk kelulusan hidup, yakni antara 8,4 – 9,3 ppm.

Derajat keasaman (pH) air media mempunyai peranan dalam meningkatkan proses fagositosis, pH air media selama penelitian berada pada kisaran nilai antara 7,73 – 8,14. Menurut Volk and Wheeler (1993), bahwa konsentrasi ion hidrogen larutan sangat mempengaruhi aktivitas suatu enzim. Hal ini karena asam amino yang merupakan pusat aktif enzim harus berada dalam keadaan ionisasi yang tepat agar menjadi aktif. Dan bila kondisi pH optimal antara 6 – 8 enzim dapat bekerja secara baik dengan aktivitas yang maksimum.



## V. KESIMPULAN DAN SARAN

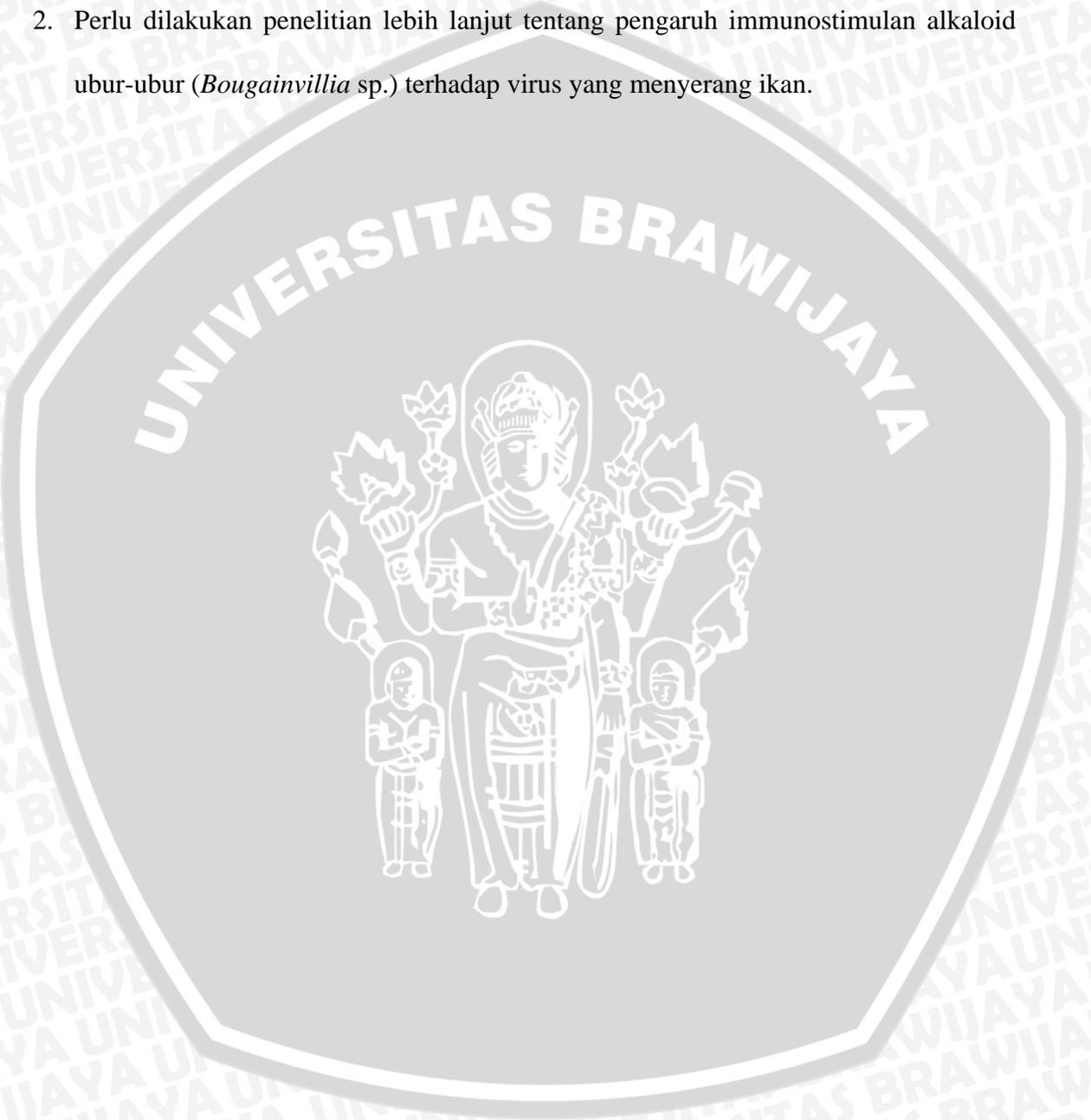
### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pemberian immunostimulan alkaloid ubur-ubur dapat mempengaruhi perbedaan tingkat kerusakan histopatologi hati dan ginjal ikan kerapu macan yang diinfeksi dengan bakteri *V. harveyi*.
2. Pada perlakuan K (kontrol) tanpa alkaloid, sel-sel hati mengalami kerusakan antara lain nekrosis pada sel-sel hati dan *hemorrhagic* sedangkan pada struktur ginjal ditemukan adanya pembengkakan sel (*cloudy swelling*) epitel pembatas tubulus renalis serta nekrosis pada kapsul bowman.
3. Pemberian immunostimulan perlakuan A pada dosis alkaloid 0,5 gr/kg pakan, menunjukkan sel-sel hati mengalami perubahan berupa peradangan (*inflamasi*) dan *cloudy swelling*, sedangkan struktur ginjal juga mengalami pembengkakan sel (*cloudy swelling*) epitel pembatas tubulus renalis.
4. Pemberian immunostimulan perlakuan B pada dosis alkaloid 0,75 gr/kg pakan, dan perlakuan C pada dosis alkaloid 1 gr/kg pakan adalah perlakuan terbaik karena tidak ditemukan adanya kerusakan oleh serangan bakteri pada sel-sel hati dan struktur ginjal.
5. Pemberian immunostimulan perlakuan D pada dosis alkaloid 1,25 gr/kg pakan pada sel-sel hati mengalami peradangan (*inflamasi*) dan kolonisasi bakteri pada sinusoida sedangkan pada struktur ginjal tidak ditemukan adanya kerusakan akibat serangan patogen.

## 5.2 Saran

1. Perlu pengamatan histologi dan histopatologi terhadap organ lain seperti limpa, dan otak.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh immunostimulan alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) terhadap virus yang menyerang ikan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Afriardhini. 2004. **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ubur-Ubur (*Bougainvillia* sp.)** Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Brawijaya Malang. 33 hal.
- Anderson, D.P. 1974. **Fish Immunology**. In : **Diseases of Fishes. Research Immunologist**. T.F.H. Publications, Inc. Ltd. The British Crown Colony of Hong Kong. 218 pp.
- Angka, S.L dan M.T Suhartono. 2000. **Bioteknologi Hasil Laut**. Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir Dan Lautan. IPB. Bogor. 149 hal.
- Anonymous. 1998. **Pembenihan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)**. Balai Budidaya Laut Lampung. Departemen Pertanian Direktorat Jenderal Perikanan. Lampung. 84 hal.
- \_\_\_\_\_. 2003. **Petunjuk Praktikum Biokimia Teknik**. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.
- Antoro, S., Widiastuti, E dan P. Hartono. 2004. **Pembenihan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)**. Balai Budidaya Laut Lampung. Departemen Pertanian Direktorat Jenderal Perikanan. Lampung. 84 hal.
- Arifin, Z. 2003. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Cair Ubur-Ubur Hydrozoa dengan Jenis dan Dosis yang Berbeda terhadap Perkembangan Bakteri (*Vibrio harveyi*)**. Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang. Tidak Diterbitkan.
- Awiningsih. 2004. **Pengaruh Bahan Aktif alkaloid Ekstrak Cair Ubur-Ubur (*Bougainvillia* sp.) dengan Dosis yang Berbeda terhadap *Vibrio harveyi* secara In Vitro**. Skripsi Manajemen Sumberdaya Perairan. Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Baratawijaya, K.G. 2004. **Imunologi Dasar. Edisi Ke-6**. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta. 588 hal.
- Barnes, R.D. 1974. **Invertebrata Zoology**. W.B Saunders Company. Toppam Company, Ltd. Philadelphia. London. Toronto. 870 pp
- Bauman, P.A.L., Furniss and J.V. Lee. 1984. **Facultatively Anaerobic Gram Negative Rods: Genus I Vibrio**. in : Krieg N.R and Holt J.G (Ed). **Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology**. William and Wilkins Baltimore. USA. p. 518-538.
- Bellanti, J.A. 1993. **Imunologi III**. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 647 hal.

- Bevelander, G dan J.A. Ramaley. 1988. **Dasar-Dasar Histologi**. Edisi Kedelapan. Alih Bahasa : Dr. Ir. Wisnu Gunarso. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Dwidjoseputro, D. 1998. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Penerbit Djambatan. Jakarta. 214 hal.
- Ellis, A.E. 1988. **General Principles of Fish Vaccination. in: Fish Vaccination**. A.E. Ellis (Ed.). Academic Press. London. 1-19 p.
- Fadjar, M., Andayani, S., Arfiati, D dan A. Prajitno. 2003. **Pemanfaatan Ekstrak Kasar Hydrozoa sebagai Bakterisida terhadap Bakteri *Vibrio harveyi***. Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati. Vol. 15- No.1.
- Fessenden, R.J dan J.S. Fessenden. 1997. **Kimia Organik**. Alih Bahasa : A.H. Pudjaatmaka. Edisi Ke-2. Jilid 2. Erlangga. Jakarta. 551 hal.
- Fujuya, Y. 2004. **Fisiologi Ikan. Dasar Pengembangan Teknik Perikanan**. Rineka Cipta. Jakarta. 179 hal.
- Gufron, M.H dan Kordi. 2001. **Usaha Pembesaran Ikan Kerapu di Tambak**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 132 hal.
- Harborne. J.B. 1987. **Metode Fotokimia**. Alih Bahasa : Kosasih, P dan Iwang, S. ITB. Bandung. Hal 234-245
- Heramawati. 2005. **Pengaruh Bahan Aktif dari Ubur-Ubur (*Bougainvillia sp.*) dengan Dosis Berbeda untuk Menekan Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* pada Media Hidup Kepiting Bakau (*Scylla sp.*)**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Hibiya, T. 1982. **An Atlas Of Fish Histology Normal and Pathological Features**. Kodansha. Ltd. Tokyo. 146 pp.
- Hickman, C.P.K. 1970. **Integrated Principle Of Zoology. Fourth Edition**. CV. Moesby Company Saint Louis. USA. 928 pp.
- Holt, J.G. 1979. **The Sorter Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology**. The Williams and Wilkins Company Baltimore. USA. 35 pp.
- Irawan, D. 2005. **Pengaruh Pemberian Immunostimulan Bahan Aktif Alkaloid Ubur-Ubur *Bougainvillia sp* terhadap Jumlah Total Bakteri *Vibrio harveyi* yang Diinfeksi pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya (Tidak Dipublikasikan).

- Istiqomah, I., Isnansetyo, A., Triyanto, Kamiso, H.N dan M. Murdjani. 2006. Patogenisitas *Vibrio fluvialis* 24SK terhadap Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). Jurnal Perikanan VIII (1): 17-24
- Jawetz, E., Melnick And Adelberg. 1982. **Review of Medical Microbiology**. Diterjemahkan: Gerard Bonang K. C. V. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 846 hal.
- Jawetz, E, Melnick And Adelberg. 1996. **Mikrobiologi Kedokteran**. Edisi 20. Alih Bahasa : dr. Edi Nugroho dan dr. RF Maulany. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 753 hal.
- Johnny, F., Zafran, Roza, D., Haryati dan K. Suwirya. 2001. **Peningkatan Resistensi Larva Udang Windu (*Penaeus monodon*) Melalui Penambahan Immunostimulan pada Pakan Mikro**. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. Pusat Riset Perikanan Budidaya. Badan Riset Kelautan dan Perikanan. Departemen Kelautan dan Perikanan. Vol. 7 No. 4.
- Kabata, Z. 1985. **Parasiter and Desease of Fish Cultured in Tropics**. Taylor and Franchis Ltd. London.
- Kamiso, H.N. 1990. **Vaksinasi untuk Mencegah Vibriosis pada Ikan. Seminar Nasional II. Penyakit Ikan dan Udang 16-18 Januari. Balai Penelitian Perikanan Air Tawar. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan**. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jakarta. 143-152 p
- Kamiso, H.N. 1996. **Vibriosis pada Ikan dan Alternatif Cara Penanggulangannya**. Jurnal Perikanan UGM (UGM J. Fish Sci.), 1 (1): 1-8.
- Kayatama, M. 1960. **Fauna Javonica Serranidae (Piscea) Biogeographical Society Of Japan**. Tokyo New Service. Ltd. Ginza Nishi. Japan.
- Kurniasih. 1999. **Deskripsi Histopatologi dari Beberapa Penyakit Ikan**. Pusat Karantina Pertanian. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Mac Arthur, J.I and T.C. Fletcher. 1985. **Phagocytosis in Fish. in Fish Immunology**. Academic Press. London.
- Madeali, M.I. 2004. **Efektivitas Pemberian Sel Utuh (Whole Cell) Bakteri *Vibrio* terhadap Peningkatan Kekebalan Tubuh Udang Windu (*Penaeus monodon* FABR) dari Serangan *White Spot Syndrome Virus* (WSSV)**. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia 10 (1) : 59-70.

- Mahardika, K., Zafran., Johnny, F., dan D. Roza. 2004. **Tingkat Kerentanan Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dalam Berbagai Umur terhadap Infeksi Iridovirus.** Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. Badan Riset Kelautan Dan Perikanan. Departemen Kelautan Dan Perikanan. Vol. 10 No.1.
- Muhammad, S. 1991. **Dasar-Dasar Metodologi Penelitian dan Rancangan Percobaan.** Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang. 137 hal.
- Murchelano, R.A dan S.A. MacLean. 1990. **Histopathology Atlas of The Registry of Marine Pathology.** National Oceanic and Atmospheric Administration. Hal 23-43.
- Murdjani, M. 2002. **Identifikasi dan Patologi Bakteri *Vibrio alginoliticus* pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*).** Disertasi. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang.
- Nabib, R dan H. F. Pasaribu. 1989. **Patologi dan Penyakit Ikan.** Departemen P dan K. Ditjen Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi. IPB. 158 hal.
- Nagasawa, K and E.R.C. Lacierda. 2004. **Diseases of Cultured Groupers.** Southeast Asian Fisheries Development Center Aquaculture Department. Government of Japan Trust Fund.
- Nisak, L.H. 2007. Pengaruh Alkaloid Ubur-Ubur (*Bougainvillia* sp.) yang Diberikan Melalui Pakan terhadap Fungsi Fagositosis dan Jumlah Sel Makrofag Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang Diinfeksi Bakteri *Vibrio harveyi*. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 66hal.
- Nuchsin, R dan H. Ariani. 2004. **Beberapa Jenis Bakteri Penghambat, Bakteri Patogen *Vibrio harveyi* yang Diperoleh dari Tempat Budidaya Kerapu di Bajanegara, Banten.** Prosiding Seminar Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan 18-19 Mei 2004. Purwokerto.
- Nur'aini, Y.L. 2004. **Status Perkembangan Penyakit Ikan dan Udang di Indonesia dan Strategi Pengendaliannya.** Makalah Pelatihan Pembenuhan Multispesies bagi Pengelola Balai Benih Ikan Pantai Di BBAP Situbondo 15 September - 11 Oktober 2004. Departemen Kelautan dan Perikanan. Departemen Kelautan dan Perikanan. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Balai Budidaya Air Payau Situbondo.
- Nurdjana, M.L. 2001. **Prospek Sea Farming di Indonesia.** Departemen Kelautan dan Perikanan Kerjasama Dengan Japan International Cooperation Agency. Jakarta.
- Nybakken, J.W. 1988. **Biologi Laut, Suatu Pendekatan Ekologi.** Gramedia. Jakarta.

- Panjaitan, P.J. 1991. **Serangan Penyakit Kunang-Kunang pada Larva Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab) di Panti Benih Udang**. Badan Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta. 99 hal.
- Price, S. A dan L. M. Wilson. 2006. **Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit. Edisi 6. Volume 1**. Penerjemah: dr. Brahm. U. Pendit, dr. Huriawati Hartanto, dr. Pita Wulansari, dr. Dewi Asih Mahanani. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 734 Hal
- Purbomartono, C. 2004. **Peningkatan Ketahanan Tubuh Udang melalui Pemberian Immunostimulan Levamisol**. Prosiding Pengendalian Penyakit Pada Ikan dan Udang Berbasis Imunisasi dan Biosecurity IV. Purwokerto. Hal. 104-109.
- Rahman, A. 1992. **Anatomi dan Morfologi Ikan (Karya Ilmiah)**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.
- \_\_\_\_\_. 2003. **Sistem Organ Pernafasan, Peredaran Darah, Ekskresi, Reproduksi, Saraf dan Hormon pada Ikan**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Radiopoetro. 1991. **Zoology**. Erlangga. Jakarta. 619 hal.
- Rantam, F.A. 2003. **Metode Immunologi**. Airlangga University Press. Surabaya
- Robinson, T. 1995. **Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi**. Alih Bahasa : Kosasih Padwaminata. Edisi Keenam. ITB. Bandung. 367 hal.
- Romimohtarto, Kasijan dan S. Juwana. 2005. **Biologi Laut Ilmu Pengetahuan Tentang Biota Laut**. Cetakan Ke-2. Penerbit Djambatan. Jakarta.
- Roza, D., Johnny, F., Mahardika, K., Zafran dan Tridjoko. 2004. **Pencegahan Infeksi Viral Nervous Necrosis (VNN) pada Benih Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) melalui Pengendalian Lingkungan**, Penggunaan Vaksin dan Immunostimulan. Laporan Hasil Penelitian BBRPBL, Gondol. 74-93 p.
- Roza, D dan F. Johnny. 2004. **Peningkatan Kekebalan Larva Ikan Kerapu Bebek *Cromileptes altivelis* dengan Menggunakan Immunostimulan terhadap Infeksi VNN**. Prosiding Pengendalian Penyakit Pada Ikan dan Udang Berbasis Imunisasi dan Biosecurity. Purwokerto.
- Rukyani, A., Taufik, A dan Tauhid. 1992. **Penyakit Kunang-Kunang di Hactery Udang Windu dan Cara Penanggulangannya**. Primadona. Bendel Kedua. Edisi April. Jakarta. 61 hal.

- Saanin, H. 1984. **Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan. Jilid I dan II.** Bina Cipta. Bandung.
- Saeed, O. 1995. **Association of *Vibrio harveyi* with Mortalities in Cultured Marine Fish.** In *Quait Aquaculture*. 136 p.
- Schaperdous, W., Kulow, H dan Bach, K.S. 1992. **Fish Dieases. Vol. I.** AA. Balkema. Rotterdam.
- Schlagel, H. G dan K. Schmidth. 1994. **Mikrobiologi Umum.** Alih Bahasa : Tedjo Baskoro. Edisi Keenam. UGM Press. Yogyakarta.
- Schnick, R.A. 2001. **International Harmonization of Antimicrobial Sensitivity Determination for Aquaculture Drugs.** *Aquaculture* 195: 277-288.
- Secombes, C.J., M.J. Manning and A.E. Ellis. 1982. **The Effect of Primary and Secondary Immunization on The Lymphoid Tissues of The Carp (*Cyprinus carpio L*).** *J. Exp. Zool.* Hal 277 – 287.
- Setiawati, A. 1995. **Farmakologi dan Terapi.** Edisi 4. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta. 863 hal.
- Setyorini, N., Haliman, R.W., Murdjani, M., Widajatiningrum, L., Listyarini, D.W., Nur'aini, Y.L., dan G. Triastutik. 2004. **Histopatologi Udang Windu *Penaeus monodon* yang Terinfeksi Red Gill Syndrome (RGS).** Prosiding Pengendalian Penyakit Pada Ikan dan Udang Berbasis Imunisasi dan Biosecurity. Purwokerto.
- Sibernagl, S and A. Despopoulos. 1995. **Fisiologi; Atlas Warna dan Teks.** Alih Bahasa : Y. Handojo. Edisi 4. Penerbit Hipokrates. Jakarta.
- Sudjiharno dan T. Winanto. 1998. **Pemilihan Lokasi Pembenuhan Ikan Kerapu Macan.** Balai Budidaya Laut Lampung. Departemen Pertanian Direktorat Jenderal Perikanan. Lampung. 84 hal.
- Suntoro, S dan Handari. 1983. **Metode Pewarnaan (Histologi dan Histokimia).** Bhratara Karya Aksara. Jakarta. 395 hal.
- Sunyoto, H. 1994. **Pembesaran Kerapu dalam Keramba Jaring Apung.** Penebar Swadaya. Jakarta. 65 hal.
- Surakhmad, W. 1990. **Pengantar Penelitian Ilmiah. Dasar Metode dan Teknik.** Edisi Ketujuh. Bandung. 127 hal.

- Suriawan, A. 2004. **Produksi Benih Ikan Kerapu**. Makalah Pelatihan Pembenhian Multispesies bagi Pengelola Balai Benih Ikan Pantai di BBAP Situbondo 15 September - 11 Oktober 2004. Departemen Kelautan dan Perikanan. Departemen Kelautan dan Perikanan. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Balai Budidaya Air Payau Situbondo.
- Sutarmat, T., Hanafi, A dan S. Kawahara. 2003. **Budidaya Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dalam Karamba Jaring Apung**. Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol. Departemen Kelautan dan Perikanan dan JICA.
- Tompo, A dan E. Susianingsih. 2004. **Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Vibrio pada Tambak Udang yang Menggunakan Immunostimulan untuk Pengendalian Penyakit**. Prosiding Pengendalian Penyakit Pada Ikan dan Udang Berbasis Imunisasi dan Biosecurity. Purwokerto.
- Triastutik, G. 2004. **Pengendalian Penyakit Ikan dan Udang**. Makalah Pelatihan Pembenhian Multispesies bagi Pengelola Balai Benih Ikan Pantai Di BBAP Situbondo 15 September - 11 Oktober 2004. Departemen Kelautan Dan Perikanan. Departemen Kelautan Dan Perikanan. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Balai Budidaya Air Payau Situbondo.
- Volk, W dan Wheeler. 1993. **Mikrobiologi Dasar**. Edisi 5. Erlangga. Jakarta. 396 hal.
- Ward, M.D dan A. Peter. 1993. **Mekanisme Injuri Jaringan. Immunologi III**. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 647 hal.
- Weber and I. F. De Beaufort. 1931. **The Fishies Of Indonesia – Australia Archipelago**. Leiden.
- Wijarni dan Arfiati. 1984. **Diktat Avertebrata Air**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 173 hal.
- Wijayanti, A. 2004. **Aplikasi Histologi untuk Diagnosa Penyakit Udang dan Ikan**. Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau. Jepara.
- Yoshida, S. 2005. **Pengaruh Pemberian Bahan Aktif Alkaloid Ubur-Ubur *Bougainvillia sp* terhadap Perubahan Gambaran Darah pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang Terinfeksi *Vibrio harveyi***. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang (Tidak Dipublikasikan).
- Yuwono, E dan P. Sukardi. 2001. **Fisiologi Hewan Air**. Edisi Pertama. Fakultas Biologi UNSOED Purwokerto. 63 hal.

Zafran, Roza, D dan I. Koesharyani. 1997. **Resistensi Isolat Vobrio dari Beberapa Panti Benih Udang Windu (*Penaeus monodon*) terhadap Antibiotik.** Jurnal Perikanan Indonesia 3 (1) : 11-15

Zaqiah, E. N. 2006. **Gambaran Histopatologi Insang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila* setelah Diberi Probiotik.** Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Tidak diterbitkan.

